(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)**
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11) **1-0053494**

(51)[7] **C07K 19/00**; C07K 14/725; C07K 16/28; C12N 5/10; C12N 15/62; C12N 15/63; A61P 35/00; C07K 16/30

(13) **B**

(21) 1-2018-00999
(22) 10/08/2016
(86) PCT/CN2016/094408 10/08/2016
(87) WO/2017/025038 16/02/2017
(30) 201510490002.8 11/08/2015 CN; 201510733585.2 02/11/2015 CN
(45) 25/11/2025 452
(43) 25/05/2018 362A
(73) LEGEND BIOTECH IRELAND LIMITED (IE)
One Spencer Dock, North Wall Quay, Dublin 1, Ireland
(72) FAN, Xiaohu (CA); CHOU, Chuan-Chu (US); ZHUANG, Qiuchuan (CN); WANG, Pingyan (CN); WANG, Lin (CN); YANG, Lei (CN); HAO, Jiaying (CN).
(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Thảo Thọ Quyến (INVENCO.,LTD)

(54) THỤ THỂ KHÁNG NGUYÊN THỂ KHẢM, AXIT NUCLEIC PHÂN LẬP MÃ HÓA THỤ THỂ KHÁNG NGUYÊN THỂ KHẢM NÀY, VẬT TRUYỀN CHỨA AXIT NUCLEIC PHÂN LẬP NÀY, TẾ BÀO TÁC ĐỘNG MIỄN DỊCH CHỨA CHÚNG VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA TẾ BÀO TÁC ĐỘNG MIỄN DỊCH NÀY

(21) 1-2018-00999

(57) Sáng chế đề xuất các kháng thể miền đơn, và các thụ thể kháng nguyên thể khảm bao gồm một hoặc nhiều miền liên kết kháng nguyên, trong đó mỗi miền này chứa một kháng thể miền đơn. Sáng chế cũng đề xuất các tế bào tác động miễn dịch đã được xử lý công nghệ (như tế bào T) chứa các thụ thể kháng nguyên thể khảm. Ngoài ra, sáng chế còn đề xuất dược phẩm chứa tế bào tác động miễn dịch, kháng thể miền đơn và chất mang dược dụng.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề này cập đến các kháng thể miền đơn, các thụ thể kháng nguyên thể khảm và các tế bào tác động miễn dịch đã được xử lý công nghệ. Sáng chế này còn đề cập đến việc hoạt hóa và nhân rộng các tế bào để sử dụng trong trị liệu, cụ thể là liệu pháp miễn dịch tế bào T trên cơ sở thụ thể kháng nguyên thể khảm.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Với sự phát triển của liệu pháp miễn dịch và công nghệ lâm sàng về khối u, liệu pháp miễn dịch tế bào T thụ thể kháng nguyên thể khảm (CAR-T) hiện nay là một trong những phương pháp tiếp cận liệu pháp miễn dịch khối u hứa hẹn nhất. Nhìn chung, thụ thể kháng nguyên thể khảm (CAR) bao gồm miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền xuyên màng và miền truyền tín hiệu nội bào. Miền liên kết kháng nguyên ngoại bào có thể bao gồm đoạn biến đổi của chuỗi đơn (scFv) hướng đích đến kháng nguyên khối u đã được nhận diện. Các CAR có thể được biểu hiện trên bề mặt các tế bào T bằng cách sử dụng các kỹ thuật chuyển nhiễm gen. Khi liên kết vào kháng nguyên khối u đích, các CAR có thể hoạt hóa các tế bào T để khởi động phản ứng chống khối u đặc hiệu theo phương thức phụ thuộc vào kháng nguyên mà không bị giới hạn bởi sự có sẵn của các phức hợp tương thích mô chính (MHC) đặc hiệu với kháng nguyên khối u đích.

Các kháng thể miền đơn (sdAb) khác với các kháng thể 4 chuỗi thông thường ở chỗ có miền biến đổi của kháng thể dạng monome đơn lẻ. Ví dụ, họ lạc đà và cá mập tạo ra các kháng thể miền đơn gọi là các kháng thể chỉ có chuỗi nặng (HcAb), mà thiếu các chuỗi nhẹ một cách tự nhiên. Đoạn liên kết kháng nguyên ở mỗi nhánh của các kháng thể chỉ có chuỗi nặng thuộc họ lạc đà có miền biến đổi chuỗi nặng đơn (V_HH), mà có thể có ái lực cao với kháng nguyên mà không cần sự trợ giúp của chuỗi nhẹ. V_HH thuộc họ lạc

đà được biết đến là đoạn liên kết kháng nguyên chức năng nhỏ nhất có trọng lượng phân tử khoảng 15 kD.

Các phần bộc lộ của tất cả các công bố, patent, các đơn yêu cầu cấp patent và các đơn yêu cầu cấp patent đã được công bố được đề cập đến trong bản mô tả này được đưa toàn bộ vào đây bằng cách viện dẫn.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Đơn sáng chế này đề xuất các kháng thể miền đơn, các thụ thể kháng nguyên thể khảm (CAR) dựa trên các kháng thể miền đơn (như các đoạn V_HH), các tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ và các phương pháp sử dụng chúng trong liệu pháp miễn dịch ung thư.

Một khía cạnh của đơn sáng chế này đề xuất sdAb kháng CD19 bao gồm các vùng CDR có SEQ ID NO:76. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 1, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 2 và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO : 3. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 bao gồm miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:76.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể chỉ có chuỗi nặng kháng CD19 (HcAb) hoặc protein liên kết kháng nguyên bao gồm một kháng thể bất kỳ trong số các sdAb kháng CD19 được mô tả trên đây.

Một khía cạnh của đơn sáng chế này đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm CD19 bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào chứa sdAb kháng CD19 (như một kháng thể bất kỳ trong số các sdAb kháng CD19 được mô tả trên đây); (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, CAR là đơn đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR có hóa trị một. Theo một số phương án, CAR là đa hóa trị (như hóa trị hai hoặc hóa trị ba). Theo một số phương án, CAR là đa đặc hiệu (như song đặc hiệu).

Một khía cạnh của đơn sáng chế này đề xuất sdAb kháng CD20 bao gồm các vùng CDR có SEQ ID NO:77. Theo một số phương án, sdAb kháng CD20 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 4, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 5 và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO : 6. Theo một số phương án, sdAb kháng CD20 bao gồm miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:77.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể chỉ có chuỗi nặng kháng CD20 (HCAB) hoặc protein liên kết kháng nguyên bao gồm một kháng thể bất kỳ trong số các sdAb kháng CD20 được mô tả trên đây.

Một khía cạnh của đơn sáng chế này đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm CD20 bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào chứa sdAb kháng CD20 (như một kháng thể bất kỳ trong số các sdAb kháng CD20 được mô tả trên đây); (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, CAR là đơn đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR có hóa trị một. Theo một số phương án, CAR là đa hóa trị (như hóa trị hai hoặc hóa trị ba). Theo một số phương án, CAR là đa đặc hiệu (như song đặc hiệu).

Một khía cạnh của sáng chế đề xuất sdAb kháng BCMA bao gồm các vùng CDR có một trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO:78-88. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA chứa một vùng bất kỳ trong số các vùng sau đây:

(1) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 7; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 18; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 29;

(2) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 8; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 19; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 30;

(3) CDR1 cótrình tự axit amin là SEQ ID NO: 9; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 20; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 31;

(4) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 10; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 21; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 32;

(5) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 11; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 22; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 33;

(6) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 12; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 23; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 34;

(7) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 13; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 24; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 35;

(8) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 14; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 25; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 36;

(9) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 15; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 26; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 37;

(10) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 16; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 27; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 38; hoặc

(11) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 17; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 28; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 39.

Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA chứa miền V_HH có trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO: 78-88.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể chỉ có chuỗi nặng kháng BCMA (HCAB) hoặc protein liên kết kháng nguyên bao gồm một kháng thể bất kỳ trong số các sdAb kháng BCMA được mô tả trên đây.

Một khía cạnh của đơn sáng chế đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm BCMA bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào chứa sdAb kháng BCMA (như một kháng thể bất kỳ trong số các sdAb kháng BCMA được mô tả trên đây); (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, CAR là đơn đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR có hóa trị một. Theo một số phương án, CAR là đa hóa trị (như hóa trị hai hoặc hóa trị ba). Theo một số phương án, CAR là đa đặc hiệu (như song đặc hiệu).

Một khía cạnh của đơn sáng chế đề xuất sdAb kháng CD38 bao gồm các vùng CDR có một trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO:89-100. Theo một số phương án, sdAb kháng CD38 chứa một vùng bất kỳ trong số các vùng sau đây:

(1) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 40; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 52; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 64;

(2) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 41; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 53; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 65;

(3) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 42; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 54; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 66;

(4) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 43; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 55; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 67;

(5) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 44; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 56; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 68;

(6) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 45; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 57; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 69;

(7) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 46; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 58; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 70;

(8) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 47; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 59; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 71;

(9) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 48; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 60; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 72;

(10) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 49; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 61; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 73;

(11) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 50; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 62; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 74; hoặc

(12) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 51; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 63; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 75.

Theo một số phương án, sdAb kháng CD38 chứa miền V_HH có trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO: 89-100.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể chỉ có chuỗi nặng kháng BCMA (HCAB) hoặc protein liên kết kháng nguyên bao gồm một kháng thể bất kỳ trong số các sdAb kháng BCMA được mô tả trên đây.

Một khía cạnh của đơn sáng chế đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm CD38 bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào chứa sdAb kháng CD38 (như một kháng thể bất kỳ trong số các sdAb kháng CD38 được mô tả trên đây); (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, CAR là đơn đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR có hóa trị một. Theo một số phương án, CAR là đa hóa trị (như hóa trị hai hoặc hóa trị ba). Theo một số phương án, CAR là đa đặc hiệu (như song đặc hiệu).

Một khía cạnh của đơn sáng chế đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm CD22 bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng CD22; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, CAR là đơn đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR có hóa trị một. Theo một số phương án, CAR là đa hóa trị (như hóa trị hai hoặc hóa trị ba). Theo một số phương án, CAR là đa đặc hiệu (như song đặc hiệu).

Một khía cạnh của đơn sáng chế này đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm (CAR) bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm

kháng thể miền đơn (sdAb) thứ nhất liên kết đặc hiệu vào kháng nguyên thứ nhất và kháng thể miền đơn (sdAb) thứ hai liên kết đặc hiệu vào kháng nguyên thứ hai; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất nằm ở đầu tận cùng N của sdAb thứ hai. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất nằm ở đầu tận cùng C của sdAb thứ hai.

Theo một số phương án theo một CAR bất kỳ trong số các CAR được đề xuất trên đây, kháng nguyên thứ nhất và kháng nguyên thứ hai được chọn lựa từ nhóm gồm CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3, và F77 glycolipit. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất là sdAb kháng BCMA, như một sdAb BCMA bất kỳ trong số các sdAb BCMA được mô tả trên đây. Theo một số phương án, CAR chứa miền liên kết kháng nguyên ngoại bào có ít nhất hai bản sao (như 2, 3, hoặc nhiều hơn nữa) của sdAb kháng BCMA. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất là sdAb kháng CD19, như một kháng thể bất kỳ trong số các sdAb kháng CD19 được mô tả trên đây. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất là sdAb kháng CD20, như một kháng thể bất kỳ trong số các sdAb kháng CD20 được mô tả trên đây. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất là sdAb kháng CD38, như một kháng thể bất kỳ trong số các sdAb kháng CD38 được mô tả trên đây. Theo một số phương án, CAR chứa miền liên kết kháng nguyên ngoại bào có ít nhất hai bản sao (như 2, 3, hoặc nhiều bản sao hơn nữa) của sdAb kháng CD38. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất là sdAb kháng CD22.

Theo một số phương án theo một CAR bất kỳ trong số các CAR được đề xuất trên đây, kháng nguyên thứ nhất là khác biệt với kháng nguyên thứ hai. Theo một số phương án, CAR này là đa đặc hiệu như song đặc hiệu. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất là sdAb kháng BCMA, và sdAb thứ hai là sdAb kháng CD38. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất là sdAb kháng BCMA, và sdAb thứ hai là sdAb kháng CD19. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất là sdAb kháng CD19, và sdAb thứ hai là sdAb kháng CD20. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất là sdAb kháng CD19, và sdAb thứ hai là sdAb kháng CD22.

Theo một số phương án theo một CAR bất kỳ trong số các CAR được đề xuất trên đây, kháng nguyên thứ nhất giống kháng nguyên thứ hai. Theo một số phương án, CAR có hóa trị hai hoặc hóa trị ba. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất và sdAb thứ hai liên kết đặc hiệu vào cùng một epitop. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất giống sdAb thứ

hai. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất và sdAb thứ hai liên kết đặc hiệu vào các epitop khác nhau.

Theo một số phương án theo một CAR bất kỳ trong số các CAR được đề xuất trên đây, sdAb thứ nhất và/hoặc sdAb thứ hai là kháng thể của họ lạc đà, thể khảm, của người hoặc được nhân tính hóa.

Theo một số phương án theo một CAR bất kỳ trong số các CAR được đề xuất trên đây, sdAb thứ nhất và sdAb thứ hai được dung hợp trực tiếp với nhau thông qua một liên kết peptit. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất và sdAb thứ hai được dung hợp với nhau thông qua một gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit không dài hơn khoảng 50 (như khoảng 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ các SEQ ID NO:144-151.

Theo một số phương án theo một CAR bất kỳ trong số các CAR (bao gồm CAR CD19, CAR CD20, CAR BCMA, CAR CD38 và CAR CD22) được đề xuất trên đây, miền xuyên màng được tạo ra từ một phân tử được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền xuyên màng được tạo ra từ CD8 hoặc CD28. Theo một số phương án, miền xuyên màng có trình tự axit amin là SEQ ID NO:132 hoặc SEQ ID NO:133.

Theo một số phương án theo một CAR bất kỳ trong số các CAR (bao gồm CAR CD19, CAR CD20, CAR BCMA, CAR CD38 và CAR CD22) được đề xuất trên đây, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp có trình tự axit amin là SEQ ID NO:140 hoặc SEQ ID NO:141.

Theo một số phương án theo một CAR bất kỳ trong số các CAR (bao gồm CAR CD19, CAR CD20, CAR BCMA, CAR CD38 và CAR CD22) được đề xuất trên đây, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm một miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các Phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích bao gồm miền tế bào chất của CD28 và/hoặc miền tế bào chất của CD137. Theo một số phương án,

miền truyền tín hiệu đồng kích thích có trình tự axit amin là SEQ ID NO:136 và/hoặc SEQ ID NO:137.

Theo một số phương án theo một CAR bất kỳ trong số các CAR (bao gồm CAR CD19, CAR CD20, CAR BCMA, CAR CD38 và CAR CD22) được đề xuất trên đây, CAR còn bao gồm một vùng bản lề nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, miền bản lề được tạo ra từ CD8α. Theo một số phương án, miền bản lề có trình tự axit amin là SEQ ID NO:130.

Theo một số phương án, CAR còn bao gồm peptit tín hiệu nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, peptit tín hiệu được tạo ra từ một phân tử được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, thụ thể GM-CSFα, và chuỗi nặng IgG1. Theo một số phương án, peptit tín hiệu được tạo ra từ CD8α. Theo một số phương án, peptit tín hiệu có trình tự axit amin là SEQ ID NO:127.

Một khía cạnh của đơn sáng chế này đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm của một thụ thể bất kỳ được liệt kê trong các bảng 4, 5 và 6. Theo một số phương án, CAR có trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:152-174, 198-201, 206-216, 248-249, 257-260 và 265-270.

Một khía cạnh của đơn sáng chế này đề xuất polypeptit có trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:76-100, 152-174, 198-201, 206-216, 248-249, 257-260 và 265-270.

Một khía cạnh của đơn sáng chế này đề xuất axit nucleic đã được phân lập có trình tự axit nucleic mã hóa một CAR bất kỳ trong số các CAR (bao gồm CAR CD19, CAR CD20,CAR BCMA, CAR CD38, và CAR CD22) được đề xuất trên đây. Theo một số phương án, trình tự axit nucleic được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:175-197, 202-205, 217-227, 250-251, 261-264 và 271-276. Theo một số phương án, axit nucleic đã được phân lập còn bao gồm trình tự axit nucleic thứ hai mã hoá CAR thứ hai, trong đó trình tự axit nucleic mã hoá CAR này được liên kết theo kiểu hoạt động được vào trình tự axit nucleic thứ hai thông qua trình tự axit nucleic thứ ba mã hoá peptit tự phân cắt, như peptit T2A, P2A, hoặc F2A. Theo một số phương án, trình tự axit nucleic thứ ba là SEQ ID NO:256. Theo một số phương án, axit nucleic đã được phân lập là phân tử ADN. Theo một số phương án, axit nucleic đã được phân lập là phân tử ARN.

Một khía cạnh của đơn sáng chế này đề xuất vật truyền bao gồm một axit nucleic bất kỳ trong số các axit nucleic đã được phân lập được mô tả trên đây. Theo một số phương án, vật truyền này là vật truyền biểu hiện. Theo một số phương án, vật truyền này là vật truyền virut. Theo một số phương án, vật truyền này là vật truyền lentivirut.

Một khía cạnh của đơn sáng chế này đề xuất tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ, bao gồm một CAR bất kỳ trong số các CAR (bao gồm CAR CD19, CAR CD20, CAR BCMA, CAR CD38 và CAR CD22) được đề xuất trên đây, hoặc một axit nucleic bất kỳ trong số các axit nucleic đã được phân lập được mô tả trên đây, hoặc một vật truyền bất kỳ trong số các vật truyền được mô tả trên đây. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ bao gồm hoặc biểu hiện hai hoặc nhiều CAR hơn nữa (bao gồm CAR CD19, CAR CD20, CAR BCMA,CAR CD38 và CAR CD22) được mô tả trên đây, trong đó hai hoặc nhiều CAR hơn nữa này liên kết đặc hiệu vào các kháng nguyên khác nhau. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch là tế bào T, tế bào NK, tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC), tế bào gốc tạo máu, tế bào gốc đa năng, hoặc tế bào gốc phôi thai. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch này là tế bào T.

Một khía cạnh của đơn sáng chế này đề xuất dược phẩm chứa một tế bào bất kỳ trong số các tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ được mô tả trên đây và chất mang dược dụng. Sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư ở cá thể, bao gồm việc cho cá thể này dùnglượng hữu hiệu của một dược phẩm bất kỳ trong số các dược phẩm được mô tả trên đây. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ là tế bào tự thân. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ là tế bào dị sinh. Theo một số phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư dạng lỏng. Theo một số phương án, bệnh ung thư này là bệnh đa u tủy, bệnh bạch cầu nguyên bào bạch huyết bào cấp tính, hoặc bệnh bạch cầu nguyên bào bạch huyết bào mạn tính. Theo một số phương án, bệnh ung thư này là ung thư dạng rắn, như u nguyên bào thần kinh đệm.

Một khía cạnh của đơn sáng chế này đề xuất dược phẩm chứa một kháng thể bất kỳ trong số các sdAb kháng CD19, sdAb kháng CD20, sdAb kháng CD38 hoặc sdAb kháng BCMA được mô tả trên đây và chất mang dược dụng. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh (như ung thư) ở cá thể, bao gồm việc cho cá thể này dùng lượng hữu hiệu của dược phẩm.

Sáng chế còn đề xuất các phương pháp sử dụng, bộ kit và vật dụng do sản xuất bao gồm bất kỳ một trong các kháng thể miền đơn, CAR, các tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ, các axit nucleic được phân lập hoặc các vật truyền được mô tả trên đây.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

FIG.1A so sánh cấu trúc của CAR trên cơ sở V_HH và CAR trên cơ sở scFv thông thường. Cấu trúc dạng sơ đồ ở bên trái thể hiện CAR đơn đặc hiệu hóa trị một làm ví dụ có miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm miền V_HH. Cấu trúc dạng sơ đồ ở bên phải thể hiện CAR đơn đặc hiệu hóa trị một làm ví dụ có miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm miền scFv.

FIG.1B so sánh cấu trúc của CAR trên cơ sở V_HH có hai vị trí liên kết kháng nguyên và CAR trên cơ sở scFv thông thường có hai vị trí liên kết kháng nguyên. Cấu trúc dạng sơ đồ ở bên trái là CAR làm ví dụ có một miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm hai miền V_HH. Hai miền V_HH này có thể giống nhau hoặc khác nhau. Cấu trúc dạng sơ đồ ở bên phải thể hiện CAR làm ví dụ có miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm một miền scFv. Hai miền scFv này có thể giống nhau hoặc khác nhau.

FIG.1C thể hiện cấu trúc dạng sơ đồ của các CAR trên cơ sở V_HH song đặc hiệu và hóa trị hai. Cấu trúc dạng sơ đồở ô trên cùng bên trái thể hiện CAR đơn đặc hiệu, hóa trị hai làm ví dụ có miền liên kết kháng nguyên ngoại bào có hai miền V_HH đồng nhất, mỗi miền trong số hai miền này liên kết đặc hiệu vào epitop 1 của kháng nguyên A. Cấu trúc dạng sơ đồ ở ô trên cùng bên phải thể hiện CAR đơn đặc hiệu, hóa trị hai làm ví dụ có miền liên kết kháng nguyên ngoại bào chứa miền V_HH thứ nhất liên kết đặc hiệu vào epitop 1 của kháng nguyên A, và miền V_HH thứ hai liên kết đặc hiệu vào epitop 2 của kháng nguyên A. Epitop 1 và epitop 2 của kháng nguyên A có thể khác nhau về cấu trúc và/hoặc trình tự. Cấu trúc dạng sơ đồ ở ô dưới cùng bên trái thể hiện CAR song đặc hiệu làm ví dụ có miền liên kết kháng nguyên ngoại bào chứa miền V_HH liên kết đặc hiệu vào kháng nguyên A, và miền V_HH liên kết đặc hiệu vào kháng nguyên B. Kháng nguyên A và kháng nguyên B là các kháng nguyên khác nhau.

FIG.1D thể hiện các cấu trúc dạng sơ đồ của các CAR trên cơ sở V_HH làm ví dụ có ba hoặc nhiều miền V_HH hơn nữa. Các CAR có thể có nhiều miền V_HH được dung hợp trực tiếp với nhau hoặc thông qua các gốc liên kết peptit. Các miền V_HH này có thể

giống nhau hoặc khác nhau. Các miền V_HH khác nhau có thể liên kết đặc hiệu vào các epitop khác nhau trên cùng một kháng nguyên hoặc các kháng nguyên khác nhau.

FIG.1E thể hiện các tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ làm ví dụ đồng biểu hiện hai CAR trên cơ sở V_HH khác nhau. Tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ làm ví dụở ô bên trái đồng biểu hiện hai CAR đơn đặc hiệu, hóa trị một khác nhau. Tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ làm ví dụ ở ô giữa đồng biểu hiện CAR đơn đặc hiệu, hóa trị một và CAR song đặc hiệu hoặc hóa trị hai. Tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ làm ví dụ ở ô bên phải đồng biểu hiện hai CAR song đặc hiệu hoặc hóa trị hai khác nhau. Các CAR có thể nhận biết các kháng nguyên khác nhau.

FIG.2A thể hiện kết quả của thử nghiệm độc tính tế bào *in vitro* của các tế bào T biểu hiện các CAR đơn đặc hiệulàm ví dụ bao gồm nhiều loại kháng thể miền đơn kháng BCMA (tức là, kháng thể kháng CD269) hoặc kháng thể miền đơn kháng CD38 khác nhau kháng lại dòng tế bào đa u tủy RPMI8226.Luc.

FIG.2B thể hiện kết quả của thử nghiệm độc tính tế bào *in vitro* của các tế bào T biểu hiện các CAR đơn đặc hiệu làm ví dụ bao gồm nhiều loại kháng thể miền đơn kháng BCMA (tức là, kháng thể kháng CD269) hoặc kháng thể miền đơn kháng CD38 khác nhau kháng lại dòng tế bào u nguyên bào thần kinh đệm U87MG.Luc.

FIG.3A thể hiện kết quả của thử nghiệm độc tính tế bào *in vitro* của các tế bào T biểu hiện các CAR song đặc hiệu làm ví dụ kháng lại dòng tế bào đa u tủy RPMI8226.Luc.

FIG.3B thể hiện kết quả của thử nghiệm độc tính tế bào *in vitro* của các tế bào T biểu hiện các CAR song đặc hiệu làm ví dụ kháng lại dòng tế bào đa u tủy RPMI8226.Luc.

FIG.4 thể hiện kết quả của thử nghiệm độc tính tế bào *in vitro* của tế bào T biểu hiện các CAR song đặc hiệu làm ví dụ kháng lại dòng tế bào đa u tủy RPMI8226.Luc.

FIG.5 thể hiện các cấu trúc của CAR song đặc hiệu làm ví dụ hướng đích đến CD19 và CD20, CAR đơn đặc hiệu làm ví dụ hướng đích đến CD19 và CAR đơn đặc hiệu làm ví dụ hướng đích đến CD20.

FIG.6 thể hiện kết quả của thử nghiệm độc tính tế bào *in vitro* đối với các tế bào T khác nhau. Ô trên cùng bên trái thể hiện các kết quả của các tế bào T đối chứng không được tải nạp. Ô trên cùng bên phải thể hiện kết quả của các tế bào T biểu hiện CAR

CD19 làm ví dụ. Ô dưới cùng bên trái thể hiện kết quả của các tế bào T biểu hiện CAR CD20 làm ví dụ. Ô dưới cùng bên phải thể hiện kết quả của các tế bào T biểu hiện CAR CD19 x CD20 song đặc hiệu làm ví dụ.

FIG.7 thể hiện kết quả của thử nghiệm chống khối u *in vivo* của các tế bào T biểu hiện CAR song đặc hiệu làm ví dụhướng đích đến CD19 và CD20.

FIG.8A thể hiện kết quả của thử nghiệm độc tính tế bào *in vitro* của các tế bào T biểu hiện các CAR đơn đặc hiệu, hóa trị hai làm ví dụ kháng lại dòng tế bào đa u tủy RPMI8226.Luc. Mỗi CAR trong số các CAR này bao gồm miền liên kết kháng nguyên ngoại bào có hai loại sdAb kháng BCMA khác nhau (tức là, kháng thể kháng CD269).

FIG.8B thể hiện kết quả của thử nghiệm độc tính tế bào *in vitro* của tế bào T biểu hiện các CAR đơn đặc hiệu, hóa trị hai làm ví dụ kháng lại dòng tế bào u nguyên bào thần kinh đệm U87MG.Luc. Mỗi CAR trong số các CAR này bao gồm miền liên kết kháng nguyên ngoại bào có hai loại sdAb kháng BCMA khác nhau (tức là, kháng thể kháng CD269).

Mô tả chi tiết sáng chế

Đơn sáng chế này đề xuất các thụ thể kháng nguyên thể khảm đơn đặc hiệu, đa đặc hiệu (như song đặc hiệu) và đa hóa trị (như hóa trị hai hoặc hóa trị ba) bao gồm các miền liên kết kháng nguyên ngoại bào dựa trên các kháng thể miền đơn (sdAb). Không giống như các đoạn liên kết kháng nguyên được tạo ra từ các kháng thể bốn chuỗi thông thường, sdAb chỉ chứa một miền biến đổi đơn lẻ, như V_HH. Do đó, sdAb có kích cỡ nhỏ hơn nhiều so với các đoạn liên kết kháng nguyên như các scFv hiện đang được sử dụng như là các miền liên kết kháng nguyên ngoại bào trong CAR. Ngoài ra, vì không cần ghép cặp chuỗi nặng và chuỗi nhẹ trong quá trình gấp cuộn của sdAb, nên có thể làm giảm mức gấp cuộn sai của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào trong các tế bào miễn dịch được xử lý công nghệ biểu hiện CAR dựa trên các sdAb. Các CAR có miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm nhiều bản sao của một sdAb hoặc nhiều sdAb hướng đích đến các epitop hoặc kháng nguyên khác nhau có thể được kiến tạo và sản xuấttheo cách tái tổ hợp một cách thuận tiện, nhờ đó cung cấp nền tảng hiệu quả cho việc bào chế và sàng lọc các CAR đa hóa trị và đa đặc hiệu. Ngoài ra, không gian chiếm chỗ nhỏ của sdAb có thể cho phép có sự tiếp cận của các CAR vào các epitop và đích kháng nguyên ẩn giấu trong các mô khối u.

Các CAR đa đặc hiệu và đa hóa trị có thể có độ hiệu nghiệm được cải thiện so với các CAR đơn đặc hiệu, hóa trị một dùng cho liệu pháp miễn dịch ung thư. Các tế bào ung thư không ổn định về mặt gen, cho phép chúng trốn thoát khỏi các liệu pháp có hướng đích bằng cách gây đột biến hoặc làm mất các gen mã hoá các kháng nguyên đích. Bằng cách hướng đích đến hai hoặc nhiều epitop hoặc kháng nguyên khác nhau hơn nữa trên tế bào ung thư, các CAR đa hóa trị hoặc đa đặc hiệu có thể gây khó khăn cho tế bào ung thư hoàn toàn trốn thoát khỏi quá trìnhhướng đích đến bởi các tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ (như các tế bào T) biểu hiện CAR. Do kích cỡ nhỏ của chúng, các kháng thể miền đơn được dung hợp theo kiểu nối tiếp, được sử dụng như các miền liên kết kháng nguyên ngoại bào trong các CAR đa hóa trị hoặc đa đặc hiệu theo đơn sáng chế này, có thể bảo tồnsự toàn vẹn cấu trúc riêng biệt và ái lực liên kết của chúng vào các kháng nguyên đích, nhờ đó cho phép các CAR hướng đích hữu hiệu đến mỗi epitop hoặc kháng nguyên. Các tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ biểu hiện các CAR đa hóa trị hoặc đa đặc hiệu hoặc đồng biểu hiện hai hoặc nhiều thụ thể kháng nguyên thể khảm hơn nữa mà hướng đích đến các kháng nguyên khối u khác nhau có thể vượt qua các cơ chế trốn thoát miễn dịch khối u do các bất thường trong quá trình xử lý và trình diện kháng nguyên-protein.

Vì vậy, một khía cạnh của đơn sáng chế này đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm (CAR) đa đặc hiệu (như song đặc hiệu) chứa polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn (sdAb) thứ nhất liên kết đặc hiệu vào kháng nguyên thứ nhất và kháng thể miền đơn (sdAb) thứ hai liên kết đặc hiệu vào kháng nguyên thứ hai; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó kháng nguyên thứ nhất khác kháng nguyên thứ hai. Theo một số phương án, kháng nguyên thứ nhất là BCMA, và kháng nguyên thứ hai là CD38. Theo một số phương án, kháng nguyên thứ nhất là CD19, và kháng nguyên thứ hai là BCMA. Theo một số phương án, kháng nguyên thứ nhất là CD19, và kháng nguyên thứ hai là CD20. Theo một số phương án, kháng nguyên thứ nhất là CD19, và kháng nguyên thứ hai là CD22.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm (CAR) đa hóa trị chứa polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm nhiều kháng thể miền đơn (sdAb) liên kết đặc hiệu vào kháng nguyên; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm (CAR) đa hóa trị chứa polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn thứ nhất liên kết đặc hiệu vàoepitop thứ nhất của kháng nguyên và kháng thể miền đơn thứ hai liên kết đặc hiệu vàoepitop thứ hai của kháng nguyên; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó kháng nguyên thứ nhất khác kháng nguyên thứ hai.

Sáng chế còn đề xuất các kháng thể miền đơn kháng CD19, kháng CD20, kháng BCMA, và kháng CD38 và các thụ thể kháng nguyên thể khảm bao gồm một kháng thể bất kỳ trong số các sdAb.

Các tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ (như các tế bào T) bao gồm các CAR, dược phẩm, bộ kit, vật dụng do sản xuất và các phương pháp điều trị bệnh ung thưcó sử dụng các tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ hoặc các kháng thể miền đơn cũng được mô tả trong bản mô tả này.

I. Định nghĩa

Việc thực hiện sáng chế sẽ sử dụng, trừ khi được chỉ ra cụ thể trái ngược, các phương pháp virut học, miễn dịch học, vi sinh vật học, sinh học phân tử thông thường và các kỹ thuật ADN tái tổ hợp trong phạm vi hiểu biết của người có kỹ năng trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, nhiều phương pháp trong số đó được mô tả dưới đây nhằm mục đích minh họa. Các kỹ thuật này được giải thích đầy đủ trong tài liệu chuyên ngành. Ví dụ, xem tài liệu:Current Protocols in Molecular Biology hoặc Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, New York, N.Y.(2009); Ausubel *et al*, Short Protocols in Molecular Biology, 3rd ed., Wiley & Sons, 1995; Sambrook and Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (xuất bản lần thứ 3, 2001); Maniatis *et al.* Molecular Cloning:A Laboratory Manual (1982); DNA Cloning:A Practical Approach, vol.I & II (D. Glover, ed.); Oligonucleotide Synthesis (N. Gait, ed., 1984); Nucleic Acid Hybridization (B. Hames & S. Higgins, eds., 1985); Transcription and Translation (B. Hames & S. Higgins, eds., 1984); Animal Cell Culture (R.Freshney, ed., 1986); Perbal, A Practical Guide to Molecular Cloning (1984) và các tài liệu tham chiếu tương tự khác.

Thuật ngữ "kháng thể" bao gồm các kháng thể đơn dòng (bao gồm các kháng thể 4 chuỗicó chiều dài đầy đủ hoặc các kháng thể chỉ có chuỗi nặng có chiều dài đầy đủ mà có vùng Fc globulin miễn dịch), các chế phẩm kháng thể có các kháng thể đa đặc hiệu, đặc

hiệu nhiều epitop (ví dụ, kháng thể song đặc hiệu, song thể, và các phân tử chuỗi đơn), cũng như các đoạn kháng thể (ví dụ, Fab, F (ab ')$_2$, và Fv). Thuật ngữ "globulin miễn dịch" (Ig) được sử dụng hoán đổi cho "kháng thể" trong bản mô tả này. Các kháng thể được dự liệu trong bản mô tả này bao gồm các kháng thể miền đơn, như các kháng thể chỉ có chuỗi nặng.

Đơn vị kháng thể 4 chuỗi cơ bản là một glycoprotein dạng heterotetrame gồm hai chuỗi nhẹ (L) đồng nhất và hai chuỗi nặng (H) đồng nhất. Kháng thể IgM gồm 5 đơn vị trong số các đơn vị heterotetrame cơ bản cùng với polypeptit bổ sung được gọi là chuỗi J và chứa 10 vị trí liên kết kháng nguyên, trong khi các kháng thể IgA chứa từ 2-5 trong số các đơn vị 4 chuỗi cơ bản mà có thể polyme hóa để tạo thành các khối lắp ráp đa hóa trị kết hợp với chuỗi J. Trong trường hợp IgG, đơn vị 4 chuỗi thường có khối lượng phân tử khoảng 150.000 dalton. Mỗi chuỗi L được liên kết với chuỗi H bằng một liên kết disulfua cộng hóa trị, trong khi hai chuỗi H được liên kết với nhau bằng một hoặc nhiều liên kết disulfua phụ thuộc vào kiểu tương đương của chuỗi H. Mỗi chuỗi H và L cũng thường cách đều nhau bởi các cầu disulfua trong chuỗi. Mỗi chuỗi H có tại đầu tận cùng N, miền biến đổi (V_H) sau đó là ba miền hằng định (C_H) đối với mỗi chuỗi trong số các chuỗi α và γ và bốn miền C_H đối với các kiểu tương đương μ và ε. Mỗi chuỗi L có tại đầu tận cùng N, miền biến đổi (V_L) sau đó làmiền hằng định ở đầu kia của nó. Miền V_L được xếp thẳng hàng với V_H và C_L được xếp thẳng hàng với miền hằng định thứ nhất của chuỗi nặng (C_H1). Các gốc axit amin đặc biệt được cho là tạo thành mặt phân giới giữa miền biến đổi chuỗi nhẹ và miền biến đổi chuỗi nặng. Quá trình ghép cặp V_H và V_L với nhau tạo thành một vị trí liên kết kháng nguyên đơn lẻ. Đối với cấu trúc và thuộc tính của các nhóm kháng thể khác nhau, ví dụ, xem tài liệu: *Basic and Clinical Immunology,* xuất bản lần thứ 8, Daniel P. Sties, Abba I. Terr and Tristram G. Parsolw (eds), Appleton & Lange, Norwalk, Conn., 1994, trang 71 và chương 6. Chuỗi L từ loài động vật có xương sống bất kỳ có thể được gán cho một trong hai loại khác biệt rõ ràng, được gọi là kappa và lambda, dựa trên trình tự axit amin của các miền hằng định của chúng. Tùy thuộc vào trình tự axit amin của miền hằng định của chuỗi nặng của chúng (C_H), globulin miễn dịch có thể được gán cho các nhóm hoặc kiểu tương đương khác nhau. Có năm nhóm globulin miễn dịch:IgA, IgD, IgE, IgG và IgM, có các chuỗi nặng được ký hiệu lần lượt là α, δ, ε, γ và μ. Các nhóm γ và α còn được phân chia thành các phân nhóm trên cơ sở sự khác biệt

tương đối nhỏ về trình tự và chức năng của C_H, ví dụ, con người biểu hiện các phân nhóm sau: IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3, IgG4, IgA1 và IgA2.

Thuật ngữ "kháng thể chỉ có chuỗi nặng" hay "HCAb" được dùng để chỉ một kháng thể chức năng, bao gồm các chuỗi nặng, nhưng thiếu chuỗi nhẹ thường thấy trong các kháng thể 4 chuỗi. Các loài động vật họ lạc đà (như lạc đà, lạc đà llama, hoặc lạc đà alpaca) được biết là tạo ra HCAb.

Thuật ngữ "kháng thể miền đơn" hay "sdAb" dùng để chỉ polypeptit liên kết kháng nguyên đơn lẻ có ba vùng quyết định bổ trợ (CDR). Chỉ một mình sdAb có khả năng liên kết vào kháng nguyên mà không cần ghép cặp với một polypeptit chứa CDR tương ứng. Trong một số trường hợp, các kháng thể miền đơn được xử lý công nghệ từ HCAb họ lạc đà, và các miền biến đổi chuỗi nặng của chúng được gọi trong bản mô tả này là "V_HH". Một số V_HH cũng có thể được biết đến dưới cái tên là thể nano. SdAb họ lạc đà là một trong những đoạn kháng thể liên kết kháng nguyên nhỏ nhất đã biết (ví dụ, xem tài liệu:Hamers-Casterman *et al.*, Nature 363:446-8 (1993); Greenberg *et al.*, Nature 374:168-73 (1995); Hassanzadeh-Ghassabeh *et al.*, Nanomedicine (Lond), 8: 1013-26 (2013)). Miền V_HH cơ bản có cấu trúc sau đây từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C:FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4, mà trong đó FR1 đến FR4 dùng để chỉ vùng khung lần lượt từ 1 đến 4, và trong đó CDR1 đến CDR3 dùng để chỉ các vùng quyết định tính bổ trợ từ 1 đến 3.

Kháng thể "được phân lập" là loại kháng thể mà đã nhận diện, tách và/hoặc thu hồi từ một thành phần trong môi trường sản xuất của nó (ví dụ, tự nhiên hoặc tái tổ hợp). Tốt hơn là, polypeptit được phân lập không có liên quan với tất cả các thành phần khác trong môi trường sản xuất của nó. Các thành phần tạp chất trong môi trường sản xuất của nó, ví dụ như các thành phần thu được từ các tế bào được chuyển nhiễm tái tổ hợp, là những vật liệu gây cản trở cho việc nghiên cứu, chẩn đoán hoặc điều trị của kháng thể, và có thể bao gồm enzym, hormon và các chất tan có protein hoặc không có protein khác. Theo các phương án được ưu tiên, polypeptit sẽ được tinh chế:(1) đến mức lớn hơn 95% kháng thể theo trọng lượng như được xác định bằng, ví dụ, phương pháp Lowry, và theo một số phương án, lớn hơn 99% theo trọng lượng; (1) đến một mức độ đủ để có ít nhất 15 gốc của đầu tận cùng N trình tự axit amin bên trong hoặc đầu tận cùng N bằng cách sử dụng thiết bị giải trình tự cốc quay, hoặc (3) đến mức thuần nhất bằng SDS-PAGE trong điều kiện khử hoặc điều kiện không khử bằng các sử dụng phẩm xanh Coomassie hoặc, tốt

hơn là, thuốc nhuộm bạc. Kháng thể được phân lập bao gồm các kháng thể tại chỗ trong các tế bào tái tổ hợp do ít nhất một thành phần của môi trường tự nhiên của kháng thể sẽ không có mặt. Tuy nhiên, thông thường, polypeptit hoặc kháng thể được phân lập sẽ được điều chế bằng ít nhất một bước tinh chế.

"Vùng biến đổi" hoặc "miền biến đổi" của một kháng thể dùng để chỉ các miền đầu tận cùng amin của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể. Các miền biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ có thể được gọi lần lượt là "V_H" và " V_L". Các miền này nhìn chung là những phần biến đổi nhất của kháng thể (so với các kháng thể khác cùng nhóm) và chứa các vị trí liên kết kháng nguyên. Các kháng thể chỉ có chuỗi nặng từ các loài lạc đà có một vùng biến đổi chuỗi nặng đơn lẻ, vùng này được gọi là "V_HH ". Vì vậy, V_HH là một loại đặc biệt của V_H.

Thuật ngữ "biến đổi" dùng để chỉ thực tế là các đoạn nhất định của các miền biến đổi khác biệt rất nhiềuvề trình tự giữa các kháng thể. Miền V làm trung gian cho khả năng liên kết kháng nguyên và xác định độ đặc hiệu của một kháng thể cụ thể với kháng nguyên cụ thể của nó. Tuy nhiên, độ biến đổi không được phân bố đều trên toàn bộ khoảng của các miền biến đổi. Thay vào đó, nó được tập trung vào ba đoạn gọi là vùng siêu biến (HVR) trong cả miền biến đổi chuỗi nhẹ và miền biến đổi chuỗi nặng. Các phần được bảo toàn ở mức cao hơn của các miền biến đổi được gọi là vùng khung (FR). Các miền biến đổi của chuỗi nặng và nhẹ nguyên thể thì mỗi miền bao gồm bốn vùng FR, phần lớn sử dụng cấu hình phiến beta, được kết nối bởi ba HVR, tạo thành các vòng kết nối, và trong một số trường hợp tạo thành một phần của cấu trúc phiến beta. HVR trong mỗi chuỗi được giữ cùng nhau ở gần bằng các vùng FR và, với các HVR từ chuỗi khác, góp phần tạo thành vị trí liên kết kháng nguyên của kháng thể (xem tài liệu: Kabat *et al.*, *Sequences of Immunological Interest*, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, Md.(1991)). Các miền hằng định không liên can trực tiếp đến khả năng liên kết kháng thể vào kháng nguyên, nhưng thể hiện nhiều chức năng tác động khác nhau, như sự tham gia của kháng thể vào độc tính tế bào phụ thuộc vào kháng thể.

Thuật ngữ "kháng thể đơn dòng" như được sử dụng trong bản mô tả này đề cập đến một kháng thể thu được từ một quần thể kháng thể về cơ bản thuần nhất, tức là, các kháng thể riêng biệt bao gồm trong quần thể làđồng nhất ngoại trừ các đột biến có thể xảy ra trong tự nhiên và/hoặc các cải biến sau dịch mã (ví dụ, đồng phân hóa, amit hóa) có thể có mặt với một lượng nhỏ. Các kháng thể đơn dòng có tính đặc hiệu cao, được dẫn

dắt kháng lại một vị trí kháng nguyên đơn lẻ. Trái ngược với các chế phẩm kháng thể đa dòng mà thường bao gồm các kháng thể khác nhau được dẫn dắt kháng lại các quyết định tố khác nhau (các epitop), mỗi kháng thể đơn dòng được dẫn dắt kháng lại một quyết định tố đơn lẻ trên kháng nguyên này. Ngoài tính đặc hiệu của chúng ra, các kháng thể đơn dòng có ưu thế ở chỗ chúng được tổng hợp bằng cách nuôi cấy tế bào lai hoặc tái tổ hợp, không bị nhiễm các globulin miễn dịch khác. Từ bổ nghĩa "đơn dòng" biểu đạt đặc tính của kháng thể này là thu được từ một quần thể về cơ bản thuần nhất của các kháng thể, và không được hiểu là yêu cầu phương pháp sản xuất kháng thể theo bất kỳ phương pháp cụ thể nào. Ví dụ, các kháng thể đơn dòng sẽ được sử dụng theo đơn sáng chế này có thể được tạo ra bằng nhiều kỹ thuật, bao gồm, ví dụ, phương pháp tế bào lai (ví dụ, Kohler and Milstein., *Nature,* 256:495-97 (1975); Hongo *et al.*, *Hybridoma,* 14 (3):253-260 (1995), Harlow *et al.*, *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed.1988); Hammerling *et al.*, trong:*Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas*563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)), các phương pháp ADN tái tổ hợp (ví dụ, xem tài liệu: Patent Mỹ số 4.816.567), các kỹ thuật thể hiện thể thực khuẩn (ví dụ, xem tài liệu: Clackson *et al.*, *Nature,* 352:624-628 (1991); Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.*222:581-597 (1992); Sidhu *et al.*, *J. Mol. Biol.*338 (2):299-310 (2004); Lee *et al.*, *J. Mol. Biol.*340 (5):1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci.USA* 101(34):12467-12472 (2004); và Lee *et al.*, *J. Immunol. Methods* 284(1-2):119-132 (2004), và các công nghệ sản xuất kháng thể của người hoặc kháng thể giống của người ở động vật có các phần hoặc tất cả các ổ gen hoặc gen globulin miễn dịch của người mã hoá các trình tự globulin miễn dịch của người (ví dụ, xem tài liệu: WO 1998/24893; WO 1996/34096; WO 1996/33735; WO 1991/10741; Jakobovits *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.USA* 90:2008 (1993); Jakobovits *et al.*, *Nature* 362:255-258 (1993); Bruggemann *et al.*, *Year in Immunol.*7:33 (1993); Patent Mỹ các số 5.545.807; 5.545.806; 5.569.825; 5.625.126; 5.633.425; và 5.661.016; Marks *et al.*, *Bio/Technology* 10:779-783 (1992); Lonberg *et al.*, *Nature* 368:856-859 (1994); Morrison, *Nature* 368:812-813 (1994); Fishwild *et al.*, *Nature Biotechnol.*14:845-851 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnol.*14:826 (1996); và Lonberg and Huszar, *Intern.Rev. Immunol.*13:65-93 (1995).

Thuật ngữ "kháng thể trần" dùng để chỉ kháng thể mà không tiếp hợp với gốc gây độc tế bào hoặc chất đánh dấu phóng xạ.

Các thuật ngữ "kháng thể có chiều dài đầy đủ", "kháng thể nguyên vẹn" hoặc "kháng thể toàn phần" được sử dụng thay thế cho nhau để chỉ kháng thể ở dạng về cơ bản nguyên vẹn của nó, trái ngược với một đoạn kháng thể. Cụ thể, các kháng thể 4 chuỗi có chiều dài đầy đủ bao gồm các kháng thể có chuỗi nặng và chuỗi nhẹ chứa vùng Fc. Các kháng thể chỉ có chuỗi nặng có chiều dài đầy đủ chỉ chứa chuỗi nặng (như V_HH) và vùng Fc. Các miền hằng định có thể là các miền hằng định của trình tự nguyên thể (ví dụ, các miền hằng định của trình tự nguyên thể của người) hoặc các biến thể trình tự axit amin của chúng. Trong một số trường hợp, kháng thể nguyên vẹn có thể có một hoặc nhiều chức năng tác động.

"Đoạn kháng thể" bao gồm một phần của kháng thể nguyên vẹn, tốt hơn là vùng liên kết kháng nguyên và/hoặc vùng biến đổi của kháng thể nguyên vẹn. Các ví dụ về đoạn kháng thể bao gồm các đoạn Fab, Fab', $F(ab')_2$ và Fv; các song thể; các kháng thể tuyến tính (xem Patent Mỹ số 5.641.870, Ví dụ 2; Zapata *et al.*, *Protein Eng.*8 (10):1057-1062 [1995]); các phân tử kháng thể chuỗi đơn; kháng thể miền đơn (như V_HH), và các kháng thể đa đặc hiệu được tạo ra từ các đoạn kháng thể. Quá trình phân giải các kháng thể bằng papain tạo ra hai đoạn liên kết kháng nguyên đồng nhất, được gọi là đoạn "Fab", và đoạn "Fc" gốc, một tên gọi phản ánh khả năng kết tinh dễ dàng. Đoạn Fab gồm toàn bộ chuỗi Lcùng với miền của vùng biến đổi của chuỗi H (V_H), và miền hằng định thứ nhất của một chuỗi nặng (C_H1). Mỗi đoạn Fab có hóa trị một đối với khả năng liên kết kháng nguyên, tức là, nó có một vị trí liên kết kháng nguyên đơn lẻ. Quá trình xử lý kháng thể bằng pepsin tạo ra một đoạn $F(ab')_2$ lớn đơn lẻ mà gần tương ứng với hai đoạn Fab được liên kết disulfua có hoạt tính liên kết kháng nguyên khác nhau và vẫn có khả năng liên kết chéo kháng nguyên. Các đoạn Fab' khác biệt với các đoạn Fab là có một vài gốc bổ sung tại đầu tận cùng carboxy của miền C_H1 bao gồm cả một hoặc nhiều xystein từ vùng bản lề kháng thể. Fab'-SH là ký hiệu trong bản mô tả này dùng cho Fab', trong đó (các) gốc xystein của các miền hằng định mang một nhóm thiol tự do. Các đoạn kháng thể $F(ab')_2$ ban đầu được sản xuất dưới dạng cặp gồm các đoạn Fab' có các xystein bản lề giữa chúng. Các dạng liên hợp hóa học khác của các đoạn kháng thể thì cũng đã biết.

Đoạn Fc bao gồm các phần đầu tận cùng carboxy của cả hai chuỗi H được giữ lại với nhau bằng các disulfua. Các chức năng tác động của các kháng thể được xác định bởi các trình tự trong vùng Fc, vùng này cũng được nhận biết bởi các thụ thể Fc (FcR) được tìm thấy trên các loại tế bào nhất định.

"Fv" là đoạn kháng thể tối thiểu có chứa một vị trí liên kết và nhận biết kháng nguyên hoàn chỉnh. Đoạn này gồm một dime có một miền của vùng biến đổi chuỗi nặng và một miền của vùng biến đổi chuỗi nhẹ dưới dạng kết hợp không không cộng hóa trị, chặt chẽ. Từ sự gấp cuộn của hai miền này tạo ra sáu vòng siêu biến (3 vòng mỗi vòng là từ chuỗi H và L) đóng góp các gốc axit amin cho khả năng liên kết kháng nguyên và đem lại tính đặc hiệu liên kết kháng nguyên cho kháng thể. Tuy nhiên, thậm chí miền biến đổi đơn (hoặc một nửa của Fv chỉ bao gồm ba HVR đặc hiệu đối với kháng nguyên) cũng có khả năng nhận biết và liên kết kháng nguyên, mặc dù với ái lực thấp hơn so với toàn bộ vị trí liên kết.

"Fv chuỗi đơn" còn được viết tắt là "sFv" hoặc "scFv" là những đoạn kháng thể chứa các miền kháng thể V_H và V_L được nối thành chuỗi polypeptit đơn. Tốt hơn là, polypeptit sFv còn bao gồm gốc liên kết polypeptit giữa các miền V_H và $V_L$mà giúp sFv tạo được cấu trúc mong muốn để liên kết kháng nguyên. Để xem lại về sFv, xem tại liệu: Pluckthun trong *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol.113, Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, trang 269-315 (1994).

"Các đoạn chức năng" của các kháng thể được mô tả trong bản mô tả này bao gồm một phần của kháng thể nguyên vẹn, thường bao gồm vùng liên kết kháng nguyên hoặc vùng biến đổi của kháng thể nguyên vẹn hoặc vùng Fc của kháng thể mà giữ lại hoặc có khả năng liên kết FcR được cải biến. Các ví dụ về đoạn kháng thể bao gồm kháng thể tuyến tính, các phân tử kháng thể chuỗi đơn và các kháng thể đa đặc hiệu được tạo thành từ các đoạn kháng thể.

Thuật ngữ "song thể" dùng để chỉ các đoạn kháng thể nhỏ được điều chế bằng cách kiến tạo các đoạn sFv (xem đoạn văn trước) với các gốc liên kết ngắn (khoảng 5-10 gốc) giữa các miền V_H và V_L sao cho đạt được hiện tượng ghép cặp liên chuỗi, chứ không phải trong chuỗi của các miền V, nhờ đó đem lại đoạn hóa trị hai, tức là, đoạn có hai vị trí liên kết kháng nguyên. Các song thể song đặc hiệu là những heterodime chứa hai đoạn sFv "trao đổi chéo"mà trong đó các miền V_H và V_L của hai kháng thể này có mặt trên các chuỗi polypeptit khác nhau. Các song thể được mô tả chi tiết hơn trong các tài liệu, ví dụ, EP 404, 097; WO 93/11161; Hollinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.USA* 90:6444-6448 (1993).

Cụ thể là, các kháng thể đơn dòng trong bản mô tả này bao gồm các kháng thể (các globulin miễn dịch) "thể khảm", mà trong đó một phần của chuỗi nặng và/hoặc

chuỗi nhẹ là đồng nhất hoặc tương đồng với các trình tự tương ứng trong các kháng thể được tạo ra từ một loài cụ thể hoặc thuộc một nhóm hoặc phân nhóm kháng thể cụ thể, trong khi phần còn lại của (các) chuỗi là đồng nhất hoặc tương đồng với các trình tự tương ứng trong các kháng thể được tạo ra từ một loài khác hoặc thuộc một nhóm hoặc phân nhóm kháng thể khác, cũng như các đoạn của các kháng thể này, miễn là chúng thể hiện hoạt tính sinh học mong muốn (Patent Mỹ số 4.816.567; Morrison *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.USA,* 81:6851-6855 (1984)). Các kháng thể thể khảm đang được quan tâm trong bản mô tả này bao gồm các kháng thể PRIMATTZFD®, trong đó vùng liên kết kháng nguyên của kháng thể được tạo ra từ kháng thể được sản xuất bằng, ví dụ, phương pháp gây miễn dịch khỉ đuôi ngắn macaque bằng kháng nguyên đang được quan tâm. Như được sử dụng trong bản mô tả này, "kháng thể được nhân tính hóa" được sử dụng là tiểu nhóm của "kháng thể thể khảm".

Các dạng "được nhân tính hóa" của các kháng thể không phải của người (ví dụ, họ lạc đà) là các kháng thể thể khảm có chứa trình tự tối thiểu được tạo ra từ globulin miễn dịch không phải của người. Theo một số phương án, kháng thể được nhân tính hóa là globulin miễn dịch của người (kháng thể của đối tượng tiếp nhận), mà trong đó các gốc từ HVR (được định nghĩa dưới đây) của đối tượng tiếp nhậnđược thay thế bằng các gốc từ HVR của loài không phải người (kháng thể của đối tượng cho) như chuột nhắt, chuột cống,thỏ hoặc động vật linh trưởng không phải người có tính đặc hiệu, ái lực, và/hoặc khả năng mong muốn. Trong một số trường hợp, các gốc ("FR") khung của globulin miễn dịch của người được thay thế bằng các gốc không phải của người tương ứng. Hơn nữa, các kháng thể được nhân tính hóa có thể bao gồm các gốc không tìm thấy trong kháng thể của đối tượng tiếp nhận hoặc trong kháng thể của đối tượng cho. Những cải biến này có thể được thực hiện để tinh chỉnh tiếp đặc tính của kháng thể, như ái lực liên kết. Nhìn chung, kháng thể được nhân tính hóa sẽ bao gồm về cơ bản tất cả trong số ít nhất một, và thường là hai miền biến đổi, trong đó tất cả hoặc về cơ bản tất cả các vòng siêu biến là tương ứng với các vòng này của trình tự globulin miễn dịch không phải của người và tất cả hoặc về cơ bản là tất cả các vùng FR là các vùng của trình tự globulin miễn dịch của người, mặc dù các vùng FR có thể bao gồm một hoặc nhiều dạng thay thế gốc FR riêng biệt mà cải thiện đặc tính kháng thể, nhưái lực liên kết, khả năng đồng phân hóa, tính sinh miễn dịch, v.v.. Số dạng thay thế axit amin này trong FR thường không lớn hơn 6 trong chuỗi H, và trong chuỗi L, thì không lớn hơn 3. Các kháng thể được nhân

tính hóa tùy ý cũng sẽ bao gồm ít nhất một phần của vùng hằng định globulin miễn dịch (Fc), thường là của globulin dịch của người. Để biết thêm chi tiết, ví dụ, xem tài liệu: Jones *et al.*, *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, *Nature* 332:323-329 (1988); và Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.*2: 593-596 (1992).Xem thêm, ví dụ, Vaswani and Hamilton, *Ann. Allergy, Asthma &Immunol.* 1:105-115 (1998); Harris, *Biochem. Soc. Transactions* 23:1035-1038 (1995); Hurle and Gross, *Curr. Op. Biotech.*5:428-433 (1994); và Patent Mỹ các số 6.982.321 và 7.087.409.

"Kháng thể của người" là kháng thể chứa trình tự axit amin tương ứng với trình tự axit amin của kháng thể do người sản xuất và/hoặc đã được tạo ra bằng cách sử dụng bất kỳ kỹ thuật nào để tạo ra các kháng thể của người như được bộc lộtrong bản mô tả này. Định nghĩa về kháng thể của ngườinày đặc biệt loại trừ kháng thể được nhân tính hóa chứa các gốc liên kết kháng nguyên không phải của người. Có thể sản xuất các kháng thể của người bằng cách sử dụng các kỹ thuật khác nhau đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm thư viện thể hiện thể thực khuẩn. Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.,* 227:381 (1991); Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.,* 222: 581 (1991). Các phương pháp điều chế các kháng thể đơn dòng của người cũng có sẵn và được mô tả trong tài liệu: Cole *et al.*, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R.Liss, p.77 (1985); Boerner *et al.*, *J. Immunol.,* 147 (1): 86-95 (1991). Xem thêm tài liệu:van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.,* 5:368-74 (2001). Có thể điều chế các kháng thể của người bằng cách cho động vật chuyển gen mà đã được cải biến dùng kháng nguyên để tạo ra các kháng thể như vậy khi đáp ứng với thử thách kháng nguyên, nhưng các ổ gen nội sinh của chúng đã bị vô hiệu hóa, ví dụ, chuột chuyển gen được gây miễn dịch (ví dụ, xem tài liệu: Patent Mỹ các số 6.075.181 và 6.150.584 liên quan đến công nghệ XENOMOUSE™). Xem thêm, ví dụ, Li *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA,* 103: 3557-3562 (2006) liên quan đến các kháng thể của người được tạo ra thông qua công nghệ tế bào lai tế bào B của người.

Thuật ngữ "vùng siêu biến", "HVR" hay "HV" khi sử dụng trong bản mô tả này chỉ các vùng của miền biến đổi của kháng thể mà siêu biến trong trình tự và/hoặc tạo các vòng được định ranh giới về mặt cấu trúc. Nhìn chung, các kháng thể miền đơn bao gồm ba HVR (hoặc CDR):HVR1 (hoặc CDR1), HVR2 (hoặc CDR2) và HVR3 (hoặc CDR3). HVR3 thể hiện tính đa dạng nhất trong số ba HVR, và được cho là đóng vai trò độc nhất trong việc đem lại tính đặc hiệu cao cho kháng thể. Ví dụ, xem tài liệu:Hamers-

Casterman *et al.*, *Nature* 363:446-448 (1993); Sheriff *et al.*, *Nature Struct. Biol.*3: 733-736 (1996).

Thuật ngữ "vùng quyết định tính bổ trợ" hay "CDR" được sử dụng để chỉ các vùng siêu biến như được định nghĩa bởi hệ thống Kabat. Xem tài liệu: Kabat*et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest,* xuất bản lần thứ 5. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.(1991)

Một số dạng khắc họa HVR đang được sử dụng và được bao quát trong bản mô tả này. Các vùng quyết định tính bổ trợ Kabat (CDR) là dựa trên sự biến thiên trình tự và được sử dụng phổ biến nhất (Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest,* xuất bản lần thứ 5. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.(1991)). Thay vào đó, Chothia chỉ vị trí của các vòng cấu trúc (Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.*196: 901-917 (1987)). Các HVR AbM trình bày dạng thỏa hiệp giữa các HVR Kabat và các vòng cấu trúc Chothia, và được sử dụng bởi phần mềm lập mô hình kháng thể AbM của Oxford Molecular. Các HVR "tiếp xúc" dựa trên phân tích về các cấu trúc tinh thể phức hợp có sẵn. Các gốc từ mỗi HVR trong số các HVR này được lưu ý dưới đây trong bảng 1.

Bảng 1:Các dạng khắc họa HVR.

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

Các HVR có thể bao gồm "các HVR mở rộng" như sau: 24-36 hoặc 24-34 (L1), 46-56 hoặc 50-56 (L2) và 89-97 hoặc 89-96 (L3) trong V_L và 26-35 (H1), 50-65 hoặc 49-

65 (H2) và 93-102, 94-102, hoặc 95-102 (H3) trong V_H. Các gốc miền biến đổi được đánh số theo Kabat *et al.*, trên đây, đối với mỗi định nghĩa trong số các định nghĩa này.

Các gốc axit amin của kháng thể miền đơn (như V_HH) được đánh số theo cách đánh số chung cho các miền V_H do Kabat et al. đưa ra ("Sequence of proteins of immunological interest", US Public Health Services, NIH Bethesda, Md., Publication No. 91), như được áp dụng cho các miền V_HH từ họ lạc đà trong bài viết của Riechmann and Muyldermans, J.Immunol. Methods 23 tháng 6 năm 2000; 240 (1-2):185-195. Theo cách đánh số này, FR1 của V_HH bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 1-30, CDR1 của V_HH bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 31-35, FR2 của V_HH bao gồm các axit amin ở các vị trí 36-49, CDR2 của V_HH bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 50-65, FR3 của V_HH bao gồm gốc axit amin ở các vị trí 66-94, CDR3 của V_HH bao gồm gốc axit amin ở các vị trí 95-102 và FR4 của V_HH bao gồm gốc axit amin ở các vị trí 103-113. Theo khía cạnh này, cần lưu ý rằng - như đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này về các miền V_H và về các miền V_HH-tổng số gốc axit amin trong mỗi CDR có thể thay đổi và có thể không tương ứng với tổng số gốc axit amin được chỉ ra bởi phương pháp đánh số Kabat (đó là, một hoặc nhiều vị trí theo phương pháp đánh số Kabat có thể không bị chiếm chỗ trong trình tự thực tế, hoặc trình tự thực tế có thể chứa nhiều gốc axit amin hơn số lượng cho phép theo phương pháp đánh số Kabat).

Dạng diễn đạt "phương pháp đánh số gốc trong miền biến đổi theo Kabat" hoặc "phương pháp đánh số vị trí axit amin theo Kabat" và các dạng thay đổi của nó, dùng để chỉ hệ thống đánh số được sử dụng cho các miền biến đổi chuỗi nặng hoặc các miền biến đổi chuỗi nhẹ trong tập biên soạn về kháng thểtrong tài liệu của Kabat *et al.*, trên đây. Bằng cách sử dụng hệ thống đánh số này, trình tự axit amin tuyến tính có thể chứa ít axit amin bổ sung hơn hoặc chứa các axit amin bổ sung tương ứng với việc rút ngắn hoặc chèn vào, FR hoặc HVR của miền biến đổi. Ví dụ, miền biến đổi chuỗi nặng có thể bao gồm một đoạn chèn axit amin đơn lẻ (gốc 52a theo Kabat) sau gốc 52 của H2 và các gốc được chèn vào (ví dụ, gốc 82a, 82b, và 82c, v.v. theo Kabat) sau gốc FR 82 của chuỗi nặng. Cách đánh số Kabat các gốc có thể được xác định cho một kháng thể đã cho bằng cách xếp thẳng hàng tại các vùng có sự tương đồng của trình tự kháng thể này với một trình tự được đánh số Kabat "tiêu chuẩn".

Trừ khi được biểu đạt khác trong bản mô tả này, việc đánh số các gốc trong chuỗi nặng globulin miễn dịch là theo chỉ số EU như trong Kabat *et al.*, trên đây. "Chỉ số EU như trong Kabat" dùng để chỉ sự đánh số gốc của kháng thể EU IgG1 của người.

Các gốc "khung" hay "FR" là những gốc miền biến đổi khác với gốc HVR như đã xác định trong bản mô tả này.

Thuật ngữ "khung liên ứng của người" hoặc "khung nhận của người" là khung mà có các gốc axit amin tồn tại phổ biến nhất trong quá trình chọn lựa các trình tự khung V_L hoặc V_H của globulin miễn dịch của người. Nhìn chung, việc chọn lựa các trình tự V_L hoặc V_H của globulin miễn dịch của người là từ phân nhóm của các trình tự miền biến đổi. Nhìn chung, phân nhóm của các trình tự là phân nhóm như trong Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest, xuất bản lần thứ 5.* Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.(1991). Các ví dụ cho V_L bao gồm, phân nhóm này có thể là phân nhóm kappa I, kappa II, kappa III hoặc kappa IV như trong Kabat *et al.*, trên đây. Ngoài ra, đối với VH, phân nhóm này có thể là phân nhóm I, phân nhóm II, hoặc phân nhóm III như trong Kabat *et al.* Theo cách khác, khung liên ứng của người có thể được tạo ra từ các phân nhóm trên, trong đó các gốc cụ thể, như khi khung của người được chọn lựadựa trên sự tương đồng của nó với khung cho bằng cách xếp thẳng hàng trình trự khung cho với bộ sưu tập các trình tự khung của người khác nhau. Khung nhận của người "được tạo ra từ" khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người có thể bao gồm cùng một trình tự axit amin với nó, hoặc nó có thể chứa các dạng thay đổi trình tự axit amin tồn tại trước đó. Theo một số phương án, số dạng thay đổi axit amin tồn tại trước đó là 10 hoặc ít hơn, 9 hoặc ít hơn, 8 hoặc ít hơn, 7 hoặc ít hơn, 6 hoặc ít hơn, 5 hoặc ít hơn, 4 hoặc ít hơn, 3 hoặc ít hơn, hoặc 2 hoặc ít hơn.

"Dạng cải biến axit amin" ở một vị trí được chỉ rõ, ví dụ, của vùng Fc, dùng để chỉdạng thay thế hoặc xóa bỏ gốc được chỉ rõ này, hoặc dạng chèn ít nhất một gốc axit amin liền kề với gốc được chỉ rõ này. Dạng chèn "liền kề" với gốc được chỉ rõ nghĩa là dạng chèn trong vòng một đến hai gốc của nó. Dạng chèn này có thể ở đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C với gốc được chỉ rõ. Dạng cải biến axit amin được ưu tiên trong bản mô tả này là dạng thay thế.

Kháng thể "được làm trưởng thành về ái lực" là kháng thể có một hoặc nhiều thay đổi trong một hoặc nhiều HVR của nó đem lại sự cải thiện về ái lực của kháng thể đối với kháng nguyên, so với kháng thể mẹ mà không có (các) thay đổi đó. Theo một số phương

án, kháng thể được làm trưởng thành về ái lực có ái lực ở nồng độ nanomol hoặc thậm chí picomol đối với kháng nguyên đích. Các kháng thể được làm trưởng thành về ái lực được sản xuất theo các quy trình đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, Marks *et al.*, *Bio/Technology* 10:779-783 (1992) mô tả quá trình làm trưởng thành về ái lực bằng cách xáo trộn miền V_H- và V_L. Quá trình tạo đột biến ngẫu nhiên các gốc HVR và/hoặc khung được mô tả bởi tài liệu, ví dụ: Barbas *et al.* P*roc Nat. Acad. Sci.USA* 91:3809-3813 (1994); Schier *et al.* *Gene*169: 147-155 (1995); Yelton *et al.J. Immunol.*155: 1994-2004 (1995); Jackson *et al.*, *J. Immunol.*154 (7): 3310-9 (1995); và Hawkins *et al*, *J. Mol. Biol.*226: 889-896 (1992).

Khi sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "liên kết đặc hiệu", "nhận biết đặc hiệu" hoặc "đặc hiệu với" dùng để chỉ các tương tác có thể đo lường được và tái lập được như khả năng liên kết giữa đích và protein liên kết kháng nguyên (như CAR hoặc sdAb), mà có tính xác định về sự có mặt của đích với sự có mặt của quần thể không đồng nhất của các phân tử bao gồm các phân tử sinh học. Ví dụ, protein liên kết kháng nguyên (như CAR hoặc sdAb) mà liên kết đặc hiệu vào đích (đích này có thể là epitop) là protein liên kết kháng nguyên (như CAR hoặc sdAb) mà liên kết đích này với ái lực, ái tính lớn hơn, dễ dàng hơn, và/hoặc với thời gian dài hơn so với việc nó liên kết các đích khác. Theo một số phương án, mức độ liên kết của protein liên kết kháng nguyên (như CAR hoặc sdAb) vào đích không liên quan ít hơn khoảng 10% mức liên kết của protein liên kết kháng nguyên (như CAR hoặc sdAb) vào đích như được đo, ví dụ, bằng thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA). Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên (như CAR hoặc sdAb) liên kết đặc hiệu vào đích có hằng số phân ly (Kd) $\leqq$ 1 μM, $\leqq$ 100 nM, $\leqq$ 10 nM, $\leqq$ 1 nM, hoặc $\leqq$ 0,1 nM. Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên (như CAR hoặc sdAb) liên kết đặc hiệu vào epitop trên protein mà được bảo toàn trong số protein từ các loài khác nhau. Theo một số phương án, khả năng liên kết đặc hiệu có thể bao gồm, nhưng không đòi hỏi khả năng liên kếtcó tính loại trừ.

Thuật ngữ "tính đặc hiệu" chỉ sự nhận diện chọn lọc của protein liên kết kháng nguyên (như CAR hoặc một sdAb) đối với epitop cụ thể của kháng nguyên. Ví dụ, các kháng thể tự nhiên là đơn đặc hiệu. Thuật ngữ "đa đặc hiệu" như được sử dụng trong bản mô tả này chỉ protein liên kết kháng nguyên (như CAR hoặc sdAb) có hai hoặc nhiều vị trí liên kết kháng nguyên hơn nữa, trong đó có ít nhất hai vị trí liên kết kháng nguyên khác hoặc epitop khác của cùng một kháng nguyên. “Song đặc hiệu" được sử dụng trong

bản mô tả này chỉ protein liên kết kháng nguyên (như CAR hoặc sdAb) có hai vị trí đặc hiệu liên kết kháng nguyên khác nhau. Thuật ngữ CAR "đơn đặc hiệu" như được sử dụng trong bản mô tả nàychỉ protein liên kết kháng nguyên (như CAR hoặc sdAb) có một hoặc nhiều vị trí liên kết, mà mỗi vị trí liên kết cùng một epitop của cùng một kháng nguyên.

Thuật ngữ "hóa trị" như được sử dụng trong bản mô tả này chỉ sự có mặt của số được chỉ rõ các vị trí liên kết trong protein liên kết kháng nguyên (như CAR hoặc sdAb). Ví dụ, kháng thể tự nhiên hoặc kháng thể có độ dài đầy đủ có hai vị trí liên kết và có hóa trị hai. Như vậy, các thuật ngữ "hóa trị ba", "hóa trị bốn", "hóa trị năm" và "hóa trị sáu" lần lượt chỉ sự có mặt của hai vị trí liên kết, ba vị trí liên kết, bốn vị trí liên kết, năm vị trí liên kết, và sáu vị trí liên kết, trong protein liên kết kháng nguyên (như CAR hoặc sdAb).

"Các chức năng tác động của kháng thể" dùng để chỉ các hoạt tính sinh học có thể quy được cho vùng Fc (vùng Fc của trình tự nguyên thể hoặc vùng Fc biến thể của trình tự axit amin) của kháng thể và thay đổi theo kiểu tương đương kháng thể. Các ví dụ về chức năng tác động của kháng thể bao gồm: độc tính tế bào phụ thuộc vào bổ thể và khả năng liên kết C1q; liên kết thụ thể Fc; độc tính tế bào phụ thuộc vào kháng thể qua trung gian tế bào (ADCC); quá trình thực bào; quá trình điều hòa giảm các thụ thể bề mặt tế bào (ví dụ, các thụ thể tế bào B); và quá trình hoạt hóa tế bào B. Chức năng tác động của kháng thể "giảm hoặc giảm thiểu" có nghĩa là giảm ít nhất 50% (theo cách khác, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97% 98%, 99%) so với kháng thể loại hoang dại hoặc kháng thể chưa được cải biến. Việc xác định chức năng tác động của kháng thể là có thể xác định được một cách dễ dàng và có thể đo được bởi chuyên gia có trình độ trung bình trong lĩnh vực này. Theo một phương án được ưu tiên, các chức năng tác động của kháng thể gồm liên kết bổ thể, độc tính tế bào phụ thuộc vào bổ thể và độc tính tế bào phụ thuộc vào kháng thể được tác động. Theo một số phương án, chức năng tác động được loại bỏ thông qua đột biến trong vùng hằng định mà loại bỏ bằng phản ứng glycosyl hóa, ví dụ, "đột biến không có tác động". Theo một khía cạnh, đột biến không có tác động là đột biến N297A hoặc DANA (D265A + N297A) trong vùng C_H2. Shields *et al., J. Biol. Chem.*276 (9):6591-6604 (2001). Theo cách khác, các đột biến bổ sung đem lại chức năng tác động bị giảm hoặc bị loại bỏ bao gồm: K322A và L234A/L235A (LALA). Theo cách khác, có thể làm giảm hoặc loại bỏ chức năng tác động thông qua các kỹ thuật sản xuất, như biểu hiện trong các tế bào chủ mà không glycosyl hóa (ví dụ, *E. coli*.) hoặc trong đó tạo ra mẫu hình glycosyl hóa thay đổi mà không hữu hiệu hoặc

kém hữu hiệu hơn trong việc thúc đẩy chức năng tác động (ví dụ, Shinkawa *et al.*, *J. Biol. Chem.*278 (5):3466-3473 (2003).

"Độc tính tế bào phụ thuộc vào kháng thể qua trung gian tế bào" hay ADCC chỉ dạng độc tính tế bào, trong đó Ig tiết ra được liên kết vào các thụ thể Fc (FcR) có mặt trên các tế bào gây độc tế bào nhất định (ví dụ, các tế bào tiêu diệt tự nhiên NK, bạch cầu trung tính và đại thực bào) giúp cho các tế bào tác động gây độc tế bào này liên kết đặc hiệu được vào tế bào đích mang kháng nguyên và kế tiếp tiêu diệt tế bào đích bằng các độc tố tế bào. Các kháng thể "trang bị cho" các tế bào gây độc tế bào và cần thiết cho việc tiêu diệt tế bào đích bằng cơ chế này. Các tế bào sơ cấp dùng làm trung gian cho ADCC, các tế bào NK, chỉ biểu hiện FcγRIII mà thôi, trong khi các bạch cầu đơn nhân to biểu hiện FcγRI, FcγRII và FcγRIII. Sự biểu hiện Fc trên các tế bào tạo máu được tóm tắt trong bảng 3, trang 464 của tài liệu: Ravetch and Kinet, *Annu.Rev. Immunol.*9:457-92 (1991). Để đánh giá hoạt tính ADCC của phân tử đang được quan tâm, thử nghiệm ADCC*in vitro* như thử nghiệm được mô tả trong Patent Mỹ số 5.500.362 hoặc 5.821.337 có thể được thực hiện. Các tế bào tác động hữu ích cho các thử nghiệm này bao gồm các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC) và các tế bào tiêu diệt tự nhiên (NK). Theo cách khác, hoặc ngoài ra, hoạt tính ADCC của phân tử đang được quan tâm có thể được đánh giá *in vivo*, ví dụ, trong mô hình động vật như mô hình được bộc lộ trong tài liệu: Clynes *et al.*, *PNAS USA* 95: 652-656 (1998).

Thuật ngữ "vùng Fc" trong bản mô tả này được sử dụng để chỉ vùng đầu tận cùng C của chuỗi nặng globulin miễn dịch, bao gồm các vùng Fc có trình tự nguyên thể và các vùng Fc biến thể. Mặc dù các ranh giới của vùng Fc của chuỗi nặng globulin miễn dịch có thể thay đổi, nhưng vùng Fc của chuỗi nặng của IgG của người thường được xác định là kéo dài từ gốc axit amin ở vị trí Cys226, hoặc từ Pro230, đến đầu tận cùng carboxyl của chuỗi này. Lysin đầu tận cùng C (gốc 447 theo hệ thống đánh số Châu Âu) của vùng Fc có thể được loại bỏ, ví dụ, trong quá trình sản xuất hoặc tinh chế kháng thể, hoặc bằng cách xử lý công nghệ tái tổ hợp axit nucleic mã hóa chuỗi nặng của kháng thể. Theo đó, thành phần của các kháng thể nguyên vẹn có thể bao gồm các quần thể kháng thể có tất cả các gốc K447 được loại bỏ, quần thể kháng thể không có gốc K447 nào được loại bỏ, và quần thể kháng thể có hỗn hợp các kháng thể có và không có gốc K447. Các vùng Fc của trình tự nguyên thể thích hợp để sử dụng trong các kháng thể được mô tả trong bản mô tả này bao gồm IgG1, IgG2 (IgG2A, IgG2B), IgG3 và IgG4 của người.

"Ái lực liên kết" nhìn chung chỉ độ mạnh của tổng số của các tương tác không cộng hóa trị giữa một vị trí liên kết đơn lẻ của phân tử (ví dụ, kháng thể hoặc CAR) và đối tác liên kết của nó (ví dụ, kháng nguyên). Trừ khi được biểu đạt khác, như được sử dụng trong bản mô tả này, "ái lực liên kết" chỉ ái lực liên kết nội tại phản ánh sự tương tác 1:1 giữa các thành viên của cặp liên kết (ví dụ, kháng thể và kháng nguyên, hoặc CAR và kháng nguyên). Ái lực của phân tử X với đối tác Y của nó thường có thể được biểu diễn bằng hằng số phân ly (Kd). Ái lực có thể được đo bằng các phương pháp thông thường đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm các phương pháp được mô tả trong bản mô tả này. Các kháng thể có ái lực thấp thường liên kết chậm với kháng nguyên và có xu hướng phân ly dễ dàng, trong khi các kháng thể có ái lực cao thường liên kết nhanh hơn với kháng nguyên và có xu hướng vẫn còn được liên kết lâu hơn. Nhiều phương pháp đo ái lực liên kết thì đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp này có thể được sử dụng cho các mục đích của đơn sáng chế này. Các phương án làm ví dụ và minh họa cụ thể dùng để đo ái lực liên kết được mô tả ở dưới đây.

Kháng thể "phong bế" hoặc kháng thể "đối kháng" là chất ức chế hoặc làm giảm hoạt tính sinh học của kháng nguyên mà nó liên kết. Theo một số phương án, các kháng thể phong bế hoặc các kháng thể đối kháng sẽ ức chế đáng kể hoặc hoàn toàn hoạt tính sinh học của kháng nguyên.

Kháng thể "chủ vận" hoặc kháng thể hoạt hóa là chất tăng cường hoặc khởi đầu quá trình truyền tín hiệu bởi kháng nguyên mà nó liên kết. Theo một số phương án, các kháng thể chủ vận gây ra hoặc hoạt hóaquá trình truyền tín hiệu mà không có mặt của phối tử tự nhiên.

"Độ tương đồng" và "độ đồng nhất trình tự axit amin tính theo phần trăm (%)" so với trình tự peptit, polypeptit hoặc kháng thể được định nghĩa là tỷ lệ phần trăm của các gốc axit amin trong trình tự ứng viên mà đồng nhất với các gốc axit amin trong trình tự polypeptit hoặc peptit cụ thể, sau khi xếp thẳng hàng các trình tự này và đưa vào các khoảng trống, nếu cần thiết, để đạt được độ đồng nhất trình tự tính theo phần trăm tối đa, và không xem các dạng thay thế kiểu bảo toàn bất kỳ là một phần của độ đồng nhất trình tự. Có thể đạt được việc xếp thẳng hàng vì mục đích xác định độ đồng nhất trình tự axit amin tính theo phần trăm theo các cách khác nhau mà thuộc phạm vi kỹ năng trong lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ, bằng cách sử dụng phần mềm vi tính có sẵn cho công chúng như

BLAST, BLAST-2, ALIGN hoặc phần mềm MEGALIGN™ (DNASTAR). Các chuyên gia trong lĩnh vực này có thể xác định các thông số thích hợp cho việc xếp thẳng hàng các trình tự, bao gồm cả các thuật toán bất kỳ cần thiết để đạt được mức xếp thẳng hàng tối đa trên toàn bộ chiều dài đầy đủ của các trình tự được đem so sánh.

"Thụ thể kháng nguyên thể khảm" hay "CAR" được sử dụng trong bản mô tả này chỉ các thụ thể được xử lý công nghệ gen, có thể được sử dụng để ghép một hoặc nhiều tính đặc hiệu kháng nguyên vào các tế bào tác động miễn dịch, như các tế bào T. Một số CAR còn được gọi là "thụ thể tế bào T nhân tạo", "thụ thể tế bào T thể khảm" hoặc "thụ thể miễn dịch thể khảm". Theo một số phương án, CAR chứa miền liên kết kháng nguyên ngoại bào đặc hiệu đối với một hoặc nhiều kháng nguyên (như các kháng nguyên khối u), miền xuyên màng, và miền truyền tín hiệu nội bào của tế bào T và/hoặc các thụ thể khác. "CAR-T" dùng để chỉ tế bào T mà biểu hiện CAR.

Phân tử axit nucleic "được phân lập" mã hoá CAR hoặc sdAb được mô tả trong bản mô tả này là phân tử axit nucleic được nhận diện và được tách khỏi ít nhất một phân tử axit nucleic gây ô nhiễm mà nó thường gắn liền với trong môi trường mà nó được tạo ra. Tốt hơn là, axit nucleic được phân lập không có sự gắn liền với tất cả các thành phần gắn liền với môi trường sản xuất. Các phân tử axit nucleic được phân lập mã hoá các polypeptit và các kháng thể trong bản mô tả này là ở dạng khác so với ở dạng hoặc hoàn cảnh mà nó được tìm thấy trong tự nhiên. Do vậy, các phân tử axit nucleic được phân lập được phân biệt với axit nucleic mã hóa các polypeptit và các kháng thể có trong tự nhiên trong tế bào.

Thuật ngữ "trình tự kiểm soát" dùng để chỉ các trình tự ADN cần thiết để biểu hiện trình tự mã hóa được liên kết theo kiểu hoạt động được trong sinh vật chủ cụ thể. Ví dụ, các trình tự kiểm soát thích hợp cho sinh vật nhân sơ bao gồm gen khởi đầu, tùy ý là trình tự gen chỉ huy và vị trí liên kết ribosom. Các tế bào nhân thực được biết là sử dụng gen khởi đầu, các tín hiệu polyadenyl hóa, và gen tăng cường.

Axit nucleic được "liên kết theo kiểu hoạt động được" khi nó được đặt trong mối quan hệ chức năng với một trình tự axit nucleic khác. Chẳng hạn, ADN cho trình tự dẫn đầu quá trình tiết hoặc tiền trình tự được liên kết theo kiểu hoạt động được vào ADN cho polypeptit nếu nó được biểu hiện như là tiền protein tham gia vào quá trình tiết polypeptit; gen khởi đầu hoặc gen tăng cường được liên kết theo kiểu hoạt động được vào trình tự mã hóa nếu nó tác động đến quá trình phiên mã của trình tự; hoặc vị trí liên kết

ribosom được liên kết theo kiểu hoạt động được vào trình tự mã hoá nếu nó được đặt vào vị trí để tạo thuận lợi cho quá trình dịch mã. Nhìn chung, "được liên kết theo kiểu hoạt động được" có nghĩa là các trình tự ADN được liên kết là liên tiếp, và, trong trường hợp trình tự dẫn đầu quá trình tiết, là liên tiếp và trong pha đọc. Tuy nhiên, các gen tăng cường không cần phải là liên tiếp. Liên kết được thực hiện bằng cách nối kết ở các vị trí giới hạn thuận tiện. Nếu các vị trí như vậy không tồn tại, thì các chất điều hợp hoặc các gốc liên kết oligonucleotit tổng hợp được sử dụng phù hợp với cách thực hành thông thường.

Thuật ngữ “vật truyền”, như được sử dụng trong bản mô tả này, được dùng để chỉ phân tử axit nucleic có khả năng nhân rộng một axit nucleic khác mà nó được liên kết vào đó. Thuật ngữ này bao gồm vật truyền trong vai trò là cấu trúc axit nucleic tự sao chép cũng như vật truyền được sát nhập vào hệ gen của tế bào chủ mà nó đã được đưa vào đó. Các vật truyền nhất định có khả năng dẫn dắt quá trình biểu hiện các axit nucleic mà chúng được liên kết theo kiểu hoạt động được vào đó. Các vật truyền như vậy trong bản mô tả này được gọi là “vật truyền biểu hiện”.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "tự thân" có nghĩa để chỉ vật liệu bất kỳ được tạo ra từ cùng một cá thể mà sau đó vật liệu đó được đưa lại vào cá thể đó.

Thuật ngữ "dị sinh" là mảnh ghép từ cá thể khác cùng loài.

Thuật ngữ "được chuyển nhiễm" hoặc "được biến nạp" hoặc "được tải nạp" như được sử dụng trong bản mô tả này dùng để chỉ quá trình mà axit nucleic ngoại sinh được chuyển hoặc đưa vào tế bào chủ. Tế bào "được chuyển nhiễm" hoặc "biến nạp" hoặc "tải nạp" là tế bào đã được chuyển nhiễm, biến nạp hoặc tải nạp bằng axit nucleic ngoại sinh. Tế bào này bao gồm các tế bào đối tượng sơ cấp và thế hệ con của nó.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, các thuật ngữ "tế bào", "dòng tế bào", và "môi trường nuôi cấy tế bào" được sử dụng thay thế cho nhau và tất cả các tên gọi như vậy bao gồm thế hệ con. Do đó, các từ "chất chuyển nhiễm" và "các tế bào được chuyển nhiễm" bao gồm các tế bào sơ cấp và các môi trường nuôi cấy được tạo ra từ đó mà không quan tâm đến số lần chuyển. Cũng cần phải hiểu rằng tất cả các thế hệ con đều có thể không đồng nhất một cách chính xác về hàm lượng ADN, do các đột biến cố ý hoặc vô ý. Các thế hệ con biến thể có cùng chức năng hoặc hoạt tính sinh học như được sàng lọc trong tế bào được biến nạp ban đầu cũng được lấy vào.

Các thuật ngữ "tế bào chủ", "dòng tế bào chủ" và "môi trường nuôi cấy tế bào chủ" được sử dụng thay thế cho nhau và chỉ các tế bào mà trong đó axit nucleic ngoại sinh được đưa vào, bao gồm cả thế hệ con của các tế bào đó. Các tế bào chủ bao gồm các "chất biến nạp" và "các tế bào được biến nạp", bao gồm tế bào được biến nạp sơ cấp và các thế hệ con được tạo ra từ đó mà không quan tâm đến số lần di chuyển. Các thế hệ con có thể không hoàn toàn đồng nhất về hàm lượng axit nucleic so với tế bào mẹ, nhưng có thể chứa các đột biến. Các thế hệ con đột biến có cùng chức năng hoặc hoạt tính sinh học như được sàng lọc hoặc được chọn lựa trong tế bào được biến nạp ban đầu cũng được lấy vào trong bản mô tả này.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "việc điều trị" hoặc "điều trị" là phương pháp để đạt được các kết quả có lợi hoặc mong muốn bao gồm cả kết quả lâm sàng. Đối với các mục đích của sáng chế này, các kết quả lâm sàng có lợi hoặc mong muốn bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, một hoặc nhiều hiệu quả sau: giảm bớt một hoặc nhiều triệu chứng do bệnh, làm giảm mức độ bệnh, làm ổn định bệnh (ví dụ, ngăn ngừa hoặc trì hoãn tình trạng xấu đi của bệnh), ngăn ngừa hoặc trì hoãn việc lây lan (ví dụ, di căn) của bệnh, ngăn ngừa hoặc trì hoãn sự tái phát của bệnh, trì hoãn hoặc làm chậm sự tiến triển của bệnh, cải thiện tình trạng bệnh, làm giảm (một phần hoặc toàn bộ) bệnh, làm giảm liều của một hoặc nhiều thuốc khác cần thiết để điều trị bệnh, trì hoãn sự tiến triển của bệnh, nâng cao chất lượng cuộc sống, và/hoặc kéo dài sự sống. Thuật ngữ "điều trị" cũng bao quát việc giảm hậu quả bệnh lý của bệnh ung thư. Các phương pháp của đơn sáng chế này dự liệu một hoặc nhiều khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh này của việc điều trị.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, các thuật ngữ "cá thể" hoặc "đối tượng" chỉ động vật có vú, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, người, bò, ngựa, mèo, chó, loài gặm nhấm hoặc động vật linh trưởng. Theo một số phương án, cá thể này là người.

Thuật ngữ "lượng hữu hiệu" được sử dụng trong bản mô tả này chỉ lượng của tác nhân, như kháng thể miễn đơn, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ, hoặc dược phẩm của nó, đủ để điều trị rối loạn, tình trạng hoặc bệnh cụ thể như cải thiện, giảm nhẹ, giảm bớt, và/hoặc trì hoãn một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh. Đối với bệnh ung thư, lượng hữu hiệu bao gồm lượng đủ để làm khối u nhỏ lại và/hoặc làm giảm tốc độ tăng trưởng của khối u (như ức chế sự tăng trưởng của khối u) hoặc để ngăn ngừa hoặc trì hoãn quá trình tăng sinh tế bào không mong muốn khác. Theo một số phương án, lượng

hữu hiệu là lượng đủ để trì hoãn sự phát triển. Theo một số phương án, lượng hữu hiệu là lượng đủ để ngăn ngừa hoặc trì hoãn sự tái phát. Có thể cho dùng lượng hữu hiệu trong một hoặc nhiều lần dùng. Lượng hữu hiệu của thuốc hoặc dược phẩm này có thể: (i) làm giảm số lượng tế bàoung thư; (ii) giảm kích cỡ khối u; (iii) ức chế, làm trễ, làm chậm ở một mức độ nhất định và tốt hơn là làm ngừng sự xâm nhập của tế bào ung thư vào các cơ quan ngoại vi; (iv) ức chế (tức là, làm chậm ở một mức độ nhất định và tốt hơn là làm ngừng) sự di căn khối u; (v) ức chế sự tăng trưởng của khối u; (vi) ngăn ngừa hoặc trì hoãn sự xuất hiện và/hoặc sự tái phát khối u; và/hoặc (vii) làm giảm đến một số mức độ nhất định một hoặc nhiều triệu chứng gắn liền với bệnh ung thư.

"Hoàn cảnh phụ trợ" chỉ hoàn cảnh lâm sàng trong đó cá thể đã từng có tiền sử ung thư, và nhìn chung (nhưng không nhất thiết) có tính đáp ứng với liệu pháp, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, phẫu thuật (ví dụ, phẫu thuật cắt bỏ), xạ trị và hóa trị liệu. Tuy nhiên, bởi vì tiền sử ung thư của họ, những người này được coi là có nguy cơ phát triển bệnh. Điều trị hoặc cho dùng trong "hoàn cảnh phụ trợ" chỉ phương thức điều trị kế tiếp. Mức độ rủi ro (ví dụ, khi cá thể trong hoàn cảnh phụ trợ được coi là "nguy cơ cao" hoặc "nguy cơ thấp") phụ thuộc vào một vài yếu tố, thông thường hơn cả là mức độ bệnh khi điều trị lần đầu tiên.

"Hoàn cảnh phụ trợ trước" là hoàn cảnh lâm sàng trong đó phương pháp này được thực hiện trước liệu pháp dứt điểm/chủ yếu.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "trì hoãn" sự phát triển của ung thư có nghĩa là hoãn lại, làm chậm, làm trễ, làm ổn định, và/hoặc trì hoãn sự phát triển của bệnh. Sự trì hoãn này có thể có các khoảng thời gian khác nhau, tùy thuộc vào tiền sử của bệnh và/hoặc cá thể đang được điều trị. Rõ ràng đối với chuyên gia có trình độ trung bình trong lĩnh vực này,mức trì hoãn đáng kể hoặc đủ, trong thực thế, có thể bao quáthiện tượng phòng ngừa, trong đó cá thể này không phát triển bệnh. Phương pháp mà "trì hoãn" sự phát triển của ung thư là phương pháp làm giảm xác suất phát triển bệnh trong một khung thời gian đã cho và/hoặc làm giảm mức độ bệnh trong một khung thời gian đã cho, khi so sánh với trường hợp không sử dụng phương pháp này. Những so sánh như vậy thường dựa trên các nghiên cứu lâm sàng, bằng cách sử dụng số lượng đáng kể về mặt thống kê các cá thể. Hiện tượng phát triển ung thư là có thể phát hiện được bằng cách sử dụng các phương pháp tiêu chuẩn, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở phương pháp chụp cắt lớp vi tính theo trục (CAT Scan), chụp ảnh cộng hưởng từ (MRI), siêu âm bụng,

các xét nghiệm đông máu, chụp X quang động mạch, hoặc sinh thiết. Sự phát triển cũng có thể chỉ sự tiến triển của ung thư có thể ban đầu không phát hiện được và bao gồm sự xuất hiện, tái phát và khởi phát.

Thuật ngữ "dạng dược phẩm" dùng để chỉ chế phẩm ở dạng cho phép hoạt tính sinh học của thành phần hoạt tính có tác dụng và không chứa các thành phần bổ sung mà gây độc ở mức không chấp nhận được đối với đối tượng mà hợp chất sẽ được sử dụng. Các dạng chế phẩm như vậy là vô trùng. Dạng chế phẩm "vô trùng" là vô khuẩn hoặc không có vi sinh vật sống và các bào tử của chúng.

"Các chất mang" được sử dụng trong bản mô tả này bao gồm các chất mang, tá dược, chất làm ổn định dược dụng không độc đối với tế bào hoặc động vật có vú được tiếp xúc ở liều lượng và nồng độ sử dụng. Thông thường chất mang chấp nhận được về mặt sinh lý là dung dịch nước được đệm pH. Các ví dụ về chất mang chấp nhận được về mặt sinh lý bao gồm các dung dịch đệm như phosphat, xitrat, và các axit hữu cơ khác; chất chống oxy hoá bao gồm axit ascorbic và metionin; chất bảo quản (như octadecyldimetylbenzyl amoni clorua; hexamethoni clorua; benzalkoni clorua, benzethonium clorua; phenol, rượu butyl hoặc benzyl ; các alkyl paraben như metyl hoặc propyl paraben; catechol; resorxinol; xyclohexanol; 3-pentanol; và m-cresol); polypeptit trọng lượng phân tử thấp (ít hơn khoảng 10 gốc); protein, như albumin huyết thanh, gelatin hoặc globulin miễn dịch; polyme ưa nước như polyvinylpyrolidon; các axit amin như glyxin, glutamin, asparagin, arginin hoặc lysin; monosacarit, disacarit, và các carbohydrat khácbao gồm cả glucoza, manoza hoặc dextrin; các chất tạo chelat như EDTA; các loại đường như sucroza, mannitol, trehaloza hoặc sorbitol; các ion đối tạo muối như natri; các phức hợp kim loại (ví dụ,các phức hợp Zn-protein); và/hoặc các chất hoạt động bề mặt không ion như TWEEN™, polyetylen glycol (PEG), và PLURONICS™ hoặc polyetylen glycol (PEG).

"Chất pha loãng" đang được quan tâm trong bản mô tả này là chất dược dụng (an toàn và không độc đối với người) và hữu ích cho việc bào chế chế phẩm dạng lỏng, như chế phẩm hoàn nguyên sau khi đông khô. Các chất pha loãng làm ví dụ bao gồm nước vô trùng, nước kìm vi khuẩn để tiêm (BWFI), dung dịch được đệm pH (ví dụ, muối được đệm phosphat), dung dịch muối vô trùng, dung dịch Ringer hoặc dung dịch dextroza. Theo một phương án khác, các chất pha loãng có thể bao gồm các dung dịch nước muối và/hoặcdung dịch đệm.

"Chất bảo quản" là hợp chất có thể được thêm vào các chế phẩm trong bản mô tả này để làm giảm hoạt tính của vi khuẩn. Việc bổ sung chất bảo quản có thể, ví dụ, tạo thuận lợi cho việc sản xuất chế phẩm đa dụng (đa liều). Các ví dụ về chất bảo quản tiềm năng bao gồm octadecyldimetylbenzyl amoni clorua, hexamethoni clorua, benzalkoni clorua (hỗn hợp alkylbenzyldimetylamoni clorua, trong đó nhóm alkyl là các hợp chất chuỗi dài) và benzethoni clorua. Các loại chất bảo quản khác bao gồm các rượu thơm như rượu phenol, rượu butyl và rượu benzyl, alkyl paraben như metyl hoặc propyl paraben, catechol, resorxinol, xyclohexanol, 3-pentanol và m-cresol. Chất bảo quản được ưu tiên nhất trong bản mô tả này là rượu benzyl.

Dạng chế phẩm "ổn định" là chế phẩm trong đó protein trong chế phẩm này về cơ bản giữ lại được tính nguyên vẹn và tính ổn định vật lý và hóa học của nó khi bảo quản. Các kỹ thuật phân tích khác nhau để đo độ ổn định protein có sẵn trong lĩnh vực này và được nêu trong *Peptide and Protein Drug Delivery,* 247-301, Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, NY, Pubs.(1991) và Jones, A. A*dv. Drug Delivery Rev.* 10:29-90 (1993). Độ ổn định có thể được đo ở nhiệt độ được chọn lựa trong khoảng thời gian được chọn lựa. Để sàng lọc nhanh, dạng chế phẩm có thể được giữ ở 40°C trong 2 tuần đến 1 tháng, ở thời điểm đó độ ổn định được đo. Trường hợp dạng chế phẩm này được bảo quản ở 2-8°C, thông thường chế phẩm này phải ổn định ở 30°C hoặc 40°C trong ít nhất 1 tháng và/hoặc ổn định ở 2-8°C ít nhất 2 năm. Trường hợp dạng chế phẩm được bảo quản ở nhiệt độ 30°C, thông thường dạng chế phẩm này phải ổn định ít nhất 2 năm ở 30°C và/hoặc ổn định ở 40°C trong ít nhất 6 tháng. Ví dụ, mức độ kết tụ trong quá trình bảo quản có thể được sử dụng làm chỉ báo về độ ổn định của protein. Do đó, dạng chế phẩm "ổn định" có thể là chế phẩm trong đó ít hơn khoảng 10% và tốt hơn là ít hơn khoảng 5% protein có mặt dưới dạng kết tụ trong dạng chế phẩm này. Theo các phương án khác, sự tăng về hiện tượng kết tụ bất kỳ trong quá trình bảo quản dạng chế phẩm có thể được xác định.

Dạng chế phẩm "hoàn nguyên" là một chế phẩm đã được bào chế bằng cách hòa tan dạng chế phẩm protein hoặc kháng thể đông khô trong chất pha loãng sao cho protein này được phân tán trong toàn bộ chế phẩm. Dạng chế phẩm hoàn nguyên thích hợp cho việc cho dùng (ví dụ, cho dùng dưới da) cho bệnh nhân cần được điều trị bằng protein đang được quan tâm và, theo một số phương án của đơn sáng chế này, có thể là chế phẩm thích hợp cho phương thức cho dùng ngoài đường tiêu hóa hoặc trong tĩnh mạch.

Dạng chế phẩm "đẳng trương" là chế phẩm về cơ bản có cùng một áp suất thẩm thấu vớimáu của người. Các dạng chế phẩm đẳng trương nhìn chung sẽ có áp suất thẩm thấu nằm trong khoảng từ 250 đến 350 mOsm. Thuật ngữ "nhược trương" mô tả dạng chế phẩm có áp suất thẩm thấu thấp hơn áp suất thẩm thấu của máu của người. Tương ứng, thuật ngữ "ưu trương" được sử dụng để mô tả dạng chế phẩm có áp suất thẩm thấu cao hơn áp suất thẩm thấu của máu của người. Ví dụ, độ đẳng trương có thể được đo bằng cách sử dụng thẩm thấu kế loại đông đá hoặc áp suất hơi. Các dạng chế phẩm theo sáng chế này là ưu trương do việc bổ sung muối và/hoặcdung dịch đệm.

Cần phải hiểu rằng các phương án của đơn sáng chế này được mô tả trong bản mô tả này bao gồm "gồm" và/hoặc "về cơ bản gồm" các phương án.

Dạng đề cập đến "khoảng" trị số hoặc thông số trong bản mô tả này bao gồm (và mô tả) các dạng thay đổi trực tiếp chỉ chính trị số hoặc thông số đó. Ví dụ, phần mô tả về "khoảng X" bao gồm phần mô tả về "X".

Như được sử dụng trong bản mô tả này, dạng đề cập đến "không" một trị số hoặc thông số nhìn chung nghĩa là và mô tả "khác với" trị số hoặc thông số. Ví dụ, phương pháp này không được sử dụng để điều trị bệnh ung thư loại X nghĩa là phương pháp này được sử dụng để điều trị các loại ung thư khác với X.

Thuật ngữ "khoảng X-Y" được sử dụng trong bản mô tả này có cùng ý nghĩa với "khoảng X đến khoảng Y".

Như được sử dụng trong bản mô tả này và trong các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo, dạng số ít "một"bao gồm các dạng số nhiều, trừ khi ngữ cảnh rõ ràng quy định khác.

II. Kháng thể miền đơn

Theo một khía cạnh,đơn sáng chế này đề xuất các kháng thể miền đơn, các đoạn liên kết kháng nguyên của chúng và các protein liên kết kháng nguyên chứa một kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể miền đơn này. Các kháng thể miền đơn làm ví dụ được liệt kê trong bảng 2 dưới đây.

Bảng 2: Các kháng thể miền đơn làm ví dụ

Ab	AA SEQ ID Ví dụ	NA SEQ ID Ví dụ	CDR1	CDR2	CDR3

Các kháng thể miền đơn kháng CD19 làm ví dụ					
CD19 V_HH	76	101	INRMG (SEQ ID NO:1)	SITVRGITNYADSVKG (SEQ ID NO:2)	VSSNRDPDY (SEQ ID NO:3)
Các kháng thể miền đơn kháng CD20 làm ví dụ					
CD20 V_HH	77	102	IGTMG (SEQ ID NO:4)	AIRWSTGGTRYADSVKG (SEQ ID NO:5)	DRLSLDLSGRYHYNPAVYDY (SEQ ID NO:6)
Các kháng thể miền đơn kháng BCMA làm ví dụ					
269A 37346	78	103	SGFTLDYYAIG (SEQ ID NO:7)	CISRSDGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:18)	AGADCSGYLRDYEF (SEQ ID NO:29)
269A 37348	79	104	SGRTFSTYGMA (SEQ ID NO:8)	SKASMNYSGRTYYADSVKG (SEQ ID NO:19)	AGTGCSTYGCFDAQIIDY (SEQ ID NO:30)
269A 37917	80	105	SGRTFTMG (SEQ ID NO:9)	AISLSPTLAYYAESVKG (SEQ ID NO:20)	ADRKSVMSIRPDY (SEQ ID NO:31)
269A 37355	81	106	SGGIFVINAMG (SEQ ID NO:10)	SIRGLGRTNYDDSVKG (SEQ ID NO:21)	VYVTLLGGVNRDY (SEQ ID NO:32)
269A 37915	82	107	SGRTFSSIVMG (SEQ ID NO:11)	AIMWNDGITYLQDSVKG (SEQ ID NO:22)	ASKGRYSEYEY (SEQ ID NO:33)
269A 37936	83	108	SGFTFDRAVIV (SEQ ID NO:12)	FIKPSDGTIYYIDSLKG (SEQ ID NO:23)	ASPEDWYTDWIDWSIYR (SEQ ID NO:34)
269A 37953	84	109	STYTVNSDVMG	AIMWNDGITYLQDSVKG	ASKGRYSEYEY (SEQ ID NO:35)

			(SEQ ID NO:13)	(SEQ ID NO:24)	
269A37965	85	110	SGATLTNDHMA (SEQ ID NO:14)	AIDWSGRTTNYADPVEG (SEQ ID NO:25)	VLRAWISYDNDY (SEQ ID NO:36)
269A37972	86	111	SGGTLSKNTVA (SEQ ID NO:15)	SITWDGRTTYYADSVKG (SEQ ID NO:26)	DLGKWPAGPADY (SEQ ID NO:37)
269A37353	87	112	SEHTFSSHVMG (SEQ ID NO:16)	VIGWRDISTSYADSVKG (SEQ ID NO:27)	ARRIDAADFDS (SEQ ID NO:38)
269A37948	88	113	SGRAFSTYFMA (SEQ ID NO:17)	GIAWSGGSTAYADSVKG (SEQ ID NO:28)	SRGIEVEEFGA (SEQ ID NO:39)
Các kháng thể miền đơn kháng CD38 làm ví dụ					
38A37333	89	114	SGLTFSSYPMM (SEQ ID NO:40)	RISDSGGYTNYDDSVKG (SEQ ID NO:52)	ILGLPT (SEQ ID NO:64)
38A37336	90	115	SGFTFSSNWMY (SEQ ID NO:41)	TISTDGRGTYYKDSVKG (SEQ ID NO:53)	KEPRVLMAYLRNLGDFGS (SEQ ID NO:65)
38A37699	91	116	SGRIFSINAMG (SEQ ID NO:42)	AISTAGSTNYGDSVKG (SEQ ID NO:54)	LNFPPYVY (SEQ ID NO:66)
38A37331	92	117	SGSIFKVFRVFAMS	SISSGETTTYADSVKG	ADHTFTGDF (SEQ ID NO:67)

			(SEQ ID NO:43)	(SEQ ID NO:55)	
38A3 7717	93	118	TGKVFSIYDM G (SEQ ID NO:44)	EITSSGTTHYDDFV SG (SEQ ID NO:56)	NHVFGGSY (SEQ ID NO:68)
38A3 7719	94	119	SASIFTRLPMG (SEQ ID NO:45)	GIVPSGRINYADSV KG (SEQ ID NO:57)	ADTFPLPT (SEQ ID NO:69)
38A3 7330	95	120	SGRAYATMA (SEQ ID NO:46)	HLRVSGDTTYYTD SVKG (SEQ ID NO:58)	GPYGILAAARVS NPGNYDY (SEQ ID NO:70)
38A3 7334	96	121	SGLTFSSYIM G (SEQ ID NO:47)	EISSGGMTSYDSV KG (SEQ ID NO:59)	APERGSIWYSRY EYKY (SEQ ID NO:71)
38A3 7730	97	122	SQGIFTINAM G (SEQ ID NO:48)	EVSSGGRTDYADS VKG (SEQ ID NO:60)	VSGWHVFVGDRI V (SEQ ID NO:72)
38A3 7340	98	123	SGRTFSSYAM A (SEQ ID NO:49)	SISTSGGITDYADS VKG (SEQ ID NO:61)	ARTWYLRTSLQY DY (SEQ ID NO:73)
38A3 7731	99	124	SGTIVSISTMG (SEQ ID NO:50)	TITRRGRTNYTDS VKG (SEQ ID NO:62)	AEVQLDIWASAY DY (SEQ ID NO:74)
38A3 7326	100	125	SGRTYAMG (SEQ ID NO:51)	TISGAGNTKYADS VKG (SEQ ID NO:63)	AGKWFPAANEY (SEQ ID NO:75)

Các kháng thể miền đơn kháng CD19

Theo một khía cạnh, đơn sáng chế này đề xuất các kháng thể miền đơn được phân lập mà liên kết đặc hiệu vào CD19, như CD19 của người. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 điều biến hoạt tính CD19. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 là kháng thể đối kháng.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD19 chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR của trình tự axit amin là SEQ ID NO:76. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD19 chứa ít nhất một, ít nhất hai, hoặc tất cả ba CDR được chọn lựa từ (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:1; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:2; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:3. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD19 chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 %, hoặc 100% với trình tự axit amin là SEQ ID NO: 1; (b) CDR2 có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 %, hoặc 100% với trình tự axit amin là SEQ ID NO: 2; và (c) CDR3 có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 %, hoặc 100% với trình tự axit amin là SEQ ID NO: 3. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD19 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, CDR có độ đồng nhất ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% chứa các dạng thay thế (ví dụ, các dạng thay thế có tính bảo toàn),

các dạng chèn vào hoặc các dạng xóa bỏ so với trình tự tham chiếu, nhưng kháng thể miền đơn kháng CD19 bao gồm trình tự đó giữ lại khả năng liên kết vào CD19. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD19 được làm trưởng thành về ái lực. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 chứa một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD19 chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:1; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:2; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:3. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD19 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD19 chứa miền V_HH có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin là SEQ ID NO:76. Theo một số phương án, trình tự V_HH có độ đồng nhất ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% chứa các dạng thay thế (ví dụ, các dạng thay thế có tính bảo toàn), các dạng chèn vào hoặc các dạng xóa bỏ so với trình tự tham chiếu, nhưng kháng thể miền đơn kháng CD19 bao gồm trình tự đó giữ lại khả năng liên kết vào CD19. Theo một số phương án, tổng số 1 đến 10 axit amin đã được thay thế, chèn vàovà/hoặcxóa bỏ trong trình tự axit amin là SEQ ID NO:76. Theo một số phương án, các đoạn thay thế, các đoạn chèn vào hoặc các đoạn xóa bỏ xảy ra trong các vùng nằm bên ngoài các CDR (tức là, trong các FR). Tùy ý, kháng thể miền đơn kháng CD19 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:76, bao gồm cả dạng cải biến sau dịch mãcủa trình tự đó. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD19 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 chứa một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD19 chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:76. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:76.

Theo một số phương án, các epitop chức năng có thể được lập bản đồ bằng phương pháp quét alanin tổ hợp. Trong quá trình này, chiến lược quét alanin tổ hợp có thể được sử dụng để nhận diện các axit amin trong protein CD19 cần thiết cho sự tương tác với các kháng thể miền đơn kháng CD19. Theo một số phương án, epitop có cấu hình riêng và cấu trúc tinh thể của kháng thể miền đơn kháng CD19 được liên kết vào CD19 có thể được sử dụng để nhận diện các epitop. Theo một số phương án, đơn sáng chế này đề xuất kháng thể liên kết đặc hiệu vào cùng một epitop như kháng thể bất kỳ trong số các miền đơn kháng CD19 được đề xuất trong bản mô tả này. Ví dụ, theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop là kháng thể miền đơn kháng CD19 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:76.

Theo một số phương án, đơn sáng chế này đề xuất kháng thể kháng CD19, hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó, liên kết đặc hiệu vào CD19 theo kiểu cạnh tranh với kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể miền đơn kháng CD19 được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, khả năng liên kết cạnh tranh có thể được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm ELISA. Ví dụ, theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào CD19 theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng CD19 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 76

Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến kháng thể kháng CD19 hoặc protein liên kết kháng nguyên chứa kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể miền đơn kháng CD19 được mô tả trên đây. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD19 là kháng thể đơn dòng, bao gồm kháng thể thuộc họ lạc đà, thể khảm, được nhân tính hóa hoặc của người. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD19 là đoạn kháng thể, ví dụ, đoạn V_HH. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD19 là kháng thể chỉ có chuỗi nặng có vùng Fc của nhóm kháng thể bất kỳ hoặc kiểu tương đương, như IgG1 hoặc IgG4. Theo một số phương án, vùng Fc có chức năng tác động giảm hoặc giảm thiểu.

Theo một số phương án, kháng thể kháng CD19 (như kháng thể miền đơn kháng CD19) hoặc protein liên kết kháng nguyên theo phương án bất kỳ trong số các phương án trên đây có thể kết hợp đặc điểm bất kỳ trong số các đặc điểm, ở dạng đơn lẻ hoặc dạng kết hợp, như được mô tả trong các phần 1-7 về "các đặc điểm của kháng thể" dưới đây.

Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể kháng CD19 (như các kháng thể miền đơn kháng CD19) được mô tả trên đây. Theo một số phương án, axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể miền đơn kháng CD19 được đề xuất trong đó axit nucleic này chứa trình tự có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% với trình tự axit nucleic là SEQ ID NO: 101. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập bao gồm trình tự axit nucleic là SEQ ID NO:101. Theo một số phương án, vật truyền (ví dụ, vật truyền biểu hiện) bao gồm axit nucleic như vậy được đề xuất. Theo một số phương án, tế bào chủ chứa axit nucleic như vậy được đề xuất. Theo một số phương án, phương pháp tạo kháng thể kháng CD19 được đề xuất, trong đó phương pháp này bao gồm việc nuôi cấy tế bào chủ chứa axit nucleic mã hóa kháng thể kháng CD19, như được đề xuất trên đây, trong các điều kiện thích hợp để biểu hiện kháng thể kháng CD19, và tùy ý thu hồi kháng thể kháng CD19 từ tế bào chủ (hoặc môi trường nuôi cấy tế bào chủ).

Kháng thể miền đơn kháng CD20

Theo một khía cạnh, đơn sáng chế này đề xuất các kháng thể miền đơn được phân lập liên kết đặc hiệu vào CD20, như CD20 của người. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD20 điều biến hoạt tính CD20. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD20 là kháng thể đối kháng.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD20 chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR của trình tự axit amin là SEQ ID NO:77. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD20 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD20 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD20 bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD20 chứa ít nhất một, ít nhất hai, hoặc tất cả ba CDR được chọn lựa từ (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:4; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:5; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:6. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD20 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD20 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD20 bao gồm một khung

nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD20 chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 %, hoặc 100% với trình tự axit amin là SEQ ID NO: 4; (b) CDR2 có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 %, hoặc 100% với trình tự axit amin là SEQ ID NO: 5; và (c) CDR3 có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 %, hoặc 100% với trình tự axit amin là SEQ ID NO: 6. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD20 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD20 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, CDR có độ đồng nhất ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% chứa các dạng thay thế (ví dụ, các dạng thay thế có tính bảo toàn), các dạng chèn vào hoặc các dạng xóa bỏ so với trình tự tham chiếu, nhưng kháng thể miền đơn kháng CD20 bao gồm trình tự đó giữ lại khả năng liên kết vào CD20. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD20 được làm trưởng thành về ái lực. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD20 thuộc họ lạc đà.Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD20 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD20 bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD20 chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:4; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:5; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:6. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD20 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD20 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD20 bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD20 chứa V_HH có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình

tự axit amin là SEQ ID NO:77. Theo một số phương án, trình tự V_HH có độ đồng nhất ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% chứa các dạng thay thế (ví dụ, các dạng thay thế có tính bảo toàn), các dạng chèn vào hoặc các dạng xóa bỏ so với trình tự tham chiếu, nhưng kháng thể miền đơn kháng CD20 bao gồm trình tự đó giữ lại khả năng liên kết vào CD20. Theo một số phương án, tổng số 1 đến 10 axit amin đã được thay thế, chèn vàovà/hoặc xóa bỏ trong trình tự axit amin là SEQ ID NO:77. Theo một số phương án, các đoạn thay thế, các đoạn chèn vào hoặc các đoạn xóa bỏ xảy ra trong các vùng nằm bên ngoài các CDR (tức là, trong các FR). Tùy ý, kháng thể miền đơn kháng CD20 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:77, bao gồm cả các dạng cải biến sau dịch mã của trình tự đó.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD20 chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:77. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:77.

Theo một số phương án, các epitop chức năng có thể được lập bản đồ bằng phương pháp quét alanin tổ hợp. Trong quá trình này, chiến lược quét alanin tổ hợp có thể được sử dụng để nhận diện các axit amin trong protein CD20 cần thiết cho sự tương tác với các kháng thể miền đơn kháng CD20. Theo một số phương án, epitop có cấu hình riêng và cấu trúc tinh thể của kháng thể miền đơn kháng CD20 được liên kết vào CD20 có thể được sử dụng để nhận diện các epitop. Theo một số phương án, đơn sáng chế này đề xuất kháng thể liên kết đặc hiệu vào cùng một epitopvới kháng thể bất kỳ trong số các miền đơn kháng CD20 được đề xuất trong bản mô tả này. Ví dụ, theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitopvới kháng thể miền đơn kháng CD20 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:77.

Theo một số phương án, đơn sáng chế này đề xuất kháng thể kháng CD20, hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó, liên kết đặc hiệu vào CD20 theo kiểu cạnh tranh với kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể miền đơn kháng CD20 được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, khả năng liên kết cạnh tranh có thể được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm ELISA. Ví dụ, theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào CD20 theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng CD20 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 77

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể kháng CD20 hoặc protein liên kết kháng nguyên chứa kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể miền đơn kháng CD20 được mô tả trên đây. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD20 là kháng thể đơn dòng, bao gồm kháng thể thuộc họ lạc đà, thể khảm, được nhân tính hóa hoặc của người. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD20 là đoạn kháng thể, ví dụ, đoạn V_HH. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD20 là kháng thể chỉ có chuỗi nặng có chiều dài đầy đủ chứa vùng Fc của nhóm kháng thể bất kỳ hoặc kiểu tương đương, như IgG1 hoặc IgG4. Theo một số phương án, vùng Fc có chức năng tác động giảm hoặc giảm thiểu.

Theo một số phương án, kháng thể kháng CD20 (như kháng thể miền đơn kháng CD20) hoặc protein liên kết kháng nguyên theo phương án bất kỳ trong số các phương án trên đây có thể kết hợp đặc điểm bất kỳ trong số các đặc điểm, ở dạng đơn lẻ hoặc dạng kết hợp, như được mô tả trong các phần 1-7 về "các đặc điểm của kháng thể" dưới đây.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuấtaxit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể kháng CD20 (như các kháng thể miền đơn kháng CD20) được mô tả trên đây. Theo một số phương án, axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể miền đơn kháng CD20 được đề xuất trong đó axit nucleic này chứa trình tự có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% với trình tự axit nucleic là SEQ ID NO: 102. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập bao gồm trình tự axit nucleic của SEQ ID NO:102. Theo một số phương án, vật truyền, ví dụ, vật truyền biểu hiện) chứa axit nucleic như vậy được đề xuất. Theo một số phương án, tế bào chủ chứa axit nucleic như vậy được đề xuất. Theo một số phương án, phương pháp tạo kháng thể kháng CD20 được đề xuất, trong đó phương pháp này bao gồm việc nuôi cấy tế bào chủ chứa axit nucleic mã hóa kháng thể kháng CD20, như được đề xuất trên đây, trong các điều kiện thích hợp để biểu hiện kháng thể kháng CD20, và tùy ý thu hồi kháng thể kháng CD20 từ tế bào chủ (hoặc môi trường nuôi cấy tế bào chủ).

Kháng thể miền đơn kháng BCMA

Theo một khía cạnh, đơn sáng chế này đề xuất các kháng thể miền đơn được phân lập liên kết đặc hiệu vào BCMA, như BCMA của người. Theo một số phương án, kháng

thể miền đơn kháng BCMA điều biến hoạt tính BCMA. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA là kháng thể đối kháng.

Kháng nguyên trưởng thành tế bào B (BCMA), còn được gọi là CD269, là một thành viên của siêu họ thụ thể yếu tố hoại tử khối u, ấy là TNFRSF17 (Thompson et al, J.Exp. Medicine, 192 (1):129-135, 2000). BCMA của người hầu như chỉ được biểu hiện trong các tương bào và các tế bào đa u tủy(ví dụ, xem tài liệu: Novak et al, Blood, 103(2):689-694, 2004; Neri et al., Clinical Cancer Research, 73(19):5903-5909; Felix et al., Mol. Oncology, 9(7):1348-58, 2015). BCMA có thể liên kết yếu tố hoạt hóa tế bào B (BAFF) và phối tử kích thích hiện tượng tăng sinh (APRIL) (ví dụ, Mackay et al., 2003 và Kalled et al., Immunological Review, 204:43-54, 2005). BCMA có thể là đích kháng nguyên khối u thích hợp cho các tác nhân trị liệu miễn dịch chống lại bệnh đa u tủy. Các kháng thể có ái lực cao có thể phong bế khả năng liên kết giữa BCMA và các phối tử nguyên thể của nó là BAFF và APRIL. Các kháng thể miền đơn kháng BCMA có thể được sử dụng kết hợp với liệu pháp miễn dịch tế bào bằng cách sử dụng các tế bào CAR-T, ví dụ, để tăng cường các tác dụng gây độc tế bào chống lại các tế bào khối u.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR có trình tự axit amin là SEQ ID NO:78. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR có trình tự axit amin là SEQ ID NO:79. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR có trình tự axit amin là SEQ ID NO:80. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR có trình tự axit amin là SEQ ID NO:81. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR có trình tự axit amin là SEQ ID NO:82. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR có trình tự axit amin là SEQ ID NO:83. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR có trình tự axit amin là SEQ ID NO:84. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR có trình tự axit amin là SEQ ID NO:85. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR có trình tự axit amin là SEQ ID NO:86. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR có trình tự axit

amin là SEQ ID NO:87. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR có trình tự axit amin là SEQ ID NO:88. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa ít nhất một, ít nhất hai, hoặc tất cả ba CDR được chọn lựa từ (a) CDR1 có trình tự axit amin được chọn lựa từ SEQ ID NO:7-17; (b) CDR2 có trình tự axit amin được chọn lựa từ SEQ ID NO:18-28; và (c) CDR3 có trình tự axit amin được chọn lựa từ SEQ ID NO:29-39. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 %, hoặc 100% với trình tự axit amin được chọn lựa từ SEQ ID NO: 7-17; (b) CDR2 có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 %, hoặc 100% với trình tự axit amin được chọn lựa từ SEQ ID NO: 18-28; và (c) CDR3 có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 %, hoặc 100% với trình tự axit amin được chọn lựa từ SEQ ID NO: 29-39. Theo một số phương án, CDR có độ đồng nhất ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% chứa các dạng thay thế (ví dụ, các dạng thay thế có tính bảo toàn), các dạng chèn vào hoặc các dạng xóa bỏ so với trình tự tham chiếu, nhưng kháng thể miền đơn kháng BCMAbao gồm trình tự đó giữ lại khả năng liên kết vào BCMA. Theo một số phương án, kháng thể miền đơnkháng BCMA được làm trưởng thành về ái lực. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA được nhân tính hóa. Theo một số

phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:7; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:18; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:29. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:8; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:19; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:30. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:9; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:20; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:31. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:10; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:21; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:32. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:11; (b) CDR2 có trình

tự axit amin là SEQ ID NO:22; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:33. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:12; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:23; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:34. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:13; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:24; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:35. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:14; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:25; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:36. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:15; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:26; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:37. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA được nhân tính hóa. Theo một số phương

án, kháng thể miền đơn kháng BCMA bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:16; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:27; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:38. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:17; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:28; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:39. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa miền V_HH có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin được chọn lựa từ SEQ ID NO:78-88. Theo một số phương án, trình tự V_HH có độ đồng nhất ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% chứa các đoạn thay thế (ví dụ, các đoạn thay thế có tính bảo toàn), các đoạn chèn vào hoặc các đoạn xóa bỏ so với trình tự tham chiếu, nhưng kháng thể miền đơn kháng BCMA bao gồm trình tự đó giữ lại khả năng liên kết vào BCMA. Theo một số phương án, tổng số từ 1 đến 10 axit amin đã được thay thế, chèn vào và/hoặc xóa bỏ trong trình tự axit amin được chọn lựa từ SEQ ID NO:78-88. Theo một số phương án, các đoạn thay thế, các đoạn chèn vào hoặc các đoạn xóa bỏ xảy ra trong các vùng nằm bên ngoài các CDR (tức là, trong các FR). Tùy ý, kháng thể miền đơn kháng BCMA bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ SEQ ID NO:78-88, bao gồm cả các dạng cải biến sau dịch mã của trình tự đó.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:78. Theo một số phương án, sáng chế đề

xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:78. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:79. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:79. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:80. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:80. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:81. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:81. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:82. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:82. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:83. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:83. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:84. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:84. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:85. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:85. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:86. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:86. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:87. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:87. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng BCMA chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:88. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:88.

Theo một số phương án, các epitop chức năng có thể được lập bản đồ bằng phương pháp quét alanin tổ hợp. Trong quá trình này, chiến lược quét alanin tổ hợp có thể được sử dụng để nhận diện các axit amin trong protein BCMA cần thiết cho sự tương tác với các kháng thể miền đơn kháng BCMA. Theo một số phương án, epitop có cấu hình riêng và cấu trúc tinh thể của kháng thể miền đơn kháng BCMA được liên kết vào

BCMA có thể được sử dụng để nhận diện các epitop. Theo một số phương án, đơn sáng chế này đề xuất kháng thể liên kết đặc hiệu vào cùng một epitop như kháng thể bất kỳ trong số các miền đơn kháng BCMA được đề xuất trong bản mô tả này. Ví dụ, theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO:78. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO:79. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO:80. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO:81. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO:82. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO:83. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO:84. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO:85. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO:86. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO:87. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO:88.

Theo một số phương án, đơn sáng chế này đề xuất kháng thể kháng BCMA, hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó, liên kết đặc hiệu vào BCMA theo kiểu cạnh tranh với kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể miền đơn kháng BCMA được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, khả năng liên kết cạnh tranh có thể được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm ELISA. Ví dụ, theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào BCMA theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 78. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào BCMA theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 79. Theo một số phương án, kháng thể được

đề xuất liên kết đặc hiệu vào với BCMA theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 80. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào BCMA theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 81. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào BCMA theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 82. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào BCMA theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 83. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào BCMA theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 84. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào BCMA theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 85. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào BCMA theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 86. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào BCMA theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 87. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào BCMA theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng BCMA có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 88

Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến kháng thể kháng BCMA hoặc protein liên kết kháng nguyên chứa kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể miền đơn kháng BCMA được mô tả trên đây. Theo một số phương án, kháng thể kháng BCMA là kháng thể đơn dòng, bao gồm kháng thể thuộc họ lạc đà, thể khảm, được nhân tính hóa hoặc của người. Theo một số phương án, kháng thể kháng BCMA là đoạn kháng thể, ví dụ, đoạn V_HH. Theo một số phương án, kháng thể kháng BCMA là kháng thể chỉ có chuỗi nặngcó chiều dài đầy đủ có vùng Fc của nhóm kháng thể bất kỳ hoặc kiểu tương đương, như IgG1 hoặc IgG4. Theo một số phương án, vùng Fc có chức năng tác động giảm hoặc giảm thiểu.

Theo một số phương án, kháng thể kháng BCMA (như kháng thể miền đơn kháng BCMA) hoặc protein liên kết kháng nguyên theo phương án bất kỳ trong số các phương án trên đây có thể kết hợp đặc điểm bất kỳ trong số các đặc điểm, ở dạng đơn lẻ hoặc dạng kết hợp, như được mô tả trong các phần 1-7 về "Các đặc điểm của kháng thể" dưới đây.

Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể kháng BCMA (như các kháng thể miền đơn kháng BCMA) được mô tả trên đây. Theo một số phương án, axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể miền đơn kháng BCMA được đề xuất trong đó axit nucleic này bao gồm một trình tự có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% với trình tự axit nucleic được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:103-113. Theo một số phương án, sáng chế đề xuấtaxit nucleic được phân lập bao gồm trình tự nucleic được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:103-113. Theo một số phương án, một vật truyền, ví dụ, vật truyền biểu hiện) chứa axit nucleic như vậy được đề xuất. Theo một số phương án, tế bào chủ chứa axit nucleic như vậy được đề xuất. Theo một số phương án, phương pháp tạo kháng thể kháng BCMA được đề xuất, trong đó phương pháp này bao gồm việc nuôi cấy tế bào chủ chứa axit nucleic mã hóa kháng thể kháng BCMA, như được đề xuất trên đây, trong các điều kiện thích hợp để biểu hiện kháng thể kháng BCMA, và tùy ý thu hồi kháng thể kháng BCMA từ tế bào chủ (hoặc môi trường nuôi cấy tế bào chủ).

Kháng thể miền đơn kháng CD38

Theo một khía cạnh, đơn sáng chế này đề xuất các kháng thể miền đơn được phân lập liên kết đặc hiệu vào CD38, như CD38 của người. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 điều biến hoạt tính CD38. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 này là kháng thể đối kháng.

CD38 là glycoprotein xuyên màng loại II mà gắn liền với các thụ thể bề mặt tế bào, điều hòa luồng Ca^{2+} trong tế bào chất, và làm trung gian cho quá trình tải nạp tín hiệu trong dạng bạch huyết và tủy (Konopleva et al., J Immunol, 161:4702-8, 1998; Deaglio et al., Blood, 109:5390-8, 2007). CD38 của người biểu hiện ở mức độ cao và đồng đều trên các tế bào u bạch huyết và được biểu hiện ở mức tương đối thấp trên các tế bào dạng bạch huyết và tủybình thường và ở một số mô không có nguồn gốc tạo máu, điều này khiến nó trở thành đích tiềm năng trong điều trị bệnh u tủy (ví dụ, xem tài liệu:Lin *et al.*, *Am J Clin Pathol*, 2004, 121:482; H. M.Lokhorst *et al.*, *New Eng.J. Med.*, 2015, 373:13).

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR của trình tự axit amin là SEQ ID NO:89. Theo một số

phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR của trình tự axit amin là SEQ ID NO:90. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR của trình tự axit amin là SEQ ID NO:91. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR của trình tự axit amin là SEQ ID NO:92. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR của trình tự axit amin là SEQ ID NO:93. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR của trình tự axit amin là SEQ ID NO:94. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR của trình tự axit amin là SEQ ID NO:95. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR của trình tự axit amin là SEQ ID NO:96. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR của trình tự axit amin là SEQ ID NO:97. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR của trình tự axit amin là SEQ ID NO:98. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR của trình tự axit amin là SEQ ID NO:99. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa một, hai hoặc tất cả ba CDR của trình tự axit amin là SEQ ID NO:100. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa ít nhất một, ít nhất hai, hoặc tất cả ba CDR được chọn lựa từ (a) CDR1 có trình tự axit amin được chọn lựa từ SEQ ID NO: 40-51; (b) CDR2 có trình tự axit amin được chọn lựa từ SEQ ID NO:52-63; và (c) CDR3 có trình tự axit amin được chọn lựa từ SEQ ID NO:64-75.Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 %, hoặc 100% với trình tự axit amin được chọn lựa từ SEQ ID NO: 40-51; (b) CDR2 có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 %, hoặc 100% với trình tự axit amin được chọn lựa từ SEQ ID NO: 52-63; và (c) CDR3 có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 %, hoặc 100% với trình tự axit amin được chọn lựa từSEQ ID NO: 64-75. Theo một số phương án, CDR có độ đồng nhất ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% chứa các dạng thay thế (ví dụ, các dạng thay thế có tính bảo toàn), các dạng chèn vào hoặc các dạng xóa bỏ so với trình tự tham chiếu, nhưng kháng thể miền đơn kháng CD38 bao gồm trình tự đó giữ lại khả năng liên kết vào CD38. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người. Theo một số phương án, kháng thể miền đơnkháng CD38 được làm trưởng thành về ái lực.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:40; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:52; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:64. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:41; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:53; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:65. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 được nhân tính hóa. Theo một số phương

án, kháng thể miền đơn kháng CD38 bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:42; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:54; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:66. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:43; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:55; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:67. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:44; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:56; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:68. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:45; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:57; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:69. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:46; (b) CDR2 có trình

tự axit amin là SEQ ID NO:58; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:70. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:47; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:59; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:71. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:48; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:60; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:72. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:49; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:61; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:73. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:50; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:62; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:74. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 được nhân tính hóa. Theo một số phương

án, kháng thể miền đơn kháng CD38 bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:51; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:63; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:75. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 thuộc họ lạc đà. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD38 bao gồm một khung nhận của người, ví dụ, khung globulin miễn dịch của người hoặc khung liên ứng của người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa miền V_HH có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100%với trình tự axit amin được chọn lựa từ SEQ ID NO:89-100. Theo một số phương án, trình tự V_HH có độ đồng nhất ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% chứa các dạng thay thế (ví dụ, các dạng thay thế có tính bảo toàn), các dạng chèn vào hoặc các dạng xóa bỏ so với trình tự tham chiếu, nhưng kháng thể miền đơn kháng CD38 bao gồm trình tự đó giữ lại khả năng liên kết vào CD38. Theo một số phương án, tổng sốtừ 1 đến 10 axit amin đã được thay thế, chèn vào và/hoặc xóa bỏ trong trình tự axit amin được chọn lựa từ SEQ ID NO:89-100. Theo một số phương án, các đoạn thay thế, các đoạn chèn vào hoặc các đoạn xóa bỏ xảy ra trong các vùng nằm bên ngoài các CDR (tức là, trong các FR). Tùy ý, kháng thể miền đơn kháng CD38 bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ SEQ ID NO:89-100, bao gồm cả các dạng cải biến sau dịch mã của trình tự đó.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:89. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:89. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:90. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:90. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:91. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:91. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa miền V_HH có trình tự axit amin

là SEQ ID NO:92. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:92. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:93. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:93. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:94. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:94. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:95. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:95. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:96. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:96. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:97. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:97. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:98. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:98. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:99. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:99. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn kháng CD38 chứa miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:100. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO:100.

Theo một số phương án, các epitop chức năng có thể được lập bản đồ bằng phương pháp quét alanin tổ hợp. Trong quá trình này, chiến lược quét alanin tổ hợp có thể được sử dụng để nhận diện các axit amin trong protein CD38 cần thiết cho sự tương tác với các kháng thể miền đơn kháng CD38. Theo một số phương án, epitop có cấu hình riêng và cấu trúc tinh thể của kháng thể miền đơn kháng CD38 được liên kết vào CD38 có thể được sử dụng để nhận diện các epitop. Theo một số phương án, đơn sáng chế này đề xuất kháng thể liên kết đặc hiệu vào cùng một epitopvới kháng thể bất kỳ trong số các miền đơn kháng CD38 được đề xuấttrong bản mô tả này. Ví dụ, theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:89. Theo một số phương án, kháng thể được

đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:90. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:91. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:92. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:93. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:94. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:95. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:96. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:97. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:98. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:99. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết vào cùng một epitop với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:100.

Theo một số phương án, đơn sáng chế này đề xuất kháng thể kháng CD38, hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó, liên kết đặc hiệu vào CD38 theo kiểu cạnh tranh với kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể miền đơn kháng CD38 được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, khả năng liên kết cạnh tranh có thể được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm ELISA. Ví dụ, theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào CD38 theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 89. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào CD38 theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 90. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào CD38 theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 91. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào CD38 theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 92. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất

liên kết đặc hiệu vào CD38 theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 93. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào CD38 theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 94. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào CD38 theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 95. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào CD38 theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 96. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào CD38 theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 97. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào CD38 theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 98. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào CD38 theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 99. Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất liên kết đặc hiệu vào CD38 theo kiểu cạnh tranh với kháng thể miền đơn kháng CD38 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 100.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể kháng CD38 hoặc protein liên kết kháng nguyên chứa kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể miền đơn kháng CD38 được mô tả trên đây. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD38 là kháng thể đơn dòng, bao gồm kháng thể thuộc họ lạc đà, thể khảm, được nhân tính hóa hoặc của người. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD38 là đoạn kháng thể, ví dụ, đoạn V_HH. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD38 là kháng thể chỉ có chuỗi nặng có chiều dài đầy đủ có vùng Fc của nhóm kháng thể bất kỳ hoặc kiểu tương đương, như IgG1 hoặc IgG4. Theo một số phương án, vùng Fc có chức năng tác động giảm hoặc giảm thiểu.

Theo một số phương án, kháng thể kháng CD38 (như kháng thể miền đơn kháng CD38) hoặc protein liên kết kháng nguyên theo phương án bất kỳ trong số các phương án trên đây có thể kết hợp đặc điểm bất kỳ trong số các đặc điểm, ở dạng đơn lẻ hoặc dạng kết hợp, như được mô tả trong các phần 1-7 về "Các đặc điểm của kháng thể" dưới đây.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể kháng CD38 (như các kháng thể miền đơn kháng CD38) được mô tả trên đây. Theo một số phương án, axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể miền đơn kháng CD38 được đề xuất trong đó axit nucleic này bao gồm một

trình tự có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% với trình tự axit nucleic được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:114-125. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập bao gồm trình tự nucleic được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:114-125. Theo một số phương án, một vật truyền, ví dụ, vật truyền biểu hiện) chứa axit nucleic như vậy được đề xuất. Theo một số phương án, tế bào chủ chứa axit nucleic như vậy được đề xuất. Theo một số phương án, phương pháp tạo kháng thể kháng CD38 được đề xuất, trong đó phương pháp này bao gồm việc nuôi cấy tế bào chủ chứa axit nucleic mã hóa kháng thể kháng CD38, như được đề xuất trên đây, trong các điều kiện thích hợp để biểu hiện kháng thể kháng CD38, và tùy ý thu hồi kháng thể kháng CD38 từ tế bào chủ (hoặc môi trường nuôi cấy tế bào chủ).

Các đặc điểm của kháng thể

1.Ái lực của kháng thể

Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất trong bản mô tả này có hằng số phân ly (Kd) là ≤ 1μM, ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, ≤ 0,1 nM, ≤ 0,01 nM, hoặc ≤ 0,001 nM, ví dụ,10^{-8} M hoặc nhỏ hơn, ví dụ, từ 10^{-8} M đến 10^{-13} M, ví dụ, từ 10^{-9} M đến 10^{-13} M).

Theo một số phương án, Kd được đo bằng thử nghiệm liên kết kháng nguyên được đánh dấu phóng xạ (RIA) được thực hiện với phiên bản Fab hoặc đoạn V_HH của kháng thể đang được quan tâm và kháng nguyên của nó như được mô tả bằng thử nghiệm dưới đây. Ví dụ, ái lực liên kết dung dịch của Fab đối với kháng nguyên được đo bằng cách làm cân bằng Fab bằng nồng độ tối thiểu của kháng nguyên được dánh dấu bằng (^{125}I) với sự có mặt của dãy chuẩn độ của kháng nguyên không được dánh dấu, sau đó, bắt kháng nguyên đã được liên kết bằng đĩa được phủ bằng kháng thể kháng Fab (ví dụ, xem tài liệu:Chen et al., *J. Mol. Biol.*293:865-881(1999)). Để thiết lập các điều kiện cho thử nghiệm, đĩa đa lỗ MICROTITER® (Thermo Scientific) được phủ qua đêm bằng 5 μg/ml của kháng thể kháng Fab bắt (Cappel Labs) trong natri carbonat 50mM (độ pH 9,6), và kế tiếp được phong bế bằng 2% (trọng lượng/thể tích) albumin huyết thanh bò trong PBS trong hai đến năm giờ ở nhiệt độ trong phòng (xấp xỉ 23°C). Trong đĩa không hấp phụ (số Nunc 269620), kháng nguyên [^{125}I] 100pM hoặc 26pM được trộn với các dung dịch pha loãng theo dãy của Fab đang được quan tâm (ví dụ, nhất quán với sự đánh giá về kháng

thể kháng VEGF, Fab-12, trong tài liệu: Presta et al., *Cancer Res.*57:4593-4599 (1997)). Sau đó, Fab đang được quan tâm được ủ qua đêm; tuy nhiên, việc ủ có thể tiếp tục trong khoảng thời gian lâu hơn (ví dụ, khoảng 65 giờ) để đảm bảo rằng đạt đến được độ cân bằng. Sau đó, các hỗn hợp được chuyển sang đĩa bắt dùng cho việc ủ ở nhiệt độ trong phòng (ví dụ, trong một giờ). Sau đó, dung dịch này được loại ra và đĩa được rửa tám lần bằng polysorbat 20 0,1% (TWEEN-20®) trong PBS. Khi các đĩa đã khô, 150 µl/lỗ của chất nhấp nháy (MICROSCINT-20™; Packard) được bổ sung, và các đĩa được đếm trên thiết bị đếm gama TOPCOUNT™ (Packard) trong mười phút. Các mức nồng độ của mỗi Fab mà đem lại ít hơn hoặc bằng 20% của mức liên kết tối đa được chọn để sử dụng trong các thử nghiệm liên kết cạnh tranh.

Theo một số phương án, Kd được đo bằng cách sử dụng các thử nghiệm cộng hưởng plasmon bề mặt có sử dụng công cụ BIACORE®-2000 hoặc BIACORE ®-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) ở 25°C bằng kháng nguyên được làm bất động trên chip CM5 ở mức ~10 đơn vị đáp ứng (RU). Nói một cách vắn gọn, chip cảm biến sinh học dextran được carboxymetyl hóa (CM5, BIACORE, Inc.) được hoạt hóa bằng *N*-etyl-*N'*-(3-dimetylaminopropyl)-carbodiimit hydroclorua (EDC) và *N*-hydroxysuxinimit (NHS) theo các hướng dẫn của nhà cung cấp. Kháng nguyên được pha loãng bằng natri axetat 10mM, độ pH 4, 8, đến 5µg/ml (~0, 2µM) trước khi tiêm ở tốc độ dòng chảy là 5µl/phút để đạt được xấp xỉ 10 đơn vị đáp ứng (response unit-RU) của protein được liên hợp. Sau khi tiêm kháng nguyên, etanolamin 1M được tiêm để phong bế các nhóm chưa phản ứng. Đối với các phép đo động lực học, các dung dịch pha loãng hai lần theo dãy của Fab hoặc V_HH của kháng thể đang được quan tâm (0,78nM đến 500nM) được tiêm trong PBS với chất hoạt động bề mặt polysorbat 20 0,05% (TWEEN-20™) (PBST) ở 25°C ở tốc độ dòng chảy là xấp xỉ 25µl/phút. Tốc độ kết hợp (k_{on}) và tốc độ phân ly (k_{off}) được tính toán bằng cách sử dụng mô hình liên kết Langmuir một-một đơn giản (BIACORE® Evaluation Software phiên bản 3.2) bằng cách vẽ theo điểm một cách đồng thời các biểu đồ cảm biến kết hợp và phân ly. Hằng số phân ly cân bằng (Kd) được tính ở dạng tỷ lệ k_{off}/k_{on}.Ví dụ, xem tài liệu:Chen et al., *J. Mol. Biol.*293:865-881 (1999). Nếu tốc độ kết hợp vượt quá 10^6 M^{-1} s^{-1}bằng thử nghiệm cộng hưởng plasmon bề mặt trên đây, thì tốc độ kết hợp có thể được xác định bằng cách sử dụng kỹ thuật dập tắt huỳnh quang mà đo mức tăng hoặc giảm về cường độ phát huỳnh quang (kích thích = 295nm; phát xạ = 340nm, 16nm thông dải) ở 25°C của kháng thể kháng kháng nguyên 20nM (dạng Fab) trong PBS,

độ pH 7,2, với sự có mặt của các mức nồng độ tăng dần của kháng nguyên như được đo trong phổ kế, như quang phổ kế được trang bị bộ phận ngừng dòng chảy (Aviv instruments) hoặc quang phổ kế 8000-series SLM-AMINCO ™ (ThermoSpectronic) với chậu thủy tinh có thiết bị khuấy.

2. Các đoạn kháng thể

Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất trong bản mô tả này là đoạn kháng thể. Các đoạn kháng thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các đoạn Fab, Fab', Fab'-SH, $F(ab')_2$, Fv, và đoạn scFv, V_HH và các đoạn khác được mô tả dưới đây. Để tìm hiểu về các đoạn kháng thể nhất định, xem tài liệu: Hudson et al. N*at. Med.*9:129-134 (2003). Để tìm hiểu về các đoạn scFv, ví dụ, xem tài liệu: Pluckthün, trong*The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol.113, Rosenburg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp.269-315 (1994); xem thêm tài liệu: WO 93/16185; và các Patent Mỹ số 5.571.894 và 5.587.458. Để biết phần bàn luận về các đoạn Fab và$F(ab')_2$ bao gồm các gốc epitop liên kết thụ thể cứu trợ và có thời gian bán hủy in vivo tăng, xem Patent Mỹ số 5.869.046.

Các song thể là các đoạn kháng thể có hai vị trí liên kết kháng nguyên mà có thể là hóa trị hai hoặc song đặc hiệu. Ví dụ, xem EP 404.097; WO 1993/01161; Hudson et al., *Nat. Med.*9:129-134 (2003); và Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.USA* 90:6444-6448 (1993). Các tam thể và tứ thể cũng được mô tả trong tài liệu: Hudson et al. N*at. Med.*9:129-134 (2003).

Các đoạn kháng thể có thể được tạo ra bằng các kỹ thuật khác nhau, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, kỹ thuật phân giải bằng thủy phân protein kháng thể nguyên vẹn cũng như kỹ thuật sản xuất bằng các tế bào chủ tái tổ hợp (ví dụ, *E. coli* hoặc thể thực khuẩn), như được mô tả trong bản mô tả này.

3. Kháng thể thể khảm và kháng thể được nhân tính hóa

Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất trong bản mô tả này là kháng thể thể khảm. Các kháng thể thể khảm nhất định được mô tả, ví dụ, trong tài liệu: Patent Mỹ số 4.816.567; và Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.USA,* 81:6851-6855 (1984)). Theo một ví dụ, kháng thể thể khảm bao gồm vùng biến đổi không phải của người (ví dụ, vùng biến đổi được tạo ra từ loài họ lạc đà, như llama) và vùng hằng định của người. Theo một

ví dụ khác, kháng thể thể khảm là kháng thể "được chuyển nhóm" mà trong đó nhóm hoặc phân nhóm đã được thay đổi so với nhóm hoặc phân nhóm của kháng thể mẹ. Các kháng thể thể khảm bao gồm các đoạn liên kết kháng nguyên của chúng.

Theo một số phương án, kháng thể thể khảm là kháng thể được nhân tính hóa. Thông thường, kháng thể không phải của người được nhân tính hóa để làm giảm tính sinh miễn dịch đối với người, trong khi giữ lại tính đặc hiệu và ái lực của kháng thể mẹ không phải của người. Nhìn chung, kháng thể được nhân tính hóa bao gồm một hoặc nhiều miền biến đổi mà trong đó các HVR, ví dụ, các CDR, (hoặc các phần của chúng) được tạo ra từ kháng thể không phải của người, và các FR (hoặc các phần của chúng) được tạo ra từ các trình tự kháng thể của người. Kháng thể được nhân tính hóa tùy ý sẽ còn bao gồm ít nhất một phần của vùng hằng định của người. Theo một số phương án, một số gốc FR ở kháng thể được nhân tính hóa được thế bằng các gốc tương ứng từ kháng thể không phải của người (ví dụ, kháng thể mà các gốc HVR được tạo ra từ đó), ví dụ, để phục hồi hoặc cải thiện ái lực hoặc tính đặc hiệu kháng thể.

Các kháng thể được nhân tính hóa và các phương pháp tạo ra chúng được tìm hiểu, ví dụ, trong tài liệu: Almagro and Fransson, *Front.* B*iosci.*13:1619-1633 (2008), và được mô tả thêm, ví dụ, trong tài liệu: Riechmann et al., *Nature 332: 323-329 (1988); Queen et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989); các Patent Mỹ số 5.821.337, 7.527.791, 6.982.321, và 7.087.409; Kashmiri *et al.*, *Methods* 36:25-34 (2005) (mô tả việc ghép vùng quyết định tính đặc hiệu (specificity determining region-SDR)(a-CDR)); Padlan, *Mol. Immunol.*28:489-498 (1991) (mô tả "việc tạo lại bề mặt"); Dall'Acqua et al., *Methods* 36:43-60 (2005) (mô tả "việc sắp xếp lại FR"); và Osbourn et al., *Methods* 36:61-68 (2005) và Klimka et al., *Br.J. Cancer* , 83:252-260, 2000 (mô tả phương pháp "chọn lựa có hướng dẫn" đối với việc làm xáo trộn FR).

Các vùng khung của người mà có thể được sử dụng cho phương pháp nhân tính hóa bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở:các vùng khung được chọn lựa bằng cách sử dụng phương pháp "khớp nhất"(ví dụ, xem tài liệu: Sims et al. *J. Immunol.*151:2296 (1993)); các vùng khung được tạo ra từ trình tự liên ứng của các kháng thể của người của một phân nhóm cụ thể của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ hoặc vùng biến đổi của chuỗi nặng (ví dụ, xem tài liệu:Carter et al. P*roc. Natl. Acad. Sci.USA*, 89:4285 (1992); và Presta et al.*J. Immunol.*, 151:2623 (1993)); các vùng khung trưởng thành của người (được gây đột biến tế bào cơ thể) hoặc các vùng khung dòng mầm của người (ví dụ, xem

tài liệu:Almagro and Fransson, *Front. Biosci.*13:1619-1633 (2008)); và các vùng khung được tạo ra từ thư viện FR sàng lọc ((ví dụ, xem tài liệu: Baca et al., *J. Biol. Chem.*272:10678-10684 (1997) và Rosok et al., *J. Biol. Chem.*271:22611-22618 (1996)).

Theo một số phương án, các kháng thể miền đơn được cải biến, như được nhân tính hóa, mà không làm giảm ái lực nguyên thể của miền này đối với kháng nguyên và trong khi làm giảm tính sinh miễn dịch của nó đối với loài khác nguồn gốc. Ví dụ, các gốc axit amin của miền biến đổi kháng thể (V_HH)của kháng thể llama có thể được xác định, và một hoặc nhiều trong số các axit amin họ lạc đà, ví dụ, trong các vùng khung được thay thế bằngloại tương đương của người của chúng như được tìm thấy trong trình tự liên ứng của người, mà không có vấn đề polypeptit mất đi tính chất điển hình của nó, tức là, việc nhân tính hóa không ảnh hưởng đáng kể đến khả năng liên kết kháng nguyên của polypeptit thu được. Quá trình nhân tính hóa các kháng thể miền đơn của họ lạc đà đòi hỏi việc đưa vào và gây đột biến số lượng axit amin giới hạn trong chuỗi polypeptit. Điều này trái ngược với quá trìnhnhân tính hóa scFv, Fab '(Fab') 2 và IgG, mà đòi hỏi việc đưa các dạng thay đổi axit amin vào hai chuỗi, chuỗi nhẹ và chuỗi nặng và bảo toàn cấu trúc lắp ráp của cả hai chuỗi.

Các kháng thể miền đơn chứa miền V_HH có thể được nhân tính hóa để có các trình tự giống của người. Theo một số phương án, các vùng FR của miền V_HH được sử dụng trong bản mô tả này có độ tương đồng trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% hoặc lớn hơn so với trình tự axit amin các vùng khung V_H của người. Một nhóm làm ví dụ về các miền V_HH được nhân tính hóađặc trưng ở chỗ các V_HH mang axit amin từ nhóm gồm glyxin, alanin, valin,leuxin, isoleuxin, prolin,phenylalanin, tyrosin, tryptophan, metionin, serin, threonin, asparagin, hoặc glutamin ở vị trí 45, như, L45 và tryptophan ở vị trí 103, theo phương pháp đánh số Kabat. Như vậy, các polypeptit thuộc nhóm này thể hiện độ tương đồng trình tự axit amin cao so với các vùng khung V_H của người và có thể cho người dùng các polypeptit đã nêu một cách trực tiếp mà không cần dự kiến về đáp ứng miễn dịch không mong muốn từ đó, và không phải chịu gánh nặng về việc nhân tính hoá thêm.

Một nhóm làm ví dụ khác về các kháng thể miền đơn họ lạc đà đã được nhân tính hóa đã được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO 03/035694 và chứa các gốc FR2 kỵ nước thường được tìm thấy trong các kháng thể thông thường có nguồn gốc từ người hoặc từ các loài khác nhưng bù lại sự mất mát này về tính kỵ nước do gốc arginin mang

điện tích ở vị trí 103 mà thay thế gốc tryptophan được bảo toàn có mặt trong V_H từ các kháng thể chuỗi kép. Như vậy, các peptit thuộc hai nhóm này thể hiện độ tương đồng trình tự axit amin cao so với các vùng khung V_H của người và có thể cho người dùng các peptitđã nêumột cách trực tiếp mà không cần dự kiến vềđáp ứng miễn dịch không mong muốn từ đó, và không phải chịu gánh nặng về việc nhân tính hoá thêm.

4. Các kháng thể của người

Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất trong bản mô tả này là kháng thể của người. Các kháng thể của người có thể được tạo ra bằng cách sử dụng các kỹ thuật khác nhau đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các kháng thể của người được mô tả chung trong tài liệu: van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.*5:368-74 (2001) và Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008). Chuột cống hoặc chuột nhắt chuyển gen có khả năng tạo kháng thể miền đơn hoàn toàn của người thì đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.Ví dụ, xem tài liệu: US20090307787A1, Patent Mỹ số 8.754.287, US20150289489A1, US20100122358A1, và WO2004049794.

Các kháng thể của người có thể được điều chế bằng cách cho động vật chuyển gen mà đã được cải biến dùng chất sinh miễn dịch để tạo ra các kháng thể nguyên vẹn của người hoặc các kháng thể nguyên vẹn có các vùng biến đổi của người khi đáp ứng lại thử thách kháng nguyên. Các động vật như vậy thường chứa tất cả hoặc một phần của ổ gen globulin miễn dịch của người, ổ gen này thay thế ổ gen globulin miễn dịch nội sinh, hoặc ổ gen này có mặt ngoài nhiễm sắc thể hoặc được tích hợp một cách ngẫu nhiên vào các nhiễm sắc thể của động vật. Ở chuột chuyển gen như vậy, ổ gen globulin miễn dịch nội sinh thường được làm bất hoạt. Để tìm hiểu về các phương pháp để thu được các kháng thể của người từ các con vật chuyển gen, xem tài liệu: Lonberg, *Nat. Biotech.*23:1117-1125 (2005). Xem thêm, ví dụ, Patent Mỹ số 6.075.181 và 6.150.584 mô tả công nghệ XENOMOUSE™; Patent Mỹ số 5.770.429 mô tả công nghệ HUMAB®; Patent Mỹ số 7.041.870 mô tả công nghệ K-M MOUSE®, và Công bố Đơn yêu cầu cấp Patent Mỹ số US 2007/0061900, mô tả công nghệ VELOCIMOUSE®). Các vùng biến đổi của người từ các kháng thể nguyên vẹn được tạo ra bằng các con vật như vậy có thể được cải biến thêm, ví dụ, bằng cách kết hợp với một vùng hằng định khác của người.

Các kháng thể của người cũng có thể được tạo ra bằng các phương pháp dựa trên tế bào lai. Dòng tế bào u tủy của người và dòng tế bào dị u tủy của người-chuột dùng cho việc sản xuất các kháng thể đơn dòng của người đã được mô tả. (Ví dụ, xem tài liệu:

Kozbor *J. Immunol.*, 133:3001 (1984); Brodeur et al., *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, các trang51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); và Boerner et al., *J. Immunol.*, 147:86 (1991)). Các kháng thể của người được tạo ra thông qua công nghệ tế bào lai tế bào B của người cũng được mô tả trong tài liệu: Li et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.USA*, 103:3557-3562 (2006). Các phương pháp bổ sung bao gồm những loại được mô tả, ví dụ, trong tài liệu: Patent Mỹ số7.189.826 (mô tả việc sản xuất các kháng thể IgM đơn dòng của người từ các dòng tế bào tế bào lai) và Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268 2006 (mô tả các tế bào lai người-người). Công nghệ tế bào lai của người (công nghệ Trioma) cũng được mô tả trong tài liệu: Vollmers and Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005) và Vollmers and Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3):185-91 (2005).

Các kháng thể của người cũng có thể được tạo ra bằng cách phân lập các trình tự miền biến đổi dòng vô tính Fv được chọn lựa từ các thư viện thể hiện thể thực khuẩn được tạo ra từ người. Sau đó, các trình tự miền biến đổi như vậy có thể được kết hợp với miền hằng định của người mong muốn. Các kỹ thuật chọn lựa các kháng thể của người từ các thư viện kháng thể được mô tả dưới đây.

Một kỹ thuật để có được các trình tự V_HH được dẫn dắt chống lại kháng nguyên hoặc đích cụ thể bao gồm việc gây miễn dịch một cách thích hợp động vật có vú chuyển genmà có khả năng biểu hiện các kháng thể chuỗi nặng (tức là, để tăng đáp ứng miễn dịchvà/hoặc các kháng thể chuỗi nặng được dẫn dắt chống lại kháng nguyên hoặc đích đã nêu), có được mẫu sinh học thích hợp từ các động vật có vú chuyển gen đã nêu mà chứa (các trình tự axit nucleic mã hóa) các trình tự V_HH đã nêu (ví dụ như mẫu máu, mẫu huyết thanh hoặc mẫu tế bào B), và sau đó, tạo ra các trình tự V_HH được dẫn dắt chống lại kháng nguyên hoặc đích đã nêu, bắt đầu từ mẫu đã nêu, bằng cách sử dụng chính kỹ thuật thích hợp bất kỳ đã biết (như phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp được mô tả trong bản mô tả này hoặc kỹ thuật tế bào lai). Ví dụ, với mục đích này, những con chuột biểu hiện kháng thể chuỗi nặng và các phương pháp và kỹ thuật khác được mô tả trong các công bố đơn quốc tế số WO 02/085945, WO 04/049794 và WO 06/008548 và tài liệu của Janssens et al, Proc. Natl. Acad. Sci.USA. 2006 Oct. 10; 103(41):15130-5 có thể được sử dụng. Ví dụ, chuột biểu hiện kháng thể chuỗi nặng như vậy có thể biểu hiện các kháng thể chuỗi nặng với miền biến đổi (đơn) thích hợp bất kỳ, như các miền biến đổi (đơn) từ các nguồn tự nhiên (ví dụ, các miền biến đổi (đơn) của người, các miền biến

đổi (đơn) của họ lạc đà hoặc các miền biến đổi (đơn) của cá mập), cũng như, ví dụ, các miền biến đổi (đơn) tổng hợp hoặc bán tổng hợp.

5. Các kháng thể được tạo ra từ thư viện

Các kháng thể theo đơn sáng chế này có thể được phân lập bằng cách sàng lọc các thư viện tổ hợp để có được các kháng thể có hoạt tính hoặc các hoạt tính mong muốn. Ví dụ, một loạt phương pháp đã biết trong lĩnh vực này dùng để tạo các thư viện thể hiện thể thực khuẩn và sàng lọc các thư viện như vậy để có được các kháng thể có đặc tính liên kết mong muốn. Các phương pháp như vậy được tìm hiểu, ví dụ, trong tài liệu: Hoogenboom et al. trong *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001) và được mô tả thêm, ví dụ, trong tài liệu: McCafferty et al., *Nature* 348:552-554; Clackson et al., *Nature* 352:624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.*222:581-597 (1992); Marks and Bradbury, trong *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.*338 (2):299-310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.*340 (5):1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci.USA* 101(34):12467-12472 (2004); và Lee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2):119-132(2004). Các phương pháp kiến tạo các thư viện kháng thể miền đơn đã được mô tả, ví dụ, xem Patent Mỹ số 7371849.

Theo các phương pháp thể hiện thể thực khuẩn nhất định, các kho gen V_H và V_L được tạo dòng vô tính một cách tách biệt bằng phản ứng chuỗi polymeraza (polymerase chain reaction-PCR) và được tái tổ hợp một cách ngẫu nhiên trong các thư viện thể thực khuẩn, sau đó, thư viện này có thể được sàng lọc để có được thể thực khuẩn liên kết kháng nguyên như được mô tả trong tài liệu: Winter et al., *Ann.Rev. Immunol.*, 12:433-455 (1994). Thể thực khuẩn thường thể hiện các đoạn kháng thể, ở dạng các đoạn Fv chuỗi đơn (scFv) hoặc ở dạng các đoạn Fab. Các thư viện từ các nguồn được gây miễn dịch đem lại các kháng thể ái lực cao đối với chất sinh miễn dịch mà không có yêu cầu về việc kiến tạo các tế bào lai. Theo cách khác, kho nguyên sơ có thể được tạo dòng vô tính (ví dụ, từ người) để đem lại nguồn kháng thể đơn lẻ cho một loạt rất nhiều kháng nguyên không tự thân và đồng thời kháng nguyên tự thân mà không có sự gây miễn dịch bất kỳ như được mô tả bởi Griffiths et al., *EMBO J,* 12:725-734 (1993). Cuối cùng, cũng có thể tạo ra các thư viện nguyên sơ bằng phương pháp tổng hợp bằng cách tạo dòng vô tính các đoạn gen V không được sắp xếp lại từ các tế bào gốc, và bằng cách sử dụng các đoạn mồi PCR chứa trình tự ngẫu nhiên để mã hóa các vùng CDR3 biến đổi ở mức cao và để thực

hiện việc sắp xếp lại *in vitro*, như được mô tả bởi Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381-388 (1992). Các công bố patent mô tả các thư viện thể thực khuẩn kháng thể của người bao gồm, ví dụ: Patent Mỹ số 5.750.373, và các công bố đơn yêu cầu cấp Patent Mỹ số 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936, và 2009/0002360.

Các kháng thể hoặc các đoạn kháng thể được phân lập từ các thư viện kháng thể của người được xem là các kháng thể của người hoặc các đoạn kháng thể của người trong bản mô tả này.

6. Các kháng thể đa đặc hiệu

Theo các phương án nhất định, kháng thể được đề xuất trong bản mô tả này là kháng thể đa đặc hiệu, ví dụ, kháng thể song đặc hiệu. Các kháng thể đa đặc hiệu này là các kháng thể mà có tính đặc hiệu liên kết đối với ít nhất hai vị trí khác nhau. Theo một số phương án, một trong các tính đặc hiệu liên kết là đối với kháng nguyên được chọn lựa từ nhóm gồm CD19, CD20, BCMA, và CD38, và tính đặc hiệu liên kết kia là đối với kháng nguyên bất kỳ khác. Theo một số phương án, các kháng thể song đặc hiệu có thể liên kết vào hai epitop khác nhau của kháng nguyên được chọn lựa từ nhóm gồm CD19, CD20, BCMA, và CD38. Các kháng thể song đặc hiệu cũng có thể được sử dụng để khoanh vùng chất gây độc tế bào mà thể hiện kháng nguyên được chọn lựa từ nhóm gồm CD19, CD20, BCMA, và CD38.

Có thể điều chế các kháng thể song đặc hiệu ở dạng kháng thể có chiều dài đầy đủ hoặc các đoạn kháng thể. Các kỹ thuật dùng để tạo ra các kháng thể đa đặc hiệu bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, kỹ thuật đồng biểu hiện tái tổ hợp hai cặp chuỗi nặng- chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch có tính đặc hiệu khác nhau (xem tài liệu: Milstein and Cuello, *Nature* 305:537 (1983)), WO 93/08829, và Traunecker et al., *EMBO J.*10:3655 (1991)), và kỹ thuật xử lý bằng công nghệ "chốt-trong-lỗ" (ví dụ, xem tài liệu:Patent Mỹ số 5.731.168). Cũng có thể tạo ra các kháng thể đa đặc hiệu bằng cách xử lý công nghệ các hiệu ứng lái tĩnh điện dùng để tạo các phân tử dạng heterodime Fc của kháng thể (WO 2009/089004A1); liên kết ngang hai kháng thể hoặc đoạn kháng thể trở lên (ví dụ, xem tài liệu:Patent Mỹ số 4.676.980, và Brennan et al., *Science*, 229:81 (1985)); sử dụng các khóa kéo leuxin để tạo ra các kháng thể song đặc hiệu (ví dụ, xem tài liệu:Kostelnyet al., *J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992)); sử dụng công nghệ "song thể" để tạo ra các đoạn

kháng thể song đặc hiệu (ví dụ, xem tài liệu: Hollinger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.USA, 90: 6444-6448 (1993));* và sử dụng dime Fv chuỗi đơn (sFv) (ví dụ, xem tài liệu:Gruber et al., *J. Immunol.*, 152:5368 (1994)); và điều chế các kháng thể tam đặc hiệu như được mô tả, ví dụ, trong tài liệu: Tutt et al.*J. Immunol.*147:60 (1991); và tạo ra các polypeptit chứa các kháng thể miền đơn liên tiếp (ví dụ, xem tài liệu: Đơn patent Mỹ số 20110028695; và Conrath et al.J. Biol. Chem., 2001; 276(10):7346-50). Các kháng thể được xử lý công nghệ có ba vị trí liên kết kháng nguyên chức năng trở lên, bao gồm "các kháng thể Octopus", cũng nằm trong bản mô tả này (ví dụ, xem tài liệu: Đơn Patent Mỹ số US 2006/0025576A1).

7. Các biến thể kháng thể

Theo một số phương án, các biến thể trình tự axit amin của các kháng thể được đề xuất trong bản mô tả này được dự liệu. Ví dụ, có thể là thích hợp khi cải thiện ái lực liên kết và/hoặc các thuộc tính sinh học khác của kháng thể. Các biến thể trình tự axit amin của kháng thể có thể được điều chế bằng cách đưa các dạng cải biến thích hợp vào trình tự axit nuleic mã hóa kháng thể, hoặc bằng phương pháp tổng hợp peptit. Các dạng cải biến như vậy bao gồm, ví dụ, các dạng xóa bỏ khỏi, và/hoặc các dạng chèn vào và/hoặc các dạng thay thế của các gốc trong các trình tự axit amin của kháng thể. Có thể tạo ra dạng kết hợp bất kỳ của dạng xóa bỏ, dạng chèn, và dạng thay thế để đạt tới cấu trúc cuối cùng, với điều kiện là cấu trúc cuối cùng này sở hữu các đặc điểm mong muốn, ví dụ, khả năng liên kết kháng nguyên.

a) Các biến thể dạng thay thế, dạng chèn và dạng xóa bỏ

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất các biến thể kháng thể có một hoặc nhiều dạng thay thế axit amin. Các vị trí đang được quan tâm để gây đột biến dạng thay thế bao gồm các HVR và các FR. Các dạng thay thế kiểu bảo toàn được thể hiện trong bảng 3 dưới tiêu đề "Các dạng thay thế được ưu tiên". Nhiều thay đổi đáng kể hơn được đề xuất trong bảng 3 dưới tiêu đề "các dạng thay thế làm ví dụ", và như được mô tả thêm dưới đây liên quan đến các nhóm chuỗi bên axit amin. Các dạng thay thế axit amin có thể được đưa vào kháng thể đang được quan tâm và các sản phẩm được sàng lọc để có được hoạt tính mong muốn, ví dụ, tính liên kết kháng nguyên được giữ lại/cải thiện, tính sinh miễn dịch giảm bớt, hoặc CDC hoặc ADCC được cải thiện.

BẢNG 3. Các dạng thay thế Axit amin

Gốc ban đầu	Các dạng thay thế làm ví dụ	Các dạng thay thế được ưu tiên
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; Norleuxin	Leu
Leu (L)	Norleuxin; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; Norleuxin	Leu

Các axit amin có thể được chia nhóm theo các thuộc tính chuỗi bên chung:

(1) kỵ nước: Norleuxin, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

(2) ưa nước trung tính: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

(3) có tính axit: Asp, Glu;

(4) có tính bazơ: His, Lys, Arg;

(5) các gốc ảnh hưởng đến hướng chuỗi: Gly, Pro;

(6) thơm: Trp, Tyr, Phe.

Các dạng thay thế kiểu không bảo toàn sẽ dẫn đến sự trao đổi thành viên của một nhóm trong số các nhóm này cho một nhóm khác.

Một loại biến thể dạng thay thế liên quan đến việc thay thế một hoặc nhiều gốc vùng siêu biến của kháng thể mẹ (ví dụ, kháng thể được nhân tính hóa hoặc kháng thể của người). Nhìn chung, (các) biến thể thu được được chọn lựa để nghiên cứu thêm sẽ có các dạng cải biến (ví dụ, dạng cải thiện) về các thuộc tính sinh học nhất định (ví dụ, ái lực tăng, tính sinh miễn dịch giảm) so với kháng thể mẹ và/hoặc sẽ có các thuộc tính sinh học nhất định về cơ bản được giữ lại của kháng thể mẹ. Một biến thể dạng thay thế làm ví dụ là kháng thể được làm trưởng thành về ái lực, kháng thể này có thể được tạo ra một cách thuận tiện, ví dụ, bằng cách sử dụng các kỹ thuật làm trưởng thành về ái lực dựa vào sự thể hiện thể thực khuẩn như những loại được mô tả trong bản mô tả này. Nói một cách vắn gọn, một hoặc nhiều gốc HVR được gây đột biến và các kháng thể biến thể được thể hiện trên thể thực khuẩn và được sàng lọc để có được một hoạt tính sinh học cụ thể (ví dụ, ái lực liên kết).

Các dạng thay đổi (ví dụ, các dạng thay thế) có thể được tạo ra ở các HVR, ví dụ, để cải thiện ái lực kháng thể. Các dạng thay đổi như vậy có thể được tạo ra ở "các điểm nóng" của HVR, tức là, các gốc được mã hóa bởi các codon mà trải qua quá trình đột biến ở tần suất cao trong suốt quy trình làm trưởng thành tế bào cơ thể (ví dụ, xem tài liệu: Chowdhury, *Methods Mol. Biol.*207:179-196 (2008)), và/hoặc SDR (a-CDR), mà V_H hoặc $V_L$biến thể thu được được kiểm tra về ái lực liên kết. Quá trình làm trưởng thành về ái lực bằng cách kiến tạo và tái chọn lựa từ các thư viện thứ cấp đã được mô tả, ví dụ, trong Hoogenboom et al. trong *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)). Theo một số phương án về quá trình làm trưởng thành về ái lực, tính đa dạng được đưa vào các gen biến đổi được chọn cho quá trình làm trưởng thành bằng phương pháp bất kỳ trong số một loạt phương pháp ((ví dụ, kỹ thuật PCR tạo lỗi ngẫu nhiên, làm xáo trộn chuỗi, hoặc gây đột biến định hướng bằng oligonucleotit). Sau đó, thư viện thứ cấp được tạo ra. Sau đó, thư viện này được sàng lọc để nhận diện các biến thể kháng thể bất kỳ có ái lực mong muốn. Một phương pháp khác để đưa tính đa dạng vào bao gồm các phương pháp định hướng bằng HVR, mà trong đó một vài gốc HVR (ví dụ, 4-6 gốc một lần) được lấy ngẫu nhiên. Các gốc HVR liên quan đến khả năng liên kết kháng nguyên có thể được nhận diện một cách cụ thể, ví dụ, bằng

cách sử dụng phương pháp tạo đột biến nhờ quét vào alanin hoặc lập mô hình. Cụ thể, CDR-H3 và CDR-L3 thường được hướng đích.

Theo một số phương án, các dạng thay thế, các dạng chèn, hoặc các dạng xóa bỏ có thể xảy ra trong một hoặc nhiều HVR với điều kiện là dạng thay đổi như vậy về cơ bản không làm giảm khả năng của kháng thể trong việc liên kết kháng nguyên. Ví dụ, các dạng thay đổi kiểu bảo toàn (ví dụ, các dạng thay thế kiểu bảo toàn như được đề xuất trong bản mô tả này) mà về cơ bản không làm giảm ái lực liên kết có thể được tạo ra trong các HVR. Các dạng thay đổi như vậy có thể nằm ngoài "các điểm nóng" của HVR hoặc các CDR. Theo các phương án nhất định về các trình tự V_HH biến thể được đề xuất trên đây, mỗi HVR hoặc là không thay đổi, hoặc chứa không vượt quá một, hai hoặc ba dạng thay thế axit amin.

Một phương pháp hữu ích dùng cho việc nhận diện các gốc hoặc các vùng của kháng thể mà có thể được hướng đích để gây đột biến được gọi là "quá trình gây đột biến nhờ quét vào alanin" như được mô tả bởi tài liệu: Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085. Theo phương pháp này, gốc hoặc nhóm gồm các gốc đích (ví dụ, các gốc mang điện tích như arg, asp, his, lys, và glu) được nhận diện và được thay bằng một axit amin trung tính hoặc axit amin mang điện tích âm (ví dụ, alanin hoặc polyalanin) để xác định xem liệu sự tương tác của kháng thể với kháng nguyên có bị ảnh hưởng đến không. Các dạng thay thế khác nữa có thể được đưa vào ở các vị trí axit amin thể hiện tính nhạy cảm chức năng đối với các dạng thay thế ban đầu. Ngoài ra hoặc theo cách khác, cấu trúc tinh thể của phức hợp kháng nguyên-kháng thể để nhận diện các điểm tiếp xúc giữa kháng thể và kháng nguyên. Các gốc tiếp xúc và các gốc lân cận như vậy có thể được hướng đích hoặc được loại trừ trong vai trò là ứng viên đối với dạng thay thế. Các biến thể có thể được sàng lọc để xác định xem liệu chúng có chứa các thuộc tính mong muốn hay không.

Các dạng chèn trình tự axit amin bao gồm các dạng dung hợp đầu tận cùng amin và/hoặc đầu tận cùng carboxyl về độ dài nằm trong khoảng từ một gốc đến các polypeptit chứa một trăm gốc trở lên, cũng như các dạng chèn nội trình tự của một gốc axit amin đơn lẻ hoặc nhiều gốc axit amin. Các ví dụ về các dạng chèn đầu tận cùng bao gồm kháng thể có gốc methionyl đầu tận cùng N. Các biến thể dạng chèn khác của phân tử kháng thể bao gồm dạng dung hợp vào đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của kháng

thể đến enzym (ví dụ, đối với ADEPT) hoặc polypeptit mà làm tăng thời gian bán hủy huyết thanh của kháng thể.

b) Các biến thể glycosyl hóa

Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất trong bản mô tả này được thay đổi để làm tăng hoặc làm giảm mức độ mà tại đó kháng thể được glycosyl hóa. Việc bổ sung hoặc xóa bỏ các vị trí glycosyl hóa đối với kháng thể có thể được thực hiện một cách thuận tiện bằng cách thay đổi trình tự axit amin sao cho một hoặc nhiều vị trí glycosyl hóa được tạo ra hoặc bị loại bỏ.

Trong trường hợp kháng thể này bao gồm vùng Fc, thì carbohydrat được liên kết vào đó có thể được thay đổi. Các kháng thể nguyên thể được tạo ra bởi các tế bào động vật có vú thông thường bao gồm oligosacarit cấu trúc anten kép, mạch nhánh mà nhìn chung được liên kết bởi một liên kết N vào Asn297 của miền CH2 của vùng Fc. Ví dụ, xem tài liệu: Wright et al. *TIBTECH* 15:26-32 (1997). Oligosacarit này có thể bao gồm các carbohydrat khác nhau, ví dụ, manoza, N-axetyl glucosamin (GlcNAc), galactoza, và axit sialic, cũng như fucoza được liên kết vào GlcNAc trong "thân" của oligosacarit cấu trúc anten kép. Theo một số phương án, các dạng cải biến oligosacarit trong kháng thể theo đơn sáng chế này có thể được tạo ra để tạo các biến thể kháng thể có các thuộc tính được cải thiện nhất định.

Theo một số phương án, các biến thể kháng thể được đề xuất có cấu trúc carbohydrat mà thiếu fucoza được liên kết (một cách trực tiếp hoặc gián tiếp) vào vùng Fc. Ví dụ, lượng fucoza trong kháng thể như vậy có thể là từ 1% đến 80%, từ 1% đến 65%, từ 5% đến 65% hoặc từ 20% đến 40%. Lượng fucoza được xác định bằng cách tính toán lượng fucoza trung bình trong chuỗi đường ở Asn297, so với tổng lượng của tất cả các cấu trúc glyco được gắn kết vào Asn 297 (ví dụ, các cấu trúc manoza phức hợp, lai và cao) như được đo bằng phép đo phổ khối MALDI-TOF, ví dụ, như được mô tả trong tài liệu: WO 2008/077546. Asn297 được dùng để chỉ gốc asparagin nằm ở khoảng vị trí 297 trong vùng Fc (cách đánh số Châu Âu đối với các gốc vùng Fc); tuy nhiên, Asn297 cũng có thể nằm tại khoảng ± 3 axit amin phía đầu nguồn hoặc phía cuối nguồn của vị trí 297, tức là,nằm trong khoảng các vị trí 294 đến 300, do các dạng thay đổi trình tự phụ ở kháng thể. Các biến thể fucosyl hóa như vậy có thể có chức năng ADCC được cải thiện. Ví dụ, xem tài liệu: các Công bố patent Mỹ số US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621

(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd). Các ví dụ về các công bố liên quan đến các biến thể kháng thể "được khử fucosyl" hoặc "thiếu hụt fucoza" bao gồm: US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki et al. *J. Mol. Biol.*336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.*87:614 (2004). Các ví dụ về các dòng tế bào có khả năng sản xuất các kháng thể được khử fucosyl bao gồm các tế bào CHO Lec13 thiếu hụt về khả năng fucosyl hóa protein (Ripka et al. *Arch. Biochem. Biophys.*249:533-545 (1986); Đơn Patent Mỹ số US 2003/0157108 A1, Presta, L; và WO 2004/056312 A1, Adams *et al.*, cụ thể là ở ví dụ 11), và các dòng tế bào khuyết thiếu, như gen alpha-1, 6-fucosyltransferaza, *FUT8,* các tế bào CHO khuyết thiếu (ví dụ, xem tài liệu:Yamane-Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.*87:614 (2004); Kanda, Y. et al., *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006); và WO2003/085107).

Các biến thể kháng thể còn được đề xuất với oligosacarit chia đôi, ví dụ, mà trong đó oligosacarit cấu trúc anten kép được liên kết vào vùng Fc của kháng thể bị chia đôi bởi GlcNAc. Các biến thể kháng thể như vậy có thể có mức fucosyl được giảm và/hoặc chức năng ADCC được cải thiện. Các ví dụ về các biến thể kháng thể như vậy được mô tả, ví dụ, trong tài liệu: WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.); Patent Mỹ số 6.602.684 (Umana et al.); vàUS 2005/0123546 (Umana *et al.*). Các biến thể kháng thể có ít nhất một gốc galactoza trong oligosacarit được liên kết vào vùng Fc cũng được đề xuất. Các biến thể kháng thể như vậy có thể có chức năng CDC được cải thiện. Các biến thể kháng thể như vậy được mô tả, ví dụ, trong tài liệu: WO 1997/30087 (Patel et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.); và WO 1999/22764 (Raju, S.).

c) Các biến thể vùng Fc

Theo một số phương án, một hoặc nhiều dạng cải biến axit amin có thể được đưa vào vùng Fc của kháng thể được đề xuất trong bản mô tả này, nhờ đó tạo ra biến thể vùng Fc. Biến thể vùng Fc có thể bao gồm trình tự vùng Fc của người (ví dụ, vùng Fc của IgG1, IgG2, IgG3 hoặc IgG4 của người) bao gồm dạng cải biến axit amin (ví dụ, dạng thay thế) ở một hoặc nhiều vị trí axit amin.

Theo một số phương án, đơn sáng chế này dự liệu biến thể kháng thể mà sở hữu một số nhưng không phải tất cả các chức năng tác động, mà những chức năng này làm cho biến thể đó trở thành ứng viên thích hợp cho các ứng dụng mà trong đó thời gian bán hủy của kháng thể *in vivo* là quan trọng, còn các chức năng tác động nhất định (như bổ thể và ADCC) là không cần thiết hoặc có hại. Các thử nghiệm độc tính tế bào*in vitro* và/hoặc *in vivo* có thể được thực hiện để xác nhận mức giảm/mức tiêu tan của hoạt tính CDC và/hoặc hoạt tính ADCC. Ví dụ, các thử nghiệm liên kết thụ thể Fc (FcR) có thể được thực hiện để đảm bảo rằng kháng thể này thiếu khả năng liên kết FcγR (do đó chắc chắn là thiếu hoạt tính ADCC), nhưng giữ lại khả năng liên kết FcRn. Các tế bào sơ cấp dùng để điều hòa ADCC, các tế bào NK, biểu hiện chỉ FcγRIII, trong khi đó các bạch cầu đơn nhân to biểu hiện FcγRI, FcγRII và FcγRIII. Sự biểu hiện FcR trên các tế bào tạo máu được tóm tắt trong bảng 3 ở trang 464 thuộc tài liệu: Ravetch and Kinet, *Annu.Rev. Immunol.*9:457-492 (1991). Các ví dụ không giới hạn về các thử nghiệm*in vitro* để đánh giá hoạt tính ADCC của phân tử đang được quan tâm được mô tả trong tài liệu: Patent Mỹ số 5.500.362 (ví dụ, xem tài liệu: Hellstrom, I. et al. P*roc. Nat'l Acad. Sci.USA 83: 7059-7063 (1986))* và Hellstrom, I *et al., Proc. Nat'l Acad. Sci.USA 82: 1499-1502 (1985);* 5.821.337 (xem tài liệu: Bruggemann,*M. et al., J.Exp. Med.*166:1351-1361 (1987)). Theo cách khác, các phương pháp thử nghiệm không có hoạt tính phóng xạ có thể được sử dụng (ví dụ, xem thử nghiệm độc tính tế bào không có hoạt tính phóng xạ ACTI™ dùng cho phép đếm tế bào theo dòng chảy (CellTechnology, Inc. Mountain View, CA; và thử nghiệm độc tính tế bào không có hoạt tính phóng xạ CytoTox 96® (Promega, Madison, WI). Các tế bào tác động hữu ích cho các thử nghiệm như vậy bao gồm các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (peripheral blood mononuclear cell-PBMC) và các tế bào tiêu diệt tự nhiên (Natural Killer-NK). Ngoài ra hoặc theo cách khác, hoạt tính ADCC của phân tử đang được quan tâm có thể được đánh giá *in vivo*, ví dụ, ở mô hình động vật như được bộc lộ trong tài liệu: Clynes et al. P*roc. Nat'l Acad. Sci.USA* 95:652-656 (1998). Các thử nghiệm liên kết C1q cũng có thể được thực hiện để xác nhận rằng kháng thể này không thể liên kết C1q và do đó thiếu hoạt tính CDC. Ví dụ, xem tài liệu: Phương pháp ELISA liên kết C3c và C1q trong công bố đơn quốc tế số WO 2006/029879 và WO 2005/100402. Để đánh giá quá trình hoạt hóa bổ thể, có thể thực hiện thử nghiệm CDC (ví dụ, xem tài liệu: Gazzano-Santoro et al., *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996); Cragg, M. S. et al., *Blood* 101:1045-1052 (2003); và Cragg, M. S. and M.J. Glennie,

Blood 103:2738-2743 (2004)). Các biện pháp xác định khả năng liên kết FcRn và mức thanh thải/thời gian bán hủy *in vivo* cũng có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này (ví dụ, xem tài liệu: Petkova, S. B. et al., *Int'l. Immunol.*18(12):1759-1769 (2006)).

Các kháng thể có chức năng tác động được làm giảm bao gồm những loại có dạng thay thế của một hoặc nhiều gốc trong số các gốc vùng Fc 238, 265, 269, 270, 297, 327 và 329 (Patent Mỹ số 6.737.056). Các thể đột biến Fc như vậy bao gồm các thể đột biến Fc có các dạng thay thế ở hai vị trí trở lên trong số các vị trí axit amin 265, 269, 270, 297 và 327, bao gồm cái gọi là thể đột biến Fc "DANA" có dạng thay thế các gốc 265 và 297 thành alanin (Patent Mỹ 7.332.581).

Các biến thể kháng thể nhất định có mức liên kết vào các FcR được cải thiện hoặc giảm bớt được mô tả. (ví dụ, xem tài liệu: Patent Mỹ số 6.737.056; WO 2004/056312, và Shields et al., *J. Biol. Chem.*9(2):6591-6604 (2001)).

Theo một số phương án, biến thể kháng thể bao gồm vùng Fc có một hoặc nhiều dạng thay thế axit amin mà cải thiện ADCC, ví dụ, các dạng thay thế ở các vị trí 298, 333, và/hoặc 334 của vùng Fc (cách đánh số Châu Âu đối với các gốc).

Theo một số phương án, các dạng thay đổi được tạo ra ở vùng Fc mà đem lại khả năng liên kết C1q và/hoặc độc tính tế bào phụ thuộc vào bổ thể (CDC) được thay đổi (tức là, được cải thiện hoặc giảm bớt), ví dụ, như được mô tả trong tài liệu: Patent Mỹ số 6.194.551, WO 99/51642, và Idusogie et al. *J. Immunol.*164:4178-4184 (2000).

Các kháng thể có thời gian bán hủy tăng và khả năng liên kết vào thụ thể Fc sơ sinh (FcRn) được cải thiện, mà thụ thể Fc sơ sinh này chịu trách nhiệm về việc chuyển các IgG của người mẹ sang bào thai (Guyer et al., *J. Immunol.*117:587 (1976) và Kim et al., *J. Immunol.*24:249 (1994)), được mô tả trong tài liệu: US2005/0014934A1 (Hinton et al.).Các kháng thể đó bao gồm vùng Fc có một hoặc nhiều dạng thay thế trong đó mà cải thiện khả năng liên kết vùng Fc vào FcRn. Các biến thể Fc như vậy bao gồm những loại có các dạng thay thế ở một hoặc nhiều gốc trong số các gốc vùng Fc:238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 hoặc 434, ví dụ, dạng thay thế vùng Fc gốc 434 (Patent Mỹ số 7.371.826).

Xem thêm tài liệu: Duncan & Winter, *Nature* 322:738-40 (1988); Patent Mỹ số 5.648.260; Patent Mỹ số5.624.821; và WO 94/29351 liên quan đến các ví dụ khác về các biến thể vùng Fc.

d) Các biến thể kháng thể được xử lý công nghệ xystein

Theo một số phương án, có thể là thích hợp khi tạo ra các kháng thể được xử lý công nghệ xystein, ví dụ, "thioMAb", mà trong đó một hoặc nhiều gốc của kháng thể được thế bằng các gốc xystein. Theo các phương án cụ thể, các gốc được thế xảy ra ở các vị trí có thể tiếp cận được của kháng thể. Bằng cách thay thế các gốc đó bằng xystein, các nhóm thiol có tính phản ứng nhờ đó được đặt ở các vị trí có thể tiếp cận được của kháng thể và có thể được sử dụng để tiếp hợp kháng thể với các gốc khác, như các gốc thuốc hoặc các gốc thuốc-gốc liên kết, để tạo ra thể tiếp hợp miễn dịch, như được mô tả thêm trong bản mô tả này. Theo một số phương án, một hoặc nhiều gốc bất kỳ trong số các gốc dưới đây có thể được thế bằng xystein:A118 (cách đánh số Châu Âu) của chuỗi nặng; và S400 (cách đánh số Châu Âu) của vùng Fc của chuỗi nặng. Các kháng thể được xử lý công nghệ xystein có thể được tạo ra như được mô tả, ví dụ, trong tài liệu: Patent Mỹ số 7.521.541.

e) Các dẫn xuất kháng thể

Theo một số phương án, kháng thể được đề xuất trong bản mô tả này có thể được cải biến thêm để chứa các gốc không có protein bổ sung mà đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và dễ tìm. Các gốc thích hợp để tạo dẫn xuất kháng thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các polyme tan được trong nước. Các ví dụ không giới hạn về các polyme tan được trong nước bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, polyetylen glycol (PEG), các copolyme của etylen glycol/propylen glycol, carboxymetylxenluloza, dextran, rượu polyvinyl, polyvinyl pyrolidon, poly-1,3-dioxolan, poly-1,3,6-trioxan, copolyme etylen/anhydrit maleic, các axit polyamin (hoặc các homopolyme hoặc các copolyme ngẫu nhiên), và dextran hoặc poly(n-vinyl pyrolidon)polyetylen glycol, các homopolyme propropylen glycol, các co-polyme prolypropylen oxit/etylen oxit, các polyol được polyoxyetyl hóa (ví dụ, glyxerol), rượu polyvinyl, và các hỗn hợp của chúng. Polyetylen glycol propionaldehyt có thể có nhiều ưu điểm trong việc sản xuất do độ ổn định của nó trong nước. Polyme có thể có trọng lượng phân tử bất kỳ, và có thể có dạng mạch nhánh hoặc không nhánh. Số polyme được liên kết vào kháng thể có thể thay đổi, và nếu nhiều hơn một polyme được gắn kết, thì chúng có thể là cùng một số phân tử hoặc các phân tử khác nhau. Nhìn chung, số polyme và/hoặc loại polyme được sử dụng để tạo dẫn xuất có thể được xác định dựa vào nhiều cân nhắc bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các

thuộc tính hoặc chức năng cụ thể của kháng thể cần được cải thiện, không phụ thuộc vào việc dẫn xuất kháng thể sẽ được sử dụng trong liệu pháp trong các tình trạng đã được xác định, v. v..

Theo một số phương án, các thể tiếp hợp của kháng thể và gốc không có protein mà có thể được gia nhiệt một cách chọn lọc bằng cách tiếp xúc với bức xạ được đề xuất. Theo một số phương án, gốc không có protein là ống nano carbon (Kam et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.USA* 102:11600-11605 (2005)). Sự bức xạ có thể có bước sóng bất kỳ, và bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các bước sóng mà không gây hại cho các tế bào thông thường, nhưng gia nhiệt gốc không có protein đến một nhiệt độ mà tại nhiệt độ này các tế bào gần với gốc không có protein-kháng thể bị tiêu diệt.

Phương pháp điều chế

Các kháng thể (như các kháng thể miền đơn) được mô tả trong bản mô tả này có thể được điều chế bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này hoặc như được mô tả trong bản mô tả này.

Các phương pháp điều chế các kháng thể miền đơn đã được mô tả. Ví dụ, xem tài liệu: Els Pardon et al, *Nature Protocol*, 2014; 9(3):674. Có thể thu được các kháng thể miền đơn(như các V_HH) bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này như bằng cách gây miễn dịch loài thuộc họ lạc đà (như lạc đà hoặc llama) và thu được các tế bào lai từ đó, hoặc bằng cách tạo dòng vô tính từ thư viện gồm các kháng thể miền đơn bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và quá trình chọn lựa kế tiếp bằng phương pháp ELISA với các dòng vô tính riêng lẻ của các thư viện không được chọn lựa hoặc bằng cách sử dụng thư viện thể thực khuẩn.

Đối với quá trình sản xuất tái tổ hợp kháng thể miền đơn, các axit nucleic mã hóa kháng thể miền đơn được phân lập và được chèn vào vật truyền có thể sao chép được để tạo dòng vô tính thêm (khuyếch đại ADN) hoặc để biểu hiện. ADN mã hóa kháng thể miền đơn có thể dễ dàng được phân lập và được giải trình tự bằng cách sử dụng các quy trình thông thường (ví dụ, bằng cách sử dụng các mẫu dò oligonucleotit mà có khả năng liên kết đặc hiệu vào các gen mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể). Nhiều vật truyền là có sẵn. Sự chọn lựa vật truyền phụ thuộc một phần vào tế bào chủ sẽ được sử dụng. Nhìn chung, các tế bào chủ được ưu tiên có nguồn gốc từ tế bào nhân sơ hoặc tế bào nhân thực (nhìn chung là động vật có vú)

1. Kháng thể đa dòng

Các kháng thể đa dòng nhìn chung được nuôi cấy ở các động vật bằng tiêm nhiều lần dưới da (sc) hoặc trong màng bụng (ip) kháng nguyên liên quan và chất phụ trợ. Có thể là hữu ích khi tiếp hợp kháng nguyên liên quan với protein có khả năng gây miễn dịch trong các loài được gây miễn dịch ví dụ, hemoxyanin hà (KLH), albumin huyết thanh, thyroglobulin bò, hoặc chất ức chế trypsin đậu nành, bằng cách sử dụng một tác nhân hai chức năng hoặc tạo dẫn xuất, ví dụ, este của maleimidobenzoyl sulfosucxinimit (tiếp hợp qua các gốc xystein), N-hydroxysucxinimit (qua các gốc lysin), glutaraldehyt, anhydrit sucxinic, $SOCl_2$, hoặc $R^1N{=}C{=}NR$, trong đó R và R^1độc lập là nhóm alkyl thấp. Các ví dụ về các chất phụ trợ có thể được sử dụng bao gồm chất phụ trợ Freund hoàn chỉnh và chất phụ trợ MPL-TDM (monophosphoryl Lipit A, trehaloza dicorynomycolat tổng hợp). Quy trình miễn dịch có thể được chọn lựa bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này mà không cần thực hiện thử nghiệm quá mức.

Các con vật được gây miễn dịch với kháng nguyên, các thể tiếp hợp miễn dịch, hoặc các dẫn xuất bằng cách kết hợp, như, 100 μg hoặc 5 μg hoặc protein hoặc thể tiếp hợp (lần lượt đối với thỏ hoặc chuột) với 3 đơn vị thể tích chất phụ trợ Freund hoàn chỉnh và tiêm dung dịch này vào trong da tại nhiều vị trí. Một tháng sau, các con vật này được tiêm nhắc lại tăng cường bằng 1/5 đến 1/10 lượng peptit hoặc thể tiếp hợp ban đầu trong chất phụ trợ Freund hoàn chỉnh bằng cách tiêm dưới da tại nhiều vị trí. Bảy đến mười bốn ngày sau, các con vật được lấy máu và huyết thanh được thử nghiệm về chuẩn độ kháng thể. Các con vật được tiêm nhắc lại tăng cường cho đến khi chuẩn độ đạt đến trạng thái bình ổn. Các thể tiếp hợp cũng có thể được điều chế trong môi trường nuôi cấy tế bào tái tổ hợp ở dạng dung hợp protein. Ngoài ra, các chất kết tụ như phèn là phù hợp để tăng cường đáp ứng miễn dịch.

2. Kháng thể đơn dòng

Các kháng thể đơn dòng thu được từ một quần thể kháng thể về cơ bản thuần nhất, tức là, các kháng thể riêng biệt bao gồm trong quần thể đều đồng nhất ngoại trừ các đột biến có thể xảy ra trong tự nhiên và/hoặc các dạng cải biến sau dịch mã (ví dụ, các dạng đồng phân hóa, dạng amit hóa) có thể có mặt với các lượng nhỏ. Vì vậy, từ bổ nghĩa "đơn dòng" biểu đạt đặc tính của kháng thể là không phải dạng hỗn hợp của các kháng thể riêng biệt.

Ví dụ, các kháng thể đơn dòng có thể được sản xuất bằng cách sử dụng phương pháp tế bào lai được mô tả đầu tiên bởi Kohler*et al.*, *Nature,* 256:495 (1975), hoặc có thể được sản xuất bằng các phương pháp ADN tái tổ hợp (Patent Mỹ số 4.816.567).

Trong phương pháp tế bào lai, chuột hoặc loài động vật chủ thích hợp khác như chuột đồng, được gây miễn dịch như được mô tả ở phần trước của tài liệu này để đem lại bạch huyết bào mà sản xuất hoặc có khả năng sản xuất các kháng thể sẽ liên kết đặc hiệu vào protein được sử dụng để gây miễn dịch. Theo cách khác, các bạch huyết bào có thể được gây miễn dịch in vitro. Sau đó, các bạch huyết bào được dung hợp với các tế bào u tủy bằng cách sử dụng chất dung hợp phù hợp, như polyetylen glycol, để tạo thành tế bào lai (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, trang59-103 (Academic Press, 1986).

Chất gây miễn dịch sẽ thường bao gồm protein kháng nguyên hoặc dạng biến thể dung hợp của nó. Nhìn chung, hoặc các bạch huyết bào máu ngoại vi ("PBL") được sử dụng nếu mong muốn các tế bào có nguồn gốc từ người, hoặc các tế bào lá lách hoặc các tế bào hạch bạch huyết được sử dụng nếu mong muốn các tế bào có nguồn gốc từ động vật có vú không phải người. Sau đó, các bạch huyết bào được dung hợp với dòng tế bào bất tử bằng cách sử dụng chất dung hợp phù hợp, như polyetylen glycol, để tạo thành tế bào lai. Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, Academic Press (1986), trang59-103.

Các dòng tế bào bất tử thường là các tế bào động vật có vú được biến nạp, cụ thể là các tế bào u tủy có nguồn gốc từ động vật gặm nhấm, bò và người. Thông thường, các dòng tế bào u tủy của chuột nhắt và chuột cống được sử dụng. Các tế bào lai đã được điều chế như vậy được ươm và được làm tăng trưởng trong môi trường nuôi cấy thích hợp mà tốt hơn là chứa một hoặc nhiều chất ức chế sự tăng trưởng hoặc sự sống sót của các tế bào u tủy mẹ, không được dung hợp. Ví dụ, nếu các tế bào u tủy mẹ thiếu enzym hypoxantin guanin phosphoribosyl transferaza (HGPRT hoặc HPRT), môi trường nuôi cấy cho các tế bào lai sẽ thường bao gồm hypoxantin, aminopterin, và thymidin (môi trường HAT), đây là các chất ngăn chặn sự tăng trưởng của các tế bào không có HGPRT.

Các tế bào u tủy bất tử được ưu tiên là các tế bào mà dung hợp hiệu quả, hỗ trợ sự sản xuất kháng thể ở mức độ cao và ổn định nhờ các tế bào sản xuất kháng thể được chọn lựa, và nhạy cảm với môi trường như môi trường HAT. Trong số các tế bào này, các dòng tế bào u tủy của chuột được ưu tiên, như là các dòng tế bào được tạo ra từ các khối

u của chuột MOPC-21 và MPC-11 có sẵn từ Trung tâm Phân phối Tế bào Viện Salk (Salk Institute Cell Distribution Center), San Diego, Calif. Mỹ, và các tế bào SP-2 (và các dẫn xuất của chúng, ví dụ, X63-Ag8-653) có sẵn từ Bộ Sưu tập Giống Chuẩn của Mỹ, Mannassas, Va. Mỹ. Dòng tế bào u tủy của người và dòng tế bào dị u tủy của người-chuột dùng cho việc sản xuất các kháng thể đơn dòng của người cũng đã được mô tả (Kozbor, *J. Immunol.,* 133:3001 (1984); Brodeur *et al.*, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, các trang 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)).

Môi trường nuôi cấy mà trong đó các tế bào lai đang tăng trưởng được thử nghiệm về quá trình sản xuất các kháng thể đơn dòng được dẫn dắt chống lại kháng nguyên. Tốt hơn là độ đặc hiệu liên kết của các kháng thể đơn dòng do tế bào lai tạo ra được xác định bằng phương pháp kết tủa miễn dịch hoặc thử nghiệm liên kết in vitro, như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA) hoặc thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzym (ELISA).

Môi trường nuôi cấy mà trong đó các tế bào lai được nuôi cấy có thể được thử nghiệm về sự có mặt của các kháng thể đơn dòng được dẫn dắt chống lại kháng nguyên mong muốn. Tốt hơn là ái lực và độ đặc hiệu của kháng thể đơn dòng có thể được xác định bằng phương pháp kết tủa miễn dịch hoặc bằng thử nghiệm liên kết in vitro, như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA) hoặc thử nghiệm liên kết với enzym (ELISA). Các kỹ thuật và các thử nghiệm này là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ ái lực liên kết có thể được xác định bằng phương pháp phân tích Scatchard của Munson *et al.*, *Anal. Biochem.,* 107:220 (1980).

Sau khi nhận diện các tế bào lai mà tạo ra các kháng thể có độ đặc hiệu, ái lực, và/hoặc hoạt tính mong muốn, các dòng vô tínhcó thể được tái tạo dòng vô tính bằng các quy trình pha loãng giới hạn và được làm tăng trưởng bằng các phương pháp tiêu chuẩn (Goding, trên đây). Môi trường nuôi cấy thích hợp cho mục đích này bao gồm, ví dụ, môi trường D-MEM hoặc RPMI-1640. Ngoài ra, các tế bào lai có thể được làm tăng trưởng in vivo ở dạng khối u ở động vật có vú.

Các kháng thể đơn dòng được tiết ra bởi các dòng vô tính phụ được tách một cách thích hợp khỏi môi trường nuôi cấy, dịch cổ trướng, hoặc huyết thanh bằng các quy trình tinh chế globulin miễn dịch thông thường như, ví dụ, protein A-Sepharoza, sắc ký hydroxylapatit, điện di trên gel, thẩm tách, hoặc sắc ký ái lực.

Các kháng thể đơn dòng cũng có thể được tạo ra bằng các phương pháp ADN tái tổ hợp, như những loại được mô tả trong Patent Mỹ số 4.816.567, và như được mô tả trên đây. ADN mã hóa các kháng thể đơn dòng có thể dễ dàng được phân lập và được giải trình tự bằng cách sử dụng các quy trình thông thường (ví dụ, bằng cách sử dụng các mẫu dò oligonucleotit mà có khả năng liên kết đặc hiệu vào các gen mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của các kháng thể của chuột). Các tế bào lai được dùng làm nguồn được ưu tiên của ADN như vậy. Một khi được phân lập, ADN có thể được đặt vào các vật truyền biểu hiện, sau đó được chuyển nhiễm vào các tế bào chủ như các tế bào *E. coli*, tế bào COS của khỉ, tế bào buồng trứng chuột đồng Trung Quốc (CHO), hoặc các tế bào u tủy mà mặt khác không tạo ra protein globulin miễn dịch, để tổng hợp các kháng thể đơn dòng trong các tế bào chủ tái tổ hợp như vậy. Các bài viết tổng kết về quá trình biểu hiện tái tổ hợp ở vi khuẩn có ADN mã hoá kháng thể này bao gồm tài liệu: Skerra *et al.*, *Curr. Opinion in Immunol.,* 5:256-262 (1993) và Pliickthun, *Immunol.Revs.*130:151-188 (1992).

Theo một phương án khác, các kháng thể có thể được phân lập từ các thư viện thể thực khuẩn kháng thể được tạo ra bằng cách sử dụng các kỹ thuật được mô tả trong tài liệu: McCafferty *et al.*, *Nature,* 348:552-554 (1990). Clackson *et al.*, *Nature,* 352:624-628 (1991) và Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.,* 222:581-597 (1991) lần lượt mô tả phương pháp phân lập các kháng thể của chuột và của người, bằng cách sử dụng các thư viện thể thực khuẩn. Các công bố kế tiếp mô tả việc sản xuất kháng thể của người có ái lực cao (khoảng nM) bằng kỹ thuật xáo trộn chuỗi (Marks *et al.*, *Bio/Technology,* 10:779-783 (1992)), cũng như phương pháp gây nhiễm tổ hợp và tái tổ hợp in vivo như là một chiến lược để kiến tạo các thư viện thể thực khuẩn rất lớn (Waterhouse *et al.*, *Nucl. Acids Res.,* 21:2265-2266 (1993)). Do đó, những kỹ thuật này là những chọn lựa thay thế khả thi cho các kỹ thuật tế bào lai kháng thể đơn dòng truyền thống để phân lập các kháng thể đơn dòng.

ADN cũng có thể được cải biến, ví dụ, bằng cách thay thế trình tự mã hóa các miền hằng định chuỗi nặng và nhẹ của người thay cho các trình tự tương đồng của chuột (Patent Mỹ số 4.816.567; Morrison, *et al.*, *Proc. Natl Acad. Sci.USA,* 81:6851 (1984)), hoặc bằng cách liên kết cộng hóa trị với trình mã hóa globulin miễn dịch toàn bộ hoặc một phần trình mã hóa đối với polypeptit không phải globulin miễn dịch. Thông thường, các polypeptit không phải globulin này được thay thế cho các miền hằng định của kháng

thể hoặc chúng được thay thế cho các miền biến đổi của một vị trí kết hợp kháng nguyên của kháng thể để tạo ra kháng thể thể khảm hóa trị hai chứa một vị trí kết hợp kháng nguyên có tính đặc hiệu đối với một kháng nguyên và một vị trí kết hợp kháng nguyên khác có tính đặc hiệu đối với kháng nguyên khác.

Các kháng thể đơn dòng được mô tả trong bản mô tả này có thể có hóa trị một, việc điều chế kháng thể này đã được biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, một phương pháp bao gồm việc biểu hiện tái tổ hợp chuỗi nhẹ globulin miễn dịch và chuỗi nặng được cải biến. Nhìn chung, chuỗi nặng được cắt cụt ở bất kỳ điểm nào trong vùng Fc để tránh tạo liên kết ngang ở chuỗi nặng. Theo cách khác, gốc xystein liên quan có thể được thế bằng gốc axit amin khác hoặc được xóa bỏ để tránh tạo liên kết ngang. Các phương pháp in vitro cũng thích hợp để điều chế các kháng thể hóa trị một. Phương pháp phân giải các kháng thể để tạo ra các đoạn của chúng, cụ thể là các đoạn Fab, có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các kỹ thuật thông thường đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Các kháng thể thể khảm hoặc lai cũng có thể được điều chế in vitro bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong ngành hóa học protein tổng hợp, bao gồm các phương pháp liên quan đến các tác nhân liên kết ngang. Ví dụ, độc tố miễn dịch có thể được kiến tạo bằng cách sử dụng phản ứng trao đổi disulfua hoặc bằng cách tạo thành liên kết thioete. Các ví dụ về chất phản ứng thích hợp cho mục đích này bao gồm iminotiolat và metyl-4-mercaptobutyrimidat.

3. Sản xuất tái tổ hợp ở các tế bào nhân sơ

a) Kiến tạo vật truyền

Các trình tự axit polynucleic mã hóa các kháng thể theo đơn sáng chế này có thể thu được bằng cách sử dụng các kỹ thuật tái tổ hợp tiêu chuẩn. Các trình tự axit polynucleic mong muốn có thể được phân lập và giải trình tự từ các tế bào tạo kháng thể như các tế bào lai. Theo cách khác, các polynucleotit có thể được tổng hợp bằng cách sử dụng bộ tổng hợp nucleotit hoặc kỹ thuật PCR. Một khi thu được, các trình tự mã hóa các polypeptit được chèn vào vật truyền tái tổ hợp có khả năng sao chép và biểu hiện polynucleotit khác nguồn gốc trong các thể chủ nhân sơ. Nhiều vật truyền có sẵn và đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể được sử dụng cho mục đích này của sáng chế. Việc chọn lựa một vật truyềnthích hợp sẽ phụ thuộc chủ yếu vào kích cỡ của các axit

nucleic sẽ được chèn vào vật truyền và tế bào chủ cụ thể sẽ được biến nạp bằng vật truyền này. Mỗi vật truyền chứa các thành phần khác nhau, tùy thuộc vào chức năng của nó (khuếch đại hoặc biểu hiện polynucleotit khác nguồn gốc, hoặc cả hai) và khả năng tương thích của nó với các tế bào chủ cụ thể mà nó cư trú. Các thành phần của vật truyền thường bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: điểm khởi đầu sao chép, gen đánh dấu chọn lựa, gen khởi đầu, vị trí liên kết ribosom (RBS), trình tự tín hiệu, đoạn chèn axit nucleic khác nguồn gốc và trình tự kết thúc phiên mã.

Nhìn chung, vật truyền plasmit chứa các đơn vị sao chép và trình tự kiểm soát mà được tạo ra từ loài tương thích với tế bào chủ được sử dụng kết hợp với các thể chủ này. Các vật truyền thường mang vị trí sao chép, cũng như các trình tự đánh dấu có khả năng đem lại sự chọn lựa kiểu hình trong các tế bào được biến nạp. Ví dụ, *E. coli* thường được biến nạp bằng cách sử dụng pBR322, một plasmit được tạo ra từ loài *E. coli*. Chất pBR322 chứa các gen mã hóa gen kháng ampicillin (Amp) và tetraxyclin (Tet) và do đó đem lại các phương tiện dễ dàng cho việc nhận diện các tế bào được biến nạp. Chất pBR322, các dẫn xuất của nó, hoặc các plasmit vi sinh vật hoặc thể thực khuẩn khác cũng có thể chứa, hoặc được cải biến để chứa, các gen khởi đầu mà có thể được sử dụng bởi vi sinh vật dùng cho quá trình biểu hiện protein nội sinh. Các ví dụ về các dẫn xuất pBR322 được sử dụng để biểu hiện các kháng thể cụ thể được mô tả chi tiết trong tài liệu: Carter *et al.*, Patent Mỹ số 5.648.237.

Ngoài ra, các vật truyền thể thực khuẩn chứa các đơn vị sao chép và trình tự kiểm soátmà tương thích với vi sinh vật chủ được sử dụng làm các vật truyền biến nạp kết hợp với các thể chủ này. Ví dụ, thể thực khuẩn như GEM ™ -11 có thể được sử dụng để tạo ra vật truyền tái tổ hợp mà có thể được sử dụng để biến nạp các tế bào chủ dễ bị ảnh hưởng như *E. coli* LE392.

Các vật truyền biểu hiện theo đơn sáng chế này có thể bao gồm một hoặc hai cặp gen khởi đầu-cistron, mã hóa mỗi thành phần trong số các thành phần polypeptit. Gen khởi đầu là trình tự điều hòa không được dịch mã nằm trên vùng trước (5 ') của cistron điều biến sự biểu hiện của nó. Các gen khởi đầu của tế bào nhân sơ thường rơi vào hai nhóm, có thể kích thích được và cơ hữu. Gen khởi đầucó thể kích thích được là gen khởi đầu mà khởi đầu mức phiên mã cistron tăng dưới sự kiểm soát của nó khi đáp ứng lại các thay đổi về điều kiện nuôi cấy, ví dụ sự có mặt hoặc sự thiếu vắng của chất dinh dưỡng hoặc sự thay đổi về nhiệt độ

Một số lượng lớn gen khởi đầu được nhận biết bởi một loạt tế bào chủ tiềm năng thì đã biết rõ. Gen khởi đầu được chọn lựa có thể được liên kết theo kiểu hoạt động được vào cistron ADN mã hóa chuỗi nhẹ hoặc nặng bằng cách loại bỏ gen khởi đầu khỏi ADN nguồn thông qua phương pháp phân giải enzym giới hạn và chèn trình tự gen khởi đầu được phân lập vào vật truyền theo đơn sáng chế này. Cả trình tự gen khởi đầu nguyên thể và nhiều gen khởi đầu khác nguồn gốc đều có thể được sử dụng để dẫn dắt quá trình khuếch đạivà/hoặc biểu hiện các gen đích. Theo một số phương án, gen khởi đầu khác nguồn gốc được sử dụng, vì chúng thường cho phép mức độ phiên mã lớn hơn và năng suất cao hơn của gen đích được biểu hiện so với gen khởi đầu polypeptit đích nguyên thể.

Các gen khởi đầu thích hợp để sử dụng với các thể chủ nhân sơ bao gồm gen khởi đầu PhoA, hệ thống gen khởi đầu-galactamaza và lactoza, hệ thống gen khởi đầu tryptophan (trp) và các gen khởi đầu lai như gen khởi đầu tac hoặc gen khởi đầu trc. Tuy nhiên, các gen khởi đầu khác có chức năng ở vi khuẩn (như các gen khởi đầu của vi khuẩn hoặc thể thực khuẩn đã biết khác) cũng là thích hợp. Các trình tự axit nucleic của chúng đã được công bố, nhờ đó cho phép chuyên gia có trình độ trung bình trong lĩnh vực này nối kết chúng được theo kiểu hoạt động được vào cistron mã hóa các chuỗi nhẹ và nặng đích (Siebenlist *et al.*(1980) *Cell* 20:269) bằng cách sử dụng các gốc liên kết hoặc chất điều hợp để cung cấp các vị trí giới hạn cần thiết bất kỳ.

Theo một khía cạnh, mỗi cistron trong vật truyền tái tổ hợp bao gồm thành phần trình tự tín hiệu tiết mà dẫn dắt quá trình chuyển vị các polypeptit được biểu hiện qua màng. Nhìn chung, trình tự tín hiệu có thể là một thành phần của vật truyền, hoặc nó có thể là một phần của ADN của polypeptit đíchmà được chèn vào vật truyền. Trình tự tín hiệu được chọn lựa cho mục đích của sáng chế này phải là trình tự được nhận biết và xử lý (tức là, được phân cắt bằng peptidaza tín hiệu) bởi tế bào chủ. Đối với các tế bào chủ nhân sơ mà không nhận biết và xử lý trình tự tín hiệu nguyên thể đối với các polypeptit khác nguồn gốc, trình tự tín hiệu được thay thế bằng trình tự tín hiệu nhân sơ được chọn lựa, ví dụ, từ nhóm gồm các trình tự dẫn đầu phosphataza kiềm, penicillinaza, Ipp, hoặc enterotoxin II (STII) bền nhệt, LamB, PhoE, PelB, OmpA và MBP. Theo một số phương án của đơn sáng chế này, các trình tự tín hiệu được sử dụng trong cả hai cistron của hệ thống biểu hiện là các trình tự tín hiệu STII hoặc các biến thể của chúng.

Theo một số phương án, quá trình tạo các kháng thể theo đơn sáng chế này có thể xảy ra trong tế bào chất của tế bào chủ và do đó không đòi hỏi sự có mặt của các trình tự

tín hiệu tiết trong mỗi cistron. Theo một số phương án, các thành phần polypeptit, như polypeptit mã hóa miền V_H của phần liên kết kháng nguyên thứ nhất tùy ý được dung hợp với phần liên kết kháng nguyên thứ hai và polypeptit mã hóa miền V_Lcủa phần liên kết kháng nguyên thứ nhất tùy ý được dung hợp với phần liên kết kháng nguyên thứ hai, được biểu hiện, gấp cuộn và lắp ráp để tạo ra các kháng thể chức năng bên trong tế bào chất. Các chủng chủ nhất định (ví dụ, các chủng *E. coli* trxB$^-$) đem lại các điều kiện tế bào chất mà thuận lợi cho sự hình thành liên kết disulfua, nhờ đó cho phép gấp cuộn và lắp ráp chính xác các tiểu đơn vị protein được biểu hiện. Proba and Pluckthun*Gene,* 159:203 (1995).

Sáng chế này đề xuất hệ thống biểu hiện, trong đó tỷ lệ định lượng của các thành phần polipeptit được biểu hiện có thể được điều biến để tối đa hóa sản lượng của các kháng thể được tiết và được lắp ráp chính xác theo đơn sáng chế này. Sự điều biến như vậy được thực hiện ít nhất một phần bằng cách điều biến đồng thời cường độ dịch mã đối với các thành phần polypeptit. Một kỹ thuật để điều biến cường độ dịch mã được bộc lộ trong tài liệu: Simmons *et al.*, Patent Mỹ số 5.840.523. Kỹ thuật này sử dụng các biến thể của vùng khởi đầu dịch mã (TIR) trong cistron. Đối với một TIR đã cho, một loạt các biến thể trình tự axit amin hoặc axit nucleic có thể được tạo ra với khoảng các cường độ dịch mã, nhờ đó đem lại phương tiện thuận tiện để nhờ đó điều chỉnh yếu tố này đối với mức biểu hiện mong muốn của chuỗi cụ thể. Các biến thể TIR có thể được tạo ra bằng các kỹ thuật tạo đột biến thông thường đem lạicác dạng thay đổi codon mà có thể làm thay đổi trình tự axit amin, mặc dù những thay đổi thầm lặng trong trình tự axit nucleic được ưu tiên. Các dạng thay đổivề TIR có thể bao gồm, ví dụ, các dạng thay đổivề số lượng hoặc khoảng cách của trình tự Shine-Dalgarno, cùng với những thay đổi trong trình tự tín hiệu. Một phương pháp để tạo các trình tự tín hiệu đột biến là tạo ra "ngân hàng codon" ở đầu của chuỗi mã hóa mà không làm thay đổi trình tự axit amin của trình tự tín hiệu (tức là, các dạng thay đổi là thầm lặng). Điều này có thể được thực hiện bằng cách thay đổi vị trí nucleotit thứ ba của mỗi codon; ngoài ra, một số axit amin, như leuxin, serin, và arginin, có nhiều vị trí thứ nhất và thứ hai có thể bổ sung tính phức tạp trong việc tạo ra ngân hàng. Phương pháp tạo đột biến này được mô tả chi tiết trong tài liệu: Yansura *et al.*(1992) *METHODS: A Companion to Methods in Enzymol.*4:151-158.

Tốt hơn, nếu một tập hợp các vật truyền được tạo ra với khoảng cường độ TIR cho mỗi cistron trong đó. Tập hợp giới hạn này đưa ra sự so sánh mức biểu hiện của mỗi

chuỗi cũng như sản lượng của các sản phẩm protein mong muốn dưới điều kiện kết hợp các nồng độ TIR khác nhau. Các cường độ TIR có thể được xác định bằng cách định lượng mức biểu hiện của một gen chỉ thị như được mô tả chi tiết trong tài liệu: Simmons*et al.* Patent Mỹ số 5.840.523. Dựa vào việc so sánh cường độ dịch mã, các TIR riêng biệt mong muốn được chọn lựa để kết hợp trong các cấu trúc vật truyền biểu hiện theo đơn sáng chế này.

b) Tế bào chủ nhân sơ.

Các tế bào chủ nhân sơ thích hợp để biểu hiện các kháng thể theo sáng chế bao gồm Archaebacteria và Eubacteria, như sinh vật Gram âm hoặc Gram dương. Các ví dụ về vi khuẩn hữu ích bao gồm *Escherichia*(ví dụ, *E. coli*), *Bacilli* (ví dụ, *B. subtilis*), Enterobacteria, các loài*Pseudomonas* (ví dụ, *P. aeruginosa*), *Salmonella typhimurium, Serratia marcescans, Klebsiella, Proteus, Shigella, Rhizobia, Vitreoscilla*, hoặc *Paracoccus*. Theo một số phương án, các tế bào gram âm được sử dụng. Theo một phương án, các tế bào *E. coli* được sử dụng làm tế bào chủ cho sáng chế này. Các ví dụ về chủng *E. coli*bao gồm chủng W3110 (Bachmann, *Cellular and Molecular Biology*, vol.2 (Washington, D. C.:American Society for Microbiology, 1987), trang 1190-1219; Nộp lưu ATCC số 27.325) và các dẫn xuất của chúng, bao gồm chủng 33D3 có kiểu gen W3110 AfhuA (AtonA) ptr3 lac Iq lacL8 AompT A(nmpc-fepE) degP41 kan^R (Patent Mỹ số 5.639.635). Các chủng khác và các dẫn xuất của chúng, như *E. coli* 294 (ATCC 31, 446), *E. coli* B, *E. coli* 1776 (ATCC 31.537) và *E. coli* RV308(ATCC 31.608) thì cũng thích hợp. Các ví dụ này chỉ nhằm mục đích minh họa mà không giới hạn phạm vi của sáng chế. Các phương pháp dùng để kiến tạo dẫn xuất của vi khuẩn bất kỳ trong số các vi khuẩn được đề cập trên đây có kiểu gen đã xác định là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và được mô tả trong tài liệu, ví dụ, Bass *et al.*, *Proteins,* 8:309-314 (1990). Nhìn chung, thật là cần thiết khi chọn lựa các vi khuẩn thích hợp có tính đến khả năng sao chép của đơn vị sao chép trong các tế bào của vi khuẩn. Ví dụ, các loài *E. coli, Serratia*, hoặc *Salmonella*có thể được sử dụng một cách thích hợp làm tế bào chủ khi các plasmit đã biết rõ như pBR322, pBR325, pACYC177, hoặc pKN410 được sử dụng để cung cấp đơn vị sao chép.

Thông thường tế bào chủ tiết ra số lượng tối thiểu các enzym phân giải protein, và các chất ức chế proteaza bổ sung có thể được kết hợp một cách thích hợp trong môi trường nuôi cấy tế bào.

c) Sản xuất protein

Các tế bào chủ được biến nạp bằng các vật truyền biểu hiện được mô tả trên đây và được nuôi cấy trong môi trường dinh dưỡng thông thường được cải biến khi thích hợp để kích thích các gen khởi đầu, chọn lựa các thể biến nạp hoặc khuếch đại các gen mã hoá các trình tự mong muốn. Biến nạp có nghĩa là đưa ADN vào tế bào chủ nhân sơ sao cho ADN này có thể sao chép được, ở dạng yếu tố ngoài nhiễm sắc thể hoặc bằng mảnh nhiễm sắc thể. Tùy thuộc vào tế bào chủ được sử dụng, quá trình biến nạp được thực hiện bằng cách sử dụng các kỹ thuật tiêu chuẩn thích hợp với các tế bào như vậy. Việc xử lý bằng canxi sử dụng canxi clorua thường được sử dụng cho các tế bào vi khuẩn chứa rào chắn thành-tế bào đáng kể. Phương pháp biến nạp khác sử dụng polyetylen glycol/DMSO. Kỹ thuật khác nữa được sử dụng là phương pháp biến nạp bằng xung điện.

Các tế bào chủ nhân sơ được sử dụng để sản xuất kháng thể theo đơn sáng chế này được làm tăng trưởng trong môi trường đã biết trong lĩnh vực này và thích hợp cho môi trường nuôi cấy của tế bào chủ được chọn lựa. Các ví dụ về môi trường thích hợp bao gồm môi trường canh thang luria (LB) cộng với các chất bổ sung dinh dưỡng cần thiết. Theo một số phương án, môi trường cũng chứa tác nhân chọn lựa, được chọn dựa trên quá trình kiến tạo vật truyền biểu hiện, cho phép làm tăng trưởng một cách chọn lọc các tế bào nhân sơ chứa vật truyền biểu hiện. Ví dụ, ampicillin được thêm vào môi trường dùng cho việc làm tăng trưởng tế bào biểu hiện gen kháng ampicillin.

Chất bổ sung cần thiết bất kỳ ngoài carbon, nitơ, và các nguồn phosphat vô cơ cũng có thể được lấy vào ở các nồng độ thích hợp chỉ một mình hoặc ở dạng hỗn hợp với các chất bổ sung hoặc môi trường khác như là một nguồn nitơ phức hợp. Tùy ý, môi trường nuôi cấy có thể chứa một hoặc nhiều chất khử được chọn lựa từ nhóm gồm glutathion, xystein, xystamin, thioglycolat, dithioerythritol và dithiothreitol.

Các tế bào chủ nhân sơ được nuôi cấy ở nhiệt độ thích hợp. Đối với sự tăng trưởng của *E. coli*, ví dụ, nhiệt độ được ưu tiên nằm trong khoảng từ 20°C đến khoảng 39°C, tốt hơn nữa là từ khoảng 25°C đến khoảng 37°C, tốt nhất là khoảng 30°C. Độ pH của môi

trường có thể là độ pH bất kỳ nằm trong khoảng từ khoảng 5 đến khoảng 9, phụ thuộc chủ yếu vào sinh vật chủ. Đối với *E. coli*, độ pH tốt hơn là từ khoảng 6,8 đến khoảng 7,4, và tốt hơn nữa là khoảng 7,0.

Nếu gen khởi đầucó thể kích thích được được sử dụng trong vật truyền biểu hiện theo đơn sáng chế này, thì quá trình biểu hiện protein được kích thích trong các điều kiện thích hợp cho việc hoạt hóa gen khởi đầu. Theo một khía cạnh của đơn sáng chế này, các gen khởi đầu PhoA được sử dụng để kiểm soát quá trình phiên mã của các polypeptit. Theo đó, các tế bào chủ đã biến nạp được nuôi cấy trong môi trường giới hạn phosphat dùng để kích thích. Tốt hơn là, môi tường giới hạn phosphat là môi trường C.R.A.P (ví dụ, xem tài liệu: Simmons *et al.*, *J. Immunol. Methods* (2002), 263:133-147). Nhiều chất kích thích khác có thể được sử dụng, theo cấu trúc vật truyền được sử dụng, như đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Các kháng thể được biểu hiện theo đơn sáng chế này được tiết vào trong và được thu hồi từ chu chất của các tế bào chủ. Sự thu hồi protein thường liên quan đến sự phá vỡ tế bào vi sinh vật, thông thường bằng các phương tiện như sốc thẩm thấu, áp dụng sóng âm hoặc phân giải. Một khi các tế bào bị phá vỡ, các mảnh vỡ tế bào hoặc tế bào nguyên vẹn có thể được loại bỏ bằng cách ly tâm hoặc lọc. Các protein còn có thể được tinh chế thêm, ví dụ, bằng phương pháp sắc ký nhựa ái lực. Theo cách khác, protein có thể được vận chuyển vào môi trường nuôi cấy và được phân lập trong đó. Các tế bào có thể được thu hồi từ môi trường nuôi cấy và dịch nổi trên bề mặt của môi trường nuôi cấy được lọc và cô để tinh chế thêm các protein được sản xuất. Các polypeptit được biểu hiện có thế còn được phân lập và nhận diệnbằng cách sử dụng các phương pháp thông thường đã biết như điện di trên gel polyacrylamit (PAGE) và thử nghiệm thấm tách phương Tây.

Theo cách khác, việc sản xuất protein được tiến hành với số lượng lớn theo quy trình lên men. Các quy trình lên men quy mô lớn được nạp theo mẻ khác nhau thì có sẵn để sản xuất các protein tái tổ hợp. Quá trình lên men quy mô lớn có dung tích ít nhất 1000 lít, tốt hơn là dung tích khoảng 1.000 đến 100.000 lít. Các thiết bị lên men này sử dụng cánh quạt khuấy để phân phối oxy và các chất dinh dưỡng, đặc biệt là glucoza (nguồn carbon /năng lượng được ưu tiên).Lên men quy mô nhỏ thường chỉ quá trình lên men trong thiết bị lên men có dung tích không lớn hơn khoảng 100 lít và có thể nằm trong khoảng từ khoảng 1 lít đến khoảng 100 lít.

Trong quá trình lên men, quá trình kích thích hiện tượng biểu hiện protein thường được khởi đầu sau khi các tế bào đã được làm tăng trưởng trong các điều kiện thích hợp đến mật độ mong muốn, ví dụ, OD_{550} là khoảng 180-220, ở giai đoạn mà các tế bào ở pha tĩnh sớm. Nhiều chất kích thích có thể được sử dụng, theo cấu trúc vật truyền được sử dụng, như đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và được mô tả trên đây. Các tế bào có thể được làm tăng trưởng trong một khoảng thời gian ngắn hơn trước khi kích thích. Các tế bào thường được kích thích trong khoảng 12-50 giờ, mặc dù có thể sử dụng thời gian kích thích dài hơn hoặc ngắn hơn.

Để cải thiện sản lượng và chất lượng kháng thể theo đơn sáng chế này, các điều kiện lên men khác nhau có thể được cải biến. Ví dụ, để cải thiện mức lắp ráp và gấp cuộn đúng đắn các polypeptit được tiết, các vật truyền bổ sung biểu hiện quá mức các protein chaperon, như các protein Dsb (DsbA, DsbB, DsbC, DsbD và/hoặc DsbG) hoặc FkpA (peptidylprolyl cis, trans-isomeraza có hoạt tính chaperon) có thể được sử dụng để đồng biến nạp các tế bào chủ nhân sơ. Các protein chaperon đã được chứng minh là tạo thuận lợi cho sự gấp cuộn và khả năng hòa tan đúng đắn của các protein khác nguồn gốc được sản xuất trong các tế bào chủ của vi khuẩn. Chen *et al.*(1999) *J Bio Chem* 274:19601-19605; Georgiou *et al.*, Patent Mỹ số 6.083.715; Georgiou *et al.*, Patent Mỹ số 6.027.888; Bothmann and Pluckthun (2000) J. Biol. Chem.275:17100-17105; Ramm and Pluckthun (2000) J. Biol. Chem.275:17106-17113; Arie *et al.*(2001) *Mol. Microbiol.*39:199-210.

Để giảm thiểu mức phân giải protein của các protein khác nguồn gốc được biểu hiện (đặc biệt là những protein nhạy cảm với phân giải protein), các chủng chủ nhất định thiếu hụt enzym phân giải protein có thể được sử dụng cho sáng chế này. Ví dụ, các chủng tế bào chủ có thể được cải biến để tạo ra (các) đột biến gen trong các gen mã hoá các proteaza vi khuẩn đã biết như Proteaza III, OmpT, DegP, Tsp, Proteaza I, Proteaza Mi, Proteaza V, Proteaza VI và các dạng kết hợp của chúng. Một số chủng *E. coli* thiếu hụt proteaza có sẵn và được mô tả trong tài liệu, ví dụ, Joly *et al.*(1998), trên đây; Georgiou *et al.*, Patent Mỹ số 5.264.365; Georgiou *et al.*, Patent Mỹ số 5.508.192; Hara *et al.*, *Microbial Drug Resistance,* 2:63-72 (1996).

Các chủng *E. coli* thiếu hụt enzym phân giải protein và được biến nạp bằng plasmit biểu hiện quá mức một hoặc nhiều protein chaperon có thể được sử dụng làm tế bào chủ trong hệ thống biểu hiện mã hóa các kháng thể theo đơn sáng chế này.

d) Tinh chế protein

Các kháng thể được sản xuất trong bản mô tả này được tinh chế thêm để thu được các chế phẩm về cơ bản là thuần nhất dùng cho các thử nghiệm và sử dụng tiếp theo. Có thể sử dụng phương pháp tinh chế protein tiêu chuẩn đã biết trong lĩnh vực này. Các quy trình sau đây là ví dụ về quy trình tinh chế thích hợp: phân đoạn trên cột sắc ký ái lực miễn dịch hoặc cột trao đổi ion, kết tủa bằng etanol, HPLC pha đảo, sắc ký trên dioxit silic hoặc trên nhựa trao đổi cation như DEAE, sắc ký theo điểm đẳng điện, SDS-PAGE, kết tủa bằng amoni sulfat, và lọc gel sử dụng, ví dụ, Sephadex G-75.

Theo một khía cạnh, Protein A được làm bất động trên pha rắn được sử dụng để tinh chế bằng sắc ký ái lực miễn dịch các kháng thể chứa một vùng Fc theo đơn sáng chế này. Protein A là protein thành tế bào 41kD từ *Staphylococcus aureas* mà liên kết với ái lực cao vào vùng Fc của các kháng thể. Lindmark *et al* (1983) *J. Immunol. Meth.*62:1-13. Tốt hơn là, pha rắn mà Protein A được làm bất động vào đó là cột chứa bề mặt thủy tinh hoặc dioxit silic, tốt hơn nữa là cột thủy tinh có nhiều lỗ rỗng được kiểm soát hoặc cột axit silicic. Trong một số ứng dụng, cột này đã được phủ chất phản ứng, như glyxerol, trong nỗ lực để ngăn chặn sự kết dính không đặc hiệu của chất gây ô nhiễm. Sau đó, pha rắn được rửa để loại bỏ các chất gây ô nhiễm đã liên kết không đặc hiệu vào pha rắn. Cuối cùng, các kháng thể đang được quan tâm được thu hồi từ pha rắn bằng cách rửa giải.

4. Sản xuất tái tổ hợp ở các tế bào nhân thực

Đối với quá trình biểu hiện nhân thực, các thành phần của vật truyền thường bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, một hoặc nhiều thành phần trong số các thành phần sau đây, trình tự tín hiệu, điểm khởi đầu sao chép, một hoặc nhiều gen đánh dấu, và yếu tố tăng cường, gen khởi đầu, và trình tự kết thúc phiên mã.

a) Thành phần trình tự tín hiệu

Vật truyền để sử dụng trong thể chủ nhân thực cũng có thể là một đoạn chèn mà mã hóa trình tự tín hiệu hoặc polypeptit khác có một vị trí phân cắt đặc hiệu tại đầu tận cùng N của polypeptit hoặc protein trưởng thành. Tốt hơn là, chuỗi tín hiệu khác nguồn gốc được chọn lựa là trình tự được nhận biết và xử lý (tức là, được phân cắt bằng peptidaza tín hiệu) bởi tế bào chủ. Trong quá trình biểu hiện tế bào của động vật có vú,

các trình tự tín hiệu của động vật có vú cũng như các trình tự dẫn đầu tiết virut, ví dụ, tín hiệu gD của virut herpes simplex, là có sẵn.

ADN cho miền tiền thể như vậy được nối trong khung đọc vào ADN mã hóa các kháng thể theo đơn sáng chế này.

b) Điểm khởi đầu sao chép

Nhìn chung, thành phần điểm khởi đầu sao chép không cần thiết cho các vật truyền biểu hiện của động vật có vú (điểm khởi đầu SV40 chỉ được sử dụng do nó chứa gen khởi đầu sớm).

c) Thành phần gen chọn lựa

Vật truyền biểu hiện và tạo dòng vô tính có thể chứa gen chọn lựa, cũng được gọi là gen đánh dấu có thể chọn lựa được. Các gen chọn lựa điển hình mã hoá các protein mà (a) đem lại hiện tượng kháng lại kháng sinh hoặc các độc tố khác, ví dụ, ampixillin, neomyxin, metotrexat, hoặc tetraxyclin, (b) bổ sung các thiếu hụt khuyết dưỡng, hoặc (c) cung cấp các chất dinh dưỡng quan trọng không có sẵn từ môi trường phức hợp, ví dụ, gen mã hóa D-alanin racemaza cho Bacilli.

Một ví dụ về sơ đồ chọn lựa sử dụng thuốc để kìm hãm sự tăng trưởng của tế bào chủ. Các tế bào mà được biến nạp thành công bằng một gen khác nguồn gốc tạo ra protein đem lại tính kháng thuốc và vì vậy, tồn tại được qua chế độ chọn lựa. Các ví dụ về sự chọn lựa ưu thế như vậy sử dụng các thuốc neomyxin, axit mycophenolic và hygromyxin.

Một ví dụ khác về các gen đánh dấu có thể chọn lựađược thích hợp cho các tế bào động vật có vú là các gen cho phép nhận diện các tế bào có khả năng hấp thụ axit nucleic mã hóa các kháng thể theo đơn sáng chế này, như DHFR, thymidin kinaza, metallothionein-I và metallothionein-II, tốt hơn là các gen metallothionein của các loài linh trưởng, adenosin deaminaza, ornitin decarboxylaza, v.v..

Ví dụ, các tế bào được biến nạp bằng gen chọn lựa DHFR trước tiên được nhận diện bằng cách nuôi cấy tất cả các thể biến nạp trong môi trường nuôi cấy chứa metotrexat (Mtx), một chất đối kháng cạnh tranh của DHFR. Tế bào chủ thích hợp khi sử dụng DHFR kiểu hoang dại là tế bào buồng trứng chuột đồng Trung Quốc (CHO) thiếu hoạt tính DHFR (ví dụ, ATCC CRL-9096).

Ngoài ra, các tế bào chủ (đặc biệt là các tế bào chủ kiểu hoang dại có chứa DHFR nội sinh) được biến nạp hoặc đồng biến nạp bằng trình tự ADN mã hoá polypeptit, protein DHFR kiểu hoang dại và một gen đánh dấu có thể chọn lựa được khác như aminoglycosit 3'-phosphotransferaza (APH) có thể được chọn lựa bởi sự tăng trưởng tế bào trong môi trường chứa tác nhân chọn lựa cho các gen đánh dấu có thể chọn lựa được như kháng sinh dạng aminoglycosit, ví dụ, kanamyxin, neomyxin, hoặc G418. Xem Patent Mỹ số 4.965.199.

d) Thành phầngen khởi đầu

Các vật truyền biểu hiện và tạo dòng vô tính thường chứa gen khởi đầu mà được nhận biết bởi sinh vật chủ và được liên kết theo kiểu hoạt động được vào axit nucleic mã hóa các trình tự polypeptit mong muốn. Hầu như tất cả các gen nhân thực đều có vùng giàu AT ở vị trí xấp xỉ 25 đến 30 bazơ phía đầu nguồn tính từ vị trí bắt đầu phiên mã. Một trình tự khác tìm thấy ở 70 đến 80 bazơ phía đầu nguồn tính từ khi bắt đầu phiên mã nhiều gen là vùng CNCAAT, trong đó N có thể là nucleotit bất kỳ. Đầu 3' của hầu hết sinh vật nhân thực là trình tự AATAAA có thể là tín hiệu cho việc bổ sung đuôi poly A vào đầu 3' của trình tự mã hóa. Tất cả các trình tự này có thể được chèn vào các vật truyền biểu hiện nhân thực.

Các gen khởi đầu khác thích hợp để sử dụng với các thể chủ nhân sơ bao gồm gen khởi đầu PhoA, các hệ thống gen khởi đầu lactamaza và lactoza, hệ thống gen khởi đầu tryptophan (trp) và các gen khởi đầu lai như gen khởi đầu tac. Tuy nhiên, các gen khởi đầu vi khuẩn đã biết khác thì cũng thích hợp. Các gen khởi đầu để sử dụng trong các hệ vi khuẩn cũng sẽ chứa trình tự Shine-Dalgarno (S. D.) được liên kết theo kiểu hoạt động được vào ADN mã hóa các kháng thể.

Quá trình phiên mã polypeptit từ các vật truyền trong các tế bào chủ của động vật có vú được kiểm soát, ví dụ, bởi các gen khởi đầu thu được từ các hệ gen của các virut như virut polyoma, virut đậu mùa, adenovirut (như Adenovirut 2), virut papilloma bò, virut ung thư mô trung bì gia cầm, cytomegalovirut, retrovirut, virut viêm gan B và tốt nhất là virut khỉ 40 (SV40), từ các gen khởi đầu của động vật có vú khác nguồn gốc, ví dụ, gen khởi đầu actin hoặc gen khởi đầu globulin miễn dịch, từ các gen khởi đầu sốc nhiệt, với điều kiện là các gen khởi đầu này tương thích với các hệ thống tế bào chủ.

Các gen khởi đầu sớm và muộn của virut SV40 thu được một cách thuận tiện như là một đoạn giới hạn của SV40 mà cũng chứa điểm khởi đầu sao chép của virut SV40. Các gen khởi đầu sớm tức thì của cytomegalovirut của người thu được một cách thuận tiện như là đoạn giới hạn HindIII E. Một hệ thống dùng để biểu hiện ADN trong các thể chủ động vật có vú sử dụng virut papilloma bò làm vật truyền được bộc lộ trong tài liệu: Patent Mỹ số 4.419.446. Một dạng cải biến của hệ thống này được mô tả trong tài liệu: Patent Mỹ số 4.601.978. Xem thêm tài liệu: Reyes *et al.*, *Nature* 297:598-601 (1982) về sự biểu hiện của ADN bổ trợ interferon của người trong tế bào chuột dưới sự kiểm soát của gen khởi đầu kinaza thymidin của virut herpes simplex. Theo cách khác, đoạn lặp đầu tận cùng dài của virut ung thư mô trung bì Rous có thể được sử dụng làm gen khởi đầu.

e) Thành phần yếu tố tăng cường

Mức phiên mã ADN mã hóa các kháng thể của đơn sáng chế này bằng các tế bào nhân thực bậc cao thường được gia tăng bằng cách chèn trình tự tăng cường vào vật truyền. Nhiều trình tự tăng cường hiện nay được biết đến là của các gen của động vật có vú (globin, elastaza, albumin, α-fetoprotein và insulin). Tuy nhiên, thông thường, người ta sẽ sử dụng trình tự tăng cường của virut tế bào nhân thực. Các ví dụ bao gồm trình tự tăng cường SV40 ở phía cuối của điểm khởi đầu sao chép (bp 100-270), trình tự tăng cường gen khởi đầu cytomegalovirut sớm, trình tự tăng cường polyoma ở phía cuối điểm khởi đầu sao chép và các trình tự tăng cường adenovirut. Xem thêm tài liệu: Yaniv, *Nature* 297:17-18 (1982) về các yếu tố tăng cường để hoạt hóa các gen khởi đầu nhân thực. Trình tự tăng cường có thể được tách ghép vùng nội vào vật truyền ở vị trí 5' hoặc 3' tính đến trình tự mã hoá polypeptit, nhưng tốt hơn là nằm ở vị trí 5' tính từ gen khởi đầu.

f) Thành phần Kết thúc Phiên mã

Các vật truyền biểu hiện được sử dụng trong tế bào chủ nhân thực (nấm men, nấm, côn trùng, thực vật, động vật, người, hoặc các tế bào có nhân của các sinh vật đa bào khác) cũng chứa các trình tự cần thiết để kết thúc phiên mã và để làm ổn định ARN thông tin. Các trình tự như vậy thường có sẵn từ các vùng chưa dịch mã 5’ và đôi khi là 3’ của ADN hoặc ADN bổ trợ của virut hoặc tế bào nhân thực. Những vùng này chứa các đoạn

nucleotit được phiên mã ở dạng đoạn được polyadenyl hóa trong phần không được dịch mã củaARN thông tin mã hóa polipeptit. Một thành phần kết thúc phiên mã hữu ích là vùng polyadenyl hóa hormon tăng trưởng của bò. Xem WO94/11026 và vật truyền biểu hiện được bộc lộ trong đó.

g) Chọn lựa và biến nạp các tế bào chủ

Các tế bào chủ thích hợp để tạo dòng vô tính hoặc biểu hiện ADN trong các vật truyền trong bản mô tả này bao gồm các tế bào nhân thực bậc cao được mô tả trong bản mô tả này, bao gồm cả các tế bào chủ của động vật có xương sống. Việc nhân rộng các tế bào động vật có xương sống trong môi trường nuôi cấy (nuôi cấy mô) đã trở thành quy trình thông thường. Các ví dụ về các dòng tế bào chủ của động vật có vú hữu ích là dòng CV1 ở thận khỉ được biến nạp bằng SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651); dòng tế bào thận phôi thai của người (các tế bào 293 hoặc 293 được tái tạo dòng vô tính để tăng trưởng trong môi trường nuôi cấy huyền phù, Graham *et al.*, *J. Gen Virol.*36:59 (1977)); các tế bào thận chuột đồng non (BHK, ATCC CCL 10); các tế bào buồng trứng chuột đồng Trung Quốc khuyết thiếu DHFR (CHO, Urlaub *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.USA* 77:4216 (1980)); các tế bào sertoli của chuột (TM4, Mather, *Biol.Reprod.*23:243-251 (1980)); các tế bào thận của khỉ (CV1 ATCC CCL 70); các tế bào thận của khỉ xanh ở Châu Phi (VERO-76, ATCC CRL-1587); các tế bào ung thư biểu mô cổ tử cung của người (HELA, ATCC CCL 2); các tế bào thận của chó (MDCK, ATCC CCL 34); các tế bào gan của chuột buffalo (BRL 3A, ATCC CRL 1442); các tế bào phổi của người (W138, ATCC CCL 75); các tế bào gan của người (Hep G2, HB 8065); khối u vú của chuột (MMT 060562, ATCC CCL51); tế bào TR1 (Mather *et al.*, *Annals N.Y. Acad. Sci.*383:44-68 (1982)); các tế bào MRC 5 ; các tế bào FS4 ; và dòng tế bào u gan của người (Hep G2).

Các tế bào chủ được biến nạp bằng vật truyền biểu hiện hoặc tạo dòng vô tính được mô tả trên đây để sản xuất kháng thể và được nuôi cấy trong môi trường dinh dưỡng thông thường được cải biến khi thích hợp để kích thích các gen khởi đầu, chọn lựa các thể biến nạp, hoặc khuếch đại các gen mã hoá các trình tự mong muốn.

h) Nuôi cấy tế bào chủ

Các tế bào chủ được sử dụng để sản xuất kháng thể theo đơn sáng chế này có thể được nuôi cấy trong nhiều môi trường khác nhau. Các môi trường được bán trên thị

trường như Ham's F10 (Sigma), môi trường thiết yếu tối thiểu ((MEM), (Sigma), RPMI-1640 (Sigma), và môi trường của Eagle được cải biến bởi Dulbecco ((DMEM), Sigma) là thích hợp để nuôi cấy các tế bào chủ. Ngoài ra, môi trường bất kỳ trong số các môi trường được mô tả trong tài liệu: Ham *et al.*, *Meth.Enz.*58:44 (1979), Barnes *et al.*, *Anal. Biochem.*102:255 (1980), Patent Mỹ số 4.767.704; 4.657.866; 4.927.762; 4.560.655; hoặc 5.122.469; WO 90/03430; WO 87/00195; hoặc Patent Mỹ Re.30.985 có thể được sử dụng làm môi trường nuôi cấy các tế bào chủ. Nếu cần, môi trường bất kỳ trong số các môi trường này có thể được bổ sung các hormonvà/hoặc các yếu tố tăng trưởng khác (như insulin, transferrin, hoặc yếu tố tăng trưởng biểu bì), muối (như natri clorua, canxi, magiê và phosphat), các dung dịch đệm (như HEPES), nucleotit (như adenosin và thymidin), kháng sinh (như thuốc GENTAMYCIN™), các nguyên tố vi lượng (được định nghĩa là các hợp chất vô cơ thường có mặt với nồng độ cuối ở khoảng micromol) và glucoza hoặc nguồn năng lượng tương đương. Chất bổ sung cần thiết khác bất kỳ cũng có thể được lấy vào ở các nồng độ thích hợp mà được các chuyên gia trong lĩnh vực này biết rõ. Các điều kiện nuôi cấy, như nhiệt độ, độ pH, và các điều kiện tương tự, là những điều kiện được sử dụng trước đây với tế bào chủ được chọn lựa để biểu hiện và sẽ rõ ràng đối với các chuyên gia có trình độ trung bình trong lĩnh vực này.

i) Tinh chế protein

Khi sử dụng các kỹ thuật tái tổ hợp, các kháng thể có thể được tạo ra trong tế bào, trong không gian chu chất, hoặc trực tiếp tiết vào môi trường. Nếu kháng thể được tạo ra trong tế bào, thì bước đầu tiên là loại bỏ các mảnh dạng hạt, hoặc các tế bào chủ hoặc các đoạn được phân giải, ví dụ, bằng cách ly tâm hoặc siêu lọc. Carter *et al.*, *Bio/Technology* 10:163-167 (1992) mô tả một quy trình phân lập các kháng thể được tiết vào không gian chu chất của *E. coli*. Nói một cách vắn gọn, thể nhão tế bào được rã đông với sự có mặt của natri axetat (độ pH 3,5), EDTA, và phenylmetylsulfonylflorua (PMSF) trong khoảng 30 phút. Các mảnh vỡ tế bào có thể được loại bỏ bằng cách ly tâm. Khi kháng thể được tiết vào môi trường, các phần dịch nổi trên bề mặt từ các hệ thống biểu hiện như vậy trước tiên thường được cô cạn bằng cách sử dụng bộ lọc cô protein có bán trên thị trường, ví dụ, đơn vị siêu lọc Amicon hoặc Millipore Pellicon. Chất ức chế proteaza như PMSF có thể được lấy vào trong bước bất kỳ trong số các bước trước đó để ức chế sự phân giải

protein và các kháng sinh có thể được lấy vào để ngăn ngừa sự tăng trưởng của các chất gây ô nhiễm tự sinh.

Chế phẩm protein được điều chế từ các tế bào này có thể được tinh chế bằng cách sử dụng, ví dụ, sắc ký hydroxylapatit, điện di gel, thẩm tách, và sắc ký ái lực, trong đó phương pháp sắc ký ái lực là kỹ thuật tinh chế được ưu tiên. Tính thích hợp của protein A trong vai trò là phối tử ái lực phụ thuộc vào loài và kiểu tương đương của miền Fc của globulin miễn dịch bất kỳ có mặt trong kháng thể. Protein A có thể được sử dụng để tinh chế các kháng thể dựa trên các globulin miễn dịch của người chứa 1, 2 hoặc 4 chuỗi nặng (Lindmark *et al.*, *J. Immunol. Meth.*62:1-13 (1983)). Protein G được khuyến nghị dùng cho tất cả các kiểu tương đương của chuột và người 3 (Guss *et al.*, *EMBO J.*5:15671575 (1986)). Cơ chất mà phối tử ái lực gắn vào phổ biến nhất là agaroza, nhưng các cơ chất khác thì cũng có sẵn. Các cơ chất ổn định về mặt cơ học như kính xốp được kiểm soát hoặc poly (styren-divinyl) benzen cho phép tốc độ dòng chảy nhanh hơn và thời gian xử lý ngắn hơn so với khi sử dụng agaroza. Trường hợp kháng thể bao gồm miền C_H3, thì nhựa Bakerbond ABXTM (J. T. Baker, Phillipsburg, N.J.) được sử dụng để tinh chế. Các kỹ thuật khác để tinh chế protein như kỹ thuật phân đoạn trên cột trao đổi ion, kết tủa bằng etanol, HPLC pha đảo, sắc ký trên dioxit silic hoặc sắc ký trên heparin SEPHAROSE™, sắc ký trên nhựa trao đổi aninon và cation (như cột axit polyaspartic), sắc ký theo điểm đẳng điện, SDS-PAGE, kết tủa bằng amoni sulfat thì cũng có sẵn, tùythuộc vào kháng thể sẽ được thu hồi.

Sau (các) bước tinh chế sơ bộ bất kỳ, hỗn hợp bao gồm kháng thể đang được quan tâm và các chất gây ô nhiễm có thể được chạy sắc ký lỏng tương tác kỵ nước với độ pH thấp bằng cách sử dụng đệm rửa giải ở độ pH khoảng 2,5-4,5, tốt hơn là thực hiện ở các nồng độ muối thấp (ví dụ, muối có nồng độ khoảng từ 0-0,25M).

Các thể tiếp hợp miễn dịch

Theo một số phương án, đơn sáng chế này còn đề xuất các thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể (như các kháng thể miền đơn) được mô tả trong bản mô tả này được tiếp hợp với một hoặc nhiều chất gây độc tế bào, như các loại thuốc hoặc các chất hóa trị liệu, các chất ức chế quá trình tăng trưởng, các độc tố ((ví dụ, các độc tố protein, các độc tố có hoạt tính theo kiểu enzym có nguồn gốc từ vi khuẩn, nấm, thực vật, hoặc động vật, hoặc các đoạn của chúng), hoặc các chất đồng vị phóng xạ.

Theo một số phương án, thể tiếp hợp miễn dịch là thể tiếp hợp thuốc-kháng thể (ADC) trong đó kháng thể được tiếp hợp vào một hoặc nhiều thuốc bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở maytansinoit (xem Patent Mỹ số 5.208.020, 5.416.064 và Patent Châu Âu số EP 0 425 235 B1); auristatin như các gốc thuốc monometylauristatin DE vàDF (MMAE và MMAF) (xem Patent Mỹ số 5.635.483 và 5.780.588, và 7.498.298); dolastatin; calicheamixin hoặc dẫn xuất của chúng (xem Patent Mỹ số 5.712.374, 5.714.586, 5.739.116, 5.767.285, 5.770.701, 5.770.710, 5.773.001, và 5.877.296; Hinman et al., *Cancer Res.*53:3336-3342 (1993); và Lode et al., *Cancer Res.*58:2925-2928 (1998)); antraxyclin như daunomyxin hoặc doxorubicin (xem tài liệu: Kratz et al., *Current Med. Chem.*13:477-523 (2006); Jeffrey et al., *Bioorganic & Med. Chem.Letters* 16:358-362 (2006); Torgov et al., *Bioconj. Chem.*16:717-721 (2005); Nagy et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.USA* 97:829-834 (2000); Dubowchik et al., *Bioorg.& Med. Chem.Letters* 12:1529-1532 (2002); King et al., *J. Med. Chem.*45:4336-4343 (2002); và Patent Mỹ số 6.630.579); metotrexat; vindesin; taxan như docetaxel, paclitaxel, larotaxel, tesetaxel, và ortataxel; trichothexen; và CC1065.

Theo một số phương án, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm kháng thể được mô tả trong bản mô tả này được tiếp hợp với độc tố có hoạt tính theo kiểu enzym hoặc đoạn của nó, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở chuỗi bạch hầu A, các đoạn có hoạt tính không liên kết của độc tố bạch hầu, chuỗi ngoại độc tố A (từ Pseudomonas aeruginosa), chuỗi rixin A, chuỗi abrin A, chuỗi modexin A, alpha-sarcin, các protein Aleurites fordii, các protein dianthin, các protein thương lục Mỹ (PAPI, PAPII, và PAP-S), chất ức chế mướp đắng, curxin, crotin, chất ức chế tạo phì thảo, gelonin, mitogellin, restrictoxin, enomyxinphenomyxin, enomyxin, và các tricothexen.

Theo một số phương án, thể tiếp hợp miễn dịch bao gồm kháng thể như được mô tả trong bản mô tả này được tiếp hợp với một nguyên tử phóng xạ để tạo thành thể tiếp hợp phóng xạ. Một loạt chất đồng vị phóng xạ là có sẵn dùng cho việc sản xuất thể tiếp hợp phóng xạ. Các ví dụ bao gồm At^{211}, I^{131}, I^{125}, Y^{90}, Re^{186}, Re^{188}, Sm^{153}, Bi^{212}, P^{32}, Pb^{212} và các chất đồng vị có hoạt tính phóng xạ của Lu. Khi thể tiếp hợp phóng xạ được sử dụng cho việc phát hiện, nó có thể bao gồm một nguyên tử phóng xạ dùng cho các nghiên cứu xạ hình, ví dụ, tc99m hoặc I123, hoặc một chất đánh dấu quay dùng cho phương pháp chụp cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) (còn được gọi là chụp cộng hưởng từ, mri),

như lại iot-123, iot-131, indi-111, flo-19, carbon-13, nitơ-15, oxy-17, gadolini, mangan hoặc sắt.

Các thể tiếp hợp của kháng thể và chất gây độc tế bào có thể được tạo ra bằng cách sử dụng một loạt chất liên hợp protein hai chức năng như N-sucxinimidyl-3-(2-pyridyldithio) propionat (SPDP), sucxinimidyl-4-(N-maleimidometyl) xyclohexan-1-carboxylat (SMCC), iminothiolan (IT), các dẫn xuất hai chức năng của imidoeste (như dimetyl adipimidat HCl), các este có hoạt tính (như disucxinimidyl suberat), các aldehyt (như glutaraldehyt), các hợp chất bis-azido (như bis (p-azidobenzoyl) hexandiamin), các dẫn xuất bis-diazoni (như bis-(p-diazonibenzoyl)-etylendiamin), các diisoxyanat (như toluen 2,6-diisoxyanat), và các hợp chất flo có hoạt tính bis (như 1,5-diflo-2,4-dinitrobenzen). Ví dụ, độc tố miễn dịch rixin có thể được điều chế như được mô tả trong tài liệu: Vitetta et al., *Science* 238:1098 (1987). Axit 1-isothioxyanatobenzyl-3-metyldietylen triaminpentaaxetic được đánh dấu carbon-14 (MX-DTPA) là chất tạo chelat làm ví dụ để tiếp hợp nucleotit phóng xạ với kháng thể. Xem WO94/11026. Gốc liên kết có thể là "gốc liên kết có thể phân cắt được" tạo thuận lợi cho quá trình giải phóng thuốc gây độc tế bào trong tế bào. Ví dụ, có thể sử dụng gốc liên kết không bền với axit, gốc liên kết nhạy cảm với peptidaza, gốc liên kết không bền với ánh sáng, gốc liên kết dimetyl hoặc gốc liên kết chứa disulfua (Chari et al., *Cancer Res.*52:127-131 (1992); Patent Mỹ số 5.208.020) có thể được sử dụng.

Các thể tiếp hợp miễn dịch hay ADC trong bản mô tả này rõ ràng là dự liệu, nhưng không chỉ giới hạn ở, các dạng tiếp hợp như vậy được điều chế bằng các chất phản ứng liên kết ngang bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, sulfo-EMCS, sulfo-GMBS, sulfo-KMUS, sulfo-MBS, sulfo-SIAB, sulfo-SMCC, và sulfo-SMPB, và SVSB (sucxinimidyl-(4-vinylsulfon)benzoat) mà các chất này có sẵn trên thị trường (ví dụ, từ hãng Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., Mỹ).

Phương pháp và chế phẩm dùng để chẩn đoán và phát hiện

Theo một số phương án, kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể này (như các kháng thể miền đơn) được đề xuất trong bản mô tả này là hữu ích cho quá trình phát hiện sự có mặt của kháng nguyên tương ứng (như CD19, CD20, BCMA, hoặc CD38) trong mẫu sinh học. Thuật ngữ "phát hiện" như được sử dụng trong bản mô tả này bao quát sự

phát hiện định lượng hoặc phát hiện định tính. Theo các phương án nhất định, mẫu sinh học là máu, huyết thanh hoặc các mẫu lỏng khác có nguồn gốc sinh học. Theo một số phương án, mẫu sinh học bao gồm tế bào hoặc mô.

Theo một số phương án, kháng thể kháng CD19 (như kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể miền đơn kháng CD19 được mô tả trong bản mô tả này) để sử dụng trong phương pháp chẩn đoán hoặc phát hiện được đề xuất. Theo một khía cạnh khác nữa, phương pháp phát hiện sự có mặt của CD19 trong mẫu sinh học được đề xuất. Theo các phương án nhất định, phương pháp này bao gồm việc phát hiện sự có mặt của CD19 trong mẫu sinh học được đề xuất. Theo các phương án nhất định, CD19 này là CD19 của người. Theo các phương án nhất định, phương pháp này bao gồm việc cho mẫu sinh học tiếp xúc với kháng thể kháng CD19 như được mô tả trong bản mô tả này trong các điều kiện cho phép liên kết kháng thể kháng CD19 vào CD19, và phát hiện xem liệu phức hợp có được tạo ra giữa kháng thể kháng CD19 và CD19 hay không. Phương pháp như vậy có thể là phương pháp *in vitro* hoặc *in vivo*. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD19 được sử dụng để chọn lựa các đối tượng đủ điều kiện cho liệu pháp bằng kháng thể kháng CD19, ví dụ, trong đó CD19 là dấu ấn sinh học dùng cho việc chọn lựa bệnh nhân.

Theo một số phương án, kháng thể kháng CD20 (như kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể miền đơn kháng CD20 được mô tả trong bản mô tả này) để sử dụng trong phương pháp chẩn đoán hoặc phát hiện được đề xuất. Theo một khía cạnh khác nữa, phương pháp phát hiện sự có mặt của CD20 trong mẫu sinh học được đề xuất. Theo các phương án nhất định, phương pháp này bao gồm việc phát hiện sự có mặt của CD20 trong mẫu sinh học được đề xuất. Theo các phương án nhất định, CD20 này là CD20 của người. Theo các phương án nhất định, phương pháp này bao gồm việc cho mẫu sinh học tiếp xúc với kháng thể kháng CD20 như được mô tả trong bản mô tả này trong các điều kiện cho phép liên kết kháng thể kháng CD20 vào CD20, và phát hiện xem liệu phức hợp có được tạo ra giữa kháng thể kháng CD20 và CD20 hay không. Phương pháp như vậy có thể là phương pháp *in vitro* hoặc *in vivo*. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD20 được sử dụng để chọn lựa các đối tượng đủ điều kiện cho liệu pháp bằng kháng thể kháng CD20, ví dụ, trong đó kháng thể kháng CD20 là dấu ấn sinh học dùng cho việc chọn lựa bệnh nhân.

Theo một số phương án, kháng thể kháng BCMA (như kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể miền đơn kháng BCMA được mô tả trong bản mô tả này) để sử dụng trong

phương pháp chẩn đoán hoặc phát hiện được đề xuất. Theo một khía cạnh khác nữa, phương pháp phát hiện sự có mặt của BCMA trong mẫu sinh học được đề xuất. Theo các phương án nhất định, phương pháp này bao gồm việc phát hiện sự có mặt của BCMA trong mẫu sinh học được đề xuất. Theo các phương án nhất định, BCMA này là BCMA của người. Theo các phương án nhất định, phương pháp này bao gồm việc cho mẫu sinh học tiếp xúc với kháng thể kháng BCMA như được mô tả trong bản mô tả này trong các điều kiện cho phép liên kết kháng thể kháng BCMA vào BCMA, và phát hiện xem liệu phức hợp có được tạo ra giữa kháng thể kháng BCMA và BCMA hay không. Phương pháp như vậy có thể là phương pháp *in vitro* hoặc *in vivo*. Theo một số phương án, kháng thể kháng BCMA được sử dụng để chọn lựa các đối tượng đủ điều kiện cho liệu pháp bằng kháng thể kháng BCMA, ví dụ, trong đó BCMA là dấu ấn sinh học dùng cho việc chọn lựa bệnh nhân.

Theo một số phương án, kháng thể kháng CD38 (như kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể miền đơn kháng CD38 được mô tả trong bản mô tả này) để sử dụng trong phương pháp chẩn đoán hoặc phát hiện được đề xuất. Theo một khía cạnh khác nữa, phương pháp phát hiện sự có mặt của CD38 trong mẫu sinh học được đề xuất. Theo các phương án nhất định, phương pháp này bao gồm việc phát hiện sự có mặt của CD38 trong mẫu sinh học được đề xuất. Theo các phương án nhất định, CD38 này là CD38 của người. Theo các phương án nhất định, phương pháp này bao gồm việc cho mẫu sinh học tiếp xúc với kháng thể kháng CD38 như được mô tả trong bản mô tả này trong các điều kiện cho phép liên kết kháng thể kháng CD38 vào CD38, và phát hiện xem liệu phức hợp có được tạo ra giữa kháng thể kháng CD38 và CD38 hay không. Phương pháp như vậy có thể là phương pháp *in vitro* hoặc *in vivo*. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD38 được sử dụng để chọn lựa các đối tượng đủ điều kiện cho liệu pháp bằng kháng thể kháng CD38, ví dụ, trong đó CD38 là dấu ấn sinh học dùng cho việc chọn lựa bệnh nhân.

Theo các phương án nhất định, sáng chế đề xuất các kháng thể được đánh dấu (như các kháng thể miền đơn kháng CD19, kháng CD20, kháng BCMA, hoặc kháng CD38). Các chất đánh dấu bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các chất đánh dấu hoặc các gốc mà được phát hiện một cách trực tiếp (như các chất đánh dấu huỳnh quang, mang màu, có mật độ ngăn chặn điện tử xâm nhập, phát quang hóa học, và có hoạt tính phóng xạ), cũng như các gốc, như các enzym hoặc phối tử, mà được phát hiện một cách gián tiếp, ví dụ, thông qua phản ứng enzym hoặc sự tương tác phân tử. Các chất đánh dấu làm

ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các chất đồng vị phóng xạ ^{32}P, ^{14}C, ^{125}I, ^{3}H, và ^{131}I, các hợp chất huỳnh quang như chelat đất hiếm hoặc floresxein và các dẫn xuất của nó, rodamin và các dẫn xuất của nó, dansyl, umbeliferon, các luxiferaza, ví dụ, luxiferaza của đom đóm và luxiferaza của vi khuẩn (Patent Mỹ số 4.737.456), luxiferin, 2,3-dihydrophthalazinedion, peroxidaza của cải ngựa (HRP), phosphataza kiềm, β-galactosidaza, glucoamylaza, lysozym, sacarit oxidaza, ví dụ, glucoza oxidaza, galactoza oxidaza, và glucoza-6-phosphat dehydrogenaza, các oxidaza dạng dị vòng như uricaza và xantin oxidaza, được liên hợp bằng enzym mà sử dụng hydro peroxit để oxy hóa tiền chất thuốc nhuộm như HRP, lactoperoxidaza, hoặc microperoxidaza, biotin/avidin, chất đánh dấu quay, chất đánh dấu thể thực khuẩn, các gốc tự do ổn định, và các chất tương tự.

III. Các thụ thể kháng nguyên thể khảm

Một khía cạnh của đơn sáng chế này đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm (CAR) bao gồm miền liên kết kháng nguyên ngoại bào chứa một hoặc nhiều kháng thể miền đơn (như V_HH). Kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể miền đơn được mô tả trong Phần II có thể được sử dụng trong các CAR được mô tả trong bản mô tả này. Các CAR làm ví dụ bao gồm một hoặc nhiều miền V_HH (tức là, các CAR trên cơ sở V_HH) được minh họa và so sánh với các CAR thông thường chứa scFv (tức là, các CAR trên cơ sở scFv) trên các FIG.1A-1D. Chuyên gia có trình độ trung bình trong lĩnh vực này sẽ nhận ra rằng các miền V_HH trong các CAR làm ví dụ trên các FIG.1A-1D có thể được thay thế bằng các sdAb khác.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm (CAR) bao gồm polypeptit chứa: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn (sdAb) liên kết đặc hiệu vào kháng nguyên (như kháng nguyên khối u); (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, kháng nguyên được chọn lựa từ nhóm gồm CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3, và F77 glycolipit.Theo một số phương án, sdAb là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, miền xuyên màng được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số

phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD28, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ nhất được tạo ra từ CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ hai được tạo ra từ CD137 và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR là đơn đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR có hóa trị một. Theo một số phương án, CAR là đa hóa trị như hóa trị hai hoặc hóa trị ba. Theo một số phương án, CAR này là đa đặc hiệu như song đặc hiệu.

Các thụ thể kháng nguyên thể khảm của các đích đặc hiệu

Theo một số phương án, đơn sáng chế này đề xuất các CAR bao gồm miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm một kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể miền đơn kháng CD19, kháng CD20, kháng BCMA, hoặc kháng CD38 được mô tả trong bản mô tả này. Các CAR có thể là đơn đặc hiệu hoặc đa đặc hiệu (như song đặc hiệu hoặc có số lượng tính đặc hiệu nhiều hơn), và CAR có thể có hóa trị một hoặc đa hóa trị (như hóa trị hai, hóa trị ba hoặc có hóa trị cao hơn nữa). Danh sách các thụ thể kháng nguyên thể khảm đơn đặc hiệu làm ví dụ, các trình tự làm ví dụ, các cấu trúc và các vật truyền của chúng được thể hiện trong Bảng 4.

Các Bảng 4, 5, và 6 được liệt kê trong phần "III. Thụ thể kháng nguyên thể khảm" sử dụng các ký hiệu viết tắt dưới đây:Ex.: ví dụ; Vec.: vật truyền; AA:trình tự axit amin của CAR; NA:trình tự axit nucleic của CAR; SP:peptid tín hiệu; Extracellular:miền liên kết kháng nguyên ngoại bào; sdAb:kháng thể miền đơn; TM:miền xuyên màng; CO1:miền truyền tín hiệu đồng kích thích 1; CO2:miền truyền tín hiệu đồng kích thích 2; Prim.: miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp. Các miền được liệt kê từ trái sang phải của mỗi hàng là tương ứng với trật tự các miền từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C của polypeptit CAR.

1. CAR CD19

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR hướng đích đến CD19 (trong bản mô tả này còn được gọi là CAR CD19) bao gồm polypeptit chứa: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng CD19; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD19 còn bao gồm miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD19 còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD28, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR CD19 là đơn đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR CD19 có hóa trị một. Theo một số phương án, CAR CD19 là đa đặc hiệu như song đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR CD19 là đa hóa trị như hóa trị hai hoặc hóa trị ba.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR CD19 bao gồm polypeptit chứa: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng CD19; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó sdAb kháng CD19 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:1, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:2, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:3. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 còn bao gồm FR1 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:240, FR2 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:241, FR3 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:242, và/hoặc FR4 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:243. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 bao gồm miền V_HH bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:76. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD19 còn bao gồm miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD19 còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD28, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR CD19 là đơn đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR CD19 có hóa trị một. Theo một số phương án, CAR CD19 là đa đặc hiệu như song đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR CD19là đa hóa trị như hóa trị hai hoặc hóa trị ba.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR CD19 bao gồm polypeptit có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin là SEQ ID NO:248. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR CD19 bao gồm

trình tự axit amin là SEQ ID NO:248. Sáng chế cũng đề xuất polypeptit bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:248.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập mã hóa trình tự bất kỳ trong số các CAR CD19 được đề xuất trong bản mô tả này. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit nucleic là SEQ ID NO:250. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập bao gồm trình tự axit nucleic là SEQ ID NO:250. Theo một số phương án, axit nucleic được phân lập là ADN. Theo một số phương án, axit nucleic được phân lập là ARN. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất vật truyền chứa axit nucleic bất kỳ trong số các axit nucleic mã hóa các CAR CD19 được mô tả trên đây. Theo một số phương án, vật truyền này là vật truyền biểu hiện. Theo một số phương án, vật truyền này là vật truyền virut, như vật truyền lentivirut.

2. CAR CD20

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR hướng đích đến CD20 (trong bản mô tả này còn được gọi là CAR CD20) bao gồm polypeptit chứa: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng CD20; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, sdAb kháng CD20 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD20 còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD20 còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết

kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD28, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR CD20 là đơn đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR CD20 có hóa trị một. Theo một số phương án, CAR CD20 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:249. Theo một số phương án, CAR này là đa đặc hiệu như song đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR CD20là đa hóa trị như hóa trị hai hoặc hóa trị ba.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR CD20 bao gồm polypeptit chứa: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng CD20; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó sdAb kháng CD20 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:4, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:5, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:6. Theo một số phương án, sdAb kháng CD20 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, sdAb kháng CD20 còn bao gồm FR1 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:244, FR2 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:245, FR3 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:246, và/hoặc FR4 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:247. Theo một số phương án, sdAb kháng CD20 bao gồm miền V_HH chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO:77. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD20 còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD20 còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD28, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương

án, CAR CD20 là đơn đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR CD20 có hóa trị một. Theo một số phương án, CAR CD20 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:249. Theo một số phương án, CAR này là đa đặc hiệu như song đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR CD20 là đa hóa trị như hóa trị hai hoặc hóa trị ba.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR CD20 bao gồm polypeptit có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin là SEQ ID NO:249. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR CD20 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:249. Sáng chế cũng đề xuất polypeptit bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:249.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập mã hóa trình tự bất kỳ trong số các CAR CD20 được đề xuất trong bản mô tả này. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit nucleic là SEQ ID NO:251. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập bao gồm trình tự axit nucleic là SEQ ID NO:251. Theo một số phương án, axit nucleic được phân lập là ADN. Theo một số phương án, axit nucleic được phân lập là ARN. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất vật truyền chứa axit nucleic bất kỳ trong số các axit nucleic mã hóa các CAR CD20 được mô tả trên đây. Theo một số phương án, vật truyền này là vật truyền biểu hiện. Theo một số phương án, vật truyền này là vật truyền virut, như vật truyền lentivirut.

3. CAR BCMA

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR hướng đích đến BCMA (trong bản mô tả này còn được gọi là CAR BCMA) bao gồm polypeptit chứa: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng BCMA; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền

truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR BCMA còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR BCMA còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ nhất được tạo ra từ CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ hai được tạo ra từ CD127 và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR BCMA là đơn đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR BCMA có hóa trị một.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR BCMA bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng BCMA; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó sdAb kháng BCMA chứa một vùng bất kỳ trong số các vùng sau đây:

(1) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 7; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 18; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 29;

(2) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 8; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 19; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 30;

(3) CDR1 cótrình tự axit amin là SEQ ID NO: 9; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 20; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 31;

(4) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 10; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 21; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 32;

(5) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 11; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 22; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 33;

(6) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 12; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 23; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 34;

(7) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 13; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 24; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 35;

(8) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 14; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 25; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 36;

(9) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 15; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 26; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 37;

(10) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 16; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 27; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 38; hoặc

(11) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 17; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 28; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 39.

Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA chứa miền V_HH có trình tự axit amin từ nhóm gồm SEQ ID NO: 78-88. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR BCMA còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR BCMA còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ nhất được tạo ra từ CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ hai được tạo ra từ CD137 và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một

số phương án, CAR BCMA là đơn đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR BCMA có hóa trị một.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR BCMA bao gồm polypeptit có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:152-162, và 257-259. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR BCMA bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:152-162, và 257-259. Sáng chế cũng đề xuất polypeptit bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:152-162, và 257-259.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập mã hóa trình tự bất kỳ trong số các CAR BCMA được đề xuất trong bản mô tả này. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit nucleic được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:175-185, và 261-263. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập bao gồm trình tự axit nucleic được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:175-185, và 261-263. Theo một số phương án, axit nucleic được phân lập là ADN. Theo một số phương án, axit nucleicđược phân lập là ARN. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất vật truyền chứa axit nucleic bất kỳ trong số các axit nucleic mã hóa các CAR BCMA được mô tả trên đây. Theo một số phương án, vật truyền này là vật truyền biểu hiện. Theo một số phương án, vật truyền này là vật truyền virut, như vật truyền lentivirut.

4.CAR CD38

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR hướng đích đến CD38 (trong bản mô tả này còn được gọi làCAR CD38) bao gồm polypeptit chứa: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng CD38; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, sdAb kháng CD38 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu

đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án,CAR CD38 còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD38 còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ nhất được tạo ra từ CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ hai được tạo ra từ CD137 và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR CD38 là đơn đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR CD38 có hóa trị một.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR CD38 bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng CD38; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó sdAb kháng CD38 chứa một vùng bất kỳ trong số các vùng sau đây:

(1) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 40; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 52; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 64;

(2) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 41; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 53; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 65;

(3) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 42; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 54; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 66;

(4) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 43; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 55; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 67;

(5) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 44; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 56; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 68;

(6) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 45; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 57; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 69;

(7) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 46; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 58; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 70;

(8) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 47; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 59; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 71;

(9) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 48; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 60; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 72;

(10) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 49; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 61; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 73;

(11) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 50; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 62; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 74; hoặc

(12) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 51; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 63; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 75.

Theo một số phương án, sdAb kháng CD38 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, sdAb kháng CD38 chứa miền V_HH có trình tự axit amin từ nhóm gồm SEQ ID NO: 89-100. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án,CAR CD38 còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án,CAR CD38 còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ nhất được tạo ra từ CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ hai được tạo ra từ CD137 và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền

bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án,CAR CD38 là đơn đặc hiệu. Theo một số phương án,CAR CD38 có hóa trị một.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR CD38 bao gồm polypeptit có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:163-174, và 260. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR CD38 bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:163-174, và 260. Sáng chế cũng đề xuất polypeptit bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:163-174, và 260.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập mã hóa trình tự bất kỳ trong số các CAR CD38 được đề xuất trong bản mô tả này. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit nucleic được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:186-197, và 264. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập bao gồm trình tự nucleic được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:186-197, và 264. Theo một số phương án, axit nucleic được phân lập là ADN. Theo một số phương án, axit nucleic được phân lập là ARN. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất vật truyền chứa axit nucleic bất kỳ trong số các axit nucleic mã hóa cácCAR CD38 được mô tả trên đây. Theo một số phương án, vật truyền này là vật truyền biểu hiện. Theo một số phương án, vật truyền này là vật truyền virut, như vật truyền lentivirut.

5. CAR CD22

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR hướng đích đến CD22 (trong bản mô tả này còn được gọi là CAR CD22) bao gồm polypeptit chứa: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng CD22; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, sdAb kháng CD22 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao

gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD22 còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD22 còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ nhất được tạo ra từ CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ hai được tạo ra từ CD127 và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR CD22 là đơn đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR CD22 có hóa trị một.

Bảng 4. Các CAR đơn đặc hiệu, hóa trị một làm ví dụ.

Tên CAR hoặc Vật truyền Ví dụ	AA SEQ IDV í dụ	NA SEQ IDV í dụ	SP	sdAb, Ngoại bào	Bản lề	TM	Truyền tín hiệu nội bào.		
							CO1	CO2	Prim.
CAR BCMA									
PLVX-hEF1a-269A37346	152	175	CD8α	269A37346	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-269A37348	153	176	CD8α	269A37348	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-269A37917	154	177	CD8α	269A37917	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-269A37355	155	178	CD8α	269A37355	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ

PLVX-hEF1a-269A37915	156	179	CD8α	269A37915	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-269A37936	157	180	CD8α	269A37936	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-269A37953	158	181	CD8α	269A37953	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-269A37965	159	182	CD8α	269A37965	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-269A37972	160	183	CD8α	269A37972	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-269A37353	161	184	CD8α	269A37353	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-269A37948	162	185	CD8α	269A37948	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
GSI5011 CAR	257	261	CD8α	269A37346	CD8α	CD8α	CD137	Không xác định	CD3ζ
GSI5019 CAR	258	262	CD8α	269A37353	CD8α	CD8α	CD137	Không xác định	CD3ζ
GSI5020 CAR	259	263	CD8α	269A37917	CD8α	CD8α	CD137	Không xác định	CD3ζ
CD38 CAR									
PLVX-hEF1a-38A37333	163	186	CD8α	38A37333	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-38A37336	164	187	CD8α	38A37336	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-38A37699	165	188	CD8α	38A37699	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-38A37331	166	189	CD8α	38A37331	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ

PLVX-hEF1a-38A37717	167	190	CD8α	38A37717	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-38A37719	168	191	CD8α	38A37719	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-38A37330	169	192	CD8α	38A37330	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-38A37334	170	193	CD8α	38A37334	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-38A37730	171	194	CD8α	38A37730	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-38A37340	172	195	CD8α	38A37340	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-38A37731	173	196	CD8α	38A37731	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLVX-hEF1a-38A37326	174	197	CD8α	38A37326	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
CD19 V_HH CAR	248	250	CD8α	CD19 V_HH	CD8α	CD28	CD28	Không xác định	CD3ζ
CD20 V_HH CAR	249	251	CD8α	CD20 V_HH	CD8α	CD28	CD28	Không xác định	CD3ζ
GSI5012 CAR	260	264	CD8α	38A37717	CD8α	CD8α	CD137	Không xác định	CD3ζ

Các thụ thể kháng nguyên thể khảm đa hóa trị

Đơn sáng chế này cũng đề xuất các CAR mà có hai vị trí liên kết kháng nguyên hoặc nhiều hơn nữa (như khoảng một trị số bất kỳ trong số 2, 3, 4, 5, 6, hoặc nhiều hơn nữa) bao gồm kháng thể miền đơn. Theo một số phương án, CAR đa hóa trị hướng đích đến một kháng nguyên đơn lẻ, và bao gồm hai vị trí liên kết kháng nguyên hoặc nhiều hơn nữa đối với kháng nguyên đơn lẻ này. Theo một số phương án, CAR đa hóa trị

hướng đích đến nhiều hơn một kháng nguyên, và CAR đa hóa trị bao gồm hai vị trí liên kết kháng nguyên hoặc nhiều hơn nữa đối với ít nhất một kháng nguyên. Các vị trí liên kết đặc hiệu đối với cùng một kháng nguyên có thể liên kết với cùng một epitop của kháng nguyên hoặc liên kết vào các epitop khác nhau của kháng nguyên. Các vị trí liên kết đặc hiệu đối với cùng một kháng nguyên có thể bao gồm các kháng thể miền đơn giống hoặc khác nhau.

Theo một số phương án, đơn sáng chế này đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm đa hóa trị (như hóa trị hai, hóa trị ba, hoặc số hóa trị cao hơn nữa) chứa polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm nhiều kháng thể miền đơn (sdAb) (như khoảng một trị số bất kỳ trong số 2, 3, 4, 5, 6, hoặc lớn hơn nữa) liên kết đặc hiệu vào kháng nguyên (như kháng nguyên khối u); (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, kháng nguyên được chọn lựa từ nhóm gồm CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3, và F77 glycolipit. Theo một số phương án, nhiều kháng thể sdAb thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, nhiều kháng thể miền đơn được dung hợp với nhau thông qua các liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit này là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, miền xuyên màng được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR đa hóa trị còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR đa hóa trị còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N

đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR CD22 đa hóa trị là đơn đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR đa hóa trị này là đa đặc hiệu như song đặc hiệu.

Theo một số phương án, đơn sáng chế này đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm đa hóa trị (như hóa trị hai, hóa trị ba, hoặc số hóa trị cao hơn nữa) chứa polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn thứ nhất liên kết đặc hiệu vào epitop thứ nhất của kháng nguyên (như kháng nguyên khối u)và kháng thể miền đơn thứ hai liên kết đặc hiệu vàoepitop thứ hai của kháng nguyên; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó epitop thứ nhất và epitop thứ hai là khác nhau. Theo một số phương án, kháng nguyên được chọn lựa từ nhóm gồm CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3, và F77 glycolipit. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất và/hoặc sdAb thứ hai là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn thứ nhất và kháng thể miền đơn thứ hai được dung hợp với nhau thông qua liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, miền xuyên màng được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR đa hóa trị còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR đa hóa trị còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số

phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR CD22 đa hóa trị là đơn đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR đa hóa trị này là đa đặc hiệu như song đặc hiệu.

Các CAR đa hóa trị được mô tả trong bản mô tả này có thể đặc biệt thích hợp để hướng đích các kháng nguyên dạng multime thông qua liên kết hiệp trợ bởi các vị trí liên kết kháng nguyên khác nhau, hoặc để tăng cường ái lực hoặc ái tính đối với kháng nguyên. Kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể miền đơn được mô tả trong bản mô tả này, như các kháng thể kháng CD19, kháng CD20, kháng BCMA, hoặc kháng CD38, có thể được sử dụng trong miền liên kết kháng nguyên ngoại bào của các CAR đa hóa trị được mô tả trong bản mô tả này. Danh sách các thụ thể kháng nguyên thể khảm đa hóa trị đơn đặc hiệu làm ví dụ, các trình tự làm ví dụ, các cấu trúc và các vật truyền của chúng được thể hiện trong Bảng 5.

1. CAR BCMA đa hóa trị

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR đa hóa trị hướng đích đến BCMA (trong bản mô tả này còn được gọi là CAR BCMA đa hóa trị) bao gồm polypeptit chứa: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm nhiều (như 2, 3, hoặc nhiều hơn nữa) sdAb kháng BCMA; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, nhiều sdAb kháng BCMA được dung hợp với nhau thông qua các liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, mỗi gốc liên kết peptit này là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng

kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR BCMA đa hóa trị còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR BCMA đa hóa trị còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR BCMA đa hóa trị có hóa trị hai. Theo một số phương án, CAR BCMA đa hóa trị có hóa trị hai hoặc hóa trị ba. Kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể sdAb kháng BCMA có thể được sử dụng để kiến tạo CAR BCMA đa hóa trị.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR BCMA đa hóa trị bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm nhiều (như 2, 3, hoặc lớn hơn) sdAb kháng BCMA; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó sdAb kháng BCMA bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:7, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:18, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:29. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA bao gồm miền V_HH chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO:78. Theo một số phương án, nhiều sdAb kháng BCMA được dung hợp với nhau thông qua các liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit này là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR BCMA đa hóa trị còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương

án, CAR BCMA đa hóa trị còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR BCMA đa hóa trị có hóa trị hai. Theo một số phương án, CAR BCMA đa hóa trị có hóa trị hai hoặc hóa trị ba.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR BCMA đa hóa trị bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng BCMA thứ nhất và sdAb kháng BCMA thứ hai; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đósdAb kháng BCMA thứ nhất và sdAb kháng BCMA thứ hai liên kết đặc hiệu vào các epitop khác nhau trên BCMA. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA thứ nhất nằm ở đầu tận cùng N của sdAb kháng BCMA thứ hai. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA thứ nhất nằm ở đầu tận cùng C của sdAb kháng BCMA thứ hai. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA thứ nhất và sdAb kháng BCMA thứ hai được dung hợp với nhau thông qua liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR BCMA đa hóa trị còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR BCMA đa hóa trị còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ

cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR BCMA đa hóa trị có hóa trị hai. Theo một số phương án, CAR BCMA đa hóa trị có hóa trị hai hoặc hóa trị ba. Theo một số phương án, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào còn bao gồm sdAb kháng BCMA thứ ba liên kết đặc hiệu vàoepitop khác với sdAb kháng BCMA thứ nhất và thứ hai. Kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể sdAb kháng BCMA có thể được sử dụng để kiến tạo CAR BCMA đa hóa trị.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR BCMA đa hóa trị bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng BCMA thứ nhất và sdAb kháng BCMA thứ hai; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó sdAb kháng BCMA thứ nhất bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:16, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:27, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:38; và trong đó sdAb kháng BCMA thứ hai bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:9, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:20, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:31. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA thứ nhất bao gồm miền V_HH bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:87. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA thứ nhất bao gồm miền V_HH bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:80. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA thứ nhất nằm ở đầu tận cùng N của sdAb kháng BCMA thứ hai. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA thứ nhất nằm ở đầu tận cùng C của sdAb kháng BCMA thứ hai. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA thứ nhất và sdAb kháng BCMA thứ hai được dung hợp với nhau thông qua liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR BCMA đa hóa trị còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án,

CAR BCMA đa hóa trị còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR BCMA đa hóa trị có hóa trị hai.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR BCMA đa hóa trị bao gồm polypeptit có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:198-199 và 265-270. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR BCMA đa hóa trị bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:198-199 và 265-270. Sáng chế cũng đề xuất polypeptit bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:198-199 và 265-270.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập mã hóa trình tự bất kỳ trong số các CAR BCMA đa hóa trị được đề xuất trong bản mô tả này. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit nucleic được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:202-203 và 271-276. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập bao gồm trình tự axit nucleic được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:202-203 và 271-276. Theo một số phương án, axit nucleic được phân lập là ADN. Theo một số phương án, axit nucleic được phân lập là ARN. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất vật truyền chứa axit nucleic bất kỳ trong số các axit nucleic mã hóa các CAR BCMA đa hóa trị được mô tả trên đây. Theo một số phương án, vật truyền này là vật truyền biểu hiện. Theo một số phương án, vật truyền này là vật truyền virut, như vật truyền lentivirut.

2.CAR CD38 đa hóa trị

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR đa hóa trị hướng đích đến CD38 (còn được gọi trong bản mô tả này là "CAR CD38 đa hóa trị") bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm nhiều (như 2, 3, hoặc nhiều hơn nữa) sdAb kháng CD38 (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án,

sdAb kháng CD38 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, nhiều sdAb kháng CD38 được dung hợp với nhau thông qua các liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit này là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án,CAR CD38 đa hóa trị còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD38 đa hóa trị còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR CD38 đa hóa trị có hóa trị hai. Theo một số phương án, CAR CD38 đa hóa trị có hóa trị hai hoặc hóa trị ba. Kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể sdAb kháng CD38 có thể được sử dụng để kiến tạoCAR CD38 đa hóa trị.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuấtCAR CD38 đa hóa trị bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm nhiều sdAb kháng CD38; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó mỗi kháng thể trong số nhiều sdAb kháng CD38 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:44, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:56, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:68. Theo một số phương án, sdAb kháng CD38 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, mỗi kháng thể trong số nhiều sdAb kháng CD38 bao gồm miền V_HH bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:93. Theo một số phương án, nhiều sdAb kháng CD38 được dung hợp với nhau

thông qua các liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit này là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD38 đa hóa trị còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD38 đa hóa trị còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR CD38 đa hóa trị có hóa trị hai. Theo một số phương án, CAR CD38 đa hóa trị có hóa trị hai hoặc hóa trị ba.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuấtCAR CD38 đa hóa trị bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng CD38 thứ nhất và sdAb kháng CD38 thứ hai; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó sdAb kháng CD38 thứ nhất và sdAb kháng CD38 thứ hai liên kết đặc hiệu vào các epitop khác nhau trên CD38. Theo một số phương án, sdAb kháng CD38 thứ nhất nằm ở đầu tận cùng N của sdAb kháng CD38 thứ hai. Theo một số phương án, sdAb kháng CD38 thứ nhất nằm ở đầu tận cùng C của sdAb kháng CD38 thứ hai. Theo một số phương án, sdAb kháng CD38 thứ nhất và sdAb kháng CD38 thứ hai được dung hợp với nhau thông qua liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ.

Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD38 đa hóa trị còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD38 đa hóa trị còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR CD38 đa hóa trị có hóa trị hai. Theo một số phương án, CAR CD38 đa hóa trị có hóa trị hai hoặc hóa trị ba. Theo một số phương án, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào còn bao gồm sdAb kháng CD38 thứ ba liên kết đặc hiệu vàoepitop khác với sdAb kháng CD38 thứ nhất và thứ hai. Kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể sdAb kháng CD38 có thể được sử dụng để kiến tạo CAR CD38 đa hóa trị.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR CD38 đa hóa trị bao gồm polypeptit có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin là SEQ ID NO:200 hoặc SEQ ID NO:201. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR CD38 đa hóa trị bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:200 hoặc SEQ ID NO:201. Sáng chế cũng đề xuất polypeptit bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:200 hoặc SEQ ID NO:201.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập mã hóa trình tự bất kỳ trong số các CAR CD38 đa hóa trị được đề xuất trong bản mô tả này. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit nucleic là SEQ ID NO:204 hoặc SEQ ID NO:205. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập bao gồm trình tự axit nucleic là SEQ ID NO:204 hoặc SEQ ID NO:205. Theo một số phương án, axit nucleic được phân lập là ADN. Theo một số phương án, axit

nucleicđược phân lập là ARN. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất vật truyền chứa axit nucleic bất kỳ trong số các axit nucleic mã hóa cácCAR CD38 đa hóa trị được mô tả trên đây. Theo một số phương án, vật truyền này là vật truyền biểu hiện. Theo một số phương án, vật truyền này là vật truyền virut, như vật truyền lentivirut.

3. Các CAR đa hóa trị làm ví dụ khác

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR đa hóa trị hướng đích đến CD19 (còn được gọi trong bản mô tả này là "CAR CD19 đa hóa trị") bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm nhiều (như 2, 3, hoặc nhiều hơn nữa) sdAb kháng CD19; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, nhiều sdAb kháng CD19 được dung hợp với nhau thông qua các liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, gốc liên kết peptitnày không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD19 đa hóa trị còn bao gồm miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD19 đa hóa trị còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR CD19 đa hóa trị có hóa trị hai. Theo một số phương án, CAR CD19 đa hóa trị có hóa trị ba. Bất kỳ trong số các sdAb kháng CD19 có thể được sử dụng để kiến tạo CAR CD19 đa hóa trị.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR đa hóa trị hướng đích đến CD20 (còn được gọi trong bản mô tả này là "CAR CD20 đa hóa trị") bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm nhiều (như 2, 3, hoặc nhiều hơn nữa) sdAb kháng CD20; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, sdAb kháng CD20 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, nhiều sdAb kháng CD20 được dung hợp với nhau thông qua các liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit này không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD20 đa hóa trị còn bao gồm miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD20 đa hóa trị còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR CD20 đa hóa trị có hóa trị hai. Theo một số phương án, CAR CD20 đa hóa trị có hóa trị ba. Kháng thể bất kỳ trong số các sdAb kháng CD20 có thể được sử dụng để kiến tạo CAR CD20 đa hóa trị.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR đa hóa trị hướng đích đến CD22 (còn được gọi trong bản mô tả này là "CAR CD22 đa hóa trị") bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm nhiều (như 2, 3, hoặc nhiều hơn nữa) sdAb kháng CD22; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, sdAb kháng CD22 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của

người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, nhiều sdAb kháng CD22 được dung hợp với nhau thông qua các liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit này không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD22 đa hóa trị còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD22 đa hóa trị còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR CD22 đa hóa trị có hóa trị hai. Theo một số phương án, CAR CD22 đa hóa trị có hóa trị hai hoặc hóa trị ba.

Bảng 5. CAR đơn đặc hiệu, đa hóa trị làm ví dụ.

CAR	AA SEQ ID Ví dụ	NA SEQ IDVí dụ	SP	miền liên kết kháng nguyên ngoại bào					Bản lề	TM	Truyền tín hiệu nội bào.	
				sdAb số 1	Lnk. số 1 SEQ ID	sdAb số 2	Lnk. số 2 SEQ ID	sdAb số 3			CO 1	P rim.
GSI5014	198	202	CD8α	269A37346	144	269A37346	Không xác định	Không xác định	CD8α	CD8α	CD137	C D3ζ
GSI5	199	203	CD8α	269A	144	269A	144	269A37	CD8α	CD8α	CD	C

015				37346		37346		346			137	D3ζ
GSI5016	200	204	CD8α	38A37717	144	38A37717	Không xác định	Không xác định	CD8α	CD8α	CD137	D3ζ
GSI5017	201	205	CD8α	38A37717	144	38A37717	144	38A37717	CD8α	CD8α	CD137	D3ζ
GSI5021	265	271	CD8α	269A37353	144	269A37917	Không xác định	Không xác định	CD8α	CD8α	CD137	D3ζ
GSI5022	266	272	CD8α	269A37353	149	269A37917	Không xác định	Không xác định	CD8α	CD8α	CD137	D3ζ
GSI5023	267	273	CD8α	269A37353	151	269A37917	Không xác định	Không xác định	CD8α	CD8α	CD137	D3ζ
GSI5024	268	274	CD8α	269A37917	145	269A37353	Không xác định	Không xác định	CD8α	CD8α	CD137	D3ζ
GSI5025	269	275	CD8α	269A37917	149	269A37353	Không xác định	Không xác định	CD8α	CD8α	CD137	D3ζ
GSI5026	270	276	CD8α	269A37917	150	269A37353	Không xác định	Không xác định	CD8α	CD8α	CD137	D3ζ

Thụ thể kháng nguyên thể khảm đa đặc hiệu

Đơn sáng chế này cũng đề xuất các thụ thể kháng nguyên thể khảm đa đặc hiệu hướng đích đến hai hoặc nhiều hơn nữa (như khoảng một trị số bất kỳ trong số 2, 3, 4, 5, 6, hoặc nhiều hơn nữa) các kháng nguyên khác nhau. Theo một số phương án, CAR đa đặc hiệu có một vị trí liên kết kháng nguyên cho mỗi kháng nguyên. Theo một số phương án, CAR đa đặc hiệu có nhiều hơn hai vị trí liên kết cho ít nhất một kháng nguyên. Mỗi vị trí liên kết kháng nguyên có thể bao gồm kháng thể miền đơn. Ví dụ, theo một số phương án, thụ thể kháng nguyên thể khảm đa đặc hiệu là CAR song đặc hiệu bao gồm miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm hai sdAb khác nhau, mỗi kháng thể này liên kết đặc hiệu vàomột kháng nguyên. Theo một số phương án, CAR đa đặc hiệu là CAR tam đặc hiệu bao gồm miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm ba sdAb khác nhau, mỗi kháng thể này liên kết đặc hiệu vào một kháng nguyên.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm (CAR) đa đặc hiệu (như song đặc hiệu) gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn (sdAb) thứ nhấtliên kết đặc hiệu vào kháng nguyên thứ nhất (như kháng nguyên khối u thứ nhất) và kháng thể miền đơn (sdAb) thứ hai liên kết đặc hiệu vào kháng nguyên thứ hai (như kháng nguyên khối u thứ hai); (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó kháng nguyên thứ nhất khác với kháng nguyên thứ hai. Theo một số phương án, kháng nguyên thứ nhất và/hoặc kháng nguyên thứ hai được chọn lựa từ nhóm gồm CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3, và F77 glycolipit.Theo một số phương án, sdAb thứ nhất và/hoặc sdAb thứ hai là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn thứ nhất và kháng thể miền đơn thứ hai được dung hợp với nhau thông qua liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, miền xuyên màng được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR đa đặc hiệu còn bao gồm miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR đa đặc hiệu còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận

cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD28, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ.

Tùy thuộc vào kháng nguyên mong muốn sẽ được hướng đích đến, các CAR theo đơn sáng chế này có thể được xử lý công nghệ để bao gồm các kháng thể miền đơn thích hợp mà đặc hiệu với các kháng nguyên mong muốn này. Một hoặc nhiều kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể kháng CD19, kháng CD20, kháng BCMA, hoặc kháng CD38 được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụng trong miền liên kết kháng nguyên ngoại bào trong các CAR theo đơn sáng chế này. Các kháng thể miền đơn có thể được sắp xếp theo thứ tự thích hợp bất kỳ. Ví dụ, kháng thể miền đơn thứ nhất được dung hợp ở đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của kháng thể miền đơn thứ hai. Gốc liên kết peptit thích hợp có thể được đặt giữa các kháng thể miền đơn khác nhau để tránh sự cản trở không gian giữa các kháng thể miền đơn. Danh sách các thụ thể kháng nguyên thể khảm song đặc hiệu làm ví dụ, các trình tự làm ví dụ, các cấu trúc và các vật truyền của chúng được thể hiện trong Bảng 6.

1. CAR CD38 × BCMA

Theo một số phương án, CAR theo đơn sáng chế này là CAR song đặc hiệu hướng đích đồng thời đến BCMA và CD38. Ví dụ, BCMA và CD38 có thể được sử dụng làm các ứng viên để hướng đích đến các kháng nguyên được biểu hiện trên các tế bào đa u tủy.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất khảng thể kháng nguyên thể khảm đa đặc hiệu (như song đặc hiệu) hướng đích đến BCMA và CD38 (còn được gọi trong bản mô tả này là "CAR CD38 × BCMA") bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn (sdAb) thứ nhất liên kết đặc hiệu vào BCMA và kháng thể miền đơn thứ hai liên kết đặc hiệu vào CD38; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất và/hoặc sdAb thứ hai là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn thứ nhất và kháng thể miền đơn thứ hai được dung hợp với nhau thông qua liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất được dung hợp ở đầu tận cùng N của sdAb thứ hai. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất được dung hợp ở đầu tận cùng C của sdAb thứ hai. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn

khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:144-151. Theo một số phương án, miền xuyên màng được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD38 × BCMA còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD38 × BCMA còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm đa đặc hiệu (như song đặc hiệu) hướng đích đến BCMA và CD38 (còn được gọi trong bản mô tả này là "CAR CD38 × BCMA") bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn kháng BCMA và kháng thể miền đơn kháng CD38; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó kháng thể miền đơn kháng BCMA bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:7, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:18, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:29; và trong đó kháng thể kháng CD38 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:44, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:56, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:68. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA và/hoặc sdAb kháng CD38 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA bao gồm miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:78. Theo một số phương án, sdAb kháng CD38 bao gồm

miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:93. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA và sdAb kháng CD38 được dung hợp với nhau thông qua liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA được dung hợp ở đầu tận cùng N của sdAb kháng CD38. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA thứ nhất được dung hợp ở đầu tận cùng C của sdAb kháng CD38. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:144-151. Theo một số phương án, miền xuyên màng được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD38 × BCMA còn bao gồm miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD38 × BCMA còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR CD38 × BCMA bao gồm polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C:peptit tín hiệu CD8α, kháng thể miền đơn kháng CD38, gốc liên kết peptit, kháng thể miền đơn kháng BCMA, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ; trong đó kháng thể miền đơn kháng BCMA bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:7, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:18, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:29; và trong đó kháng thể kháng CD38 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:44, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:56, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:68. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10,

hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:144-151.Theo một số phương án, CAR CD38 × BCMA bao gồm polypeptit có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:207-211. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR CD38 × BCMA bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:207-211. Sáng chế cũng đề xuất polypeptit bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:207-211.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR CD38 × BCMA bao gồm polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C:peptit tín hiệu CD8α, kháng thể miền đơn kháng BCMA, gốc liên kết peptit, kháng thể miền đơn kháng CD38, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ; trong đó kháng thể miền đơn kháng BCMA bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:7, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:18, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:29; và trong đó kháng thể kháng CD38 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:44, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:56, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:68. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:144-151. Theo một số phương án, CAR CD38 × BCMA bao gồm polypeptit có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:212-216. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR CD38 × BCMA bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:212-216. Sáng chế cũng đề xuất polypeptit bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:212-216.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập mã hóa trình tự bất kỳ trong số các CAR CD38 × BCMA được đề xuất trong bản mô tả này. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập có độ đồng nhất trình tự ít

nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit nucleic được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:218-227. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập bao gồmtrình tự axit nucleic được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:218-227. Theo một số phương án, axit nucleic được phân lập là ADN. Theo một số phương án, axit nucleicđược phân lập là ARN. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất vật truyền chứa axit nucleic bất kỳ trong số các axit nucleic mã hóa CAR CD38× BCMA được mô tả trên đây. Theo một số phương án, vật truyền này là vật truyền biểu hiện. Theo một số phương án, vật truyền này là vật truyền virut, như vật truyền lentivirut.

2. CAR CD20 × CD19

Theo một số phương án, các kháng nguyên biệt hóa tế bào B như CD19 và CD20 là những ứng viên cho các kháng nguyên đích trong bệnh u bạch huyết bào tế bào B. Một số kháng nguyên trong số các kháng nguyên này đã được sử dụng làm các đích cho liệu pháp miễn dịch thụ động bằng các kháng thể đơn dòng với thành công hạn chế. Theo một số phương án, CAR theo đơn sáng chế này là CAR song đặc hiệu hướng đích đồng thời đến CD19 và CD20.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm đa đặc hiệu (như song đặc hiệu) hướng đích đến CD19 và CD20 (còn được gọi trong bản mô tả này là "CAR CD20 × CD19") gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn (sdAb) thứ nhất liên kết đặc hiệu vào CD19 và kháng thể miền đơn thứ hai liên kết đặc hiệu vào CD20; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất và/hoặc sdAb thứ hai là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn thứ nhất và kháng thể miền đơn thứ hai được dung hợp với nhau thông qua liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất được dung hợp ở đầu tận cùng N của sdAb thứ hai. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất được dung hợp ở đầu tận cùng C của sdAb thứ hai. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:144-151. Theo một số phương án, miền xuyên màng được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1.

Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD20 × CD19 còn bao gồm miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD20 × CD19 còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD28, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm đa đặc hiệu (như song đặc hiệu) hướng đích đến CD19 và CD20 (còn được gọi trong bản mô tả này là "CAR CD20 × CD19") gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn kháng CD19 và kháng thể miền đơn kháng CD20; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó kháng thể miền đơn kháng CD19 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:1, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:2, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:3; và trong đó kháng thể kháng CD20 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:4, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:5, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:6. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 và/hoặc sdAb kháng CD20 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 bao gồm miền V_HH bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:76. Theo một số phương án, sdAb kháng CD20 bao gồm miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:77. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 và sdAb kháng CD20 được dung hợp với nhau thông qua liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 được dung hợp ở đầu tận cùng N của sdAb kháng CD20. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 thứ nhất được dung hợp

ở đầu tận cùng C của sdAb kháng CD20. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit có trình tự axit amin là các SEQ ID NO:146. Theo một số phương án, miền xuyên màng được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD20 × CD19 còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD20 × CD19 còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR CD20 × CD19 bao gồm polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C:peptit tín hiệu CD8α, kháng thể miền đơn kháng CD19, gốc liên kết peptit, kháng thể miền đơn kháng CD20, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD28, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ; trong đó kháng thể miền đơn kháng CD19 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:1, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:2, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:3; và trong đó kháng thể kháng CD20 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:4, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:5, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:6. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn lựa từ các SEQ ID NO:146.Theo một số phương án, CAR CD20 × CD19 bao gồm polypeptit có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit amin là SEQ ID NO:206. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất CAR CD20 × CD19 có trình

tự axit amin là SEQ ID NO:206. Sáng chế cũng đề xuất polypeptit bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:206.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic đã được phân lập mã hóa trình tự bất kỳ trong số các CAR CD20 × CD19 được đề xuất trong bản mô tả này. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% với trình tự axit nucleic là SEQ ID NO:217. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập có trình tự axit nucleic là SEQ ID NO:217. Theo một số phương án, axit nucleic được phân lập là ADN. Theo một số phương án, axit nucleic được phân lập là ARN. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất vật truyền chứa axit nucleic bất kỳ trong số các axit nucleic mã hóa CAR CD20 × CD19 được mô tả trên đây. Theo một số phương án, vật truyền này là vật truyền biểu hiện. Theo một số phương án, vật truyền này là vật truyền virut, như vật truyền lentivirut.

Hiện nay, các liệu pháp miễn dịch hướng đích đến CD19 đã có các kết quả đáng kể trong các thử nghiệm lâm sàng. Các thử nghiệm lâm sàng dựa trên tế bào CAR-T CD19 của phương pháp điều trị bệnh ALL ngắn hạn có thể đạt được độ hiệu nghiệmthuyên giảm hoàn toàn khoảng 90%. Tuy nhiên, có khoảng 10% bệnh nhân tái phát sau vài tháng điều trị.Lý do chính là CD19 bị mất trong quá trình trưởng thành của các tế bào B thành các tương bào và các tế bào khối u còn sót lại tạo ra các biến thể trốn thoát do sự mất kháng nguyên CD19. CácCAR CD20 × CD19 được mô tả trong bản mô tả này có thể đồng thời hướng đích các kháng nguyên bề mặt khối u CD19 và CD20, có thể tăng cường hoạt tính chống lại khối u của tế bào T hệ thống và làm giảm các hiện tượng trốn thoát đích mà gây ra ít nhất 30% trường hợp tái phát bệnh bạch cầu sau liệu pháp CAR.

3. Các CAR đa đặc hiệu làm ví dụ khác

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm (như song đặc hiệu) hướng đích đến CD19 và CD22 (còn được gọi trong bản mô tả này là "CAR CD22 × CD19") gồmpolypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn kháng CD19 và kháng thể miền đơn kháng CD22; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 và/hoặc sdAb kháng CD22 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể

khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD22 và kháng thể miền đơn kháng CD22 được dung hợp với nhau thông qua một gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 được dung hợp ở đầu tận cùng N của sdAb kháng CD22. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 được dung hợp ở đầu tận cùng C của sdAb kháng CD22. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:144-151. Theo một số phương án, miền xuyên màng được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD22 × CD19 còn bao gồm miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD22 × CD19 còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C:peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD28, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:1, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:2, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:3.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm đa đặc hiệu (như song đặc hiệu) hướng đích đến CD19 và BCMA (còn được gọi trong bản mô tả

này là "CAR BCMA × CD19") gồmpolypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn kháng CD19 và kháng thể miền đơn kháng BCMA; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 và/hoặc sdAb kháng BCMA là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA và kháng thể miền đơn kháng BCMA được dung hợp với nhau thông qua liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 được dung hợp ở đầu tận cùng N của sdAb kháng BCMA. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 được dung hợp ở đầu tận cùng C của sdAb kháng BCMA. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:144-151. Theo một số phương án, miền xuyên màng được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR BCMA × CD19 còn bao gồm miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR BCMA × CD19 còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C:peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD28, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ.

Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:1, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:2, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:3.

Bảng 6. Các CAR song đặc hiệulàm ví dụ.

CAR	AA SEQ IDV í dụ	NA SEQ IDV í dụ	SP	Miền liên kết kháng nguyên ngoại bào			Bản lề	TM	CO1	Nội bào
				sdAb số 1	Gốc liên kết SEQ ID	sdAbs ố 2				
CD 19× CD 20	206	217	CD8 α	CD19 V_HH	146	CD20 V_HH	CD8α	CD28	CD28	CD3ζ
GS I50 01	207	218	CD8 α	38A3 7717	144	269A 37346	CD8α	CD8α	CD13 7	CD3ζ
GS I50 02	208	219	CD8 α	38A3 7717	145	269A 37346	CD8α	CD8α	CD13 7	CD3ζ
GS I50 03	209	220	CD8 α	38A3 7717	146	269A 37346	CD8α	CD8α	CD13 7	CD3ζ
GS I50 04	210	221	CD8 α	38A3 7717	147	269A 37346	CD8α	CD8α	CD13 7	CD3ζ
GS I50 05	211	222	CD8 α	38A3 7717	148	269A 37346	CD8α	CD8α	CD13 7	CD3ζ

GSI50 06	212	223	CD8α	269A 37346	144	38A3 7717	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI50 07	213	224	CD8α	269A 37346	145	38A3 7717	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI50 08	214	225	CD8α	269A 37346	146	38A3 7717	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI50 09	215	226	CD8α	269A 37346	147	38A3 7717	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI50 10	216	227	CD8α	269A 37346	148	38A3 7717	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ

Miền liên kết kháng nguyên ngoại bào

Miền liên kết kháng nguyên ngoại bào của các CAR được mô tả trong bản mô tả này bao gồm một hoặc nhiều (như một trị số bất kỳ trong số 1, 2, 3, 4, 5, 6 hoặc lớn hơn nữa) kháng thể miền đơn. Các kháng thể miền đơn được dung hợp với nhau trực tiếp thông qua các liên kết peptit, hoặc gốc liên kết peptit.

1. Các kháng thể miền đơn

Các CAR theo đơn sáng chế này bao gồm miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm một hoặc nhiều kháng thể miền đơn. Các sdAb có thể có cùng nguồn gốc hoặc có nguồn gốc khác nhau, có cùng kích cỡ hoặc có kích cỡ khác nhau. Các sdAb làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở các miền biến đổi chuỗi nặng từ các kháng thể chỉ có chuỗi nặng (ví dụ, V_HH hoặc V_{NAR}), các phân tử liên kết tự nhiên không có các chuỗi nhẹ, các miền đơn (như V_H hoặc V_L) được tạo ra từ các kháng thể 4- chuỗi thông thường, các kháng thể chỉ có chuỗi nặng được nhân tính hóa, các kháng thể miền đơn của người được sản xuất ở chuột nhắt hoặc chuột cống chuyển gen biểu hiện các đoạn chuỗi nặng của người, các miền được xử lý công nghệ và các khung miền đơn khác với các khung

được tạo ra từ các kháng thể. Các sdAb bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này hoặc được phát triển bởi các tác giả sáng chế, bao gồm các kháng thể được mô tả trong Phần II của đơn sáng chế này, có thể được sử dụng để kiến tạo các CAR được mô tả trong bản mô tả này. Các sdAb có thể được tạo ra từ loài bất kỳ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở,chuột nhắt, chuột cống, người, lạc đà, lạc đà llama, cá mút đá, cá, cá mập, dê, thỏ và bò. Các kháng thể miền đơn được dự liệu trong bản mô tả này cũng bao gồm các phân tử kháng thể miền đơn có trong tự nhiên được tạo ra từ các loài khác với *họ lạc đà* và cá mập.

Theo một số phương pháp, sdAb được tạo ra từ phân tử liên kết kháng nguyên miền đơn có trong tự nhiên được biết là kháng thể chuỗi nặng không có các chuỗi nhẹ (còn được gọi trong bản mô tả này là "các kháng thể chỉ có chuỗi nặng"). Ví dụ, các phân tử miền đơn như vậy được bộc lộ trong Công bố đơn Quốc tế số WO 94/04678 và tài liệu: Hamers-Casterman, C. *et al.*(1993) *Nature* 363:446-448. Vì lý do để cho rõ ràng, miền biến đổi được tạo ra từ phân tử chuỗi nặng tự nhiên không có chuỗi nhẹ trong bản mô tả này được gọi là V_HH để phân biệt nó với V_H thông thường của globulin miễn dịch bốn chuỗi. Phân tử V_HH như vậy có thể được tao ra từ các kháng thể được nuôi cấy trong các loài *họ lạc đà*, ví dụ, lạc đà, llama, vicuna, lạc đà một bướu, alpaca và guanaco. Các loài khác ngoài họ lạc đà có thể tạo ra các phân tử chuỗi nặng tự nhiên không có chuỗi nhẹ, và các V_HH như vậy thuộc phạm vi của đơn sáng chế này.

Các phân tử V_HH từhọ lạc đà nhỏ hơn khoảng 10 lần so với các phân tử IgG. Chúng là các polypeptit đơn và có thể rất ổn định, chống chịu được độ pH và nhiệt độ cực trị. Hơn nữa, chúng có thể chống chịu được hoạt động của proteaza mà đối với các kháng thể 4 chuỗi thông thường không chống chịu được. Ngoài ra, quá trình biểu hiện các V_HH in vitro tạo ra các V_HH chức năng gấp cuộn đúng đắn hiệu suất cao. Ngoài ra, các kháng thể được tạo ra ở họ lạc đà có thể nhận diện các epitop khác với epitop được nhận diện bởi các kháng thể được tạo ra *in vitro* thông qua việc sử dụng các thư viện kháng thể hoặc thông qua việc tạo miễn dịch các động vật có vú khác với họ lạc đà (ví dụ, xem tài liệu: WO9749805). Như vậy, các CAR đa đặc hiệu hoặc đa hóa trị bao gồm một hoặc nhiều miền V_HH có thể tương tác hiệu quả hơn với các đích so với các CAR đa đặc hiệu hoặc đa hóa trị chứa các đoạn liên kết kháng nguyên được tạo ra từ các kháng thể 4 chuỗi thông thường. Vì các V_HH được biết là liên kết vào các epitop 'không bình

thường' như khoang hoặc rãnh, nên ái lực của các CAR chứa các V_HH như vậy có thể thích hợp hơn cho điều trị trị liệu so với các polypeptit đa đặc hiệu thông thường.

Theo một số phương án, sdAb được tạo ra từ vùng biến đổi của globulin miễn dịch được tìm thấy trong cá sụn. Ví dụ, sdAb có thể được được tạo ra từ kiểu tương đương globulin miễn dịchđược gọi là Thụ thể Kháng nguyên Mới (NAR) được tìm thấy trong huyết thanh của cá mập. Các phương pháp sản xuất các phân tử miền đơn được tạo ra từ vùng biến đổi của NAR ("IgNAR") được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO 03/014161 và tài liệu: Streltsov (2005) *Protein Sci.*14:2901-2909.

Theo một số phương án, sdAb là kháng thể tái tổ hợp, được ghép CDR, được nhân tính hóa, được làm tương thích với lạc đà, được khử miễn dịch và/hoặc được tạo ra *in vitro* (ví dụ, được chọn lựa bằng kỹ thuật thể hiện thể thực khuẩn). Theo một số phương án, trình tự axit amin là các vùng khung có thể được làm biến đổi bằng "phương pháp làm tương thích với lạc đà" các gốc axit amin cụ thể trong các vùng khuôn. Phương pháp làm tương thích với lạc đà được dùng để chỉ việc thay hoặc thay thế một hoặc nhiều gốc axit amin trong trình tự axit amin của miền V_H (có trong tự nhiên) từ kháng thể 4 chuỗi thông thường bằng một hoặc nhiều gốc axit amin ở (các) vị trí tương ứng trong miền V_HH của kháng thể chuỗi nặng. Phương pháp này có thể được thực hiện theo chính phương thức đã biết, phương pháp này sẽ sáng tỏ đối với người có kỹ năng, ví dụ, trên cơ sở của phần mô tả thêm trong bản mô tả này. Tốt hơn, nếu các dạng thế "được làm tương thích với lạc đà" được chèn ở các vị trí axit amin mà tạo ra và/hoặc có mặt ở mặt phân giới V_H-V_L, và/hoặc ở các gốc chuẩn của họ lạc đà, như được định nghĩa trong bản mô tả này (ví dụ, xem tài liệu: Công bố đơn Quốc tế số WO 94/04678, tài liệu: Davies and Riechmann FEBS Letters 339:285-290, 1994; Davies and Riechmann Protein Engineering 9 (6):531-537, 1996; Riechmann J. Mol. Biol.259:957-969, 1996; và Riechmann and Muyldermans J.Immunol. Meth.231:25-38, 1999).

Theo một số phương án, sdAb là kháng thể miền đơn của người được tạo ra ở chuột nhắt hoặc chuột cống chuyển gen hiểu hiện các đoạn chuỗi nặng của người.Ví dụ, xem tài liệu:US20090307787A1, Patent Mỹ số 8.754.287, US20150289489A1, US20100122358A1, và WO2004049794. Theo một số phương án, sdAb được làm trưởng thành về ái lực.

Theo một số phương án, các miền V_HH có trong tự nhiên chống lại kháng nguyên hoặc đích cụ thể, có thể thu được từ các thư viện các trình tự V_HH thuộc họ lạc đà

(nguyên sơ hoặc miễn dịch). Các phương pháp như vậy có thể bao gồm hoặc không bao gồm việc sàng lọc thư viện như vậy bằng cách sử dụng kháng nguyên hoặc đích đã nêu, hoặc ít nhất một phần, đoạn, quyết định tốkháng nguyên hoặc epitop của nóbằng cách sử dụng chính một hoặc nhiều kỹ thuật sàng lọc đã biết. Ví dụ, các thư viện và kỹ thuật như vậy được mô tả trong các Công bố đơn Quốc tế số WO 99/37681, WO 01/90190, WO 03/025020 và WO 03/035694. Theo cách khác, có thể sử dụng các thư viện tổng hợp hoặc bán tổng hợp cải tiến được tạo ra từ các thư viện V_HH (nguyên sơ hoặc miễn dịch) như các thư viện V_HH thu được từ các thư viện V_HH (nguyên sơ hoặc miễn dịch) bằng các kỹ thuật như tạo đột biến ngẫu nhiên và/hoặc xáo trộn CDR, ví dụ, như được mô tả trong WO 00/43507.

Theo một số phương án, các kháng thể miền đơn được tạo ra từ các kháng thể bốn chuỗi thông thường. Ví dụ, xem tài liêu: EP 0 368 684, Ward et al.(Nature 1989 Oct.12; 341 (6242):544-6), Holt et al., Trends Biotechnol., 2003, 21(11):484-490; WO 06/030220; và WO 06/003388.

2. Kháng nguyên

(Các) kháng nguyên được hướng đích bởi các CAR theo đơn sáng chế này là các phân tử bề mặt tế bào. Các kháng thể miền đơn có thể được chọn để nhận biết kháng nguyên đóng vai trò là phần đánh dấu bề mặt tế bào trên các tế bào đích gắn liền với tình trạng bệnh cụ thể. Theo một số phương án, kháng nguyên (như kháng nguyên thứ nhất và/hoặc kháng nguyên thứ hai) này là kháng nguyên khối u. Theo một số phương án, các CAR đa đặc hiệu hướng đích hai hoặc nhiều kháng nguyên khối u hơn nữa. Theo một số phương án, kháng nguyên khối ugắn liền với bệnh ác tính tế bào B. Các khối u biểu hiện một số protein mà có thể đóng vai trò là kháng nguyên đích cho đáp ứng miễn dịch, đặc biệt là đáp ứng miễn dịch do tế bào T làm trung gian. Các kháng nguyên được hướng đích bởi CAR có thể là các kháng nguyên trên tế bào bị bệnh đơn lẻ hoặc các kháng nguyên được biểu hiện trên các tế bào khác nhau mà mỗi kháng nguyên này góp phần vào bệnh này. Các kháng nguyên được hướng đích bởi CAR có thể trực tiếp hoặc gián tiếp liên can đến các bệnh.

Các kháng nguyên khối u là các protein được tạo ra bởi các tế bào khối u có thể gây ra đáp ứng miễn dịch, cụ thể là đáp ứng miễn dịch do tế bào T làm trung gian. Việc chọn lựa kháng nguyên được hướng đích theo sáng chế sẽ phụ thuộc vào loại bệnh ung

thư cụ thể cần được điều trị. Các kháng nguyên khối u làm ví dụ bao gồm, ví dụ, kháng nguyên gắn liền với u thần kinh đệm, kháng nguyên ung thư biểu mô-phôi thai (CEA), β-gonadotropin màng đệm của người, alphafetoprotein (AFP), AFP có tính phản ứng với lectin, thyroglobulin, RAGE-1, MN-CAIX, transcriptaza đảo ngược của telomeraza của người, RU1, RU2 (AS), carboxyl esteraza đường ruột, mut hsp70-2, M-CSF, prostaza, kháng nguyên đặc hiệu của tuyến tiền liệt (PSA), PAP, NY-ESO-1, LAGE-la, p53, prostein, PSMA, HER2/neu, survivin và telomeraza, kháng nguyên khối u ung thư biểu mô tuyến tiền liệt liệt 1 (PCTA-1), MAGE, ELF2M, elastaza bạch cầu trung tính, ephrinB2, CD22, yếu tố tăng trưởng insulin (IGF)-I, thụ thể IGF-I, IGF- II, và mesothelin.

Theo một số phương án, kháng nguyên khối u bao gồm một hoặc nhiều epitop kháng nguyên bệnh ung thưgắn liền với khối u ác tính. Các khối u ác tính biểu hiện một số protein mà có thể đóng vai trò là kháng nguyên đích chosự tấn công miễn dịch. Các phân tử này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở các kháng nguyên đặc hiệu đối với mô như MART-1, tyrosinaza và gp100 trong u hắc tố và phosphataza axit prostatic (PAP) và kháng nguyên đặc hiệu của tuyến tiền liệt (PSA) ở bệnh ung thư tuyến tiền liệt. Các phân tử đích khác thuộc nhóm gồm các phân tử liên quan đến quá trình biến nạp như gen gây ung thư HER2/neu/ErbB-2. Một nhóm gồm các kháng nguyên đích khác nữa là các kháng nguyên bào thai-ung thư như kháng nguyên ung thư biểu mô-phôi thai (CEA). Trong bệnh u bạch huyết bào tế bào B, globulin miễn dịch idiotyp đặc hiệu đối với khối u cấu thành kháng nguyên globulin miễn dịch đặc hiệu đối với khối u thực sự mà độc nhất đối với khối u riêng biệt. Các kháng nguyên biệt hóa tế bào B như CD19, CD20 và CD37 là những ứng viên khác cho các kháng nguyên đích trong bệnh u bạch huyết bào tế bào B.

Theo một số phương án, kháng nguyên khối u là kháng nguyên đặc hiệu đối với khối u (TSA) hoặc kháng nguyên gắn liền với khối u (TAA). TSA là độc nhất có ở các tế bào khối u và không có ở các tế bào khác trong cơ thể. Kháng nguyên gắn liền với TAA không phải là độc nhất cóở tế bào khối u, và thay vào đó, cũng được biểu hiện trên tế bào bình thường trong các điều kiện không kích thích được tình trạng dung nạp miễn dịch học đối với kháng nguyên. Quá trình biểu hiện của kháng nguyên trên khối u có thể xảy ra trong các điều kiện mà giúp cho hệ miễn dịch đáp ứng được với kháng nguyên. TAA có thể là các kháng nguyên được biểu hiện trên các tế bào bình thường trong suốt quá trình

phát triển của bào thai, khi hệ miễn dịch chưa trưởng thành, và không thể đáp ứng được hoặc chúng có thể là kháng nguyên thường có mặt ở mức cực kỳ thấp trên tế bào bình thường, nhưng chúng được biểu hiện ở mức cao hơn nhiều trên các tế bào khối u

Các ví dụ không giới hạn về kháng nguyên TSA hoặc TAA bao gồm các loại sau đây: các kháng nguyên biệt hóa như MART-1/MelanA (MART-I), gp 100 (Pmel 17), tyrosinaza, TRP-1, TRP-2 và các kháng nguyên đa dòng dõi đặc hiệu đối với khối u như MAGE-1, MAGE-3, BAGE, GAGE -1, GAGE-2, pl5; các kháng nguyên phôi thai được biểu hiện quá mức như CEA; các gen gây ung thư được biểu hiện quá mức và các gen ức chế khối u bị đột biến như p53, Ras, HER2/neu; các kháng nguyên khối u độc nhất do quá trình chuyển vị nhiễm sắc thể tạo ra; như BCR-ABL, E2A-PRL, H4-RET, IGH-IGK, MYL-RAR; và các kháng nguyên virut, như các kháng nguyên virut của virut Epstein Barr EBVA và các kháng nguyên của virut gây u nhú ở người (HPV) E6 và E7. Các kháng nguyên trên cơ sở protein lớn khác bao gồm TSP-180, MAGE-4, MAGE-5, MAGE-6, RAGE, NY-ESO, pl85erbB2, pl80erbB-3, c-met, nm-23HI, PSA, TAG-72, CA 19-9, CA 72-4, CAM 17.1, NuMa, K-ras, beta-Catenin, CDK4, Mum-1, p 15, p 16, 43-9F, 5T4, 791Tgp72, alpha-fetoprotein, beta-HCG, BCA225, BTAA, CA 125, CA 15-3\CA 27.29\BCAA, CA 195, CA 242, CA-50, CAM43, CD68\P1, CO-029, FGF-5, G250, Ga733\EpCAM, HTgp-175, M344, MA-50, MG7-Ag, MOV18, NB/70K, NY-CO-1, RCAS 1, SDCCAG16, protein liên kết Mac-2\TA-90\protein gắn liền với xyclophilin C, TAAL6, TAG72, TLP, và TPS.

Theo một số phương án, kháng nguyên (như kháng nguyên thứ nhất và/hoặc kháng nguyên thứ hai) được chọn lựa từ nhóm gồm CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3, và F77 glycolipit.

3. Các gốc liên kết peptit

Các kháng thể miền đơn khác nhau trong các CAR đa đặc hiệu hoặc đa hóa trị được mô tả trong bản mô tả này có thể được dung hợp với nhau thông qua các gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, các kháng thể miền đơn được dung hợp trực tiếp với nhau mà không thông qua các gốc liên kết peptit bất kỳ. Các gốc liên kết peptit kết nối các kháng thể miền đơn khác nhau có thể là giống nhau hoặc khác nhau. Các miền khác nhau của các CAR cũng có thể được dung hợp với nhau thông qua các gốc liên kết peptit.

Mỗi gốc liên kết peptit trong CAR có thể có độ dài và/hoặc trình tự giống hoặc khác nhau,tùy thuộc vào các đặc điểm cấu trúc và/hoặc chức năng của các kháng thể miền đơn và/hoặc các miền khác nhau. Mỗi gốc liên kết peptit có thể được chọn lựa và được tối ưu hoá một cách độc lập. Chiều dài, độ linh hoạt và/hoặc các thuộc tính khác của (các) gốc liên kết peptit được sử dụng trong các CAR có thể có một số ảnh hưởng đến các thuộc tính, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở ái lực, độ đặc hiệu hoặc ái tính của một hoặc nhiều kháng nguyên hoặc epitop cụ thể. Ví dụ, các gốc liên kết peptit dài hơn có thể được chọn lựa để đảm bảo rằng hai miền liền kề không cản trở nhau về mặt không gian. Ví dụ, trong CAR đa hóa trị hoặc đa đặc hiệu theo đơn sáng chế này mà bao gồm các kháng thể miền đơn được dẫn dắt chống lại kháng nguyên dạng multime, tốt hơn, nếu độ dài và tính linh hoạt của các gốc liên kết peptit sao cho cho phép mỗi kháng thể miền đơn trong CAR đa hóa trị liên kết vào quyết định tố kháng nguyên trên mỗi tiểu đơn vị trong số các tiểu đơn vị của multime này. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit ngắn có thể được bố trí giữa miền xuyên màng và miền truyền tín hiệu nội bào của CAR. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit bao gồm các gốc linh hoạt (như glyxin và serin) để cho các miền liền kề được tự do di chuyển tương đối so với nhau. Ví dụ, bộ đôi glyxin-serin có thể là gốc liên kết peptit thích hợp.

Gốc liên kết peptit có thể có độ dài thích hợp bất kỳ. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit có chiều dài gồm ít nhất một khoảng trị số bất kỳ trong số 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 75, 100 hoặc nhiều axit amin hơn nữa. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit có độ dài không nhiều hơn khoảng trị số bất kỳ trong số 100, 75, 50, 40, 35, 30, 25, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5 hoặc ít axit amin hơn nữa. Theo một số phương án, độ dài của gốc liên kết peptit là trị số bất kỳ trong số khoảng 1 axit amin đến khoảng 10 axit amin, khoảng 1 axit amin đến khoảng 20 axit amin, khoảng 1 axit amin đến khoảng 30 axit amin, khoảng 5 axit amin đến khoảng 15 axit amin, khoảng 10 axit amin đến khoảng 25 axit amin, khoảng 5 axit amin đến khoảng 30 axit amin, dài khoảng 10 axit amin đến khoảng 30 axit amin, khoảng 30 axit amin đến khoảng 50 axit amin, khoảng 50 axit amin đến khoảng 100 axit amin, hoặc khoảng 1 axit amin đến khoảng 100 axit amin.

Gốc liên kết peptit có thể có trình tự có trong tự nhiên, hoặc trình tự không có trong tự nhiên. Ví dụ, trình tự được tạo ra từ vùng bản lề của các kháng thể chỉ có chuỗi nặng có thể được sử dụng làm gốc liên kết này. Ví dụ, xem tài liệu:WO1996/34103. Theo

một số phương án, gốc liên kết peptit là gốc liên kết linh hoạt. Các gốc liên kết linh hoạt làm ví dụ bao gồm các polyme glyxin $(G)_n$, các polyme glyxin-serin (bao gồm, ví dụ, $(GS)_n$, $(GSGGS)_n$, $(GGGS)_n$, và $(GGGGS)_n$, trong đó n là số nguyên ít nhất bằng một), các polyme glyxin-alanin, các polyme alanin-serin, và các gốc liên kết linh hoạt khác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit bao gồm trình tự axit amin GGGGS (SEQ ID NO:144), $(GGGGS)_2$ (SEQ ID NO:145), $(GGGS)_4$ (SEQ ID NO:146), GGGGSGGGGSGGGGGGSGSGGGGS (SEQ ID NO:147), GGGGSGGGGSGGGGGGSGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:148), $(GGGGS)_3$ (SEQ ID NO:149), $(GGGGS)_4$ (SEQ ID NO:150), hoặc $(GGGGS)_3$ (SEQ ID NO:151).

Miền xuyên màng

Các CAR theo đơn sáng chế này bao gồm miền xuyên màng mà có thể được dung hợp một cách trực tiếp hoặc gián tiếp với miền liên kết kháng nguyên ngoại bào. Miền xuyên màng có thể được tạo ra từ nguồn tự nhiên hoặc từ nguồn tổng hợp. Như được sử dụng trong bản mô tả này, "miền xuyên màng" được dùng để chỉ cấu trúc protein bất kỳ ổn định về nhiệt động lực học trong màng tế bào, tốt hơn là màng tế bào nhân thực. Các miền xuyên màng tương thích để sử dụng trong các CAR được mô tả trong bản mô tả này có thể thu được từ một protein có trong tự nhiên. Theo cách khác, miền này có thể là đoạn protein tổng hợp, không có trong tự nhiên, ví dụ, đoạn protein kỵ nước bền về mặt nhiệt động lực học trong màng tế bào.

Các miền xuyên màng được phân loại dựa trên cấu trúc ba chiều của miền xuyên màng. Ví dụ, các miền xuyên màng có thể tạo thành chuỗi xoắn alpha, phức hợp gồm nhiều hơn một chuỗi xoắn alpha, thùng beta hoặc một cấu trúc ổn định khác có khả năng trải dài qua lớp kép phospholipit của tế bào. Hơn nữa, các miền xuyên màng cũng có thể hoặc được phân loại theo cách khác dựa trên cấu trúc liên kết của miền xuyên màng, bao gồm số lần mà miền xuyên màng đi qua màng và hướng của protein. Ví dụ, các protein màng một lần đi qua qua màng tế bào một lần, và các protein màng nhiều lần đi qua qua màng tế bào ít nhất hai lần (ví dụ, 2, 3, 4, 5, 6, 7 lần hoặc nhiều hơn nữa). Các protein màng có thể được định nghĩa là Loại I, Loại II hoặc Loại III,tùy thuộc vào cấu trúc liên kết của các đầu tận cùng của chúng và (các) đoạn đi qua màng so vớiphần bên trong và bên ngoài của tế bào. Các protein màng Loại I có một vùng trải dài qua màng đơn lẻ và được định hướng sao cho đầu tận cùng N của protein có mặt ở phía ngoại bào của lớp kép lipit của tế bào và đầu tận cùng C của protein có mặt ở phía tế bào chất. Các protein

màng Loại II cũng có một vùng trải dài qua màng đơn lẻ nhưng được định hướng sao cho đầu tận cùng C của protein có mặt ở phía ngoại bào của lớp kép lipit của tế bào và đầu tận cùng N của protein có mặt ở phía tế bào chất. Các protein màng Loại III có nhiều đoạn trải dài qua màng và có thể được phân loại tiếp dựa trên số lượng đoạn xuyên màng và vị trí của các đầu tận cùng N và C.

Theo một số phương án, miền xuyên màng của CAR được mô tả trong bản mô tả này được tạo ra từ protein màng một lần đi qua Loại I. Theo một số phương án, các miền xuyên màng từ các protein màng nhiều lần đi qua cũng có thể tương thích để sử dụng trong các CAR được mô tả trong bản mô tả này. Các protein màng nhiều lần đi quacó thểbao gồm các vòng xoắn alpha phức hợp (ít nhất 2, 3, 4, 5, 6, 7 hoặc nhiều hơn nữa) hoặc cấu trúc phiến beta. Tốt hơn là đầu tận cùng N và đầu tận cùng C của protein màng nhiều lần đi qua có mặt trên các phía đối bên của lớp kép lipit, ví dụ, đầu tận cùng N của protein có mặt ở phía tế bào chất của lớp kép lipit và đầu tận cùng C của protein có mặt ở phía ngoại bào.

Theo một số phương án, miền xuyên màng của CAR bao gồm miền xuyên màng được chọn từ miền xuyên màng của chuỗi alpha, beta hoặc zeta của thụ thể tế bào T, CD28, CD3 epsilon, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, KIRDS2, OX40, CD2, CD27, LFA-1 (CDl la, CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD40, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRFl), CD160, CD19, IL-2R beta, IL-2R gamma, IL-7R a, ITGA1, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CDl ld, ITGAE, CD103, ITGAL, CDl la, LFA-1, ITGAM, CDl lb, ITGAX, CDl lc, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CDIOO (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Lyl08), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, PAG/Cbp, NKp44, NKp30, NKp46, NKG2D, và/hoặc NKG2C. Theo một số phương án, miền xuyên màng được tạo ra từ phân tử được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1.

Theo một số phương án, miền xuyên màng được tạo ra từ CD28. Theo một số phương án, miền xuyên màng này là miền xuyên màng của CD28 bao gồm trình tự axit

amin là SEQ ID NO:133. Theo một số phương án, miền xuyên màng của CD28 được mã hóa bởi trình tự axit nucleic là SEQ ID NO:135.

Theo một số phương án, miền xuyên màng được tạo ra từ CD8α. Theo một số phương án, miền xuyên màng này là miền xuyên màng của CD8α bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:132. Theo một số phương án, miền xuyên màng của CD8α được mã hóa bởi trình tự axit nucleic là SEQ ID NO:134.

Các miền xuyên màng để sử dụng trong các CAR được mô tả trong bản mô tả này cũng có thể bao gồm ít nhất một phần của đoạn protein tổng hợp, không có trong tự nhiên. Theo một số phương án, miền xuyên màng là phiến beta hoặc chuỗi xoắn alpha tổng hợp, không có trong tự nhiên. Theo một số phương án, đoạn protein có ít nhất xấp xỉ 20 axit amin, ví dụ, ít nhất 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 axit amin, hoặc nhiều hơn nữa. Các ví dụ về miền xuyên màng tổng hợp thì đã biết trong lĩnh vực này, ví dụ,trong Patent Mỹ số 7.052.906 B1 và Công bố đơn PCT số WO 2000/032776 A2, các phần bộc lộ liên quan của tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Miền xuyên màng có thể bao gồm vùng xuyên màng và vùng tế bào chất nằm ở phía đầu tận cùng C của miền xuyên màng. Vùng tế bào chất của miền xuyên màng có thể bao gồm ba axit amin hoặc nhiều hơn nữa, theo một số phương án, giúp định hướng miền xuyên màng trong lớp kép lipit. Theo một số phương án, một hoặc nhiều gốc xystein có mặt trong vùng xuyên màng của miền xuyên màng. Theo một số phương án, một hoặc nhiều gốc xystein có mặt trong vùng tế bào chất của miền xuyên màng. Theo một số phương án, vùng tế bào chất của miền xuyên màng bao gồm các axit amin mang điện tích dương. Theo một số phương án, vùng tế bào chất của miền xuyên màng bao gồm các axit amin arginin, serin, và lysin.

Theo một số phương án, vùng xuyên màng của miền xuyên màng bao gồm các gốc axit amin kỵ nước. Theo một số phương án, miền xuyên màng của CAR bao gồm trình tự kỵ nước nhân tạo. Ví dụ, bộ ba phenylalanin, tryptophan và valin có thể có mặt ở đầu tận cùng C của miền xuyên màng. Theo một số phương án, vùng xuyên màng bao gồm hầu hết các gốc axit amin kỵ nước, như alanin, leuxin, isoleuxin, metionin, phenylalanin, tryptophan, hoặc valin. Theo một số phương án, vùng xuyên màng này là kỵ nước. Theo một số phương án, vùng xuyên màng này bao gồm trình tự poly-leuxin-alanin. Các đặc tính thủy liệu pháp, kỵ nước, hoặc ưa nước của protein hoặc đoạn protein,

có thể được đánh giá bằng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này, ví dụ như phép phân tích thủy liệu pháp của Kyte và Doolittle.

Miền truyền tín hiệu nội bào.

Các CAR theo đơn sáng chế này bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào. Miền truyền tín hiệu nội bào chịu trách nhiệm hoạt hóa ít nhất một trong số các chức năng tác động bình thường của tế bào tác động miễn dịch biểu hiện các CAR. Thuật ngữ "chức năng tác động" chỉ chức năng chuyên biệt của tế bào. Chức năng tác động của tế bào T, ví dụ, có thể là hoạt tính tiêu tế bào hoặc hoạt tính hỗ trợ bao gồm tiết các xytokin. Do đó, thuật ngữ "miền truyền tín hiệu tế bào chất" được dùng để chỉ phần protein tải nạp tín hiệu chức năng tác động và dẫn dắt tế bào thực hiện chức năng chuyên biệt. Trong khi, thông thường, có thể sử dụngtoàn bộ miền truyền tín hiệu tế bào chất, thì trong nhiều trường hợp, không cần sử dụng toàn bộ chuỗi này. Trong trường hợp phần cắt cụt của miền truyền tín hiệu tế bào chất được sử dụng, thì phần được cắt cụt như vậy có thể được sử dụng thay cho chuỗi nguyên vẹn miễn là nó tải nạp tín hiệu chức năng tác động. Vì thế, thuật ngữ miền truyền tín hiệu tế bào chất có nghĩa là bao gồm phần được cắt cụt bất kỳ của miền truyền tín hiệu tế bào chất đủ để tải nạp tín hiệu chức năng tác động.

Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch. Theo một số phương án, CAR bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào về cơ bản gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch. “Miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp” chỉ trình tự truyền tín hiệu tế bào chất hoạt động theo phương thức kích thích để tạo ra các chức năng tác động miễn dịch. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp chứa motif truyền tín hiệu được gọi là motif hoạt hóa dựa trên tyrosin thụ thể miễn dịch, hay ITAM. Thuật ngữ "ITAM", như được sử dụng trong bản mô tả này, là motif protein bảo toàn thường có mặt ở phần đuôi của các phân tử truyền tín hiệu được biểu hiện trong nhiều tế bào miễn dịch. Motif này có thể bao gồm hai phần lặp lại của trình tự axit amin YxxL/I được phân cách bằng 6-8 axit amin, trong đó mỗi x độc lập là axit amin bất kỳ, tạo ra motif được bảo toàn YxxL/Ix(6-8)YxxL/I. Các ITAM trong các phân tử truyền tín hiệu thì quan trọng đối với quá trình tải nạp tín hiệu trong tế bào, quá trình này ít nhất là một phần do sự phosphoryl hóa các gốc tyrosin làm trung gian trong ITAM sau khi hoạt hóa phân tử truyền tín hiệu. Các ITAM cũng có thể hoạt động trong vai trò là các vị trí cập bến cho các protein khác liên quan đến các con đường truyền tín hiệu. Các trình tự truyền

tín hiệu tế bào chất sơ cấp chứa các ITAM làm ví dụ bao gồm những loạiđược tạo ra từ CD3ζ, FcR gamma(FCER1G), FcR beta (Fc Epsilon Rib), CD3 gamma, CD3 delta, CD3 epsilon, CD5, CD22, CD79a, CD79b, và CD66d.

Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào gồmmiền truyền tín hiệu tế bào chất của CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp làmiền truyền tín hiệu tế bào chất của CD3ζ kiểu hoang dại. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của CD3ζ kiểu hoang dại bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:140. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của CD3ζkiểu hoang dại được mã hóa bởi axit nucleic có SEQ ID NO:142. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp là thể đột biến chức năng của miền truyền tín hiệu tế bào chất của CD3ζ chứa một hoặc nhiều đột biến, như Q65K. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của CD3ζ đột biến bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:141. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của CD3ζ đột biến được mã hóa bởi axit nucleic có SEQ ID NO:143.

Miền truyền tín hiệu đồng kích thích

Nhiều tế bào tác động miễn dịch đòi hỏi sự đồng kích thích, ngoài sự kích thích tín hiệu đặc hiệu với kháng nguyên ra, để thúc đẩy quá trình tăng sinh, biệt hóa và sống sót của tế bào, cũng như để hoạt hóa các chức năng tác động của tế bào. Theo một số phương án, CAR bao gồm ít nhất một miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Thuật ngữ "miền truyền tín hiệu đồng kích thích", như được sử dụng trong bản mô tả này, chỉ ít nhất một phần của protein mà làm trung gian cho quá trình tải nạp tín hiệu trong tế bào để kích thíchđáp ứng miễn dịch như chức năng tác động. Miền truyền tín hiệu đồng kích thích của thụ thể thể khảm được mô tả trong bản mô tả này có thể là miền truyền tín hiệu tế bào chất từ một protein đồng kích thích, miền này tải nạp tín hiệu và điều biến các đáp ứng do các tế bào miễn dịch, như tế bào T, tế bào NK, đại thực bào, bạch cầu đa nhân trung tính hoặc bạch cầu ưa eosin. Thuật ngữ "miền truyền tín hiệu đồng kích thích" có thể là phần tế bào chất của phân tử đồng kích thích. Thuật ngữ "phân tử đồng kích thích" chỉ đối tác liên kết cùng nguồn gốc trên tế bào miễn dịch (như tế bào T) mà liên kết đặc hiệu vào phối tử đồng kích thích, nhờ đó làm trung gian cho đáp ứng đồng kích thích bởi tế bào miễn dịch, như, không chỉ giới hạn ở, quá trình tăng sinh và sống sót.

Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm một miền truyền tín hiệu đồng kích thích đơn lẻ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm hai miền truyền tín hiệu đồng kích thích hoặc nhiều hơn nữa (như khoảng 2, 3, 4, hoặc nhiều hơn nữa). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm hai miền truyền tín hiệu đồng kích thích giống nhau hoặc nhiều hơn nữa, ví dụ, hai bản sao miền truyền tín hiệu đồng kích thích của CD28. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm hai miền truyền tín hiệu đồng kích thích hoặc nhiều hơn nữa từ các protein đồng kích thích khác nhau, như hai protein đồng kích thích bất kỳ hoặc nhiều hơn nữa được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp (như miền truyền tín hiệu tế bào chất của CD3ζ) và một hoặc nhiều miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, một hoặc nhiều miền truyền tín hiệu đồng kích thích và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp (như miền truyền tín hiệu tế bào chất của CD3ζ) được dung hợp với nhau thông qua các gốc liên kết peptit tùy ý. Miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp, và một hoặc nhiều miền truyền tín hiệu đồng kích thích có thể được sắp xếp theo trật tự thích hợp bất kỳ. Theo một số phương án, một hoặc nhiều miền truyền tín hiệu đồng kích thích nằm giữa miền xuyên màng và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp (như miền truyền tín hiệu tế bào chất của CD3ζ). Nhiều miền truyền tín hiệu đồng kích thích có thể tạo ra các tác dụng kích thích hiệp trợ hoặc bổ sung.

Việc hoạt hóa miền truyền tín hiệu đồng kích thích trong tế bào chủ (ví dụ, tế bào miễn dịch) có thể kích thích tế bào làm tăng hoặc giảm mức sản xuất và tiết các xytokin, các thuộc tính thực bào, sự tăng sinh, sự biệt hóa, sự sống sót, và/hoặc độc tính tế bào. Miền truyền tín hiệu đồng kích thích của phân tử đồng kích thích bất kỳ có thể tương thích để sử dụng trong các CAR được mô tả trong bản mô tả này.(Các) loại miền truyền tín hiệu đồng kích thích được chọn lựa dựa trên các yếu tố như loại tế bào tác động miễn dịch trong đó các phân tử tác động sẽ được biểu hiện (ví dụ, tế bào T, tế bào NK, đại thực bào, bạch cầu đa nhân trung tính hoặc bạch cầu ưa eosin) và chức năng tác động miễn dịch mong muốn (ví dụ, tác dụng ADCC). Các ví dụ về miền truyền tín hiệu đồng kích thích để sử dụng trong các CAR có thể là miền truyền tín hiệu tế bào chất của các protein đồng kích thích, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở các thành viên của họ B7/CD28(ví dụ, B7-1/CD80, B7-2/CD86, B7-H1/PD-L1, B7-H2, B7-H3, B7-H4, B7-H6, B7-H7, BTLA/CD272, CD28, CTLA-4, Gi24/VISTA/B7-H5, ICOS/CD278, PD- 1, PD-L2/B7-

DC, và PDCD6); các thành viên của siêu họ TNF (ví dụ, 4- 1BB/TNFSF9/CD137, Phối tử 4-1BB /TNFSF9, BAFF/BLyS/TNFSF13B, BAFF R/TNFRSF13C, CD27/TNFRSF7, Phối tử CD27 /TNFSF7, CD30/TNFRSF8, Phối tử CD30 /TNFSF8, CD40/TNFRSF5, CD40/TNFSF5, Phối tử CD40/TNFSF5, DR3/TNFRSF25, GITR/TNFRSF18, Phối tử GITR /TNFSF18, HVEM/TNFRSF14, LIGHT/TNFSF14, Lymphotoxin-alpha/TNF-beta, OX40/TNFRSF4, Phối tử OX40/TNFSF4, RELT/TNFRSF19L, TACI/TNFRSF13B, TL1A/TNFSF15, TNF-alpha, và TNF RII/TNFRSF1B); các thành viên của họ SLAM (ví dụ, 2B4/CD244/SLAMF4, BLAME/SLAMF8, CD2, CD2F-10/SLAMF9, CD48/SLAMF2, CD58/LFA-3, CD84/SLAMF5, CD229/SLAMF3, CRACC/SLAMF7, NTB-A/SLAMF6, và SLAM/CD150); và các phân tử đồng kích thích khác bất kỳ, như CD2, CD7, CD53, CD82/Kai-1, CD90/Thy1, CD96, CD160, CD200, CD300a/LMIR1, HLA Class I, HLA- DR, Ikaros, Integrin alpha 4/CD49d, Integrin alpha 4 beta 1, Integrin alpha 4 beta 7/LPAM-1, LAG-3, TCL1A, TCL1B, CRTAM, DAP12, Dectin-1/CLEC7A, DPPIV/CD26, EphB6, TIM-1/KIM-1/HAVCR, TIM-4, TSLP, TSLP R, kháng nguyên gắn liền với chức năng bạch huyết bào 1 (LFA-1), và NKG2C.

Theo một số phương án, một hoặc nhiều miền truyền tín hiệu đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, 4-1BB, OX40, CD30, CD40, CD3, kháng nguyên gắn liền với chức năng bạch huyết bào 1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3 và các phối tử mà liên kết đặc hiệu vào CD83.

Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào trong CAR theo đơn sáng chế này bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD28. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu tế bào chất của CD3ζ và miền truyền tín hiệu đồng kích thích của CD28. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích CD28 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:136. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích CD28 được mã hóa bởi trình tự axit nucleic là SEQ ID NO:138. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào được mã hóa bởi trình tự axit nucleic là SEQ ID NO:228.

Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào trong CAR theo đơn sáng chế này bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137 (tức là, 4-1BB). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu tế bào chất của CD3ζ và miền truyền tín hiệu đồng kích thích của CD137. Theo một

số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích của CD137 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:137. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích của CD137 được mã hóa bởi trình tự axit nucleic là SEQ ID NO:139.

Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào trong CAR theo đơn sáng chế này bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích của CD28 và miền truyền tín hiệu đồng kích thích của CD137. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu tế bào chất của CD3ζ, miền truyền tín hiệu đồng kích thích của CD28, và miền truyền tín hiệu đồng kích thích của CD137. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C:miền truyền tín hiệu đồng kích thích của CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích của CD137, và miền truyền tín hiệu tế bào chất của CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích của CD28 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:136. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích CD28 được mã hóa bởi trình tự axit nucleic là SEQ ID NO:138. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích của CD137 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:137. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích CD137 được mã hóa bởi trình tự axit nucleic là SEQ ID NO:139.

Cũng thuộc phạm vi của sáng chế này là các biến thể của miền bất kỳ trong số các miền truyền tín hiệu đồng kích thích được mô tả trong bản mô tả này, sao cho miền truyền tín hiệu đồng kích thích có khả năng điều biến đáp ứng miễn dịch của tế bào miễn dịch. Theo một số phương án, các miền truyền tín hiệu đồng kích thích bao gồm lên đến 10 dạng thay đổi gốc axit amin (ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, hoặc 8) so với loại tương đương kiểu hoang dại. Các miền truyền tín hiệu đồng kích thích này bao gồm một hoặc nhiều dạng thay đổi gốc axit amin có thể được gọi là các biến thể. Đột biến các gốc axit amin của miền truyền tín hiệu đồng kích thích có thể đem lại sự tăng về mức tải nạp truyền tín hiệu và mức kích thích đáp ứng miễn dịch được tăng cường so với các miền truyền tín hiệu đồng kích thích mà không chứa đột biến. Đột biến các gốc axit amin của miền truyền tín hiệu đồng kích thích có thể đem lại sự giảm về mức tải nạp truyền tín hiệu và mức kích thích đáp ứng miễn dịch giảm so với các miền truyền tín hiệu đồng kích thích mà không chứa đột biến.

Vùng bản lề

Các CAR theo đơn sáng chế này có thể bao gồm miền bản lề nằm giữa miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và miền xuyên màng. Miền bản lề là đoạn axit amin thường được tìm thấy giữa hai miền của protein và có thể cho phép tạo ra tính linh hoạt cho protein và khả năng di chuyển của một hoặc cả hai miền này so với nhau. Trình tự axit amin bất kỳ mà tạo ra tính linh hoạt và khả năng di chuyển của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào so với miền xuyên màng của phân tử tác động có thể được sử dụng.

Miền bản lề có thể chứa khoảng 10-100 axit amin, ví dụ, khoảng từ 15-75 axit amin, 20-50 axit amin, hoặc 30-60 axit amin. Theo một số phương án, miền bản lề có thể có chiều dài ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, hoặc 75 axit amin.

Theo một số phương án, miền bản lề này là miền bản lề của protein có trong tự nhiên. Các miền bản lề của protein bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này bao gồm miền bản lề là tương thích để sử dụng trong các thụ thể thể khảm được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, miền bản lề này là ít nhất một phần của miền bản lề của protein có trong tự nhiên và mang lại tính linh hoạt cho thụ thể thể khảm. Theo một số phương án, miền bản lề được tạo ra từ CD8α. Theo một số phương án, miền bản lề là một phần của miền bản lề của CD8α, ví dụ, đoạn chứa ít nhất 15 (ví dụ, 20, 25, 30, 35, hoặc 40) axit amin liên tiếp của miền bản lề của CD8α. Theo một số phương án, miền bản lề của CD8α bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:130. Theo một số phương án, miền bản lề của CD8α được mã hóa bởi trình tự axit nucleic là SEQ ID NO:131.

Các miền bản lề của các kháng thể, như các kháng thể IgG, IgA, IgM, IgE, hoặc IgD, thì cũng tương thích để sử dụng trong các hệ thống thụ thể thể khảm phụ thuộc vào độ pH được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, miền bản lề này là miền bản lề mà nối liền các miền hằng định CH1 và CH2 của kháng thể. Theo một số phương án, miền bản lề là của một kháng thể và bao gồm miền bản lề của kháng thể này và một hoặc nhiều vùng hằng định của kháng thể này. Theo một số phương án, miền bản lề này bao gồm miền bản lề của kháng thể và vùng hằng định CH3 của kháng thể này. Theo một số phương án, miền bản lề này bao gồm miền bản lề của kháng thể và các vùng hằng định CH2 và CH3 của kháng thể này. Theo một số phương án, kháng thể này là kháng thể IgG, IgA, IgM, IgE, hoặc IgD. Theo một số phương án, kháng thể này là kháng thể IgG.

Theo một số phương án, kháng thể này là kháng thể IgG1, IgG2, IgG3, hoặc IgG4. Theo một số phương án, vùng bản lề này bao gồm vùng bản lề và các vùng hằng định CH2 và CH3 của kháng thể IgG1. Theo một số phương án, vùng bản lề này bao gồm vùng bản lề và vùng hằng địnhCH3 của kháng thể IgG1.

Các peptit không có trong tự nhiên cũng có thể được sử dụng làm miền bản lề cho các thụ thể thể khảm được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, miền bản lề giữa đầu tận cùng C của miền liên kết phối tử ngoại bào của thụ thể Fc và đầu tận cùng N của miền xuyên màng là gốc liên kết peptit, như gốc liên kết (GxS)n, trong đó x và n, độc lập có thể là số nguyên nằm trong khoảng từ 3 đến 12, bao gồm cả 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, hoặc lớn hơn nữa.

Peptit tín hiệu

Các CAR theo đơn sáng chế này có thể bao gồm peptit tín hiệu (còn được gọi là trình tự tín hiệu) ở đầu tận cùng N của polypeptit. Nhìn chung, peptit tín hiệu là các trình tự peptit hướng đích polypeptit đến vị trí mong muốn ở tế bào. Theo một số phương án, peptit tín hiệu hướng đích phân tử tác động đến con đường tiết của tế bào và sẽ cho phép tích hợp và neo móc phân tử tác động này vào lớp kép lipit. Các peptit tín hiệu bao gồm các trình tự tín hiệu của các protein có trong tự nhiên hoặc các trình tự tín hiệu không có trong tự nhiên, tổng hợp, mà tương thích để sử dụng trong các CAR được mô tả trong bản mô tả này sẽ sáng tỏ đối với chuyên gia có trình độ trung bình trong lĩnh vực này. Theo một số phương án, peptit tín hiệu được tạo ra từ phân tử được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, thụ thể GM-CSFα, và chuỗi nặng IgG1. Theo một số phương án, peptit tín hiệu được tạo ra từ CD8α. Theo một số phương án, peptit tín hiệu của CD8α bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:127. Theo một số phương án, peptit tín hiệu của CD8α được mã hóa bởi trình tự axit nucleic là SEQ ID NO:128 hoặc SEQ ID NO:129.

IV. Các tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ

Đơn sáng chế này cũng đề xuất các tế bào chủ (như các tế bào tác động miễn dịch) chứa kháng thể bất kỳ trong số các CAR được mô tả trong bản mô tả này.

Vì vậy, theo một số phương án, sáng chế đề xuất tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ (như tế bào T) bao gồm thụ thể kháng nguyên thể khảm (CAR) đa đặc hiệu (như song đặc hiệu) bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn (sdAb) thứ nhất liên kết đặc hiệu vào kháng

nguyên thứ nhất (như kháng nguyên khối u thứ nhất) và kháng thể miền đơn (sdAb) thứ hailiên kết đặc hiệu vào kháng nguyên thứ hai (như kháng nguyên khối u thứ hai); (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó kháng nguyên thứ nhất khác kháng nguyên thứ hai. Theo một số phương án, kháng nguyên thứ nhất và/hoặc kháng nguyên thứ hai được chọn lựa từ nhóm gồm CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3, và F77 glycolipit.Theo một số phương án, sdAb thứ nhất và/hoặc sdAb thứ hai là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn thứ nhất và kháng thể miền đơn thứ hai được dung hợp với nhau thông qua liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, miền xuyên màng được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR đa đặc hiệu còn bao gồm miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR đa đặc hiệu còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ nhất được tạo ra từ CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ hai được tạo ra từ CD137 và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền

tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C:peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD28, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào T, tế bào NK, tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC), tế bào gốc tạo máu, tế bào gốc đa năng, hoặc tế bào gốc phôi thai. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào tự thân. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào dị sinh.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ (như tế bào T) bao gồm CAR CD38 × BCMA bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn kháng BCMA và kháng thể miền đơn kháng CD38; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA và/hoặc sdAb kháng CD38 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA và kháng thể miền đơn kháng CD38 được dung hợp với nhau thông qua liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA được dung hợp ở đầu tận cùng N của sdAb kháng CD38. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA được dung hợp ở đầu tận cùng C của sdAb kháng CD38. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:144-151. Theo một số phương án, miền xuyên màng được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD38 × BCMA còn bao gồm một

miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD38 × BCMA còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:7, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:18, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:29. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD38 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:44, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:56, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:68. Theo một số phương án, CAR CD38 × BCMA bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm trình tự axit amin của các SEQ ID NO:207-216. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ là tế bào T, tế bào NK, tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC), tế bào gốc tạo máu, tế bào gốc đa năng, hoặc tế bào gốc phôi thai. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào tự thân. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào dị sinh.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ (như tế bào T) bao gồm CAR CD20 × CD19 bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn kháng CD19 và kháng thể miền đơn kháng CD20; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 và/hoặc sdAb kháng CD20 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD20 và kháng thể miền đơn kháng CD20 được dung hợp với nhau thông qua liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 được dung hợp ở đầu tận cùng N của sdAb kháng CD20. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 được dung hợp ở đầu tận cùng C của sdAb kháng CD20. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:144-151. Theo một số phương án, miền xuyên

màng được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD20 × CD19 còn bao gồm miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD20 × CD19 còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD28, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:1, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:2, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:3. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD20bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:4, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:5, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:6. Theo một số phương án, CAR CD20 × CD19 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:206. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ là tế bào T, tế bào NK, tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC), tế bào gốc tạo máu, tế bào gốc đa năng, hoặc tế bào gốc phôi thai. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào tự thân. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào dị sinh.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ (như tế bào T) bao gồm CAR CD22 × CD19 bao gồmpolypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn kháng CD19 và kháng thể miền đơn kháng CD22; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 và/hoặc sdAb kháng CD22 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo

một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD22 và kháng thể miền đơn kháng CD22 được dung hợp với nhau thông qua một gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 được dung hợp ở đầu tận cùng N của sdAb kháng CD22. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 được dung hợp ở đầu tận cùng C của sdAb kháng CD22. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:144-151. Theo một số phương án, miền xuyên màng được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD22 × CD19 còn bao gồm miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD22 × CD19 còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD28, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:1, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:2, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:3. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ là tế bào T, tế bào NK, tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC), tế bào gốc tạo máu, tế bào gốc đa năng, hoặc tế bào gốc phôi thai. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào tự thân. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào dị sinh.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ (như tế bào T) bao gồm CAR BCMA × CD19 bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn kháng CD19 và kháng thể miền đơn kháng BCMA; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 và/hoặc sdAb kháng BCMA là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA và kháng thể miền đơn kháng BCMA được dung hợp với nhau thông qua liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 được dung hợp ở đầu tận cùng N của sdAb kháng BCMA. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 được dung hợp ở đầu tận cùng C của sdAb kháng BCMA. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:144-151. Theo một số phương án, miền xuyên màng được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR BCMA × CD19 còn bao gồm miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR BCMA × CD19 còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C:peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng

CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD28, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:1, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:2, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:3. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ là tế bào T, tế bào NK, tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC), tế bào gốc tạo máu, tế bào gốc đa năng, hoặc tế bào gốc phôi thai. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào tự thân. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào dị sinh.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ (như tế bào T) bao gồm thụ thể kháng nguyên thể khảm đa hoá trị bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm nhiều kháng thể miền đơn (các sdAb) liên kết đặc hiệu vào kháng nguyên (như kháng nguyên khối u); (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào. Theo một số phương án, kháng nguyên được chọn lựa từ nhóm gồm CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3, và F77 glycolipit. Theo một số phương án, nhiều kháng thể sdAb thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, nhiều kháng thể miền đơn được dung hợp với nhau thông qua các liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit này không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, miền xuyên màng được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR đa hóa trị còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng.

Theo một số phương án, CAR đa hóa trị còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR đa hóa trị là đơn đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR đa hóa trị này là đa đặc hiệu như song đặc hiệu. Theo một số phương án, CAR đa hoá trị bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm trình tự axit amin của các SEQ ID NO:198-201.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ (như tế bào T) bao gồm thụ thể kháng nguyên thể khảm đa hoá trị bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn thứ nhất liên kết đặc hiệu vào epitop thứ nhất của kháng nguyên (như kháng nguyên khối u) và kháng thể miền đơn thứ hai liên kết đặc hiệu vào epitop thứ hai của kháng nguyên; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó epitop thứ nhất và epitop thứ hai là khác nhau. Theo một số phương án, kháng nguyên được chọn lựa từ nhóm gồm CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3, và F77 glycolipit. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất và/hoặc sdAb thứ hai là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn thứ nhất và kháng thể miền đơn thứ hai được dung hợp với nhau thông qua liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, miền xuyên màng được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng

kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR đa hóa trị còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR đa hóa trị còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ là tế bào T, tế bào NK, tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC), tế bào gốc tạo máu, tế bào gốc đa năng, hoặc tế bào gốc phôi thai. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào tự thân. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào dị sinh.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ (như tế bào T) bao gồm thụ thể kháng nguyên thể khảm CD19 bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng CD19; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó sdAb kháng CD19 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:1, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:2, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:3. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 bao gồm miền V_HH bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:76. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD19 còn bao gồm miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD19 còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N

của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD28, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR CD19 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:248. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ là tế bào T, tế bào NK, tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC), tế bào gốc tạo máu, tế bào gốc đa năng, hoặc tế bào gốc phôi thai. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào tự thân. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào dị sinh.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ (như tế bào T) bao gồm CAR CD20 bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng CD20; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó sdAb kháng CD20 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:4, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:5, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:6. Theo một số phương án, sdAb kháng CD20 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, sdAb kháng CD20 còn bao gồm FR1 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:244, FR2 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:245, FR3 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:246, và/hoặc FR4 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:247. Theo một số phương án, sdAb kháng CD20 bao gồm miền V_HH chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO:77. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD20 còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD20 còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit.

Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD28, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR CD20 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:249. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ là tế bào T, tế bào NK, tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC), tế bào gốc tạo máu, tế bào gốc đa năng, hoặc tế bào gốc phôi thai. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào tự thân. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào dị sinh.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ (như tế bào T) bao gồm CAR BCMA bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng BCMA; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó sdAb kháng BCMA chứa một vùng bất kỳ trong số các vùng sau đây:

(12) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 7; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 18; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 29;

(13) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 8; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 19; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 30;

(14) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 9; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 20; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 31;

(15) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 10; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 21; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 32;

(16) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 11; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 22; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 33;

(17) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 12; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 23; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 34;

(18) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 13; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 24; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 35;

(19) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 14; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 25; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 36;

(20) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 15; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 26; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 37;

(21) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 16; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 27; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 38; hoặc

(22) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 17; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 28; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 39.

Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA chứa miền V_HH có trình tự axit amin từ nhóm gồm SEQ ID NO: 78-88. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR BCMA còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR BCMA còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ nhất được tạo ra từ CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ hai được tạo ra từCD137 và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR BCMA bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:152-162. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ là tế bào T, tế bào NK, tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC), tế bào gốc tạo máu, tế bào gốc đa năng, hoặc tế bào gốc phôi thai. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào tự thân. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào dị sinh.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ (như tế bào T) bao gồmCAR CD38 bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng CD38; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó sdAb kháng BCMA chứa một vùng bất kỳ trong số các vùng sau đây:

(13) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 40; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 52; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 64;

(14) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 41; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 53; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 65;

(15) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 42; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 54; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 66;

(16) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 43; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 55; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 67;

(17) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 44; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 56; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 68;

(18) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 45; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 57; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 69;

(19) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 46; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 58; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 70;

(20) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 47; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 59; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 71;

(21) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 48; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 60; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 72;

(22) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 49; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 61; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 73;

(23) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 50; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 62; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 74; hoặc

(24) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 51; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 63; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 75.

Theo một số phương án, sdAb kháng CD38 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, sdAb kháng CD38 chứa miền V_HH có trình tự axit amin từ nhóm gồm SEQ ID NO: 89-

100. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD38 còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD38 còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, sdAb kháng CD38, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ nhất được tạo ra từ CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ hai được tạo ra từCD137 và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, sáng chế đề xuấtCAR CD38 bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:163-174. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ là tế bào T, tế bào NK, tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC), tế bào gốc tạo máu, tế bào gốc đa năng, hoặc tế bào gốc phôi thai. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào tự thân. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào dị sinh.

Sáng chế đề xuất các tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ bao gồm (hoặc biểu hiện) hai CAR khác nhau hoặc nhiều hơn nữa. Hai CAR bất kỳ hoặc nhiều hơn nữa trong số các CAR được mô tả trong bản mô tả này có thể được biểu hiện kết hợp. Các CAR có thể hướng đích đến các kháng nguyên khác nhau, nhờ đó tạo ra các tác động hiệp trợ hoặc bổ sung. Bởi vì các kháng thể miền đơn trong các miền liên kết kháng nguyên ngoại bào của CAR chỉ có các chuỗi biến đổi kháng nguyên đơn (như các chuỗi nặng), nên các tế bào biểu hiện CAR này không có các vấn đề về bắt cặp sai chuỗi biến

đổi, như được thấy ở các tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ đồng biểu hiện hai CAR trên cơ sở scFv hoặc nhiều hơn nữa. Các tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ làm ví dụ đồng biểu hiện hai CAR trên cơ sở V_HH được minh họa trên FIG.1E. Chuyên gia có trình độ trung bình trong lĩnh vực này sẽ nhận ra rằng các CAR dựa trên các sdAb khác hoặc có các cấu trúc khác như được mô tả trong bản mô tả này cũng có thể được biểu hiện trong các tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ. Hai CAR hoặc nhiều hơn nữa có thể được mã hoá trên cùng một vật truyền hoặc các vật truyền khác nhau.

Tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ có thể còn biểu hiện một hoặc nhiều protein trị liệu và/hoặc các chất điều biến miễn dịch, như các chất ức chế kiểm soát miễn dịch. Ví dụ, xem đơn Patent Quốc tế sốPCT/CN2016/073489 và PCT/CN2016/087855, các đơn patent này được đưa toàn bộ vào đây bằng cách viện dẫn.

Các vật truyền

Đơn sáng chế này đề xuất các vật truyền dùng để tạo dòng vô tính và biểu hiện một CAR bất kỳ trong số các CAR được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, vật truyền này là thích hợp để sao chép và tích hợp trong các tế bào nhân thực, như các tế bào của động vật có vú. Theo một số phương án, vật truyền này là vật truyền virut. Các ví dụ về vật truyền virut bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở các vật truyền adenovirut, các vật truyền virut gắn liền với adenovirut, vật truyền lentivirut, vật truyền retrovirut, vật truyền bệnh đậu bò, vật truyền herpes simplex, và các dẫn xuất của chúng. Công nghệ vật truyền virut thì đã biết rõ trong lĩnh vực này và được mô tả, ví dụ, trong tài liệu: Sambrook *et al.*(2001, Molecular Cloning:A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York), và trong các cẩm nang sinh học phân tử và virut khác.

Một số hệ thống dựa trên virut đã được phát triển để chuyển gen vào các tế bào động vật có vú. Ví dụ, các retrovirut đem lại một nền tảng thuận tiện cho các hệ thống phân phối gen. Axit nucleic khác nguồn gốc có thể được chèn vào vật truyền và được đóng gói trong các hạt retrovirut bằng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực này. Sau đó, virut tái tổ hợp có thể được phân lập và được phân phối đến tế bào động vật có vú đã được xử lý công nghệ *in vitro* hoặc ex vivo. Một số hệ thống retrovirut thì đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Theo một số phương án, các vật truyền adenovirut được sử dụng. Một số hệ thống vật truyền retrovirut thì đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Theo một số phương án, các vật truyền lentivirut được sử dụng. Theo một số phương án, các vật

truyền lentivirut tự làm bất hoạt được sử dụng. Ví dụ, các vật truyền lentivirut tự làm bất hoạt mang trình tự mã hóa chất điều biến miễn dịch (như chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch) và/hoặc các vật truyền lentivirut tự làm bất hoạt mang các thụ thể kháng nguyên thể khảm có thể được đóng gói bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này. Các vật truyền lentivirut thu được có thể được sử dụng để tải nạp tế bào động vật có vú (các tế bào T sơ cấp của người) bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này. Các vật truyền được tạo ra từ retrovirut như lentivirut là những công cụ thích hợp để có được sự chuyển gen lâu dài, bởi vì chúng cho phép việc tích hợp ổn định lâu dài của gen chuyển và việc nhân giống của nó trong các tế bào thế hệ con. Các vật truyền lentivirut cũng có tính miễn dịch thấp, và có thể tải nạp các tế bào không tăng sinh.

Theo một số phương án, vật truyền bao gồm axit bất kỳ trong số các axit nucleic mã hóa CAR được mô tả trong bản mô tả này. Axit nucleic có thể được tạo dòng vô tính vào vật truyền bằng cách sử dụng các phương pháp tạo dòng vô tính phân tử đã biết bất kỳ trong lĩnh vực này, bao gồm, ví dụ, phương pháp sử dụng các vị trí endonucleaza giới hạn và một hoặc nhiều gen đánh dấu có thể chọn lựa được. Theo một số phương án, axit nucleic được liên kết theo kiểu hoạt động được vào gen khởi đầu. Nhiều gen khởi đầu đã được phát hiện để biểu hiện gen trong tế bào động vật có vú và gen khởi đầu bất kỳ trong số các gen khởi đầu đã biết trong lĩnh vực này có thể được sử dụng trong sáng chế này. Các gen khởi đầu có thể được phân loại sơ bộ là các gen khởi đầucơ hữu hoặc các gen khởi đầu được điều hòa, như các gen khởi đầu có thể kích thích được.

Theo một số phương án, axit nucleic mã hóa CAR được liên kết theo kiểu hoạt động được vào gen khởi đầucơ hữu. Các gen khởi đầucơ hữu cho phép các gen khác nguồn gốc (còn được gọi là gen chuyển) được biểu hiện một cách cơ hữu trong các tế bào chủ. Các gen khởi đầucơ hữu làm ví dụ được dự liệu trong bản mô tả này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở các gen khởi đầu Cytomegalovirut (CMV), các yếu tố kéo dài của người -1alpha (hEF1α), gen khởi đầu ubiquitin C (UbiC), gen khởi đầu phosphoglycerokinaza (PGK), gen khởi đầu sớm virut 40 của khỉ (SV40), và gen khởi đầu β-Actin của gà được liên hợp với trình tự tăng cường sớm CMV (CAGG). Các hiệu quả của gen khởi đầucơ hữu này đối với việc thúc đẩy biểu hiện gen chuyển đã được so sánh rộng rãi trong rất nhiều nghiên cứu. Ví dụ, Michael C. Milone *et al* đã so sánh các hiệu quả của CMV, hEF1α, UbiC và PGK trong việc thúc đẩy sự biểu hiện của thụ thể kháng nguyên thể khảm trong các tế bào T sơ cấp của người, và kết luận rằng gen khởi

đầu hEF1α không chỉ kích thích mức biểu hiện gen chuyển cao nhất mà còn được duy trì một cách tối ưu trong các tế bào T CD4 và CD8 của người (Molecular Therapy, 17(8):1453-1464 (2009)). Theo một số phương án, axit nucleic mã hóa CAR được liên kết theo kiểu hoạt động được vàogen khởi đầu hEF1α.

Theo một số phương án, axit nucleic mã hóa CAR được liên kết theo kiểu hoạt động được vàogen khởi đầu có thể kích thích được. Các gen khởi đầu có thể kích thích được thuộc loại gen khởi đầu được điều hòa. Gen khởi đầu có thể kích thích được có thể được kích thích bởi một hoặc nhiều điều kiện, như điều kiện vật lý, vi môi trường của tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ, hoặc trạng thái sinh lý của tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ, một chất kích thích (tức là, tác nhân kích thích), hoặc dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, điều kiện kích thích không kích thích sự biểu hiện của các gen nội sinh trong tế bào của động vật có vú được xử lý công nghệ, và/hoặc ở đối tượng tiếp nhận dược phẩm này. Theo một số phương án, điều kiện kích thíchđược chọn lựa từ nhóm gồm: chất kích thích, sự chiếu xạ (như bức xạ ion hóa, ánh sáng), nhiệt độ (như nhiệt), trạng thái oxy hóa khử, môi trường khối u, và trạng thái hoạt hóa của tế bào động vật có vú được xử lý công nghệ.

Theo một số phương án, vật truyền cũng chứa gen chỉ thị hoặc gen đánh dấu có thể chọn lựa được để chọn lựa các tế bào thể hiện CAR từ quần thể tế bào chủ được chuyển nhiễm thông qua các vật truyền lentivirut. Cả gen chỉ thị và gen đánh dấu có thể chọn lựa được có thể được kẹp vào giữa các trình tự điều hòa thích hợp để cho phép biểu hiện trong các tế bào chủ. Ví dụ, vật truyền có thể chứa các trình tự kết thúc phiên mã và dịch mã, trình tự khởi đầu, và các gen khởi đầu hữu ích cho việc điều hòa sự biểu hiện của các trình tự axit nucleic.

Theo một số phương án, vật truyền bao gồm nhiều hơn một axit nucleic mã hóa các CAR. Theo một số phương án, vật truyền bao gồm axit nucleic bao gồm trình tự axit nucleic thứ nhất mã hóa CAR thứ nhất và trình tự axit nucleic thứ hai mã hóa CAR thứ hai, trong đó axit nucleic thứ nhất được liên kết theo kiểu hoạt động được vào axit nucleic thứ hai thông qua trình tự axit nucleic thứ ba mã hóa peptit tự phân cắt. Theo một số phương án khác của phương án, peptit tự phân cắt được chọn lựa từ nhóm gồm T2A, P2A, và F2A. Theo một số phương án, peptit T2A có trình tự axit amin là SEQ ID NO:254. Theo một số phương án, peptit T2A được mã hóa bởi trình tự axit nucleic là SEQ ID NO:255. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập

mã hoá cho CAR BCMA vàCAR CD38, bao gồm trình tự axit nucleic là SEQ ID NO:239.

Các tế bào tác động miễn dịch

"Các tế bào tác động miễn dịch" là các tế bào miễn dịch mà có thể thực hiện các chức năng tác động miễn dịch. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch biểu hiện ít nhất FcγRIII và thực hiện chức năng tác động ADCC. Các ví dụ về tế bào tác động miễn dịch làm trung gian cho ADCC bao gồm các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC), các tế bào tiêu diệt tự nhiên (NK), các bạch cầu đơn nhân to, tế bào T gây độc tế bào, bạch cầu đa nhân trung tính và bạch cầu ưa eosin.

Theo một số phương án, các tế bào tác động miễn dịch là các tế bào T. Theo một số phương án, các tế bào T là CD4+/CD8-, CD4-/CD8+, CD4+/CD8+, CD4-/CD8-, hoặc các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, các tế bào T tạo raIL-2, TFN, và/hoặc TNF sau khi biểu hiện CAR và liên kết vào các tế bào đích, như các tế bào khối u CD19+ hoặc CD20+. Theo một số phương án, các tế bào T CD8+ làm tiêu các tế bào đích đặc hiệu với kháng nguyên sau khi biểu hiện CAR và liên kết vào các tế bào đích.

Theo một số phương án, các tế bào tác động miễn dịch là các tế bào NK. Theo các phương án khác, các tế bào tác động miễn dịch có thể là các dòng tế bào được thiết lập, ví dụ, các tế bào NK-92.

Theo một số phương án, các tế bào tác động miễn dịch được biệt hóa từ tế bào gốc, như tế bào gốc tạo máu, tế bào gốc đa năng, iPS, hoặc tế bào gốc phôi thai.

Các tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ được điều chế bằng cách đưa các CAR vào các tế bào tác động miễn dịch, như các tế bào T. Theo một số phương án, CAR được đưa vào các tế bào tác động miễn dịch bằng cách chuyển nhiễm axit bất kỳ trong số các axit nucleic được phân lập hoặc vật truyền bất kỳ trong số các vật truyền được mô tả trong Phần III. Theo một số phương án, CAR được đưa vào các tế bào tác động miễn dịch bằng cách chèn các protein vào màng tế bào trong khi chuyển các tế bào qua hệ vi kênh dẫn, như CELL SQUEEZE® (ví dụ, xem tài liệu: Công bố Đơn yêu cầu cấp Patent Mỹ số 20140287509).

Các phương pháp đưa vật truyền hoặc axit nucleic được phân lập vào tế bào động vật có vú thì đã biết trong lĩnh vực này. Các vật truyền được mô tả có thể được chuyển vào tế bào tác động miễn dịch bằng phương pháp vật lý, hóa học hoặc sinh học

Các phương pháp vật lý dùng để đưa vật truyền vào tế bào tác động miễn dịch bao gồm kết tủa phosphat, gây nhiễm liposom, phương pháp dùng súng bắn gen (particle bombardment - phương pháp dùng súng bắn gen), phương pháp vi tiêm, phương pháp biến nạp bằng xung điện, và các phương pháp tương tự. Các phương pháp dùng để tạo ra tế bào chứa các vật truyền và/hoặc các axit nucleic ngoại sinh thì đã biết rõ trong lĩnh vực này. Ví dụ, xem tài liệu: Sambrook *et al.*(2001) Molecular Cloning:A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York. Theo một số phương án, vật truyền được đưa vào tế bào bằng phương pháp biến nạp bằng xung điện.

Các phương pháp sinh học dùng để đưa vật truyền vào tế bào tác động miễn dịch bao gồm việc sử dụng các vật truyền ADN và ARN. Các vật truyền virut đã trở thành phương pháp được sử dụng rộng rãi nhất dùng để chèn các gen vào tế bào động vật có vú, ví dụ, các tế bào của người.

Các phương tiện hóa học dùng để đưa vật truyền vào tế bào tác động miễn dịch bao gồm các hệ phân tán dạng keo, như các phức hợp đại phân tử, viên nang nano, vi cầu, các hạt và các hệ thống trên cơ sở lipit bao gồm nhũ tương dầu trong nước, mixen, các mixen hỗn hợp và liposom. Hệ keo làm ví dụ để sử dụng làm chất dẫn phân phối *in vitro* là liposom (ví dụ, túi màng nhân tạo).

Theo một số phương án, các phân tử ARN mã hóa trình tự bất kỳ trong số các CAR được mô tả trong bản mô tả này có thể được điều chế bằng phương pháp thông thường (ví dụ, phiên mã *in vitro*) và sau đó được đưa vào các tế bào tác động miễn dịch thông qua các phương pháp đã biết như phương pháp biến nạp bằng xung điện ARN thông tin. Ví dụ, xem tài liệu:Rabinovich *et al.*, Human Gene Therapy 17:1027-1035.

Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được chuyển nhiễm hoặc tải nạp này được nhân rộng ex vivo sau khi đưa vật truyền hoặc axit nucleic được phân lập vào. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được chuyển nhiễm hoặc tải nạp này được nuôi cấy để nhân rộng trong ít nhất khoảng 1 ngày, 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 6 ngày, 7 ngày, 10 ngày, 12 ngày, hoặc 14 ngày. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được chuyển nhiễm hoặc tải nạp này còn được đánh giá hoặc sàng lọc để chọn lựa các tế bào động vật có vú đã được xử lý công nghệ.

Các gen chỉ thị có thể được sử dụng để nhận diện các tế bào đã được chuyển nhiễm tiềm năng và đánh giá hoạt động chức năng của các trình tự điều hòa. Nhìn chung, gen chỉ thị là gen không có mặt trong hoặc được biểu hiện bởi sinh vật hoặc mô tiếp nhận

và gen này mã hoá polypeptit mà sự biểu hiện của polypeptit này được thể hiện bởi một số thuộc tính dễ phát hiện được, ví dụ, hoạt tính enzym. Quá trình biểu hiện của gen chỉ thị được thử nghiệm ở thời điểm thích hợp sau khi ADN được đưa vào các tế bào tiếp nhận. Các gen chỉ thị thích hợp có thể bao gồm các gen mã hoá luxiferaza, beta-galactosidaza, axetyl transferaza chloramphenicol, phosphataza kiềm được tiết, hoặc gen protein huỳnh quang xanh lục (ví dụ, Ui-Tei *et al.*FEBS Letters 479:79-82 (2000)). Các hệ thống biểu hiện thích hợp thì đã biết và có thể được điều chế bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết hoặc đã mua được trên thị trường.

Các phương pháp khác để xác nhận sự có mặt của axit nucleic mã hoá các CAR trong tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ, bao gồm, ví dụ, các thử nghiệm sinh học phân tử mà chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này đã biết rõ, như là phương pháp thấm tách Phương Nam và Phương Bắc, RT-PCR và PCR; các thử nghiệm sinh hóa, như phát hiện sự có mặt hoặc sự thiếu vắng của một peptit cụ thể, ví dụ, bằng các phương pháp miễn dịch (như các phương pháp ELISA và thấm tách Phương Tây).

1. Nguồn Tế bào T

Trước khi nhân rộng và cải biến gen tế bào T, thì thu nguồn tế bào T từ một cá thể nào đó. Có thể thu được các tế bào T từ một số nguồn, bao gồm các tế bào đơn nhân máu ngoại vi, tủy xương, mô hạch bạch huyết, máu ở dây rốn, mô tuyến ức, mô từ vị trí nhiễm trùng, dịch cổ trướng, tràn dịch màng phổi, mô lách và các khối u. Theo một số phương án, số dòng tế bào T bất kỳ có sẵn trong lĩnh vực này, có thể được sử dụng. Theo một số phương án, có thể thu được tế bào T từ đơn vị máu lấy từ đối tượng bằng cách sử dụng số kỹ thuật bất kỳ mà chuyên gia có trình độ trung bình trong lĩnh vực này đã biết, như kỹ thuật tách Ficoll ™. Theo một số phương án, các tế bào từ máu tuần hoàn của một cá thểlà thu được bằng phương pháp tách máu. Sản phẩm tách máu thường chứa bạch huyết bào, bao gồm cả tế bào T, bạch cầu đơn nhân to, bạch cầu hạt, tế bào B, các tế bào bạch huyết có nhân khác, hồng cầu, và tiểu cầu. Theo một số phương án, các tế bào được thu gom bằng phương pháp tách máu có thể được rửa để loại bỏ phần huyết tương và đặt các tế bào trong dung dịch đệm hoặc môi trường thích hợp dùng cho các bước xử lý kế tiếp. Theo một số phương án, các tế bào được rửa bằng nước muối được đệm phosphat (PBS). Theo một số phương án, dung dịch rửa thiếu canxi và có thể thiếu magie hoặc có thể thiếu nhiều cation nếu không muốn nói là thiếu tất cả các cation hóa trị hai. Một lần nữa,

đáng ngạc nhiên là các bước hoạt hóa ban đầu khi thiếu vắng canxi dẫn đến mức hoạt hóa được phóng đại. Như những chuyên gia có trình độ trung bình trong lĩnh vực này sẽ dễ dàng đánh giá bước rửa có thể được thực hiện bằng các phương pháp mà chuyên gia trong lĩnh vực này đã biết, như bằng cách sử dụng phương pháp ly tâm "chảy qua" bán tự động (ví dụ, thiết bị xử lý tế bào Cobe 2991, Baxter CytoMate, hoặc Haemonetics Cell Saver 5) theo các hướng dẫn của nhà sản xuất. Sau khi rửa, các tế bào có thể được tái tạo huyền phù trong nhiều dung dịch đệm tương thích sinh học khác nhau, ví dụ, như, PBS không có Ca^{2+}, không có Mg^{2+}, PlasmaLyte A, hoặc dung dịch muối khác có hoặc không có dung dịch đệm. Theo cách khác, các thành phần không mong muốn của mẫu tách máu này có thể được loại bỏ và các tế bào được trực tiếp tái tạo huyền phù trong môi trường nuôi cấy.

Theo một số phương án, các tế bào T được phân lập từ các bạch huyết bào máu ngoại vi bằng cách làm tan hồng cầu và làm tiêu tan bạch cầu đơn nhân to, ví dụ, bằng phương pháp ly tâm qua gradien PERCOLL™ hoặc bằng phương pháp rửa lắng ly tâm ngược dòng. Tiểu quần thể tế bào T đặc hiệu, như các tế bào T CD3 +, CD28 +, CD4 +, CD8 +, CD45RA +, và CD45RO +, có thể được phân lập thêm bằng kỹ thuật chọn lựa dương tính hoặc âm tính. Ví dụ, theo một số phương án, các tế bào T được phân lập bằng phương pháp ủ với các hạt được tiếp hợp với kháng thể kháng CD3/kháng CD28 (tức là, 3×28), như DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T, trong khoảng thời gian đủ để chọn lựa dương tính các tế bào T mong muốn. Theo một số phương án, khoảng thời gian này là khoảng 30 phút. Theo một phương án khác, khoảng thời gian này là từ 30 phút đến 36 giờ hoặc dài hơn nữa và tất cả các trị số số nguyên ở giữa khoảng đó. Theo một phương án khác, khoảng thời gian này là ít nhất 1, 2, 3, 4, 5, hoặc 6 giờ. Theo một số phương án, khoảng thời gian này là từ 10 đến 24 giờ. Theo một số phương án, khoảng thời gian ủ này là 24 giờ. Để phân lập tế bào T từ bệnh nhân bị bệnh bạch cầu, việc sử dụng thời gian ủ dài hơn, như 24 giờ, có thể làm tăng sản lượng tế bào. Thời gian ủ dài hơn có thể được sử dụng để phân lập các tế bào T trong trường hợp bất kỳ khi mà có ít tế bào T hơn so với các loại tế bào khác, như trong việc phân lập bạch huyết bào xâm nhập khối u (TIL) từ mô khối u hoặc từ các cá thể bị suy giảm miễn dịch. Hơn nữa, việc sử dụng thời gian ủ lâu hơn có thể làm tăng hiệu quả của việc bắt các tế bào T CD8+. Do đó, đơn giản là bằng cách rút ngắn hoặc kéo dài thời gian các tế bào T được phép liên kết vào các hạt CD3/CD28 và/hoặc bằng cách tăng hoặc giảm tỷ lệ giữa các hạt và các tế bào T (như

được mô tả thêm trong bản mô tả này), các tiểu quần thể tế bào T có thể được chọn lựatheo kiểu ưu tiên đối với hoặc vớiở thời điểm bắt đầu nuôi cấy hoặc ở các thời điểm khác trong suốt quy trình này. Ngoài ra, bằng cách tăng hoặc giảm tỷ lệ giữa kháng thể kháng CD3 và/hoặc kháng thể kháng CD28 trên các hạt hoặc bề mặt khác, các tiểu quần thể tế bào T có thể được ưu tiên chọn lựađối với hoặc vớiở thời điểm bắt đầu nuôi cấy hoặc ở các thời điểm khác. Chuyên gia có trình độ trung bình trong lĩnh vực này sẽ nhận ra rằng có thể sử dụng nhiều vòng chọn lựa. Theo một số phương án, có thể là thích hợp khi thực hiện quy trình chọn lựa và sử dụng các tế bào "không được chọn lựa" trong quá trình hoạt hóa và nhận rộng. Các tế bào "không được chọn lựa" cũng có thể là đối tượng của các vòng chọn lựa thêm.

Quá trình làm giàu của quần thể tế bào T bằng cách chọn lựa âm tính có thể được thực hiện với dạng kết hợp của các kháng thể được dẫn dắt tới các gen đánh dấu bề mặt độc nhất với các tế bào được chọn lựa theo kiểu âm tính. Một phương pháp là xếp loại và/hoặc chọn lựa tế bào thông qua phương pháp kết dính miễn dịch từ âm tính hoặc đếm tế bào theo dòng chảymà sử dụng hỗn hợp gồm các kháng thể đơn dòng được dẫn dắt đến các gen đánh dấu bề mặt tế bào có mặt trên tế bào được chọn lựatheo kiểu âm tính. Ví dụ, để làm giàu cho các tế bào CD4 + bằng cách chọn lựa âm tính, thì hỗn hợp kháng thể đơn dòng thường bao gồm các kháng thể kháng CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR, và CD8. Theo các phương án nhất định, có thể là thích hợpkhi làm giàu hoặc chọn lựa dương tính các tế bào T điều hòa mà thường biểu hiện CD4 +, CD25 +, CD62Lhi, GITR + và FoxP3 +. Theo cách khác, theo các phương án nhất định, các tế bào điều hòa T được làm tiêu tan bởi các hạt được tiếp hợp kháng thể kháng C25 hoặc phương pháp chọn lựa tương tự khác.

Để phân lập quần thể tế bào mong muốn bằng phương pháp chọn lựa âm tính hoặc dương tính, nồng độ của các tế bào và bề mặt (ví dụ, các hột như hạt) có thể thay đổi. Theo các phương án nhất định, có thể là thích hợpkhi làm giảm một cách đáng kể thể tích mà trong đó hạt và tế bào được trộn lẫn với nhau (tức là làm tăng nồng độ của các tế bào) để đảm bảo mức tiếp xúc tối đa của các tế bào và hạt. Ví dụ, theo một phương án, nồng độ là 2 tỷ tế bào/ml được sử dụng. Theo một phương án, nồng độ là 1 tỷ tế bào/ml được sử dụng. Theo một phương án nữa, nồng độ là lớn hơn 100 triệu tế bào/ml được sử dụng. Theo một phương án nữa, nồng độ tế bào là 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, hoặc 50 triệu tế bào/ml được sử dụng. Theo một phương án khác nữa, nồng độ tế bào từ 75, 80, 85, 90,

95, hoặc 100 triệu tế bào/ml được sử dụng. Theo các phương án nữa, nồng độ tế bào là 125 hoặc 150 triệu tế bào/ml có thể được sử dụng. Việc sử dụng các nồng độ cao có thể làm tăng sản lượng tế bào, mức hoạt hóa tế bào, và mức nhân rộng tế bào. Hơn nữa, việc sử dụng các nồng độ tế bào cao cho phép bắt một cách hiệu quả hơn các tế bào mà có thể biểu hiện rất yếu các kháng nguyên đích đang được quan tâm, như các tế bào T âm tính với CD28, hoặc từ các mẫu có nhiều tế bào khối u có mặt (ví dụ, máu ở bệnh bạch cầu, mô khối u, v.v.). Các quần thể tế bào như vậy có thể có giá trị trị liệu và thường mong muốn thu được. Ví dụ, việc sử dụng nồng độ tế bào cao cho phép chọn lựa hiệu quả hơn các tế bào T CD8 + mà thường có mức biểu hiện CD28 yếu hơn.

Theo một số phương án, có thể là thích hợp khi sử dụng các nồng độ tế bào thấp hơn. Bằng cách pha loãngmột cách đáng kể hỗn hợp các tế bào T và bề mặt, (ví dụ, các hột như hạt), các tương tác giữa các hạt và các tế bào được giảm thiểu. Cách này để chọn lựa các tế bào thể hiện lượng lớn kháng nguyên mong muốn sẽ được liên kết vào các hạt. Ví dụ, các tế bào T CD4+ biểu hiện các mức CD28 cao hơn và được bắt hiệu quả hơn so với tế bào T CD8 + trong các nồng độ pha loãng. Theo một số phương án, nồng độ tế bào được sử dụng là 5×10^6/ml. Theo một số phương án, nồng độ được sử dụng có thể nằm trong khoảng từ 1×10^5/ml đến 1×10^6/ml, và trị số số nguyên bất kỳ trong khoảng này.

Theo một số phương án, các tế bào có thể được ủ trên máy quay trong các khoảng thời gian khác nhau ở vận tốc khác nhau ở 2-10°C, hoặc ở nhiệt độ trong phòng.

Các tế bào T để kích thích cũng có thể được làm đông lạnh sau bước rửa. Mong muốn không bị ràng buộc bởi lý thuyết, việc làm đông lạnh và bước rã đôngkế tiếp đem lại sản phẩm đồng đều hơn bằng cách loại bỏ bạch cầu hạt và đến một mức độ nào đó, làbạch cầu đơn nhân to trong quần thể tế bào. Sau bước rửa mà loại bỏ huyết tương và tiểu cầu, các tế bào có thể được tạo huyền phù trong dung dịch đông lạnh. Trong khi nhiều dung dịch đông lạnh và các thông số thì đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và sẽ hữu ích trong bối cảnh này, một phương pháp bao gồm việc sử dụng PBS có chứa DMSO 20% và albumin huyết thanh người 8%, hoặc môi trường nuôi cấy có chứa Dextran 40 10% và Dextroza 5%, Albumin huyết thanh người 20% và DMSO 7,5%, hoặc Plasmalyte-A 31,25%, Dextroza 5% 31,25%, NaCl 0,45%, Dextran 40 10% và Dextroza 5%, Albumin huyết thanh người 20% và DMSO 7,5% hoặc các môi trường đông lạnh tế bào thích hợp khác, ví dụ, chứa Hespan và PlasmaLyte A, sau đó, các tế bào được đông lạnh đến −80°C ở tốc độ là 1°/phút và được lưu trữ trong pha hơi của bình chứa nitơ lỏng.

Các phương pháp đông lạnh được kiểm soát khác có thể được sử dụng cũng như các phương pháp đông lạnh không được kiểm soát ngay ở −20°C hoặc trong nitơ lỏng

Theo một số phương án, các tế bào được bảo quản lạnh sẽ được rã đông và rửa như được mô tả trong bản mô tả này và để yên một giờ ở nhiệt độ trong phòng trước khi hoạt hóa.

Cũng được dự liệu trong đơn sáng chế này là phương pháp thu gom các mẫu máu hoặc sản phẩm tách máu từ một đối tượng nào đó tại một khoảng thời gian trước thời điểm khi có thể cần đến các tế bào được nhân rộng này như được mô tả trong bản mô tả này. Như vậy, nguồn các tế bào cần được nhân rộng có thể được thu gom ở thời điểm bất kỳ cần thiết, và các tế bào mong muốn, như các tế bào T, được phân lập và làm đông lạnh để sử dụng sau này trong liệu pháp tế bào T cho một số bệnh hoặc tình trạng bệnh bất kỳ sẽ được hưởng lợi từ liệu pháp tế bào T, như những bệnh hoặc tình trạng được mô tả trong bản mô tả này. Theo một phương án, mẫu máu hoặc sản phẩm tách máu được lấy từ đối tượng khỏe mạnh tổng quát. Theo các phương án nhất định, mẫu máu hoặc sản phẩm tách máu được lấy từ đối tượng khỏe mạnh tổng quát có nguy cơ phát triển bệnh nhưng chưa phát triển bệnh và các tế bào đang được quan tâm được phân lập và làm đông lạnh để sử dụng sau này. Theo các phương án nhất định, các tế bào T có thể được nhân rộng, làm đông lạnh và sử dụng sau này. Theo các phương án nhất định, mẫu được thu gom từ bệnh nhân ngay sau khi chẩn đoán bị bệnh cụ thể như được mô tả trong mô tả này nhưng trước các phương pháp điều trị bất kỳ. Theo một phương án nữa, các tế bào được phân lập từ mẫu máu hoặc sản phẩm tách máu của đối tượng trước khi thực hiện một số phương thức điều trị liên quan bất kỳ, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở việc điều trị bằng các tác nhân như natalizumab, efalizumab, tác nhân kháng virut, hoá trị, xạ trị, các chất ức chế miễn dịch, như xyclosporin, azathioprin, methotrexat, mycophenolat, và FK506, các kháng thể, hoặc các chất phá bỏ miễn dịch khác như CAMPATH, kháng thể khángCD3, cytoxan, fludarabin, xyclosporin, FK506, rapamycin, axit mycophenolic, steroit, FR901228 và chiếu xạ. Những thuốc này ức chế phosphataza canxineurin phụ thuộc vào canxi (xyclosporin và FK506) hoặc ức chế kinaza p70S6 là quan trọng đối với quá trình truyền tín hiệu do yếu tố tăng trưởng kích thích (rapamycin) (Liu et al., Cell 66:807-815, 1991; Henderson et al., Immun 73:316-321, 1991; Bierer et al., Curr. Opin.Immun.5:763-773, 1993). Theo một phương án nữa, các tế bào được phân lập cho bệnh nhân và được đông lạnh để sử dụng sau này kết hợp với (ví dụ, trước, đồng thời

hoặc sau) cấy ghép tủy xương hoặc cấy ghép tế bào gốc, liệu pháp phá hủy tế bào T bằng cách sử dụng các chất hóa trị như fludarabin, liệu pháp phóng xạ chùm tia bên ngoài (XRT), xyclophosphamit, các kháng thể như OKT3 hoặc CAMPATH. Theo một phương án khác, các tế bào được phân lập trước và có thể được đông lạnh để sử dụng sau này cho việc điều trị sau khi sử dụng liệu pháp phá hủy tế bào B như các chất mà phản ứng với CD20, ví dụ, Rituxan.

Theo một số phương án, các tế bào T là thu được từ bệnh nhân một cách trực tiếp sau điều trị. Về vấn đề này, đã quan sát thấy rằng sau các phương pháp điều trị bệnh ung thư nhất định, đặc biệt là các phương pháp điều trị bằng các thuốc phá huỷ hệ miễn dịch, ngay sau khi việc điều trị trong giai đoạn mà bệnh nhân hồi phục bình thường sau khi điều trị, chất lượng các tế bào T thu được có thể là tối ưu hoặc được cải thiện đối với khả năng của chúng trong việc nhân rộng ex vivo. Tương tự như vậy, tiếp theo thao tác ex vivo bằng cách sử dụng các phương pháp được mô tả trong mô tả này, các tế bào này có thể ở trạng thái ưu tiên để tăng cường mức nhận ghép và nhân rộng in vivo. Do đó, được dự liệu trong ngữ cảnh của sáng chế này là việc thu gom các tế bào máu, bao gồm cả tế bào T, tế bào đuôi gai hoặc các tế bào khác của dòng dõi tạo máu, trong suốt giai đoạn hồi phục này. Hơn nữa, theo các phương án nhất định, việc làm bất động (ví dụ, làm bất động với GM-CSF) và các chế độ điều kiện hóa có thể được sử dụng để tạo ra điều kiệnở đối tượng mà việc phục hồi quần thể, tái tuần hoàn, tái sinh và/hoặc nhân rộng các loại tế bào cụ thể là được ưu tiên, đặc biệt là trong giai đoạn cửa sổ xác định sau liệu pháp. Các loại tế bào minh hoạ bao gồm tế bào T, tế bào B, tế bào đuôi gai và các tế bào khác của hệ miễn dịch.

2. Hoạt hóa và Nhân rộng các Tế bào T

Dù là trước hay sau khi cải biến gen các tế bào T bằng các CAR được mô tả trong mô tả này, nhìn chung, các tế bào T có thể được hoạt hóa và nhân rộng bằng cách sử dụng các phương pháp như được mô tả, ví dụ, trong Patent Mỹ các số6.352.694; 6.534.055; 6.905.680; 6.692.964; 5.858.358; 6.887.466; 6.905.681; 7.144.575; 7.067.318; 7.172.869; 7.232.566; 7.175.843; 5.883.223; 6.905.874; 6.797.514; 6.867.041; và Công bố Đơn yêu cầu cấp Patent Mỹ số20060121005.

Nhìn chung, các tế bào T có thể được nhân rộng bằng cách cho tiếp xúc với bề mặt đã gắn kết vào đó một chất mà kích thíchtín hiệu gắn liền với phức hợp CD3/TCR và

phối tử mà kích thích phân tử đồng kích thích trên bề mặt của các tế bào T. Cụ thể, các quần thể tế bào T có thể được kích thích như được mô tả trong mô tả này, như bằng cách cho tiếp xúc với kháng thể kháng CD3, hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó, hoặc kháng thể kháng CD2 được làm bất định trên bề mặt, hoặc bằng cách cho tiếp xúc với chất hoạt hóa protein kinaza C (ví dụ, bryostatin) kết hợp với thể mang ion canxi. Để đồng kích thích phân tử phụ trên bề mặt của các tế bào T, phối tử mà liên kết phân tử phụ này được sử dụng. Ví dụ, có thể cho quần thể các tế bào T tiếp xúc với kháng thể kháng CD3 và kháng thể kháng CD28, trong các điều kiện thích hợp để kích thích sự tăng sinh các tế bào T. Để kích thích sự tăng sinh của tế bào T CD4 +hoặc các tế bào T CD8 +, kháng thể kháng CD3 và kháng thể kháng CD28. Các ví dụ về kháng thể kháng CD28 bao gồm 9.3, B-T3, XR-CD28 (Diaclone, Besancon, Pháp) có thể được sử dụng như các phương pháp thông thường khác đã biết trong lĩnh vực này (Berg et al., Transplant Proc.30(8):3975-3977, 1998; Haanen et al., J.Exp. Med.190(9):13191328, 1999; Garland et al., J.Immunol Meth.227(1-2):53-63, 1999).

Theo một số phương án, có thể đem lại tín hiệu kích thích sơ cấp và tín hiệu đồng kích thích cho tế bào T bằng các quy trình khác nhau. Ví dụ, các chất đem lại mỗi tín hiệu có thể nằm trong dung dịch hoặc được liên hợp với bề mặt. Khi được liên hợp với bề mặt, các chất này có thể được liên hợp với cùng một bề mặt (tức là ở dạng tạo thành "cis") hoặc với các bề mặt tách biệt (tức là, ở dạng tạo thành "trans"). Theo cách khác, một chất có thể được liên hợp với bề mặt và chất kia trong dung dịch. Theo một phương án, chất đem lại tín hiệu đồng kích thích được liên kết với bề mặt tế bào và chất đem lại tín hiệu hoạt hóa sơ cấp là trong dung dịch hoặc được liên hợp với bề mặt. Theo các phương án nhất định, cả hai chất này đều có thể ở trong dung dịch. Theo một phương án khác, các chất này có thể ở dạng tan được, và sau đó,được liên kết ngang với bề mặt, như tế bào biểu hiện các thụ thể Fc hoặc kháng thể hoặc các chất liên kết khác mà sẽ liên kết vào các chất này. Về vấn đề này, ví dụ, xem, Công bố Đơn yêu cầu cấp Patent Mỹ số 20040101519 và 20060034810 để biếtvề tế bào trình diện kháng nguyên nhân tạo (aAPC) được dự liệuđể sử dụng trong việc hoạt hóa và nhân rộng các tế bào T theo sáng chế này.

Theo một số phương án, các tế bào T, được kết hợp với hạt được phủ chất này, kế tiếp, các hạt và các tế bào này được tách ra, và sau đó, các tế bào được nuôi cấy. Theo một phương án thay thế, trước khi nuôi cấy, các hạt và tế bào được phủ chất này không được tách mà được nuôi cấy cùng với nhau. Theo một phương án nữa, các hạt và tế bào

đầu tiên được cô bằng cách áp dụng lực, như lực từ, dẫn đến kết quả làm tăng mức nối kết của các gen đánh dấu bề mặt tế bào, nhờ đó gây ra sự kích thích tế bào.

Lấy ví dụ, các protein bề mặt tế bào có thể được nối kết bằng cách cho phép các hạt thuận từ mà các kháng thể kháng CD3 và kháng CD28 được gắn kết vào đó (hạt 3 × 28) tiếp xúc với các tế bào T. Theo một phương án, các tế bào (ví dụ, 10^4đến 10^9 tế bào T) và các hạt (ví dụ, các hạt thuận từ T CD3/CD28 M-450 DYNABEADS® ở tỷ lệ 1:1) được kết hợp trong dung dịch đệm, tốt hơn là PBS (không có cation hóa trị hai, như canxi và magie). Lại nữa, chuyên gia có trình độ trung bình trong lĩnh vực này có thể dễ dàng biết về nồng độ tế bào bất kỳ có thể được sử dụng. Ví dụ, tế bào đích có thể là rất hiếm trong mẫu và chỉ chiếm 0,01% mẫu hoặc toàn bộ mẫu (ví dụ, 100%) có thể bao gồm các tế bào đích đang được quan tâm. Theo đó, số lượng tế bào bất kỳ là thuộc phạm vi ngữ cảnh của sáng chế này. Theo các phương án nhất định, có thể là thích hợp khi làm giảm một cách đáng kể thể tích trong đó hạt và tế bào được trộn lẫn với nhau (tức là làm tăng nồng độ của các tế bào) để đảm bảo mức tiếp xúc tối đa của các tế bào và hạt. Ví dụ, theo một phương án, nồng độ là khoảng 2 tỷ tế bào/ml được sử dụng. Theo một phương án khác, nồng độ là lớn hơn 100 triệu tế bào/ml được sử dụng. Theo một phương án nữa, nồng độ tế bào là 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, hoặc 50 triệu tế bào/ml được sử dụng. Theo một phương án khác nữa, nồng độ tế bào từ 75, 80, 85, 90, 95, hoặc 100 triệu tế bào/ml được sử dụng. Theo các phương án nữa, nồng độ tế bào là 125 hoặc 150 triệu tế bào/ml có thể được sử dụng. Việc sử dụng các nồng độ cao có thể làm tăng sản lượng tế bào, hoạt hóa tế bào, và sự nhân rộng tế bào. Hơn nữa, việc sử dụng nồng độ tế bào cao cho phép bắt một cách hiệu quả hơn các tế bào có thể biểu hiện rất yếu các kháng nguyên đích đang được quan tâm, như các tế bào T âm tính với CD28. Các quần thể tế bào như vậy có thể có giá trị trị liệu và thường là mong muốn thu được theo các phương án nhất định. Ví dụ, việc sử dụng nồng độ tế bào cao cho phép chọn lựa hiệu quả hơn các tế bào T CD8 + thường có mức biểu hiện CD28 yếu hơn.

Theo một số phương án, hỗn hợp này có thể được nuôi cấy trong vài giờ (khoảng 3 giờ) đến khoảng 14 ngày hoặc bất kỳ trị số giờ nào là số nguyên trong khoảng này. Theo một phương án khác, hỗn hợp này có thể được nuôi cấy trong 21 ngày. Theo một phương án của sáng chế, các hạt và tế bào T được nuôi cấy cùng với nhau trong khoảng tám ngày. Theo một phương án khác, các hạt và tế bào T được nuôi cấy cùng với nhau trong khoảng từ 2-3 ngày. Cũng có thể mong muốn một vài chu kỳ kích thích sao cho

thời gian nuôi cấy tế bào T có thể là 60 ngày hoặc lâu hơn nữa. Các điều kiện thích hợp để nuôi cấy tế bào T bao gồm môi trường thích hợp (ví dụ, Môi trường Thiết yếu Tối thiểu hoặc Môi trường RPMI 1640 hoặc, X-vivo 15, (Lonza)) mà có thể chứa các yếu tố cần thiết cho sự tăng sinh và khả năng sống, bao gồm huyết thanh (ví dụ, huyết thanh người hoặc bào thai bò), interleukin-2 (IL-2), insulin, IFN-γ, IL-4, IL-7, GM-CSF, IL-10, IL-12, IL-15, TGFβ và TNF-α hoặc các phụ gia bất kỳ khác dùng cho sự tăng trưởng của tế bào mà chuyên gia có trình độ trung bình trong lĩnh vực này đã biết. Các phụ gia khác dùng cho sự tăng trưởng của tế bào bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất hoạt động bề mặt, plasmanat và các chất khử như N-axetyl-xystein và 2-mercaptoetanol. Các môi trường có thể bao gồm RPMI 1640, AIM-V, DMEM, MEM, α-MEM, F-12, X-Vivo 15, và X-Vivo 20, Optimizer, có bổ sung các axit amin, natri pyruvat và các vitamin, không có huyết thanh hoặc được bổ sung lượng huyết thanh (hoặc huyết tương) thích hợp hoặc bộ hormon xác định, và/hoặc một lượng (các) xytokin đủ cho sự tăng trưởng và nhân rộng của tế bào T. Các kháng sinh, ví dụ, penicillin và streptomycin chỉ được lấy vào trong các môi trường nuôi cấy thử nghiệm chứ không phải trong các môi trường nuôi cấy tế bào mà sẽ được truyền vào đối tượng. Các tế bào đích được duy trì trong các điều kiện cần thiết để hỗ trợ sự tăng trưởng, ví dụ, nhiệt độ (ví dụ, 37°C) và khí quyển thích hợp (ví dụ, không khí cộng với CO_2 5%). Các tế bào T mà đã được phơi nhiễm với thời gian kích thích khác nhau có thể thể hiện đặc điểm khác nhau. Các sản phẩm tế bào máu đơn nhân máu thông thường và máu ngoại vi tách máu có quần thể tế bào T trợ giúp (TH, CD4 +) lớn hơn so với quần thể tế bào T gây độc tế bào hoặc ức chế (TC, CD8). Sự nhân rộng của tế bào T ex vivo bằng cách kích thích các thụ thể CD3 và CD28 tạo ra quần thể các tế bào T mà trước khoảng ngày 8-9 chủ yếu gồm các tế bào TH, trong khi sau khoảng ngày 8-9, quần thể tế bào T bao gồm quần thể ngày càng tăng của tế bào TC. Theo đó, tùy thuộc vào mục đích điều trị, việc truyền cho đối tượng bằng quần thể tế bào T chủ yếu bao gồm các tế bào TH có thể là thuận lợi. Tương tự, nếu phân nhóm đặc hiệu với kháng nguyên của các tế bào TC đã được phân lập, thì có thể là có lợi khinhân rộng phân nhóm này đến mức độ lớn hơn.

Hơn nữa, ngoài các gen đánh dấu CD4 và CD8 ra, các gen đánh dấu kiểu hình khác thay đổi một cách đáng kể, nhưng phần lớn, theo kiểu có thể tái lập được trong suốt quy trình nhân rộng tế bào. Do đó, khả năng tái lập như vậy giúp cho khả năng thiết kế được sản phẩm tế bào T được hoạt hóa cho các mục đích cụ thể.

V. Dược phẩm

Đơn sáng chế này còn đề xuất các dược phẩm bao gồm một kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể miền đơn (như các kháng thể sdAb kháng CD19, kháng CD20, kháng BCMA, hoặc kháng CD38), hoặc một tế bào bất kỳ trong số các tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ bao gồm một CAR bất kỳ trong số các CAR như được mô tả trong bản mô tả này, và chất mang dược dụng. Các dược phẩm có thể được bào chế bằng cách trộn kháng thể miền đơn, hoặc nhiều tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ có mức độ tinh khiết mong muốn với các chất mang, tá dược hoặc chất làm ổn định dược dụng tùy ý (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A.Ed.(1980)), dưới dạng chế phẩm đông khô hoặc dung dịch nước.

Các chất mang, các tá dược hoặc các chất làm ổn định chấp nhận được không độc ở các liều và nồng độ được sử dụng, bao gồm các dung dịch đệm, chất chống oxy hoá bao gồm cả axit ascorbic, metionin, vitamin E, natri metabisulfit; chất bảo quản, chất tạo đẳng trương, chất làm ổn định, các phức hợp kim loại (ví dụ, các phức hợp Zn-protein); các chất tạo chelat như EDTA và/hoặc các chất hoạt động bề mặt không ion.

Các dung dịch đệm được sử dụng để kiểm soát độ pH trong khoảng mà tối ưu hóa hiệu quả trị liệu, đặc biệt khi độ ổn định phụ thuộc vào độ pH. Tốt hơn, nếu các dung dịch đệmcó mặt ở các nồng độ khác nhau nằm trong khoảng từ khoảng 50 mM đến khoảng 250 mM. Các chất đệm thích hợp để sử dụng với sáng chế này bao gồm cả axit hữu cơ và axit vô cơ và các muối của chúng. Ví dụ, xitrat, phosphat, suxinat, tartrat, fumarat, gluconat, oxalat, lactat, axetat. Ngoài ra, các dung dịch đệm có thể bao gồm các muối histidin và trimetylamin như Tris.

Các chất bảo quản được thêm vào để làm chậm sự tăng trưởng của vi sinh vật, và thường có mặt trong khoảng từ 0,2%-1,0% (trọng lượng/thể tích). Các chất bảo quản thích hợp để sử dụng với sáng chế này bao gồm octadecyldimetylbenzyl amoni clorua; hexametoni clorua; benzalkoni halogenua (ví dụ, clorua, bromua, iodua), benzethoni clorua; thimerosal, phenol, rượu butyl hoặc benzyl; alkyl paraben như metyl hoặc propyl paraben; catechol; resorxinol; xyclohexanol, 3-pentanol, và m-cresol.

Các chất trương lực, đôi khi được gọi là "chất làm ổn định" có mặt để điều chỉnh hoặc duy trì trương lực của chất lỏng trong chế phẩm. Khi được sử dụng với các phân tử sinh học mang điện tích, lớn, như các protein và kháng thể, chúng thường được gọi là "chất làm ổn định" vì chúng có thể tương tác với các nhóm mang điện tích của chuỗi bên

axit amin, nhờ đó làm giảm tiềm năng của các tương tác nội phân tử và liên phân tử. Các chất trương lực có thể có mặt với lượng nằm khoảng từ 0,1% đến 25% theo trọng lượng, tốt hơn là 1 đến 5%, tính cả các lượng tương đối của các thành phần khác. Các chất trương lực được ưu tiên bao gồm các rượu đường polyhydric, tốt nhất là rượu đường ba axit hoặc cao hơn, như glyxerin, erythritol, arabitol, xylitol, sorbitol và mannitol.

Các tá dược bổ sung bao gồm các chất mà có thể dùng như một hoặc nhiều chất trong số các chất sau: (1) các chất độn, (2) chất tăng cường độ hòa tan, (3) chất làm ổn định và (4) và các chất ngăn ngừa biến tính hoặc bám dính vào thành vật chứa. Các tá dược như vậy bao gồm: các rượu đường polyhydric (được liệt kê ở trên); các axit amin như alanin, glyxin, glutamin, asparagin, histidin, arginin, lysin, ornitin, leuxin, 2-phenylalanin, axit glutamic, threonin, v.v.; các loại đường hữu cơ hoặc các loại rượu đường như sucroza, lactoza, lactitol, trehaloza, stachyoza, manoza, sorboza, xyloza, riboza, ribitol, myoinisitoza, myoinisitol, galactoza, galactitol, glyxerol, các xyclitol (ví dụ, inositol), polyetylen glycol; các chất khử chứa lưu huỳnh, như urê, glutathion, axit thioctic, natri thioglycolat, thioglyxerol, α-monothioglyxerol và natri thio sulfat; các protein phân tử lượng thấp như albumin huyết thanh người, albumin huyết thanh bò, gelatin hoặc các globulin miễn dịch khác; các polyme ưa nước như polyvinylpyrolidon; các monosacarit (ví dụ, xyloza, manoza, fructoza, glucoza; các disacarit (ví dụ, lactoza, maltoza, sucroza); các trisacarit như rafinoza; và các polysacarit như dextrin hoặc dextran.

Các chất hoạt động bề mặt không ion hoặc các chất tẩy rửa (còn được gọi là "các chất làm ướt") có mặt để trợ giúp hòa tan chất trị liệu cũng như để bảo vệ protein trị liệu chống lại sự kết tụ gây ra do khuấy trộn, cũng cho phép chế phẩm này được tác động bởi sức căng bề mặt biến dạng mà không gây ra sự biến tính của protein hoặc kháng thể trị liệu có hoạt tính. Các chất hoạt động bề mặt không ion có mặt trong khoảng từ khoảng 0,05 mg/ml đến khoảng 1,0 mg/ml, tốt hơn là khoảng 0,07 mg/ml đến khoảng 0,2 mg/ml.

Các chất hoạt động bề mặt không ion thích hợp bao gồm các polysorbat (20, 40, 60, 65, 80, v.v.), các polyoxame (184, 188, v.v.), Các polyol PLURONIC®, TRITON®, các polyoxyetylen sorbitan monoete (TWEEN®-20, TWEEN®-80, v.v.), lauromacrogol 400, polyoxyl 40 stearat, polyoxyetylen dầu thầu dầu được hydro hóa 10, 50 và 60, glyxerol monostearat, este của axit béo sucroza, metyl xenluloza và carboxymetyl xenluloza. Các chất tẩy rửa anion mà có thể được sử dụng bao gồm lauryl sulfat natri,

dioctyl natri sulfosuxinat và dioctyl natri sulfonat. Các chất tẩy rửa cation bao gồm benzalkoni clorua hoặc benzethoni clorua.

Để các dược phẩm sử dụng được cho phương thức dùng in vivo, các dược phẩmnày phải là vô trùng. Dược phẩm này có thể được làm cho vô trùng bằng cách lọc qua màng lọc vô trùng. Nhìn chung, các được phẩm trong bản mô tả này được đựng trong đồ chứa có lỗ nạp vô trùng, ví dụ, túi hoặc lọ dung dịch dùng qua đường tĩnh mạch có nắp mà kim tiêm dưới da có thể xuyên qua được.

Đường dùng thuốc là theo các phương pháp đã biết và được chấp nhận, ví dụ như bằng tiêm liều tĩnh mạch nhanh đơn lẻ hoặc nhiều lần hoặc truyền trong thời gian dài theo phương thức thích hợp, ví dụ,tiêm hoặc truyền bằng đường dưới da, trong tĩnh mạch, trong màng bụng, trong cơ, trong động mạch, trong thương tổn hoặc trong khớp, dùng khu trú, xông hít hoặc bằng các phương tiện giải phóng kéo dài hoặc giải phóng chậm.

Các chế phẩm giải phóng chậm có thể được bào chế. Các ví dụ thích hợp về chế phẩm giải phóng chậm bao gồm các cơ chất bán thấm của các polyme kỵ nước dạng rắn chứa chất đối kháng này, mà các cơ chất này là dưới dạng vật dụng được tạo hình, ví dụ, màng, hoặc viên vi nang. Các ví dụ về cơ chất giải phóng chậm bao gồm các polyeste, các hydrogel (ví dụ, poly(2-hydroxyetyl-metacrylat), hoặc poly(rượu vinyl)), các polylactit (Patent Mỹ số 3.773.919), các copolyme của axit L-glutamic và etyl-L-glutamat, etylen-vinyl axetat không phân hủy được, các copolyme axit glycolic-axit lactic có thể phân hủy được như LUPRON DEPOT™ (các vi cầu tiêm bao gồm copolyme axit glycolic-axit lactic và leuprolide axetat) và axit poly-D-(-)-3-hydroxybutyric.

Các dược phẩm được mô tả trong bản mô tả này cũng có thể chứa nhiều hơn một hợp chất hoặc chất có hoạt tính khi cần thiết cho chỉ dẫn cụ thể đang được điều trị, tốt hơn nếu những thành phần hoạt tính này có các hoạt tính bổ trợ mà không gây ảnh hưởng bất lợi cho nhau. Ngoài ra hoặc theo cách khác,chế phẩm này có thể bao gồm chất gây độc tế bào, chất hóa trị liệu, xytokin, chất ức chế miễn dịch, hoặc chất ức chế tăng trưởng. Các phân tử như vậy thì có mặt một cách phù hợp ở dạng kết hợp theo lượng mà hữu hiệu cho mục đích được dự định.

Các thành phần có hoạt tính cũng có thể được kìm giữ trong các viên vi nang được bào chế, ví dụ, bằng các kỹ thuật tụ giọt hoặc bằng phương pháp polyme hóa bề mặt, ví dụ, lần lượt đối với các viên vi nang hydroxymetylxenluloza hoặc gelatin và các viên vi nang poly-(metylmetacrylat), trong các hệ phân phối thuốc dạng keo (ví dụ, các hạt

liposom, các vi cầu albumin, thể vi nhũ tương, các hạt nano và các viên nang nano) hoặc trong thể nhũ tương thô. Các kỹ thuật như vậy được bộc lộ trong tài liệu: *Remington's Pharmaceutical Sciences* 18th edition.

VI. Các phương pháp điều trị bệnh ung thư.

Đơn sáng chế này còn đề cập đến các phương pháp và chế phẩm để sử dụng trong liệu pháp miễn dịch tế bào. Theo một số phương án, liệu pháp miễn dịch tế bào là để điều trị bệnh ung thư, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở các bệnh máu ác tính và các khối u rắn. Kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể miền đơn, các thụ thể kháng nguyên thể khảm, và các tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụngtrong phương pháp điều trị bệnh ung thư. Các CAR được mô tả trong bản mô tả này có thể hữu ích để điều trị các khối u có các đột biến trốn thoát do sự mất kháng nguyên và để giảm sự kháng lại các liệu pháp hiện có. Theo một số phương án, các phương pháp hoặc các chế phẩm được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụng để điều trị các bệnh khác mà gắn liền với kháng nguyên được nhận biết một cách đặc hiệu bởi các kháng thể miền đơn hoặc các CAR, bao gồm, ví dụ, các bệnh tự miễn.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư ở cá thể (như cá thể là người), bao gồm việc cho cá thể này dùng lượng hữu hiệu của dược phẩm bao gồm: (1) tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ (như tế bào T) bao gồm thụ thể kháng nguyên thể khảm (CAR) đa đặc hiệu (như song đặc hiệu) bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn (sdAb) thứ nhất liên kết đặc hiệu vào kháng nguyên thứ nhất (như kháng nguyên khối u thứ nhất) và kháng thể miền đơn (sdAb) thứ hai liên kết đặc hiệu vào kháng nguyên thứ hai (như kháng nguyên khối u thứ hai); (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó kháng nguyên thứ nhất khác kháng nguyên thứ hai; và (2) chất mang dược dụng. Theo một số phương án, kháng nguyên thứ nhất và/hoặc kháng nguyên thứ hai được chọn lựa từ nhóm gồm CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3, và F77 glycolipit.Theo một số phương án, sdAb thứ nhất và/hoặc sdAb thứ hai là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn thứ nhất và kháng thể miền đơn thứ hai được dung hợp với nhau thông qua liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không

nhiều hơn một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, miền xuyên màng được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR đa đặc hiệu còn bao gồm miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR đa đặc hiệu còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ nhất được tạo ra từ CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ hai được tạo ra từCD137 và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C:peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD28, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ là tế bào tự thân. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào dị sinh. Theo một số phương án, ung thư này là ung thư dạng lỏng, như bệnh đa u tủy, bệnh bạch cầu nguyên bào bạch huyết bào cấp tính, hoặc bệnh bạch cầu nguyên bào bạch huyết bào mạn tính. Theo một số phương án, ung thư này là ung thư dạng rắn.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư ở cá thể (như cá thể là người), bao gồm việc cho cá thể này dùnglượng hữu hiệu của dược

phẩm bao gồm: (1) tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ (như tế bào T) bao gồm CAR CD38 × BCMA bao gồmpolypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn kháng BCMA và kháng thể miền đơn kháng CD38; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào; và (2) chất mang dược dụng. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA và/hoặc sdAb kháng CD38 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA và kháng thể miền đơn kháng CD38 được dung hợp với nhau thông qua liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA được dung hợp ở đầu tận cùng N của sdAb kháng CD38. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA được dung hợp ở đầu tận cùng C của sdAb kháng CD38. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:144-151. Theo một số phương án, miền xuyên màng được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD38 × BCMA còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD38 × BCMA còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng BCMA bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:7, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:18, và CDR3 có trình tự axit

amin là SEQ ID NO:29. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD38 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:44, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:56, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:68. Theo một số phương án, CAR CD38 × BCMA bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm trình tự axit amin của các SEQ ID NO:207-216. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ là tế bào tự thân. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào dị sinh. Theo một số phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư dạng lỏng. Theo một số phương án, bệnh ung thư dạng lỏng này là u đa tủy.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư ở cá thể (như cá thể là người), bao gồm việc cho cá thể này dùng lượng hữu hiệu của dược phẩm bao gồm: (1) CAR CD20 × CD19 bao gồmpolypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn kháng CD19 và kháng thể miền đơn kháng CD20; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào; và (2) chất mang dược dụng. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 và/hoặc sdAb kháng CD20 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD20 và kháng thể miền đơn kháng CD20 được dung hợp với nhau thông qua liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 được dung hợp ở đầu tận cùng N của sdAb kháng CD20. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 được dung hợp ở đầu tận cùng C của sdAb kháng CD20. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:144-151. Theo một số phương án, miền xuyên màng được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD20 × CD19 còn bao gồm miền bản

lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD20 × CD19 còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD28, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn kháng CD19 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:1, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:2, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:3. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD20bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:4, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:5, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:6. Theo một số phương án, CAR CD20 × CD19 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:206. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý là tế bào tự thân. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý là tế bào dị sinh. Theo một số phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư dạng lỏng. Theo một số phương án, bệnh ung thư dạng lỏng này là bệnh u bạch huyết bào tế bào B.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư ở cá thể (như cá thể là người), bao gồm việc cho cá thể này dùng lượng hữu hiệu của dược phẩm bao gồm:(1) tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ (như tế bào T) bao gồm thụ thể kháng nguyên thể khảm đa hóa trị bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm nhiều kháng thể miền đơn (các sdAb) liên kết đặc hiệu vào kháng nguyên (như kháng nguyên khối u); (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào và (2) chất mang dược dụng. Theo một số phương án, kháng nguyên được chọn lựa từ nhóm gồm CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3, và F77 glycolipit. Theo một số phương án, nhiều kháng thể sdAb thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, nhiều kháng thể miền đơn được dung hợp với nhau thông qua các liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit này không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, miền xuyên màng được chọn lựa từ nhóm

gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR đa hóa trị còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR đa hóa trị còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR đa hóa trị bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:198-201, và 265-270. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ là tế bào tự thân. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào dị sinh. Theo một số phương án, bệnh ung thư này là ung thư dạng lỏng, như bệnh đa u tủy, bệnh bạch cầu nguyên bào bạch huyết bào cấp tính, hoặc bệnh bạch cầu nguyên bào bạch huyết bào mạn tính. Theo một số phương án, bệnh ung thư này là ung thư dạng rắn.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư ở cá thể (như cá thể là người), bao gồm việc cho cá thể này dùnglượng hữu hiệu của dược phẩm bao gồm: (1) tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ (như tế bào T) bao gồm thụ thể kháng nguyên thể khảm đa hóa trị bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn thứ nhất liên kết đặc hiệu vào epitop thứ nhất của kháng nguyên (như kháng nguyên khối u) và kháng thể miền đơn thứ hai liên kết đặc hiệu vào epitop thứ hai của kháng nguyên; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó epitop thứ nhất và epitop thứ hai là khác nhau; và (2) chất mang dược dụng. Theo một số phương án, kháng nguyên được chọn lựa từ nhóm gồm CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-

13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3, và F77 glycolipit. Theo một số phương án, sdAb thứ nhất và/hoặc sdAb thứ hai là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, kháng thể miền đơn thứ nhất và kháng thể miền đơn thứ hai được dung hợp với nhau thông qua liên kết peptit hoặc gốc liên kết peptit. Theo một số phương án, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 (như không nhiều hơn khoảng một trị số bất kỳ trong số 35, 25, 20, 15, 10, hoặc 5) axit amin. Theo một số phương án, miền xuyên màng được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR đa hóa trị còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ là tế bào tự thân. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ là tế bào dị sinh. Theo một số phương án, bệnh ung thư này là ung thư dạng lỏng, như bệnh đa u tủy, bệnh bạch cầu nguyên bào bạch huyết bào cấp tính, hoặc bệnh bạch cầu nguyên bào bạch huyết bào mạn tính. Theo một số phương án, bệnh ung thư này là ung thư dạng rắn.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư ở cá thể (như cá thể là người), bao gồm việc cho cá thể này dùnglượng hữu hiệu của dược phẩm bao gồm: (1) tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ (như tế bào T) bao gồm thụ thể kháng nguyên thể khảm CD19 bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng CD19; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó sdAb kháng CD19 bao gồm trình tự axit amin là

SEQ ID NO:1, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:2, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:3; và (2) chất mang dược dụng. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 bao gồm miền V_HH bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:76. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD19 còn bao gồm miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD19 còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ nhất được tạo ra từ CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ hai được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR CD19 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:248. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ là tế bào tự thân. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ là tế bào dị sinh. Theo một số phương án, bệnh ung thư này là ung thư dạng lỏng, như bệnh đa u tủy, bệnh bạch cầu nguyên bào bạch huyết bào cấp tính, hoặc bệnh bạch cầu nguyên bào bạch huyết bào mạn tính. Theo một số phương án, bệnh ung thư này là ung thư dạng rắn.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư ở cá thể (như cá thể là người), bao gồm việc cho cá thể này dùng lượng hữu hiệu của dược phẩm bao gồm: (1) tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ (như tế bào T) chứa CAR CD20 bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng CD20; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào, trong đó sdAb kháng CD20 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:4, CDR2 có trình tự axit

amin là SEQ ID NO:5, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:6; và (2) chất mang dược dụng. Theo một số phương án, sdAb kháng CD20 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, sdAb kháng CD20 còn bao gồm FR1 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:244, FR2 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:245, FR3 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:246, và/hoặc FR4 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:247. Theo một số phương án, sdAb kháng CD20 bao gồm miền V_HH chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO:77. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD20 còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD20 còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ nhất được tạo ra từ CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ hai được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR CD20 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:249. Theo một số phương án, CAR CD20 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:249. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ là tế bào tự thân. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ là tế bào dị sinh. Theo một số phương án, bệnh ung thư này là ung thư dạng lỏng, như bệnh đa u tủy, bệnh bạch cầu nguyên bào bạch huyết bào cấp tính, hoặc bệnh bạch cầu nguyên bào bạch huyết bào mạn tính. Theo một số phương án, bệnh ung thư này là ung thư dạng rắn.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư ở cá thể (như cá thể là người), bao gồm việc cho cá thể này dùnglượng hữu hiệu của dược

phẩm bao gồm: (1) tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ (như tế bào T) bao gồm CAR BCMA bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng BCMA; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào; và (2) chất mang dược dụng, trong đó sdAb kháng BCMA chứa một vùng bất kỳ trong số các vùng sau đây:

(23) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 7; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 18; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 29;

(24) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 8; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 19; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 30;

(25) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 9; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 20; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 31;

(26) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 10; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 21; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 32;

(27) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 11; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 22; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 33;

(28) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 12; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 23; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 34;

(29) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 13; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 24; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 35;

(30) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 14; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 25; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 36;

(31) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 15; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 26; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 37;

(32) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 16; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 27; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 38; hoặc

(33) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 17; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 28; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 39.

Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA chứa miền V_HH có trình tự axit amin từ nhóm gồm SEQ ID NO: 78-88. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án,

miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR BCMA còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR BCMA còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ nhất được tạo ra từ CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ hai được tạo ra từ CD137 và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR BCMA bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:152-162. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào tự thân. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào dị sinh. Theo một số phương án, bệnh ung thư này là ung thư dạng lỏng, như bệnh đa u tủy, bệnh bạch cầu nguyên bào bạch huyết bào cấp tính, hoặc bệnh bạch cầu nguyên bào bạch huyết bào mạn tính. Theo một số phương án, bệnh ung thư này là ung thư dạng rắn.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư ở cá thể (như cá thể là người), bao gồm việc cho cá thể này dùnglượng hữu hiệu của dược phẩm bao gồm: (1) tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ (như tế bào T) chứa CAR CD38 bao gồm polypeptit bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng CD38; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào và (2) chất mang dược dụng, trong đó sdAb kháng BCMA chứa một vùng bất kỳ trong số các vùng sau đây:

(25) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 40; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 52; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 64;

(26) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 41; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 53; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 65;

(27) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 42; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 54; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 66;

(28) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 43; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 55; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 67;

(29) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 44; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 56; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 68;

(30) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 45; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 57; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 69;

(31) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 46; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 58; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 70;

(32) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 47; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 59; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 71;

(33) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 48; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 60; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 72;

(34) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 49; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 61; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 73;

(35) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 50; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 62; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 74; hoặc

(36) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 51; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 63; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 75.

Theo một số phương án, sdAb kháng CD38 là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa. Theo một số phương án, sdAb kháng CD38 chứa miền là V_HH có trình tự axit amin từ nhóm gồm SEQ ID NO: 89-100. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch (như tế bào T). Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích. Theo một số phương án, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích

thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, CAR CD38 còn bao gồm một miền bản lề (như miền bản lề CD8α) nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng. Theo một số phương án, CAR CD38 còn bao gồm peptit tín hiệu (như peptit tín hiệu CD8α) nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ nhất được tạo ra từ CD28, miền truyền tín hiệu đồng kích thích thứ hai được tạo ra từ CD137 và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, polypeptit bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, miền liên kết kháng nguyên ngoại bào, miền bàn lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ CD137, và miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ. Theo một số phương án, CAR CD38 bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO:163-174. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào tự thân. Theo một số phương án, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào dị sinh. Theo một số phương án, bệnh ung thư này là ung thư dạng lỏng, như bệnh đa u tủy, bệnh bạch cầu nguyên bào bạch huyết bào cấp tính, hoặc bệnh bạch cầu nguyên bào bạch huyết bào mạn tính. Theo một số phương án, bệnh ung thư này là ung thư dạng rắn.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh (như bệnh ung thư) ở cá thể (như cá thể là người), bao gồm việc cho cá thể này dùng lượng hữu hiệu của dược phẩm bao gồm kháng thể miền đơn kháng CD19 và chất mang dược dụng, trong đó kháng thể miền đơn kháng CD19 bao gồm ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:1; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:2; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:3. Theo một số phương án, sdAb kháng CD19 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:76.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh (như bệnh ung thư) ở cá thể (như cá thể là người), bao gồm việc cho cá thể này dùng lượng hữu hiệu của dược phẩm bao gồm kháng thể miền đơn kháng CD19 và chất mang dược dụng, trong đó kháng thể miền đơn kháng CD20 bao gồm ba CDR bao gồm: (a) CDR1 có trình

tự axit amin là SEQ ID NO:4; (b) CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:5; và (c) CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:6. Theo một số phương án, sdAb kháng CD20 bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO:77.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh (như bệnh ung thư) ở cá thể (như cá thể là người), bao gồm việc cho cá thể này dùng lượng hữu hiệu của dược phẩm bao gồm kháng thể miền đơn kháng BCMA và chất mang dược dụng, trong đó sdAb kháng BCMA chứa một vùng bất kỳ trong số các vùng sau đây:

(1) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 7; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 18; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 29;

(2) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 8; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 19; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 30;

(3) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 9; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 20; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 31;

(4) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 10; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 21; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 32;

(5) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 11; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 22; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 33;

(6) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 12; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 23; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 34;

(7) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 13; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 24; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 35;

(8) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 14; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 25; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 36;

(9) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 15; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 26; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 37;

(10) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 16; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 27; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 38; hoặc

(11) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 17; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 28; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 39.

Theo một số phương án, sdAb kháng BCMA có trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm trình tự axit amin của các SEQ ID NO:78-88.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh (như bệnh ung thư) ở cá thể (như cá thể là người), bao gồm việc cho cá thể này dùng lượng hữu hiệu của dược phẩm bao gồm kháng thể miền đơn kháng CD38 và chất mang dược dụng, trong đó sdAb kháng CD38 chứa một vùng bất kỳ trong số các vùng sau đây: CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 40; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 52; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 64;

(1) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 41; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 53; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 65;

(2) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 42; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 54; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 66;

(3) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 43; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 55; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 67;

(4) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 44; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 56; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 68;

(5) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 45; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 57; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 69;

(6) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 46; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 58; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 70;

(7) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 47; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 59; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 71;

(8) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 48; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 60; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 72;

(9) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 49; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 61; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 73;

(10) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 50; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 62; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 74; hoặc

(11) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 51; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 63; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 75.

Theo một số phương án, sdAb kháng CD38 bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:89-100.

Các phương pháp được mô tả trong bản mô tả này là thích hợp để điều trị các bệnh ung thư khác nhau, bao gồm cả ung thư dạng rắn và ung thư dạng lỏng. Các phương pháp

này là có thể áp dụng được cho các bệnh ung thư ở tất cả các giai đoạn, bao gồm bệnh ung thư giai đoạn sớm, bệnh ung thư giai đoạn tiến triển nặng và bệnh ung thư di căn. Các phương pháp được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụng làm liệu pháp thứ nhất, liệu pháp thứ hai, liệu pháp thứ ba, hoặc liệu pháp kết hợp với các loại liệu pháp ung thư khác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, nhưhóa trị liệu, phẫu thuật, xạ trị, liệu pháp gen, liệu pháp miễn dịch, ghép tủy xương, ghép tế bào gốc, liệu pháp hướng đích, liệu pháp áp lạnh, liệu pháp siêu âm, liệu pháp quang động lực, phá bằng sóng cao tần hoặc các liệu pháp tương tự, trong hoàn cảnh phụ trợ hoặc hoàn cảnh phụ trợ trước.

Việc cho dùng các dược phẩm có thể được thực hiện theo phương thức thuận tiện bất kỳ, bao gồm tiêm, ăn vào, truyền, cấy hoặc ghép. Có thể cho bệnh nhân dùng các chế phẩm này theo kiểu qua động mạch, dưới da, trong da, vào khối u, vào hạch, vào tủy, vào cơ, vào tĩnh mạch, hoặc vào màng bụng. Theo một số phương án, dược phẩm này được cho dùng toàn thân. Theo một số phương án, cho cá thể dùng dược phẩm này bằng cách truyền, như truyền tĩnh mạch. Các kỹ thuật truyền dùng cho liệu pháp miễn dịch thì đã biết trong lĩnh vực này (ví dụ, xemtài liệu: Rosenberg *et al.*, New Eng.J. of Med.319:1676 (1988)). Theo một số phương án, cho cá thể dùng dược phẩm này bằng cách tiêm trong da hoặc dưới da. Theo một số phương án, cho dùng các chế phẩm này bằng cách tiêm vào tĩnh mạch. Theo một số phương án, các chế phẩm này được tiêm trực tiếp vào khối u, hoặc hạch bạch huyết. Theo một số phương án, cho dùng dược phẩm này theo kiểu khu trú vào vị trí khối u, như trực tiếp vào trong tế bào khối u, hoặc vào mô có các tế bào khối u.

Đa u tủy (MM) là bệnh ác tính huyết tương lan nhanh không thể chữa khỏi được, được phân loại là u tân sinh tế bào B và tăng sinh theo cách thức không thể kiểm soát được trong tủy xương, cản trở việc sản xuất chuyển hóa bình thường các tế bào máu và gây ra các tổn thương xương đau đớn (Garfall, AL < (Garfall, A.L. *et al., Discovery Med.*2014, 17, 37). Đa u tủy có thể biểu hiện lâm sàng với chứng tăng canxi huyết, suy thận, thiếu máu, tổn thương xương, nhiễm khuẩn, tăng độ nhớt máu, và thoái hóa dạng bột (*Robert Z. Orlowski, Cancer Cell.*2013, 24(3)). Theo kết quả điều tra và thống kê, mỗi năm, gần 86.000 bệnh nhân được chẩn đoán mắc bệnh u tủy, và trong khi khoảng 63.000 bệnh nhân tử vong hằng năm do các biến chứng liên quan đến bệnh này (Becker, 2011). Bởi vì dân số già đi, nên số ca bệnh u tuỷ được dự đoán là tăng lên theo từng năm. Giống như nhiều loại ung thư, vẫn chưa biết nguyên nhân gây ra chứng đa u tủy và không

chữa khỏi được. Một số phương pháp điều trị đa u tủy là tương tự với các phương pháp điều trị các loại bệnh ung thư khác, như hóa trị liệu hoặc xạ trị, ghép tế bào gốc hoặc ghép tủy xương, liệu pháp hướng đích hoặc liệu pháp sinh học (George, 2014). Các liệu pháp miễn dịch tế bào trên cơ sở kháng thể đã cho thấy lợi ích lâm sàng đáng kể cho các bệnh nhân bị các bệnh huyết học ác tính, đặc biệt là u bạch huyết bào không phải dạng Hodgkin tế bào B. Vẫn có nhu cầu về tác nhân trị liệu miễn dịch hữu hiệu để điều trị bệnh đa u tủy.

Các liều và nồng độ thuốc mong muốn của các dược phẩm theo sáng chế có thể thay đổi, tùy thuộc vào việc sử dụng cụ thể được dự liệu. Việc xác định liều hoặc đường dùng thuốc thích hợp thì thuộc phạm vi kiến thức của chuyên gia có trình độ trung bình trong lĩnh vực này. Các thử nghiệm trên động vật đem lại hướng dẫn đáng tin cậy cho việc xác định liều hữu hiệu cho liệu pháp dùng cho người. Việc xác định liều lượng hữu hiệu giữa các loàicó thể được thực hiện theo các nguyên tắc được quy định bởi Mordenti, J. and Chappell, W. "The Use of Interspecies Scaling in Toxicokinetics",Trong*Toxicokinetics and New Drug Development*, Yacobi *et al.*, Eds, Pergamon Press, New York 1989, pp.42-46. Việc các dạng chế phẩm khác nhau sẽ hữu hiệu đối với các phương pháp điều trị khác nhau và các rối loạn khác nhau, và phương thức dùng thuốc được dự định để điều trị cơ quan hoặc mô cụ thể có thể cần đến việc phân phối theo phương thức khác với phương thức tới một cơ quan hoặc mô khác cũng thuộc phạm vi của đơn sáng chế này.

Theo một số phương án, trong đó dược phẩm này bao gồm kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể miền đơn được mô tả trong bản mô tả này, dược phẩm này được cho dùng ở liều lượng nằm trong khoảng từ khoảng 10 ng/kg lên đến khoảng 100 mg/kg thể trọng của cá thể hoặc nhiều hơn nữa cho mỗi ngày, ví dụ, vào khoảng 1 mg/kg/ngày đến 10 mg/kg/ngày, tùy thuộc vào đường dùng thuốc. Các hướng dẫn về liều lượng và phương pháp phân phối cụ thể được đề xuất trong tài liệu chuyên ngành; ví dụ, xem Patent Mỹ số 4.657.760; 5.206.344; hoặc 5.225.212.

Theo một số phương án, trong đó dược phẩm này bao gồm một tế bào bất kỳ trong số các tế bào miễn dịch được xử lý công nghệ được mô tả trong bản mô tả này, dược phẩm này được cho dùng ở liều lượng là ít nhất khoảng một trị số bất kỳ trong số 10^4, 10^5, 10^6, 10^7, 10^8, hoặc 10^9 tế bào/kg thể trọng của cá thể. Theo một số phương án, dược phẩm này được cho dùng ở liều lượng là trị số bất kỳ trong số khoảng 10^4 đến khoảng

10^5, khoảng 10^5 đến khoảng 10^6, khoảng 10^6 đến khoảng 10^7, khoảng 10^7 đến khoảng10^8, khoảng 10^8 đến khoảng 10^9, khoảng 10^4 đến khoảng 10^9, khoảng 10^4 đến khoảng 10^6, khoảng 10^6 đến khoảng 10^8, hoặc khoảng 10^5 đến khoảng 10^7tế bào/kg thể trọng của cá thể.

Theo một số phương án, dược phẩm này được cho dùng trong một lần đơn lẻ. Theo một số phương án, dược phẩm này được cho dùng trong nhiều lần (như trị số bất kỳ trong số 2, 3, 4, 5, 6, hoặc nhiều lần hơn nữa). Theo một số phương án, dược phẩm này được cho dùng mỗi tuần một lần, 2 tuần một lần, 3 tuần một lần, 4 tuần một lần, mỗi tháng một lần, 2 tháng một lần, 3 tháng một lần, 4 tháng một lần, 5 tháng một lần, 6 tháng một lần, 7 tháng một lần, 8 tháng một lần, 9 tháng một lần, hoặc mỗi năm một lần. Theo một số phương án, khoảng thời gian gián cách giữa các lần cho dùng là khoảng một trị số bất kỳ trong số từ 1 tuần đến 2 tuần, 2 tuần đến 1 tháng, 2 tuần đến 2 tháng, 1 tháng đến 2 tháng, 1 tháng đến 3 tháng, 3 tháng đến 6 tháng, hoặc 6 tháng đến một năm. Chế độ điều trị và liều lượng tối ưu cho một bệnh nhân cụ thể có thể dễ dàng được chuyên gia có trình độ trung bình trong lĩnh vực y khoa xác định bằng cách theo dõi bệnh nhân về các dấu hiệu của bệnh và theo đó điều chỉnh việc điều trị.

Hơn nữa, có thể cho dùng các liều lượng bằng một hoặc nhiều lần cho dùng tách biệt, hoặc bằng cách tiêm truyền liên tục. Đối với phương thức dùng lặp lại trong khoảng một vài ngày hoặc lâu hơn, tùy thuộc vào tình trạng, việc điều trị được duy trì cho đến khi hiện tượng ức chế mong muốn các triệu chứng bệnh xảy ra. Tuy nhiên, các chế độ liều lượng khác cũng có thể là hữu ích. Sự tiến triển của liệu pháp này được theo dõi một cách dễ dàng bằng các kỹ thuật và các thử nghiệm thông thường.

VII. Các bộ kit và vật dụng do sản xuất

Sáng chế còn đề xuất các bộ kit, các liều đơn vị, và các vật dụng do sản xuất bao gồm kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể miễn đơn, các thụ thể kháng nguyên thể khảm, hoặc các tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, bộ kit được đề xuất chứa dược phẩm bất kỳ trong số các dược phẩm được mô tả trong bản mô tả này và tốt hơn là có các hướng dẫn về cách sử dụng nó.

Các bộ kit theo đơn sáng chế này nằm trong bao gói thích hợp. Bao gói thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở lọ nhỏ, chai, bình, bao gói mềm dẻo (ví dụ, túi nhựa hoặc Mylar được bịt kín) và các dạng tương tự. Các bộ kit tùy ý có thể cung cấp các

thành phần bổ sung như các dung dịch đệm hoặc các thông tin giải thích. Vì vậy, đơn sáng chế này cũng đề xuất các vật dụng do sản xuất, bao gồm các lọ nhỏ (như lọ được bịt kín), chai, bình, bao gói mềm dẻo, và các vật tương tự.

Vật dụng do sản xuất này có thể bao gồm vật chứa và nhãn hoặc tờ hướng dẫn sử dụng trên hoặc đi kèm vật chứa đó. Các vật chứa thích hợp bao gồm, ví dụ, chai, lọ, bơm tiêm, v.v.. Các vật chứa có thể được tạo ra từ nhiều loại vật liệu khác nhau như thủy tinh hoặc nhựa. Nhìn chung, vật chứa chứa đựng chế phẩm mà hữu hiệu cho việc điều trị bệnh hoặc rối loạn (như ung thư) được mô tả trong bản mô tả này và có thể có cổng tiếp cận vô trùng (ví dụ, vật chứa có thể là túi chứa dung dịch tiêm tĩnh mạch hoặc lọ nhỏ có một nút chặn có thể đâm xuyên được bằng kim tiêm dưới da). Nhãn hoặc tờ hướng dẫn sử dụng thể hiện rằng chế phẩm này được sử dụng cho việc điều trị tình trạng cụ thể ở cá thể. Nhãn hoặc tờ hướng dẫn sử dụng còn bao gồm các hướng dẫn về việc cho cá thể dùng chế phẩm này. Nhãn có thể biểu đạt các hướng dẫn về việc hoàn nguyên và/hoặc sử dụng. Vật chứa chứa đựng dược phẩm này có thể là lọ nhỏ đa dụng, cho phép các lần dùng lặp lại (ví dụ, từ 2-6 lần dùng) chế phẩm được hoàn nguyên. "Tờ hướng dẫn sử dụng" chỉ các hướng dẫn thường nằm trong các gói thương mại của sản phẩm trị liệu, mà chứa thông tin về các chỉ dẫn, công dụng, liều lượng, cách dùng, các chống chỉ định và/hoặc các cảnh báo liên quan đến cách sử dụng các sản phẩm trị liệu như vậy. Ngoài ra, vật dụng do sản xuất còn có thể bao gồm vật chứa thứ hai chứa dung dịch đệm dược dụng, như nước kìm hãm vi khuẩn dùng để tiêm (bacteriostatic water for injection-BWFI), dung dịch muối được đệm phosphat, dung dịch Ringer và dung dịch dextroza. Vật dụng do sản xuất còn có thể bao gồm các vật liệu khác thích hợp theo quan điểm thương mại và người sử dụng, bao gồm cả các dung dịch đệm khác, chất pha loãng, bộ lọc, kim tiêm và bơm tiêm.

Bộ kit hoặc vật dụng do sản xuất có thể bao gồm nhiều liều đơn vị của dược phẩm và các hướng dẫn về cách sử dụng, được bao gói với các lượng đủ để lưu giữ và sử dụng trong các hiệu thuốc, ví dụ, các hiệu thuốc bệnh viện và nhà thuốc pha chế.

Các ví dụ và các phương án làm ví dụ dưới đây được dự định chỉ đơn thuần là làm ví dụ cho sáng chế và do đó không được coi là làm giới hạn sáng chế theo bất kỳ hình thức nào. Các ví dụ và mô tả chi tiết sau đây được đưa ra nhằm mục đích minh họa và không nhằm giới hạn phạm vi của sáng chế.

CÁC PHƯƠNG ÁN LÀM VÍ DỤ

Phương án 1. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm (CAR) bao gồm polypeptit chứa (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn (sdAb) thứ nhất liên kết đặc hiệu vào kháng nguyên thứ nhất và kháng thể miền đơn (sdAb) thứ hai liên kết đặc hiệu vào kháng nguyên thứ hai; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào.

Phương án 2. Theo một số phương án khác của phương án 1, kháng nguyên thứ nhất khác kháng nguyên thứ hai.

Phương án 3. Theo một số phương án khác của phương án 2, CAR là đa đặc hiệu.

Phương án 4. Theo một số phương án khác của phương án 3, CAR là song đặc hiệu.

Phương án 5. Theo một số phương án khác của phương án bất kỳ trong số các phương án 1-4, sdAb thứ nhất nằm ở đầu tận cùng N của sdAb thứ hai.

Phương án 6. Theo một số phương án khác của phương án bất kỳ trong số các phương án 1-4, sdAb thứ nhất nằm ở đầu tận cùng C của sdAb thứ hai.

Phương án 7. Theo một số phương án khác của phương án bất kỳ trong số các phương án 1-6, kháng nguyên thứ nhất và kháng nguyên thứ hai được chọn lựa từ nhóm gồm CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3, và F77 glycolipit.

Phương án 8. Theo một số phương án khác của phương án 7, sdAb thứ nhất là sdAb kháng BCMA.

Phương án 9. Theo một số phương án khác của phương án 7, sdAb thứ nhất là sdAb kháng CD38.

Phương án 10. Theo một số phương án khác của phương án 7, sdAb thứ nhất là sdAb kháng CD19.

Phương án 11. Theo một số phương án khác của phương án 7, sdAb thứ nhất là sdAb kháng CD20.

Phương án 12. Theo một số phương án khác của phương án 7, sdAb thứ nhất là sdAb kháng CD22.

Phương án 13. Theo một số phương án khác của phương án 8, CAR chứa miền liên kết kháng nguyên ngoại bào có ít nhất hai bản sao của sdAb kháng BCMA.

Phương án 14. Theo một số phương án khác của phương án 9, CAR chứa miền liên kết kháng nguyên ngoại bào có ít nhất hai bản sao của sdAb kháng CD38.

Phương án 15. Theo một số phương án khác của phương án 8 hoặc phương án 9, sdAb thứ nhất là sdAb kháng BCMA, và sdAb thứ hai là sdAb kháng CD38.

Phương án 16. Theo một số phương án khác của phương án 8 hoặc phương án 10, sdAb thứ nhất là sdAb kháng BCMA, và sdAb thứ hai là sdAb kháng CD19.

Phương án 17. Theo một số phương án khác của phương án 10 hoặc phương án 11, sdAb thứ nhất là sdAb kháng CD19, và sdAb thứ hai là sdAb kháng CD20.

Phương án 18. Theo một số phương án khác của phương án 10 hoặc phương án 12, sdAb thứ nhất là sdAb kháng CD19, và sdAb thứ hai là sdAb kháng CD22.

Phương án 19. Theo một số phương án khác của phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1-14, kháng nguyên thứ nhất giống kháng nguyên thứ hai.

Phương án 20. Theo một số phương án khác của phương án 19, CAR là hóa trị hai hoặc hóa trị ba.

Phương án 21. Theo một số phương án khác của phương án 19 hoặc phương án 20, sdAb thứ nhất và sdAb thứ hai liên kết đặc hiệu vào cùng một epitop.

Phương án 22. Theo một số phương án khác của phương án 21, sdAb thứ nhất giống sdAb thứ hai.

Phương án 23. Theo một số phương án khác của phương án 19 hoặc phương án 20, sdAb thứ nhất và sdAb thứ hai liên kết đặc hiệu vào các epitop khác nhau.

Phương án 24. Theo một số phương án khác của phương án bất kỳ trong số các phương án 8, 13, 15, 16, và 19-23, kháng thể kháng BCMA chứa một vùng bất kỳ trong số các vùng sau đây:

(1) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 7; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 18; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 29;

(2) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 8; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 19; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 30;

(3) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 9; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 20; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 31;

(4) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 10; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 21; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 32;

(5) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 11; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 22; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 33;

(6) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 12; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 23; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 34;

(7) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 13; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 24; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 35;

(8) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 14; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 25; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 36;

(9) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 15; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 26; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 37;

(10) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 16; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 27; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 38; hoặc

(11) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 17; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 28; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 39.

Phương án 25. Theo một số phương án khác của phương án 24, sdAb kháng BCMA chứa miền V_HH có trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các trình tự axit amin là SEQ ID NO: 78-88.

Phương án 26. Theo một số phương án khác của phương án bất kỳ trong số các phương án 9, 14, 15, và 19-23, sdAb kháng CD38 chứa một vùng bất kỳ trong số các vùng sau đây:

(1) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 40; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 52; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 64;

(2) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 41; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 53; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 65;

(3) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 42; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 54; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 66;

(4) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 43; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 55; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 67;

(5) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 44; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 56; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 68;

(6) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 45; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 57; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 69;

(7) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 46; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 58; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 70;

(8) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 47; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 59; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 71;

(9) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 48; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 60; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 72;

(10) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 49; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 61; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 73;

(11) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 50; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 62; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 74; hoặc

(12) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 51; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 63; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 75.

Phương án 27. Theo một số phương án khác của phương án 26, sdAb kháng CD38 chứa miền V_HH có trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO: 89-100.

Phương án 28. Theo một số phương án khác của phương án bất kỳ trong số các phương án 10, 16-23, sdAb kháng CD19 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:1; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:2; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO:3.

Phương án 29. Theo một số phương án khác của phương án 28, sdAb kháng CD19 bao gồm miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:76.

Phương án 30. Theo một số phương án khác của phương án bất kỳ trong số các phương án 11, 17 và 19-23, sdAb kháng CD20 chứa CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 4; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 5; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 6.

Phương án 31. Theo một số phương án khác của phương án 30, sdAb kháng CD20 bao gồm miền V_HH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:77.

Phương án 32. Theo một số phương án khác của phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1-31, sdAb thứ nhất và/hoặc sdAb thứ hai là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa.

Phươngán 33. Theo một số phương án khác của phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1-32, sdAb thứ nhất và sdAb thứ hai được dung hợp trực tiếp với nhau thông qua một liên kết peptit.

Phương án 34. Theo một số phương án khác của phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1-32, sdAb thứ nhất và sdAb thứ hai được dung hợp với nhau thông qua một gốc liên kết peptit.

Phương án 35. Theo một số phương án khác của phương án 34, gốc liên kết peptit là dài không nhiều hơn khoảng 50 axit amin.

Phương án 36. Theo một số phương án khác của phương án 35, gốc liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn lựa từ các SEQ ID NO:144-151.

Phương án 37. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn (sdAb) kháng CD19 chứa CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 1, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 2, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 3.

Phương án 38. Theo một số phương án khác của phương án 37, sdAb kháng CD19 bao gồm miền VHH có trình tự axit amin là SEQ ID NO:76.

Phương án 39. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng CD19 theo phương án 37 hoặc phương án 38; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào.

Phương án 40. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn (sdAb) kháng CD20chứa CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 4, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 5, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 6.

Phương án 41. Theo một số phương án khác của phương án 40, sdAb kháng CD20 bao gồm miền VHH chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO:77.

Phương án 42. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng CD20 theo phương án 40 hoặc phương án 41; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào.

Phương án 43. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn (sdAb) kháng BCMA chứa một vùng bất kỳ trong số các vùng sau đây:

(1) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 7; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 18; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 29;

(2) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 8; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 19; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 30;

(3) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 9; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 20; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 31;

(4) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 10; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 21; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 32;

(5) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 11; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 22; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 33;

(6) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 12; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 23; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 34;

(7) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 13; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 24; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 35;

(8) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 14; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 25; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 36;

(9) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 15; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 26; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 37;

(10) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 16; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 27; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 38; hoặc

(11) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 17; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 28; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 39.

Phương án 44. Theo một số phương án khác của phương án 43, sdAb kháng BCMA chứa miền V_HH có trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm SEQ ID NO: 78-88.

Phương án 45. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng BCMA theo phương án 43 hoặc phương án 44; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào.

Phương án 46. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn (sdAb) kháng CD38 bao gồm CDR chứa một vùng bất kỳ trong số các vùng sau đây:

(1) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 40; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 52; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 64;

(2) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 41; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 53; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 65;

(3) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 42; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 54; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 66;

(4) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 43; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 55; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 67;

(5) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 44; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 56; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 68;

(6) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 45; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 57; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 69;

(7) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 46; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 58; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 70;

(8) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 47; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 59; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 71;

(9) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 48; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 60; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 72;

(10) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 49; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 61; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 73;

(11) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 50; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 62; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 74; hoặc

(12) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 51; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 63; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 75.

Phương án 47. Theo một số phương án khác của phương án 46, sdAb kháng BCMA chứa miền V_HH có trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO: 89-100.

Phương án 48. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm bao gồm: (a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm sdAb kháng CD38 theo phương án 46 hoặc phương án 47; (b) miền xuyên màng; và (c) miền truyền tín hiệu nội bào.

Phương án 49. Theo một số phương án khác của một phương án bất kỳ trong số các phương án 1-36, 39, 42, 45 và 48, trong đó miền xuyên màng được tạo ra từ một phân

tử được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1.

Phương án 50. Theo một số phương án khác của phương án 49, miền xuyên màng được tạo ra từ CD8 hoặc CD28.

Phương án 51. Theo một số phương án khác của phương án 50, miền bản lề có trình tự axit amin là SEQ ID NO:132 hoặc SEQ ID NO:133.

Phương án 52. Theo một số phương án khác của một phương án bất kỳ trong số các phương án 1-36, 39, 42, 45 và 48-51, trong đó miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch.

Phương án 53. Theo một số phương án khác của phương án 52, miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ.

Phương án 54. Theo một số phương án khác của phương án 53, miền truyền tín hiệu nội bào có trình tự axit amin là SEQ ID NO:140 hoặc SEQ ID NO:141.

Phương án 55. Theo một số phương án khác của một phương án bất kỳ trong số các phương án 1-36, 39, 42, 45 và 48-54, trong đó miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu đồng kích thích.

Phương án 56. Theo một số phương án khác của phương án55, miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng.

Phương án 57. Theo một số phương án khác của phương án 56, miền truyền tín hiệu đồng kích thích bao gồm miền tế bào chất của CD28 và/hoặc miền tế bào chất của CD137.

Phương án 58. Theo một số phương án khác của phương án 57, miền truyền tín hiệu đồng kích thích có trình tự axit amin là SEQ ID NO:136 và/hoặc SEQ ID NO:137.

Phương án 59. Theo một số phương án khác của một phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1-36, 39, 42, 45 và 48-58, CAR còn bao gồm một vùng bản lề nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng.

Phương án 60. Theo một số phương án khác của phương án 59, miền bản lề được tạo ra từ CD8α.

Phương án 61. Theo một số phương án khác của phương án 60, miền bản lề có trình tự axit amin là SEQ ID NO:130.

Phương án 62. Theo một số phương án khác của phương án bất kỳ trong số các phương án 1-36, 39, 42, 45, và 48-61, CAR còn bao gồm peptit tín hiệu nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit.

Phương án 63. Theo một số phương án khác của phương án 62, peptit tín hiệu được tạo ra từ một phân tử được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, thụ thể GM-CSF α, và chuỗi nặng IgG1.

Phương án 64. Theo một số phương án khác của phương án 63, peptit tín hiệu được tạo ra từ CD8α.

Phương án 65. Theo một số phương án khác của phương án 64, peptit tín hiệu có trình tự axit amin là SEQ ID NO:127.

Phương án 66. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thụ thể kháng nguyên thể khảm có trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:152-174, 198-201, 206-216, 248-249, 257-260 và 265-270.

Phương án 67. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất polypeptit có trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:76-100, 152-174, 198-201, 206-216, 248-249, 257-260 và 265-270.

Phương án 68. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic đã được phân lập có trình tự axit nucleic mã hóa CAR theo một phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1-36, 39, 42, 45, và 48-66.

Phương án 69. Theo một số phương án khác của phương án 68, trình tự axit nucleic được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:175-197, 202-205, 217-227, 250-251, 261-264 và 271-276.

Phương án 7. Theo một số phương án khác của phương án 68 hoặc phương án 69, axit nucleic đã được phân lập còn có trình tự axit nucleic thứ hai mã hoá CAR thứ hai, trong đó trình tự axit nucleic mã hoá CAR được liên kết theo kiểu hoạt động được vào trình tự axit nucleic thứ hai thông qua trình tự axit nucleic thứ ba mã hoá peptit tự phân cắt.

Phương án 71. Theo một số phương án khác của phương án 70, peptit tự phân cắt được chọn lựa từ nhóm gồm T2A, P2A, và F2A.

Phương án 72. Theo một số phương án khác của phương án 71, trình tự axit nucleic thứ ba là SEQ ID NO:255.

Phương án 73. Theo một số phương án khác của phương án bất kỳ trong số các phương án từ 68-72, axit nucleic đã được phân lập là phân tử ARN.

Phương án 74. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất vật truyền chứa axit nucleic đã được phân lập theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 68-72.

Phương án 75. Theo một số phương án khác của phương án 74, vật truyền này là vật truyền biểu hiện.

Phương án 76. Theo một số phương án khác của phương án 74 hoặc phương án 75, vật truyền này là vật truyền virut.

Phương án 77. Theo một số phương án khác của phương án 76, vật truyền này là vật truyền lentivirut.

Phương án 78. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ chứa CAR theo một phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1-36, 39, 42, 45, và 48-66, axit nucleic đã được phân lập theo một phương án bất kỳ trong số các phương án từ 68-73, hoặc vật truyền theo một phương án bất kỳ trong số các phương án từ 74-77.

Phương án 79. Theo một số phương án khác của phương án 78, tế bào tác động miễn dịch là tế bào T, tế bào NK, tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC), tế bào gốc tạo máu, tế bào gốc đa năng, hoặc tế bào gốc phôi thai.

Phương án 80. Theo một số phương án khác của phương án 79, tế bào tác động miễn dịch này là tế bào T.

Phương án 81. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ theo một phương án trong số các phương án từ 78-80, và chất mang dược dụng.

Phương án 82. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư ở cá thể, bao gồm việc cho cá thể này dùnglượng hữu hiệu của dược phẩm theo phương án 81.

Phương án 83. Theo một số phương án khác của phương án 82, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào tự thân.

Phương án 84. Theo một số phương án khác của phương án 82, tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ này là tế bào dị sinh.

Phương án 85. Theo một số phương án khác của phương án bất kỳ trong số các phương án từ 82-84, bệnh ung thư này là ung thư dạng lỏng.

Phương án 86. Theo một số phương án khác của phương án 85, bệnh ung thư này là bệnh đa u tủy, bệnh bạch cầu nguyên bào bạch huyết bào cấp tính, hoặc bệnh bạch cầu nguyên bào bạch huyết bào mạn tính.

Phương án 87. Theo một số phương án khác của phương án bất kỳ trong số các phương án từ 82-84, bệnh ung thư này là ung thư dạng rắn.

Phương án 88. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa sdAb kháng CD19 theo phương án 37 hoặc phương án 38, và chất mang dược dụng.

Phương án 89. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa sdAb kháng CD20 theo phương án 40 hoặc phương án 41, và chất mang dược dụng.

Phương án 90. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa sdAb kháng BCMA theo phương án 43 hoặc phương án 44, và chất mang dược dụng.

Phương án 91. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa sdAb kháng CD38 theo phương án 46 hoặc phương án 47, và chất mang dược dụng.

Phương án 92. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ở cá thể, bao gồm việc cho cá thể này dùnglượng hữu hiệu của dược phẩm theo một phương án bất kỳ trong số các phương án từ 88-91.

Phương án 93. Theo một số phương án khác của phương án 92, bệnh này là ung thư.

Các ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ được mô tả trong mô tả này không được dự định để trình bày rằng các thử nghiệm dưới đây là đủ tất cả các thử nghiệm hoặc các thử nghiệm duy nhất được thực hiện. Nhiều nỗ lực đã được thực hiện để đảm bảo tính chính xác đối với các số sử dụng (ví dụ, các lượng, nhiệt độ, v.v.), nhưng cần lưu ý các độ lệch và sai số thử nghiệm. Trừ khi được biểu đạt khác, phần là các phần theo trọng lượng, trọng lượng phân tử là trọng lượng phân tử trung bình của trọng lượng, nhiệt độ là theo độ C, và áp suất là ở áp suất khí quyển hoặc gần áp suất khí quyển.

Ví dụ 1. Điều chế các kháng thể miền đơn

Để phát triển các kháng thể miền đơn có ái lực liên kết cao với các kháng nguyên đặc hiệu, lạc đà llama được gây miễn dịch và thư viện thể hiện thể thực khuẩn được kiến

tạo để nhận diện các trình tự dẫn đầu V_HH. Các dòng vô tính khác biệt được lấy ngẫu nhiên và được phân loại theo vùng quyết định tính bổ trợ chuỗi nặng 3 (CDR3), vùng mà có thể đóng vai trò chính trong việc liên kết kháng nguyên.

Để thu được kháng thể miền đơn, lạc đà llama được gây miễn dịch thường xuyên bằng các chất gây miễn dịch tương ứng, mà có thể bao gồm các protein BCMA tái tổ hợp của người có thẻ Fc đầu tận cùng C (ACRO Biosystems, Cat No.:BC7-H5254), protein CD38 tái tổ hợp của người có thẻ Hig đầu tận cùng C (ACRO Biosystems, Cat No.:CD8-H5224), protein CD19 tái tổ hợp của người có thẻ Fc đầu tận cùng C (ACRO Biosystems, Cat No.:CD9-H5229) và protein CD20 tái tổ hợp của người có thể Fc đầu tận cùng C (ACRO Biosystems, Cat No. CD0-H526a).

Quy trình tạo ra kháng thể miền đơn kháng BCMA được mô tả dưới đây là ví dụ dùng để tạo ra các kháng thể miền đơn chống lại các kháng nguyên khác nhau. Việc tạo ra các kháng thể kháng CD38 của người, kháng CD19 của người và kháng CD20 của người được thực hiện bằng các quy trình tương tự như được mô tả dưới đây. Các quy trình khác dùng để điều chế các kháng thể miền đơn đã được mô tả. Ví dụ, xem tài liệu: Els Pardon et al, *Nature Protocol*, 2014; 9(3):674.

1. Thử nghiệm đáp ứng miễn dịch và gây miễn dịch ở động vật

1.1 Gây miễn dịch ở động vật

Mỗi chất gây miễn dịch bao gồm protein kháng nguyên tái tổ hợp được trộn với chất phụ trợ hoặc PBS và được tiêm vào lạc đà llama. Các con vật được gây miễn dịch bởi nhà cung cấp dịch vụ (Cedarline) bảy lần, thông thường với 200 µg chất gây miễn dịch và CFA (Complete Freund's Adjuvant-chất phụ trợ Freund hoàn chỉnh) mỗi lần trong khoảng thời gian gián cách từ 1 tuần đến 2 tuần. Các mẫu máu ngoại vi được thu gom ở giai đoạn trước khi gây miễn dịch và sau khi gây miễn dịch lần thứ 5 và 7. Sau nhiều vòng gây miễn dịch, các phản ứng miễn dịch của lạc đà llama chống lại kháng nguyên đích được đánh giá để xác nhận hiệu giá của các kháng thể miền đơn đặc hiệu với kháng nguyên. Các bạch huyết bào được phân lập bằng cách ly tâm gradien từ khoảng 100 ml máu ngoại vi. Các tế bào được bổ sung RNALATER™ và được lưu trữ ở -80°C. Huyết thanh là thu được bằng cách ly tâm các mẫu máu được chống đông tụ và lưu trữ ở -80°C.

1.2 Cất phân đoạn IgG

Việc cất phân đoạn phân nhóm IgG được thực hiện theo Quy trình Thao tác Tiêu chuẩn của GenScript. Các phân nhóm IgG được cất phân đoạn từ huyết thanh máu cuối cùng bằng cách sử dụng nhựa Protein G và Protein A. Mẫu huyết thanh 1 ml được nạp lên trên cột HITRAP® Protein G HP 1 ml, và cột này được rửa bằng dung dịch đệm phosphat 10 ml (20 mM, độ pH 7,0). Phân đoạn IgG3 (MW 100.000 Da) được rửa giải bằng NaCl 0,15 M, axit axetic 0,58% (độ pH 3,5), và nước rửa giải được trung hòa bằng Tris-HCl 1 M (độ pH 9,0) đến độ pH 7,4. Kế tiếp, phân đoạn IgG1 (MW 170.000 Da) được rửa giải bằng glyxin-HCl 0,1 M (độ pH 2,7), và nước rửa giải được trung hòa bằng Tris-HCl 1 M (độ pH 8,5) đến độ pH 7,4. Sau đó, dòng chảy qua cột HITRAP® Protein G HP được nạp lên trên cột HITRAP® Protein A HP 1 ml, và cột này được rửa bằng dung dịch đệm phosphat 20 ml (20 mM, độ pH 7,0). Phân đoạn IgG2 (MW 100.000 Da) được rửa giải bằng NaCl 0,15 M, axit axetic 0,58% (độ pH 4,5), và nước rửa giải được trung hòa bằng Tris-HCl 1 M (độ pH 9,0) đến độ pH 7,4. Các nồng độ của các kháng thể IgG1, IgG2 và IgG3 đã được tinh chế được xác định bằng OD280, và độ tinh khiết của mỗi kháng thể được đánh giá bằng cả phân tích SDS-PAGE khử và phân tích SDS-PAGE không khử.

1.3 Thử nghiệm đáp ứng miễn dịch

Đáp ứng miễn dịch của lạc đà llama được đánh giá bằng phương pháp ELISA, trong đó các mẫu huyết thanh và IgG đã được tinh chế được thử nghiệm về khả năng liên kết vào các chất gây miễn dịch được làm bất động. Huyết thanh được thu gom trước khi gây miễn dịch, sau khi gây miễn dịch lần thứ 5 và ở giai đoạn chảy máu cuối cùng đã được đánh giá. Kháng nguyên (tức là, protein kháng nguyên tái tổ hợp của người) được pha loãng trong dung dịch đệm phủ ở nồng độ 4 µg/ml. Các đĩa vi chuẩn độ được phủ bằng kháng nguyên pha loãng ở 4°C qua đêm. Sau đó, đĩa này được rửa 3 lần bằng dung dịch đệm rửa, sau đó là phong bế ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Sau đó, đĩa này được rửa 4 lần bằng dung dịch đệm rửa. Dãy nối tiếp huyết thanh được pha loãng hoặc IgG được thêm vào đĩa này và được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 1,5 giờ. Sau đó, đĩa này được rửa 4 lần bằng dung dịch đệm rửa. Kháng thể thứ cấp kháng IgG của lạc đà llama được tiếp hợp với HRP được thêm vào đĩa này và được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Sau khi rửa, cơ chất TMB được thêm vào mỗi lỗ và được ủ trong 10 phút

trước khi cho dừng lại bằng HCl 1 M. Để định lượng mức độ liên kết, mức độ hấp thụ ở bước sóng 450 nm được đo cho mỗi lỗ bằng cách sử dụng quang phổ kế MK3.

2. Kiến tạo thư viện thể hiện thể thực khuẩn V_HH

2.1 Chiết ARN

ARN tổng số được chiết từ các bạch huyết bào được phân lập (từ 1.1.1) bằng cách sử dụng Chất phản ứng TRIZOL® theo quy trình của nhà sản xuất. Số lượng và chất lượng của ARN tổng số được đánh giá bằng phương pháp điện di gel và được định lượng bằng cách đo độ hấp thụ tại OD260/280.

2.2 RT-PCR và khuyếch đại V_HH

ARN tổng số được phiên mã ngược vào ADN bổ trợ bằng đoạn mồi oligo $(dT)_{20}$ bằng cách sử dụng bộ Kit Tổng hợp ADN bổ trợ Sợi thứ 1 của PRIMESCRIPT™ theo quy trình của nhà sản xuất. Sáu đoạn mồi thuận và hai đoạn mồi thoái biến đặc hiệu ngược được thiết kế để khuếch đại các đoạn V_HH, mà có hai vị trí giới hạn BglI được đưa vào. Các đoạn V_HH được khuếch đại theo quy trình thao tác tiêu chuẩn của GenScript (SOP) như được mô tả dưới đây.

Các vùng biến đổi của các globulin miễn dịch chuỗi nặng (tức là, V_HH) được khuyếch đại bằng cách sử dụng phản ứng chuỗi polymeraza hai bước (PCR). Trong PCR thứ nhất, 100 ng khuôn mẫu ADN bổ trợ được trộn với các đoạn mồi CALL001 (SEQ ID NO:229) và CALL002 (SEQ ID NO:230). Các sản phẩm ADN từ phản ứng PCR thứ nhất được phân tích bằng phương pháp điện di gel agaroza. Sau khi tinh chế gel, các sản phẩm ADN của PCR thứ nhất được sử dụng làm các khuôn mẫu trong PCR thứ hai. PCR thứ hai được thực hiện với các đoạn mồi BACK-1 (SEQ ID NO:231), BACK-2 (SEQ ID NO:232) và PMCF (SEQ ID NO:233). Các sản phẩm PCR thứ hai đã được khuyếch đại chứa các đoạn PCR V_HH được tinh chế trên gel và được phân giải bằng enzym, sau đó, được chèn vào các plasmit phagemit. Các plasmit tái tổ hợp với các đoạn gen V_HH được chuyển bằng điện vào các tế bào *E.coli* để tạo ra thư viện miễn dịch V_HH thể hiện thể thực khuẩn.

Quy trình của phản ứng PCR có bước làm biến tính ban đầu ở 94°C trong 7 phút, sau đó là 30 chu kỳ 94°C trong 1 phút, 55°C trong 1 phút, và 72°C trong 1 phút; và sau đó là bước mở rộng cuối cùng ở 72°C trong 7 phút.

2.3 Kiến tạo thư viện thể thực khuẩn

Các sản phẩm PCR V_HH là thu được bằng phương pháp khuếch đại bằng cách sử dụng các cặp đoạn mồi khác nhau. Sau đó, các sản phẩm PCR được phân giải bằng BglI và tinh chế trên gel. Các đoạn đã được tinh khiết trên gel được chèn vào trong vật truyền phagemit do nội bộ tổ chức tạo ra của GenScript. Thư viện thí điểm được kiến tạo để tối ưu hóa các điều kiện nối kết và biến nạp. Các điều kiện nối và biến nạp được tối ưu hóa được sử dụng để phát triển thư viện phagemit. Một phần nhỏ của các tế bào đã được biến nạp được pha loãng và vẩy trên các đĩa 2 x YT được bổ sung 100 µg/ml ampicillin. Các khuẩn lạc được đếm để tính toán kích cỡ của thư viện. Các dòng vô tính dương tính được lấy ngẫu nhiên và giải trình tự để đánh giá chất lượng của thư viện. Phần còn lại của các tế bào được biến nạp được pha loãng và vẩy lên trên các đĩa YT được bổ sung 100 µg/ml ampicillin và glucoza 2%. Các mảng của khuẩn lạc được cạo khỏi các đĩa. Phần phân ước nhỏ của các tế bào được sử dụng cho việc phân lập plasmit thư viện. Phần còn lại được bổ sung glyxerol và được lưu giữ ở -80°C trong vai trò là nguyên liệu gốc.

3. Sàng lọc thể hiện thể thực khuẩn

3.1 Sàng lọc sinh học

Thư viện thể thực khuẩn V_HH đã được kiến tạo lần lượt được sàng lọc đối với protein BCMA tái tổ hợp của người và các tế bào CHO biểu hiện BCMA của người (tức là, các tế bào CHO-BCMA, được điều chế tại hãng Legend Biotec) bằng cách sử dụng quy trình tiêu chuẩn được phát triển bởi GenScript. Nguyên liệu gốc thư viện được làm tăng trưởng đến pha loga, và sau đó, thư viện được giải cứu bằng thể thực khuẩn trợ giúp M13KO7 và được khuếch đại qua đêm ở 25°C trong thiết bị lắc. Sau đó, thể thực khuẩn này được cho kết tủa bằng PEG/NaCl, được tái tạo huyền phù trong PBS và được lưu trữ ở -80°C. Đối với phương pháp sàng lọc pha rắn, các lỗ của vi đĩa được phủ bằng protein BCMA tái tổ hợp của người trong PBS ở 4°C qua đêm. Đối với phương pháp sàng lọc pha lỏng, các tế bào CHO-BCMA được phong bế bằng dung dịch đệm phong bế ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Trong bước phủ hoặc phong bế, các hạt thể thực khuẩn được ủ trước bằng dung dịch đệm phong bế và protein đối chứng Fc trong lỗ vi đĩa. Sau bước ủ trước, các hạt thể thực khuẩn được thêm vào các lỗ lần lượt được phủ bằng các protein BCMA hoặc dung dịch CHO-BCMA và được ủ trong 1 giờ. Sau khi ủ, các thể thực khuẩn đã được liên kết không đặc hiệu hoặc không được liên kết được rửa sạch bằng

cách súc rửa các lỗ hoặc các tế bào CHO-BCMA với PBST trong sáu lần được bổ sung hai lần rửa bằng PBS bổ sung. Các hạt thực khuẩn đã được liên kết được rửa giải bằng trietylamin (TEA) 100 mM, và dung dịch rửa giải được trung hòa bằng Tris-HCl 1 M (độ pH 7,4). Sau đó, một nửa dung dịch rửa giải được sử dụng để lây nhiễm theo cấp số nhân các tế bào TG1 của *E. coli* (OD_{600} = 0,4~ 0,6) dùng cho việc chuẩn độ đầu ra.

3.2 ELISA thể thực khuẩn

Phương pháp ELISA thể thực khuẩn được thực hiện để nhận diện các dòng vô tính đặc hiệu với các kháng nguyên đích. Các dòng vô tính thể thực khuẩn đầu ra riêng biệt được làm tăng trưởng trong đĩa 96 lỗ sâu và được giải cứu bởi thể thực khuẩn trợ giúp M13KO7 qua đêm. Để xác định các dòng vô tính liên kết vào các protein kháng nguyên, các đĩa vi chuẩn độ ELISA 96 lỗ được bao phủ bởi protein BCMA tái tổ hợp của người và protein đối chứng Fc tương ứng trong dung dịch đệm qua đêm ở 4°C, và sau đó các đĩa được phong bế bằng dung dịch đệm phong bế. Sau khi phong bế, xấp xỉ 50 µl trên mỗi lỗ dịch trên bề mặt thể thực khuẩn từ môi trường nuôi cấy tế bào qua đêm được thêm vào các đĩa để ủ 1,5 giờ ở 4°C. Các đĩa được rửa bốn lần, và kháng thể đơn dòng kháng M13 đã được tiếp hợp với HRP được thêm vào các đĩa để ủ trong 45 phút ở 4°C. Các đĩa được rửa lại 5 lần nữa và dung dịch cơ chất đã được thêm vào các lỗ để phát triển. Độ hấp thụ ở bước sóng 450 nm được đo đối với mỗi lỗ.

Để nhận diện các dòng vô tính màliên kết vào các tế bào CHO-BCMA, tế bào CHO-BCMA này được phong bế bằng dung dịch đệm phong bế ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Sau khi phong bế, xấp xỉ 20 µl trên mỗi lỗ dịch trên bề mặt thể thực khuẩn từ môi trường nuôi cấy tế bào qua đêm được thêm vào các dung dịch tế bào để ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi các tế bào được rửa bốn lần, và kháng thể đơn dòng kháng M13 đã được tiếp hợp với HRP được thêm vào để ủ trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Các tế bào được rửa 5 lần và sau đó, dung dịch cơ chất được thêm vào để phát triển. Độ hấp thụ được đo ở bước sóng 450 nm.

Sau khi sàng lọc, các dòng vô tính đơn lẻ dương tính với ELISA thể thực khuẩn được lấy ngẫu nhiên và ADN được điều chế từ thể thực khuẩn đầu ra bằng cách sử dụng các bộ kit chiết plasmit. Các đoạn chèn vào các plasmit được giải trình tự. Một hoặc nhiều trình tự V_HH thu được dùng cho mỗi kháng nguyên đích, ví dụ, xem Bảng 2

Ví dụ 2. Điều chế các thụ thể kháng nguyên thể khảm V_HH đơn đặc hiệu

Trình tự khung chính CAR mã hóa polypeptit khung chính CAR bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C:miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền tế bào chất CD28, miền tế bào chất CD137, và miền tế bào chất CD3ζ được tổng hợp hóa học và tạo dòng vô tính vào sản phẩm sau vật truyền lentivirut được cải biến trước và được liên kết theo kiểu hoạt động được vào gen khởi đầu hEF1α cơ hữu. Các vật truyền khung chính CAR thu được được đặt tên là "PLLV-hEF1α-8281373". Các vị trí đa tạo dòng vô tính (MCS) trong vật truyền này cho phép chèn trình tự nucleic chứa trình tự Kozak (SEQ ID NO:126) được liên kết theo kiểu hoạt động được vào trình tự axit nucleic mã hóa peptit tín hiệu CD8α được dung hợp với đầu tận cùng N của đoạn V_HH vào vật truyền PLLV-hEF1α-8281373, sản phẩm trước và được liên kết theo kiểu hoạt động được vào trình tự khung chính CAR.

Để kiến tạo CAR đơn đặc hiệu có miền V_HH đơn có sử dụng khung chính PLLV-hEF1α-8281373, trình tự axit nucleic mã hóa miền V_HH được liên kết theo kiểu hoạt động được vào đầu 3' của trình tự axit nucleic mã hóa peptit tín hiệu CD8α. Trình tự axit nucleic dung hợp được tổng hợp hóa học và được tạo dòng vô tính vào khung chính PLLV-hEF1α-8281373 CAR thông qua vị trí giới hạn EcoRI (SEQ ID NO:234:5'-GAATTC-3') và vị trí giới hạn SpeI (SEQ ID NO:235:5'-ACTAGT-3') bằng các kỹ thuật tạo dòng vô tính phân tử đã biết trong lĩnh vực này. Bảng 4 liệt kê các vật truyền mà đã được kiến tạo để biểu hiện các CAR kháng BCMA và kháng CD38 hóa trị một, đơn đặc hiệu làm ví dụ.

Để dễ dàng chèn thêm các trình tự bổ sung, như nucleotit mã hóa V_HH thứ hai, khi thiết kế một cấu trúc CAR đơn đặc hiệu (ví dụ, kháng thể kháng BCMA hoặc kháng CD38), các vị trí giới hạn bao gồm các vị trí HpaI (SEQ ID NO:236:5'-GTTAAC-3'), MluI (SEQ ID NO:237:5'-ACGCGT-3'), NsiI (SEQ ID NO:238:5'-ATGCAT-3') được lấy vào giữa trình tự axit nucleic của peptit tín hiệu CD8α và trình tự axit nucleic V_HH.

Hỗn hợp plasmit bao gói lentivirut bao gồm pCMV-ΔR-8.74 và pMD2.G (Addgene số12259) được trộn trước với các vật truyền PLLV-hEF1α-8281373 có các đoạn V_HH (Bảng 4) ở tỷ lệ được tối ưu hóa trước với polyeteimit (PEI), sau đó trộn đúng cách và ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 5 phút. Sau đó, hỗn hợp chuyển nhiễm này được thêm từng giọt vào các tế bào HEK293 và được khuấy nhẹ nhàng. Sau đó, các tế bào

được ủ qua đêm trong một thiết bị ủ tế bào ở 37°C và CO_2 5%. Các dịch nổi trên bề mặt được thu gom sau khi ly tâm ở 4°C, 500 g trong 10 phút.

Các dịch nổi trên bề mặt chứa virut được lọc qua bộ lọc PES 0,45 µm, sau đó là siêu ly tâm để cô lentivirut. Sau khi siêu ly tâm, các dịch nổi trên bề mặt đã được loại bỏ một cách cẩn thận và viên kết virut được rửa một cách thận trọng bằng DPBS được làm lạnh trước. Virut được chia thành các phần phân ước một cách đúng đắn, sau đó được lưu trữ ở -80°C ngay lập tức. Độ chuẩn virut được xác định bằng p24 dựa trên bộ kit HTRF do GenScript phát triển.

Điều chế PBMC

Bạch cầu được thu gom từ các đối tượng cho khỏe mạnh bằng phương pháp tách máu, và nồng độ tế bào được điều chỉnh đến 5×10^6 tế bào/ml trong môi trường R10. Sau đó, bạch cầu được trộn với dung dịch NaCl 0,9% ở tỷ lệ 1:1 (thể tích/thể tích). 3 ml môi trường lymphoprep được thêm vào ống ly tâm dung tích 15 ml, và 6 ml hỗn hợp bạch huyết bào đã được pha loãng được tách lớp từ từ phía trên môi trường lymphoprep. Hỗn hợp bạch huyết bào được ly tâm ở 800 g trong 30 phút mà không được hãm ở 20°C. Sau đó, lớp máu màu nâu nhạt chứa bạch huyết bào được thu gom bằng pipet dung tích 200 µl. Phân đoạn đã được thu hoạch được pha loãng ít nhất 6 lần bằng NaCl 0,9% hoặc R10 để giảm mật độ của dung dịch. Sau đó, phân đoạn đã được thu hoạch được ly tâm ở mức 250 g trong 10 phút ở 20°C. Dịch nổi trên bề mặt được hút ra hoàn toàn, và 10 ml R10 được bổ sung vào viên kết tế bào để tái tạo huyền phù viên kết tế bào này. Hỗn hợp này còn được ly tâm ở tốc độ 250g trong 10 phút ở 20°C. Dịch nổi trên bề mặt lại được hút ra. 2 ml R10 được làm ấm trước ở 37°C với 100 IU/ml IL-2 được thêm vào viên kết tế bào, và viên kết tế bào này được tái tạo huyền phù một cách nhẹ nhàng. Số tế bào được xác định sau khi nhuộm bằng Trypan Blue, và mẫu PBMC này thì sẵn sàng cho các thử nghiệm sau này.

Tinh chế tế bào T

Các tế bào T của người được tinh chế từ các PBMC bằng cách sử dụng bộ kit phân lập tế bào T Miltenyi Pan (Catsố 130-096-535), theo quy trình của nhà sản xuất như được mô tả dưới đây. Trước tiên, số tế bào được xác định và huyền phù tế bào được ly tâm ở mức 300 g trong 10 phút. Sau đó, dịch nổi trên bề mặt được hút ra hoàn toàn, và các viên

kết tế bào được tái tạo huyền phù trong 40 µl dung dịch đệm trên 10^7 tổng số tế bào.10 µl hỗn hợp kháng thể Biotin-tế bào T Pan được thêm vào mỗi 10^7 tổng số tế bào, được trộn kỹ và ủ trong khoảng 5 phút trong thiết bị làm lạnh (2~8°C). Sau đó, 30 µl dung dịch đệm được thêm vào mỗi 10^7 tế bào.20 µl hỗn hợp Vi hạt tế bào T Pan được thêm vào mỗi 10^7 tế bào. Hỗn hợp huyền phù tế bào được trộn kỹ và ủ thêm 10 phút nữa trong thiết bị làm lạnh (2~8°C). Mức tối thiểu 500 µl là cần thiết cho quá trình tách từ tính. Để tách bằng từ tính, cột LS được đặt trong từ trường của thiết bị tách MACS thích hợp. Cột được chuẩn bị bằng cách súc rửa bằng 3 ml dung dịch đệm. Sau đó, huyền phù tế bào được đưa lên trên cột, và dòng chảy qua chứa các tế bào chưa được đánh dấu được thu gom, phần này thể hiện các phân đoạn tế bào T được làm giàu. Các tế bào T bổ sung được thu gom bằng cách rửa cột bằng 3 ml dung dịch đệm và thu gom các tế bào chưađược đánh dấu đi qua. Các tế bào chưa được đánh dấu này lại thể hiện các tế bào T được làm giàu, và được kết hợp vớidòng chảy qua từ bước trước. Sau đó, các tế bào T được làm giàu đã được gộp được ly tâm và tái tạo huyền phù trong R10+100IU/ml IL-2.

Kế tiếp, các tế bào T đã được điều chế được hoạt hóa trước trong 48-96 giờ với bộ kit hoạt hóa/nhân rộng tế bào T của người (Miltenyi số130-091-441) theo quy trình của nhà sản xuất, trong đó các hạt MACSiBead kháng CD3/CD28 được thêm vào với tỷ lệ hạt trên tế bào là 1: 2.

Các tế bào T đã được hoạt hóa trước này được tải nạp bằng nguyên liệu gốc lentivirut với sự có mặt của 7 µg/ml polybren và ly tâm ở mức 1200 g, 32°C trong 1,5 giờ. Sau đó, các tế bào đã được tải nạp được chuyển sang tủ ấp nuôi cấy tế bào dùng choquá trình biểu hiện gen chuyển trong các điều kiện thích hợp.

Vào ngày 3 hoặc ngày 7 sau khi tải nạp, các tế bào T đã được tải nạp được thu hoạch và ủ đồng thời với các tế bào khối u ở tỷ lệ chất tác động (CAR-T) trên tế bào đích là 20:1 trong 20 giờ. Các tế bào đích là dòng tế bào đa u tủy ở người RPMI8226 Luc hoặc dòng tế bào u nguyên bào đệm ở người U87MG.Luc, cả hai dòng tế bào được xử lý công nghệ tại hãng để biểu hiện luxiferaza của đom đóm. Để thử nghiệm về độc tính tế bào của CAR-T trên các tế bào khối u, các chất phản ứng cho thử nghiệm luxiferaza phát quang One-glo (Promega số E6110) được điều chế theo quy trình của nhà sản xuất và được thêm vào các tế bào được đồng nuôi cấy để phát hiện hoạt tính luxiferaza còn lại trong lỗ. Vì luxiferaza chỉ được biểu hiện trong các tế bào RPMI8226.Luc hoặc U87MG.Luc, nên hoạt tính luxiferaza còn lại trong lỗ cũng tương quan trực tiếp với số tế bào đích còn sống

trong lỗ. Hoạt tính luxiferaza tối đa là thu được bằng cách thêm môi trường nuôi cấy vào các tế bào đích khi thiếu vắng các tế bào tác động. Hoạt tính luxiferaza tối thiểu được xác định bằng cách thêm Triton X-100 ở nồng độ cuối là 1% ở thời điểm mà các thử nghiệm độc tính tế bào được bắt đầu. Độc tính tế bào được tính toán bằng công thức: % Độc tính tế bào đặc hiệu= 100% * (1-(RLUmẫu-RLUtối thiểu)/(RLUtối đa-RLUtối thiểu)).

Các dòng vô tính CAR đơn đặc hiệu hướng đích đến BCMA (CD269) được ghi mã bắt đầu bằng các con số "269" trong khi những dòng vô tính CAR đơn đặc hiệu hướng đích đến CD38 được ghi mã theo cách tương tự bắt đầu bằng các con số "38". Như được thể hiện trên Fig.2A, các dòng vô tính đã được chọn lựa này biểu hiện các mức độc tính tế bào khác nhau đối với các tế bào RPMI8226.Luc thuộc dòng tế bào đa u tủy, mà trên 60% CAR-T trên cơ sở V_HH đơn đặc hiệu thể hiện độc tính tế bào chống lại các tế bào RPMI8226.Luc>50%. Các CAR-T trên cơ sở các dòng vô tính 269A37346, 269A37348, 269A37353, 269A37355, 38A37326, 38A37331, 38A37717, và 38A37719 được chọn lựa để thực hiện thử nghiệm thêm. Cụ thể là, các CAR-T trên cơ sở các dòng vô tính 269A37346, 269A37348, 267A37353, 269A37355, 38A37326, 38A37331, 38A37717 đã thể hiện độc tính tế bào công hiệu đối với các tế bào RPMI8226.Luc thuộc dòng tế bào đa u tủy với mức độ tiêu diệt tế bào RPMI8226.Luc khi điều trị bằng CAR-T tăng 20%-30% so với các tế bào đối chứng T không được tải nạp (UnT). Tuy nhiên, sự gia tăng độc tính tế bào như vậy không xảy ra trên các tế bào U87MG.Luc thuộc dòng tế bào u nguyên bào đệm của người (xem FIG.2B). Không phát hiện thấy các tác dụng gây độc tế bào đáng kể đối với U87MG.Luc bởi các tế bào CAR-T trên cơ sở V_HH đơn đặc hiệu này so với các đối chứng UnT. Quan sát trên chỉ ra rằng một số dòng vô tính trong số những dòng vô tính này có thể là đích đặc hiệu và công hiệu trên các tế bào dương tính với BCMA hoặc CD38.

Ví dụ 3. Điều chế các thụ thể kháng nguyên thể khảm song đặc hiệu hoặc đa hóa trị làm ví dụ

Các dòng vô tính công hiệu về tiềm năng như được mô tả trong Ví dụ 2 cũng có thể là các ứng viên thuận lợi cho việc tạo ra các CAR trên cơ sở V_HH song đặc hiệu hoặc đa hóa trị. Hai dòng vô tính V_HH tiêu biểu (dòng vô tính V_HH kháng BCMA 269A37346 và dòng vô tính V_HH kháng CD38 38A37717) được chọn lựa để kiến tạo nhiều cấu trúc CAR khác nhau làm ví dụ.

Các CAR trên cơ sở V_HH của BCMA × CD38 có thể được tạo ra bằng cách kết hợp V_HH đặc hiệu với BCMA và V_HH đặc hiệu với CD38 thông qua gốc liên kết peptit thích hợp (ví dụ,polyme Gly-Ser), sau đó là vật truyền khung chính miền tín hiệu CAR. Các cấu trúc CAR CD38 × BCMA song đặc hiệu làm ví dụ (GSI5001 đến GSI5010) được liệt kê trong Bảng 6. Trước tiên, trình tự axit amin của V_HH kháng BCMA và V_HH kháng CD38 được nối kết với nhau thông qua gốc liên kết Gly-Ser mà có thể có các chiều dài khác nhau. Sau đó, trình tự axit amin đã được liên kết được đặt sau trình tự peptit tín hiệu CD8α. Trình tự đã được kết hợp bao gồm V_HH song đặc hiệu với peptit tín hiệu Kozak-CD8α này được tổng hợp trực tiếp và tạo dòng vô tính vào khung chính PLLV-hEF1α-81373 CAR thông qua các vị trí giới hạn EcoRI và SpeI, bằng các quy trình tạo dòng vô tính phân tử chuẩn đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Trình tự khung chính CAR mã hóa polypeptit khung chính CAR bao gồm từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C:miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền tế bào chất CD137, và miền tế bào chất CD3ζ được tổng hợp hóa học và tạo dòng vô tính vào sản phẩm sau vật truyền lentivirut đã được cải biến trước và được liên kết theo kiểu hoạt động được vào gen khởi đầu hEF1α cơ hữu. Vật truyền khung chính CAR thu được được đặt tên là "PLLV-hEF1α-81373".

Ngoài ra, vật truyền đồng biểu hiện làm ví dụ mã hoá CAR BCMA và CAR CD38 được kiến tạo bằng cách kết hợp CAR trên cơ sở V_HH đặc hiệu với BCMA và CAR trên cơ sở V_HH đặc hiệu với CD38 trong một vật truyền CAR đơn lẻ qua gốc liên kết trên cơ sở tách ghép vùng nội thích hợp (T2A, P2A, hoặc F2A). Ví dụ, cấu trúc GSI5013 có trình tự axit nucleic là SEQ ID NO:239. Trình tự axit nucleic trong GSI5013 mã hóa từ đầu 5' đến đầu 3': peptit tín hiệu CD8α, 38A37717 V_HH, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền đồng kích thích CD137, miền truyền tín hiệu tế bào chất CD3ζ, T2A, peptit tín hiệu CD8α, 269A37346 V_HH, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền đồng kích thích CD137, và miền truyền tín hiệu tế bào chất CD3ζ.

Các V_HH CAR đa hóa trị có thể được kiến tạo bằng cách đưa trình tự axit nucleic mã hóa nhiều bản sao của V_HH đơn lẻ được dung hợp với nhau bằng các gốc liên kết peptit vào vật truyền khung chính miền tín hiệu CAR. Các cấu trúc CAR hóa trị một, đa hóa trị làm ví dụ (GSI5014, GSI5015, GSI5016, GSI5017) được liệt kê trong Bảng 5. Các cấu trúc này được điều chế bằng cách liên kết 2-3 bản sao của V_HH bằng gốc liên kết glyxin-serin, sau đó là bằng cách tổng hợp trực tiếp trình tự được liên kết này kết hợp với

trình tự axit nucleic peptit tín hiệu Kozak-CD8α, và tạo dòng vô tính vào khung chính PLLV-hEF1α-81373 CAR thông qua các vị trí giới hạn EcoRI và SpeI. Trong vai trò là đối chứng, bản sao V_HH đơn lẻ cũng được tạo dòng vô tính vào cùng một khung chính PLLV-hEF1α-81373 CAR bằng các phương pháp đồng nhất (GSI5011 và GSI5012, được liệt kê trong Bảng 4).

Các vật truyền lentivirut mang các gen CAR của GSI5001 đến GSI5017 được bao gói và chuẩn độ bằng các quy trình như được mô tả trong Ví dụ 2. Bằng cách sử dụng các quy trình được mô tả trong Ví dụ 2, PBMC của người được điều chế từ máu ngoại vi của các tình nguyện viên để phân lập thêm các tế bào T sơ cấp của người bằng cách sử dụng các bộ kit phân lập tế bào PanT người của Miltenyi. Các tế bào T đã được tinh chế được hoạt hóa trước và nhân rộng bằng cách sử dụng các vi hạt kháng CD3/CD28 Miltenyi như được mô tả trong Ví dụ 2. Sau đó, các tế bào T đã được hoạt hóa trước này được tải nạp bằng nguyên liệu gốc lentivirut với sự có mặt của 7 μg/ml polybren bằng phương pháp ly tâm ở mức 1200 g, 32°C trong 1,5 giờ. Sau đó, các tế bào đã được tải nạp được chuyển sang tủ ấp nuôi cấy tế bào dùng cho quá trình biểu hiện gen chuyển trong các điều kiện thích hợp.

Vào ngày 3 sau khi tải nạp, các tế bào T đã được tải nạp được thu hoạch và ủ đồng thời với các tế bào khối u ở tỷ lệ chất tác động (CAR-T) trên tế bào đích là 20:1 trong 20 giờ. Để thử nghiệm về độc tính tế bào của CAR-T đối với các tế bào khối u, các chất phản ứng luxiferaza phát quang One-glo (Promega sốE6110) được thêm vào các tế bào đã được đồng nuôi cấy và độc tính tế bào đặc hiệu của mỗi CAR-T được đo như được mô tả trong Ví dụ 2.

Số lượng bản sao của các gen CAR được tích hợp đối với mỗi nhóm được xác định bằng một thử nghiệm PCR (q-PCR) bán định lượng. Nói một cách vắn gọn, ADN hệ gen từ mỗi nhóm CAR-T được điều chế với Gentra Puregene Cell Kit (Qiagen). Nồng độ ADN hệ gen được xác định bằng Nanodrop và 10ng mẫu ADN hệ gen được xử lý cho thử nghiệm q-PCR được tiêu chuẩn hóa với hỗn hợp SYBR Green Realtime PCR Master cộng (Toyobo) trên thiết bị q-PCR ABI số 7300 có sử dụng các đoạn mồi đặc hiệu với CAR (đoạn mồi xuôi 137P2F (SEQ ID NO:252):5'-GTCCTTCTCCTGTCACTGGTTAT-3'; và đoạn mồi ngược 137P2R (SEQ ID NO:253):5'- TCTTCTTCTTCTGGAAATCGGCA-3'). Số bản sao tương đối của mỗi

gen CAR đã được tích hợp được tính dựa trên đường cong chuẩn được xác lập bằng cách sử dụng plasmit chứa các trình tự đích.

Như được thể hiện ở Bảng 7 dưới đây, số bản sao cho mỗi chế phẩm CAR-T được xác định và dữ liệu cho thấy mức tích hợp gen đích cao vào hệ gen của các tế bào T.

Bảng 7. Số bản sao của quá trình tích hợp hệ gen

Các tế bào CAR-T với các cấu trúc	Các bản sao/ng ADN hệ gen
GSI5001	18257060
GSI5002	15105810
GSI5003	17307510
GSI5004	2735165
GSI5005	Không được xử lý
GSI5006	6692277
GSI5007	6929693
GSI5008	15549250
GSI5009	10602720
GSI5010	7353348
GSI5011	3089537
GSI5012	650551.3
GSS005	1070972
GSI005	321521
UnT	72,77
nước	117

Như được minh họa trên Fig.3A-3B, V_HH CAR đơn đặc hiệu chống lại BCMA (GSI5011) và V_HH CAR đơn đặc hiệu chống lại CD38 (GSI5012) đã thể hiện độc tính tế bào công hiệu trên dòng tế bào đa u tủy RPMI8226.Luc. Với GSI5011 CAR, 42,98±2,86% tế bào RPMI8226.Luc được phân giải, và với GSI5012, 61,25±1,92% tế bào RPMI8226.Luc được phân giải, so với mức phân giải không đặc hiệu của các tế bào T đối chứng không được tải nạp (UnT, 9,25±1,11%).

Các CAR GSI5001-GSI5010 song đặc hiệu đem lại mức phân giải đặc hiệu công hiệu của dòng tế bào đa u tủy RPMI8226.Luc so với các tế bào T đối chứng không được

tải nạp (UnT). Như được thể hiện trên các Fig.3A và 3B, tỷ lệ phần trăm độ phân giải đặc hiệu của các tế bào RPMI8226.Luc là 98,91±0,17% đối với các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5001, 97,10±0,26% đối với các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5002, 93,85±0,69% đối với các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5003, 82,81±2,40% đối với các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5004, 98,95±0,66% đối với các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5005, 93,91±1,25% đối với các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5006, 96,49±1,05% đối với các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5007, 94,41±0,75% đối với các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5008, 90,72±0,62% đối với các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5009, và 85,05±2,69% đối với các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5010, so với mức phân giải không đặc hiệu của các tế bào T đối chứng không được tải nạp (UnT, 9,25±1,11%). Những kết quả này cũng cho thấy rằng gốc liên kết Gly-Ser ngắn hơn dường như cho hiệu quả gây độc tế bào tốt hơn một chút đối với các tế bào khối u đích. Các nghiên cứu khác có thể được thực hiện trong các điều kiện thử nghiệm dưới mức tối ưu để nghiên cứu các tác dụng như vậy. Hơn nữa, trật tự của V_HH kháng BCMA và V_HH kháng CD38 trong vật truyền không thể hiện sự ảnh hưởng đáng kể đối với hiệu quả gây độc tế bào cuối trên các tế bào RPMI8226.Luc. Hai tế bào CAR-T trên cơ sở scFv cũng được điều chế trong thử nghiệm này, mà trong đó GSS005 là CAR trên cơ sở scFv kháng BCMA trong khi GSI005 là CAR trên cơ sở scFv kháng CD38. Cả GSS005 và GSI005 đã thể hiện mức phân giải đặc hiệu công hiệu chống lại các tế bào RPMI8226.Luc nữa (57,94±1,91% đối với GSS5005, 61,25±1,92% đối với GSI005).

Các tế bào T được xử lý công nghệ với CAR hóa trị một đặc hiệu với BCMA (GSI5011), CAR hóa trị hai đặc hiệu với BCMA (GSI5012) hoặc các tế bào T được xử lý công nghệ CAR hóa trị ba đặc hiệu với BCMA (GSI5013), vàcác tế bào T được xử lý công nghệ với CAR hóa trị một đặc hiệu với CD38 (GSI5012), CAR hóa trị hai đặc hiệu với CD38 (GSI5016) hoặc CAR hóa trị ba đặc hiệu với CD38 (GSI5017) được điều chế và các thử nghiệm độc tính được thực hiện trên các tế bào RPMI8226.Luc như được mô tả trên đây. Như được thể hiện trên Fig.4, mức phân giải theo tỷ lệ phần trăm đặc hiệu của các tế bào RPMI8226.Luc là 63,25±2,64% bằng các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5011, 61,04±2,75% bằng các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5014, và59,57±2,64% bằng các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5015, so với 0,05%±2,33% bằng các tế bào T đối chứng không được tải nạp (UnT). Đồng thời, như được minh họa trong Fig.4, mức phân giải đặc hiệu của các tế bào RPMI8226.Luc bởi các tế bào V_HH CAR-T kháng CD38 là

95,79±0,62% bằng các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5012, 94,16±0,31% bằng các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5016, và 97,61±0,77% bằng các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5015, so với 57,92%±2,88% bởi các tế bào T đối chứng không được tải nạp (UnT). Dữ liệu này cho thấy rằng các CAR có các phương thức liên kết kháng nguyên khác nhau này đã có hoạt tính chống khối u công hiệu chống lại các tế bào dương tính với BCMA.

Ví dụ 4. Điều chế, thử nghiệm *in vitro* và *in vivo* về CAR CD20 × CD19 làm ví dụ

Kháng thể sdAb kháng CD19 và sdAb kháng CD20 làm ví dụ là thu được bằng các quy trình tương tự như trong Ví dụ 1. Các kháng thể miền đơn này được liệt kê trong Bảng 2. CAR CD19 đơn đặc hiệu dựa trên CD19 V_HH và CAR CD20 đơn đặc hiệu dựa trên CD20 V_HH được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 2, và được liệt kê trong Bảng 4. CAR CD20 × CD19song đặc hiệu làm ví dụ dựa trên CD19 V_HH và CD20 V_HH được kiến tạo như được mô tả trong Ví dụ 3, và được liệt kê trong Bảng 6. Vật truyền khung chính CAR được sử dụng cho việc kiến tạo CAR CD19, CAR CD20 làm ví dụ và CAR CD20 × CD19 mã hóa từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C:peptit tín hiệu CD8α, miền bản lề CD8α, miền xuyên màng CD28, miền tế bào chất của CD28, và miền tế bào chất của CD3ζ. FIG.5 thể hiện các cấu trúc của CAR CD19, CAR CD20 và CAR CD20 × CD19 song đặc hiệu. Các tế bào CAR-T đã được xử lý công nghệ biểu hiện CAR CD19, CAR CD20 hoặc CAR CD20 × CD19 song đặc hiệu được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 2.

Độc tính tế bào của các tế bào CAR-T được xác định trong thử nghiệm đồng nuôi cấy 4 giờ. Trong các thử nghiệm này, các tế bào CAR-T đã được điều chế được thu gom bằng phương pháp ly tâm, sau đó, được pha loãng đến các nồng độ mong muốn bằng DPBS với 10% huyết thanh AB của người, và được nuôi cấy trên đĩa 96 lỗ. Các tế bào khối u Raji, được biết là thể hiện mức biểu hiện mạnh của CD19 và CD20, được đánh dấu bằng Calcein-AM (BD Biosciences). Các tế bào CAR-T được đánh dấu và các tế bào Raji được nuôi cấy ở tỷ lệ chất tác động với đích là 10:1 ở 37°C trong 4 giờ. Kế tiếp, độc tính tế bào của các tế bào CAR-T được phát hiện bằng FACS.

Như được thể hiện trên ô trên cùng bên trái của Fig.6, đã không có mức phân giải tế bào Raji đáng kể nào bởi các tế bào T không được tải nạp. Độc tính tế bào đối với các tế bào Raji là khoảng 40% hoặc bởi các tế bào V_HH CAR-T đơn đặc hiệu với CD19 (39%, ô trên cùng bên phải) hoặc CD20 (41%, ô dưới cùng bên trái). Khi cùng một CD19

V_HH và CD20 V_HH được dung hợp để làm miền liên kết kháng nguyên ngoại bào trong cùng một cấu trúc, tức là, trong các tế bào CAR-T song đặc hiệu với CD19xCD20, thì độc tính tế bào của các tế bào khối u Raji (75,24%) được tăng cường so với các tế bào CAR-T đơn đặc hiệu với CD19 V_HH CAR-T hoặc CD20 V_HH (ô dưới cùng bên phải của FIG.6).

Các nghiên cứu mô hình khối u ở chuột

Các con chuột NOG được truyền bằng $4x10^6$ tế bào Raji cho mỗi con chuột thông qua phương pháp tiêm tĩnh mạch đuôi. Sau 10 ngày, chuột được chia đều ngẫu nhiên thành bốn nhóm, trong đó mỗi nhóm được tiêm lần lượt các liều tương đương tế bào T không được tải nạp, các tế bào CAR-T CD19, các tế bào CAR-T CD20, hoặc những tế bào CAR-T song đặc hiệu với CD19xCD20, và được quan sát liên tục trong 5 tuần.

Như được thể hiện trên Fig.7, dữ liệu về mức sống sót *in vivo* cho thấy rằng tỷ lệ sống sót chung của chuột được điều trị bằng các CAR song đặc hiệu với CD19xCD20 cao hơn so với tỷ lệ sống sót chung của chuột được điều trị bằng các tế bào CAR-T đơn đặc hiệu với CD19 hoặc CD20.

Ví dụ 5. Điều chế các CAR hóa trị hai, đơn đặc hiệu làm ví dụ có hai miền liên kết BCMA khác nhau.

Các dòng vô tính V_HH tiềm năng như được mô tả trong Ví dụ 2 cũng có thể được sử dụng để tạo ra các CAR đơn đặc hiệu, đa hóa trị có hai hoặc nhiều miền liên kết đích khác nhau hơn nữa trong miền liên kết kháng nguyên ngoại bào. Hai dòng vô tính sdAb kháng BCMA tiêu biểu (dòng vô tính 269A37353 và dòng vô tính 269A37917) được chọn lựa để kiến tạo nhiều cấu trúc CAR hóa trị hai, đơn đặc hiệu khác nhau làm ví dụ trong ví dụ này.

Các CAR hóa trị hai hướng đích BCMA (tức là, các CAR BCMA hóa trị hai) có thể được tạo ra bằng cách dung hợp hai miền V_HH đặc hiệu với BCMA khác nhau thông qua gốc liên kết peptit thích hợp (ví dụ, polyme Gly-Ser), và kế tiếp, bằng cách chèn cấu trúc dung hợp này vào vật truyền khung chính miền tín hiệu CAR. Các cấu trúc CAR BCMA hóa trị hai làm ví dụ (GSI5021-GSI5026) có hai miền liên kết BCMA khác nhau 269A37353 và 269A37917 được liệt kê trong Bảng 5. Các gốc liên kết peptit có các chiều dài khác nhau được sử dụng trong các cấu trúc khác nhau. Các cấu trúc GSI5021-

GSI5023, thì mỗi cấu trúc mã hóa từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, 269A37353, gốc liên kết peptit, 269A37917, bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền tế bào chất của CD137, và miền tế bào chất của CD3ζ của người. Các cấu trúc GSI5024-GSI5026 thì mỗi cấu trúc mã hóa từ đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C: peptit tín hiệu CD8α, 269A37917, gốc liên kết peptit, 269A37353, bản lề CD8α, miền xuyên màng CD8α, miền tế bào chất của CD137, và miền tế bào chất của CD3ζ của người. Mỗi cấu trúc được dung hợp thêm với trình tự Kozak ở đầu 5' để đem lại trình tự mã hóa có chiều dài đầy đủ. Trình tự mã hóa có chiều dài đầy đủ này được tổng hợp trực tiếp và được tạo dòng vô tính vào khung chính PLLV-hEF1α-81373 CAR thông qua các vị trí giới hạn EcoRI và SpeI bằng cách sử dụng các quy trình tạo dòng vô tính phân tử thông thường đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ngược lại, các CAR hóa trị một, đơn đặc hiệu (GSI5019 và GSI5020, được liệt kê trong Bảng 4) có cùng một khung chính miền tín hiệu CAR được kiến tạo bằng cách sử dụng các phương pháp tương tự.

Các vật truyền lentivirut mang mỗi cấu trúc trong số các cấu trúc CAR GSI5019-GSI5026 được bao gói và chuẩn độ bằng các quy trình như được mô tả trong Ví dụ 2. Bằng cách sử dụng các quy trình được mô tả trong Ví dụ 2, PBMC của người được điều chế từ các mẫu máu ngoại vi từ các tình nguyện viên để phân lập thêm các tế bào T sơ cấp của người bằng cách sử dụng các bộ kit phân lập tế bào PanT của người của Miltenyi. Các tế bào T đã được tinh chế được hoạt hóa trước và nhân rộng bằng cách sử dụng các vi hạt kháng CD3/CD28 Miltenyi như được mô tả trong Ví dụ 2.

Sau đó, các tế bào T đã được hoạt hóa trước này được tải nạp bằng nguyên liệu gốc lentivirut với sự có mặt của 7 µg/ml polybren bằng phương pháp ly tâm ở mức 1200 g, 32°C trong 1,5 giờ. Sau đó, các tế bào đã được tải nạp được chuyển sang tủ ấp nuôi cấy tế bào dùng cho quá trình biểu hiện gen chuyển trong các điều kiện thích hợp.

Vào ngày 3 sau khi tải nạp, các tế bào T đã được tải nạp được thu hoạch và được ủ đồng thời với các tế bào khối u (các tế bào RPMI8226.Luc hoặc các tế bào U87MG.Luc) ở tỷ lệ chất tác động (CAR-T) trên tế bào đích là 20:1 trong 20 giờ. Các tế bào RPMI8226.Luc là những tế bào đa u tủy biểu hiện luxiferaza, và dương tính với BCMA. Các tế bào U87MG.Luc là tế bào u nguyên bào đệm biểu hiện luxiferaza, và âm tính với BCMA. Để thử nghiệm về độc tính tế bào của các CAR-T đối với các tế bào khối u, các chất phản ứng thử nghiêm luxiferaza phát quang One-glo (Promega sốE6110) được thêm

vào các tế bào đã được đồng nuôi cấy và độc tính tế bào đặc hiệu của mỗi CAR-T được đo như được mô tả trong Ví dụ 2.

Như được thể hiện trên Fig.8A, tỷ lệ phần trăm đặc hiệu của mức phân giải của các tế bào RPMI8226.Luc lần lượt là 88,21±1,29% bởi các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5019, 93,84±1,13% bởi các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5020, 71,45±1,79% bởi các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5021, 99,80±0,45% bởi các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5022, 97,46±0,50% bởi các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5023, 81,29±1,27% bởi các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5024, 93,50±0,47% bởi các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5025 87,83±0,23% bởi các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5026, so với 13,49%±1,75% bởi các tế bào T đối chứng không được tải nạp (UnT). Đồng thời, như được minh họa trên Fig.8B, tỷ lệ phần trăm mức phân giải đặc hiệu của dòng tế bào U87MG.Luc âm tính với BCMA là 2,84±7,41% bởi các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5019, 15,50±2,24% bởi các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5020, 6,74±3,37% bởi các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5021, 8,03±2,36% bởi các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5022, 9,00±1,88% bởi các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5023, 17,03±2,27% bởi các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5024, 16,81±1,98% bởi các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5025, -11,55±5,43% bởi các tế bào CAR-T biểu hiện GSI5026, so với 12,49%±3,79% bởi các tế bào T đối chứng không được tải nạp (UnT). Dữ liệu này cho thấy rằng các CAR đa hóa trị với các phương thức liên kết kháng nguyên khác nhau đã có hoạt tính chống khối u công hiệu chống lại các tế bào dương tính với BCMA nhưng không phải chống lại các tế bào âm tính với BCMA.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Thụ thể kháng nguyên thể khảm (CAR) chứa polypeptit bao gồm:
(a) miền liên kết kháng nguyên ngoại bào bao gồm kháng thể miền đơn (sdAb) thứ nhất liên kết đặc hiệu vào kháng nguyên thứ nhất và sdAb thứ hai liên kết đặc hiệu vào kháng nguyên thứ hai, trong đó mỗi sdAb trong số các sdAb thứ nhất và thứ hai là miền VHH;
(b) miền xuyên màng; và
(c) miền truyền tín hiệu nội bào.

2. CAR theo điểm 1, trong đó kháng nguyên thứ nhất là khác biệt với kháng nguyên thứ hai.

3. CAR theo điểm 1 hoặc điểm 2, trong đó sdAb thứ nhất nằm ở đầu tận cùng N của sdAb thứ hai.

4. CAR theo điểm 1 hoặc điểm 2, trong đó sdAb thứ nhất nằm ở đầu tận cùng C của sdAb thứ hai.

5. CAR theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-4, trong đó kháng nguyên thứ nhất và kháng nguyên thứ hai được chọn lựa từ nhóm gồm CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3, và glycolipit F77.

6. CAR theo điểm 5, trong đó sdAb thứ nhất là sdAb kháng BCMA.

7. CAR theo điểm 5, trong đó sdAb thứ nhất là sdAb kháng CD38.

8. CAR theo điểm 5, trong đó sdAb thứ nhất là sdAb kháng CD19.

9. CAR theo điểm 5, trong đó sdAb thứ nhất là sdAb kháng CD20.

10. CAR theo điểm 5, trong đó sdAb thứ nhất là sdAb kháng CD22.

11. CAR theo điểm 5, trong đó sdAb thứ nhất là sdAb kháng BCMA, và sdAb thứ hai là sdAb kháng CD38.

12. CAR theo điểm 5, trong đó sdAb thứ nhất là sdAb kháng BCMA, và sdAb thứ hai là sdAb kháng CD19.

13. CAR theo điểm 5, trong đó sdAb thứ nhất là sdAb kháng CD19, và sdAb thứ hai là sdAb kháng CD20.

14. CAR theo điểm 5, trong đó sdAb thứ nhất là sdAb kháng CD19, và sdAb thứ hai là sdAb kháng CD22.

15. CAR theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-10, trong đó kháng nguyên thứ nhất là giống kháng nguyên thứ hai.

16. CAR theo điểm 15, trong đó sdAb thứ nhất và sdAb thứ hai liên kết đặc hiệu vào cùng một epitop, hoặc trong đó sdAb thứ nhất và sdAb thứ hai gắn kết đặc hiệu với các epitop khác nhau.

17. CAR theo điểm 15 hoặc điểm 16, trong đó mỗi sdAb trong số sdAb thứ nhất và sdAb thứ hai là sdAb kháng BCMA.

18. CAR theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-17, trong đó sdAb thứ nhất và/hoặc sdAb thứ hai là kháng thể thuộc họ lạc đà, kháng thể thể khảm, kháng thể của người hoặc được nhân tính hóa.

19. CAR theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-18, trong đó sdAb thứ nhất và sdAb thứ hai được dung hợp trực tiếp với nhau thông qua một liên kết peptit.

20. CAR theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-18, trong đó sdAb thứ nhất và sdAb thứ hai được dung hợp với nhau thông qua một gốc liên kết peptit.

21. CAR theo điểm 20, trong đó gốc liên kết peptit này là dài từ 1 đến 50 axit amin.

22. CAR theo điểm 1, trong đó sdAb thứ nhất và/hoặc sdAb thứ hai là sdAb kháng CD19 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 1; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 2; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 3.

23. CAR theo điểm 1, trong đó sdAb thứ nhất và/hoặc sdAb thứ hai là sdAb kháng CD20 bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 4; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 5; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 6.

24. CAR theo điểm 1, trong đó sdAb thứ nhất và/hoặc sdAb thứ hai là sdAb kháng BCMA chứa một vùng bất kỳ trong số các vùng sau đây:

(1) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 7; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 18; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 29;

(2) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 8; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 19; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 30;

(3) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 9; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 20; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 31;

(4) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 10; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 21; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 32;

(5) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 11; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 22; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 33;

(6) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 12; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 23; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 34;

(7) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 13; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 24; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 35;

(8) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 14; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 25; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 36;

(9) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 15; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 26; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 37;

(10) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 16; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 27; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 38; hoặc

(11) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 17; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 28; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 39.

25. CAR theo điểm 1, trong đó sdAb thứ nhất và/hoặc sdAb thứ hai là sdAb kháng CD38 bao gồm CDR chứa một vùng bất kỳ trong số các vùng sau đây:

(1) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 40; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 52; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 64;

(2) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 41; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 53; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 65;

(3) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 42; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 54; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 66;

(4) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 43; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 55; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 67;

(5) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 44; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 56; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 68;

(6) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 45; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 57; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 69;

(7) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 46; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 58; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 70;

(8) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 47; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 59; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 71;

(9) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 48; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 60; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 72;

(10) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 49; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 61; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 73;

(11) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 50; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 62; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 74; hoặc

(12) CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 51; CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 63; và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 75.

26. CAR theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-25, trong đó miền xuyên màng được tạo ra từ một phân tử được chọn lựa từ nhóm gồm CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 và PD1.

27. CAR theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-25, trong đó miền truyền tín hiệu nội bào bao gồm miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp của tế bào tác động miễn dịch.

28. CAR theo điểm 27, trong đó miền truyền tín hiệu nội bào sơ cấp được tạo ra từ CD3ζ.

29. CAR theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-28, trong đó miền truyền tín hiệu nội bào chứa miền truyền tín hiệu đồng kích thích.

30. CAR theo điểm 29, trong đó miền truyền tín hiệu đồng kích thích được tạo ra từ một phân tử đồng kích thích được chọn lựa từ nhóm gồm CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, các phối tử của CD83 và các dạng kết hợp của chúng.

31. CAR theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-30, còn bao gồm một vùng bản lề nằm giữa đầu tận cùng C của miền liên kết kháng nguyên ngoại bào và đầu tận cùng N của miền xuyên màng.

32. CAR theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-31, còn bao gồm peptit tín hiệu nằm ở đầu tận cùng N của polypeptit.

33. CAR theo điểm 1 bao gồm trình tự axit amin được chọn lựa từ nhóm gồm các SEQ ID NO:200, 201 và 207-216.

34. CAR theo điểm 1 hoặc 32, trong đó CAR này là CAR đa đặc hiệu, và trong đó tùy ý CAR đa đặc hiệu này là CAR đặc hiệu kép.

35. CAR theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1, 32 hoặc 34, trong đó sdAb thứ nhất và thứ hai là khác nhau.

36. CAR theo điểm 1, trong đó CAR này là CAR BCMA đa giá và trong đó sdAb kháng BCMA thứ nhất bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 16, CDR2

có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 27, và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 38, và trong đó sdAb kháng BCMA thứ hai bao gồm CDR1 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 9, CDR2 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 20 và CDR3 có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 31.

37. Axit nucleic đã được phân lập có trình tự axit nucleic mã hóa CAR theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-36.

38. Vật truyền chứa axit nucleic đã được phân lập theo điểm 37.

39. Tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ chứa CAR theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-36, axit nucleic đã được phân lập theo điểm 37, hoặc vật truyền theo điểm 38.

40. Tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ theo điểm 39, trong đó tế bào tác động miễn dịch này là tế bào T.

41. Dược phẩm chứa tế bào tác động miễn dịch được xử lý công nghệ theo điểm 39 hoặc 40 và chất mang dược dụng.

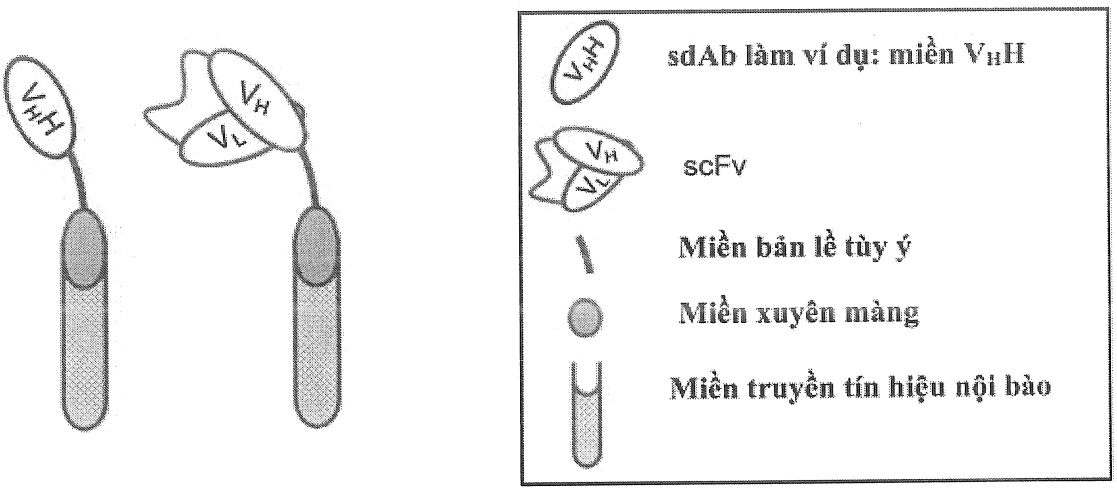

V_HH
V_H
V_L
sdAb làm ví dụ: miền V_HH
scFv
Miền bản lề tùy ý
Miền xuyên màng
Miền truyền tín hiệu nội bào

FIG. 1A

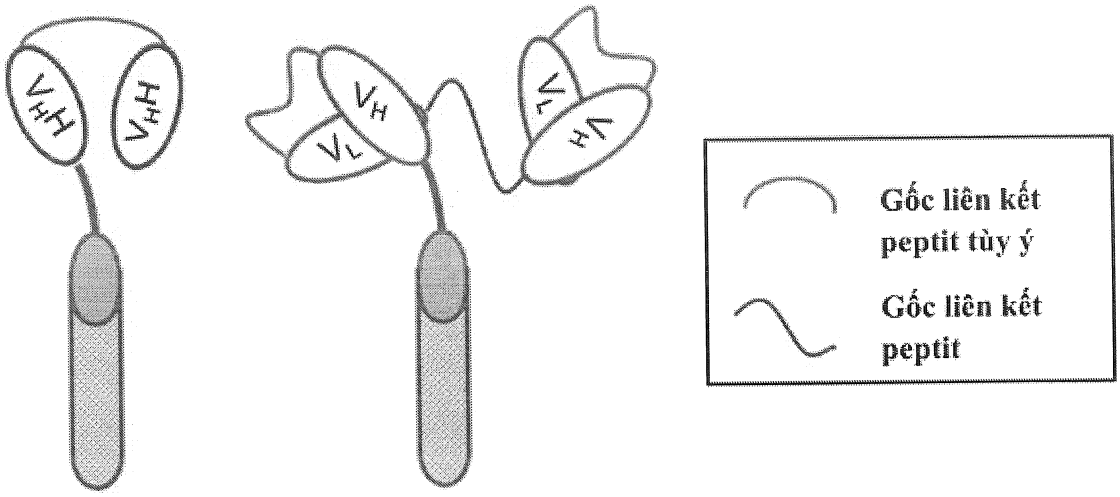

V_HH
V_HH
V_H
V_L
V_L
V_H
Gốc liên kết peptit tùy ý
Gốc liên kết peptit

FIG. 1B

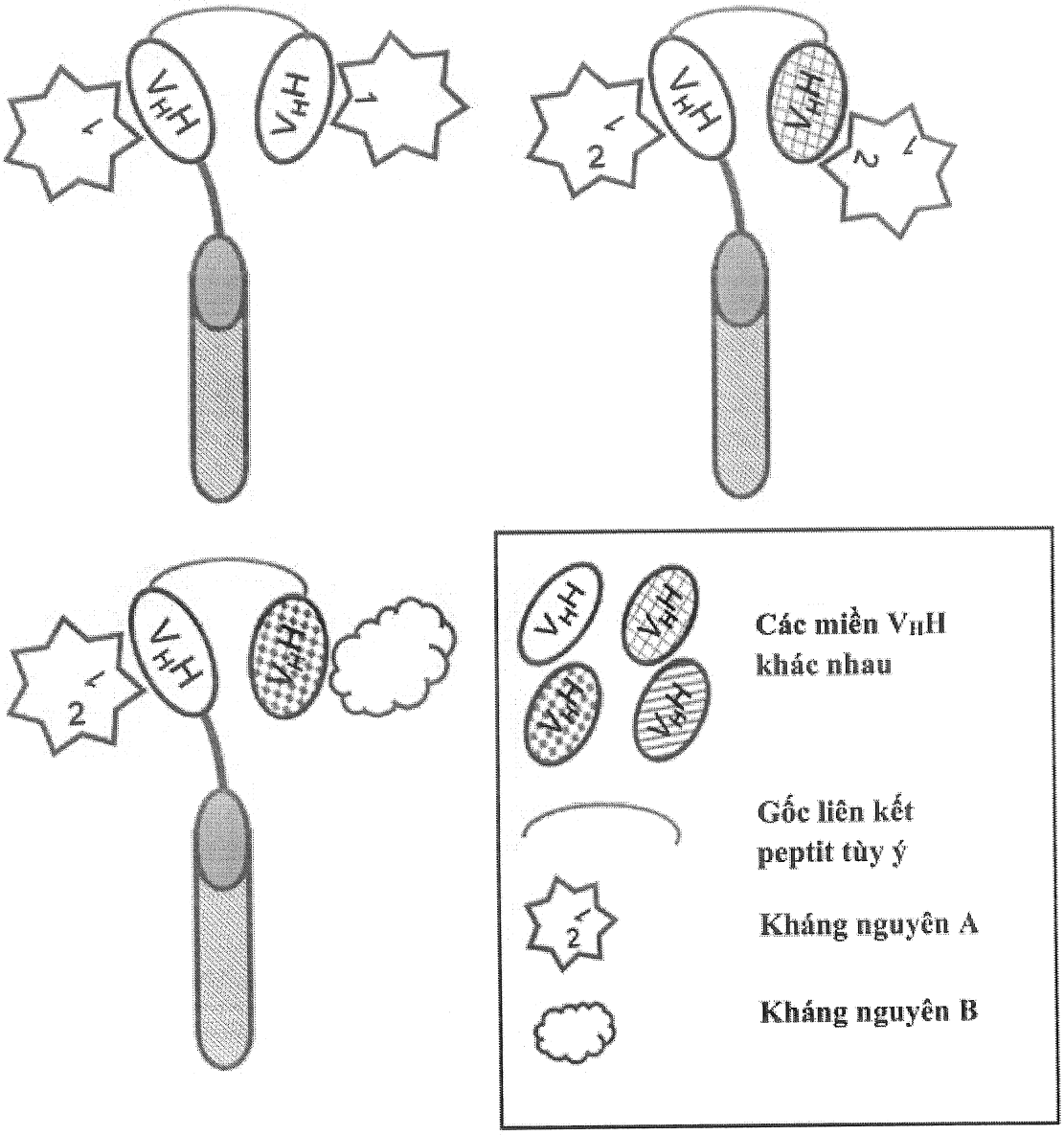

Các miền VHH khác nhau
Gốc liên kết peptit tùy ý
Kháng nguyên A
Kháng nguyên B

FIG. 1C

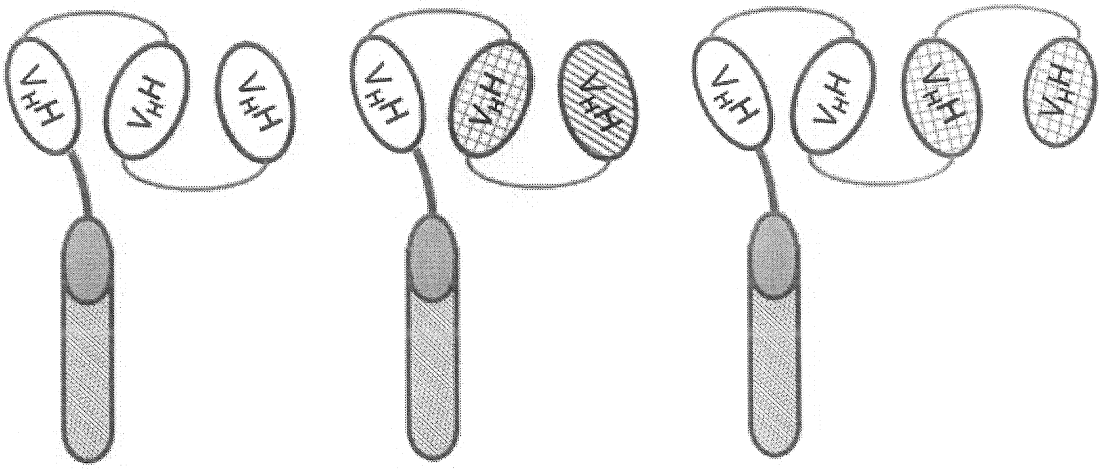

VHH
VHH
VHH
VHH
VHH
VHH
VHH
VHH
VHH
VHH

FIG. 1D

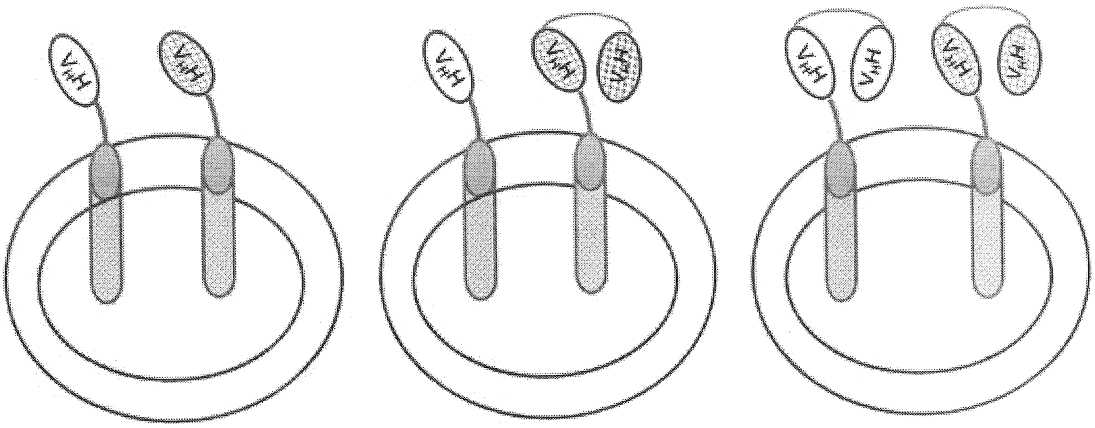

VHH
VHH
VHH
VHH
VHH
VHH
VHH
VHH
VHH

FIG. 1E

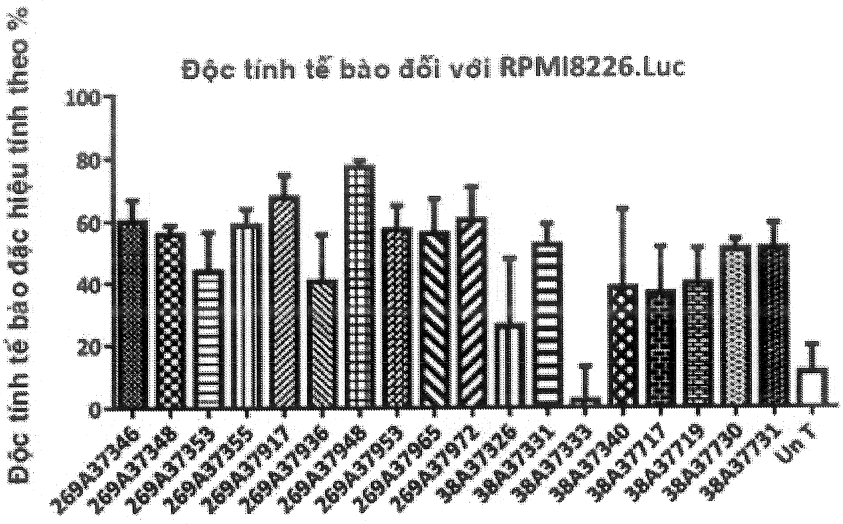

Độc tính tế bào đối với RPMI8226.Luc
Độc tính tế bào đặc hiệu tính theo %
100
80
60
40
20
0
269A37346
269A37348
269A37353
269A37355
269A37917
269A37936
269A37948
269A37953
269A37965
269A37972
38A37326
38A37331
38A37333
38A37340
38A37717
38A37719
38A37730
38A37731
Un T

FIG. 2A

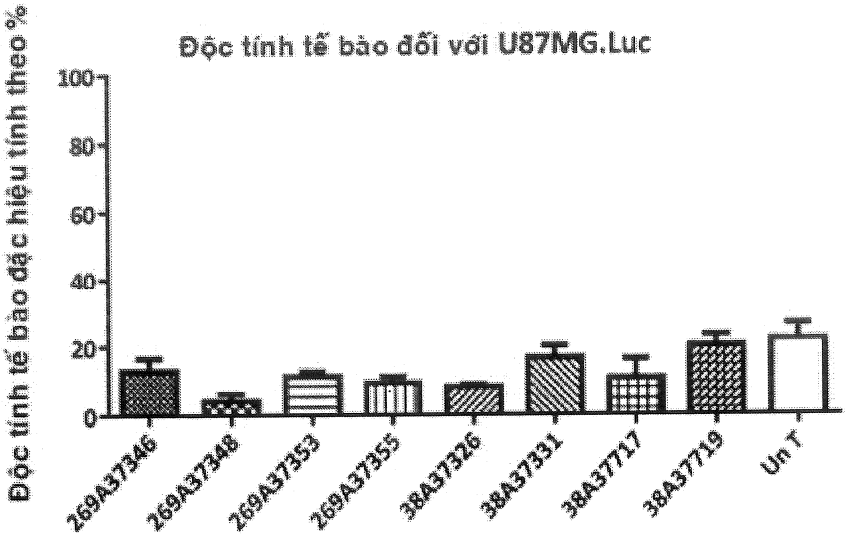

Độc tính tế bào đối với U87MG.Luc
Độc tính tế bào đặc hiệu tính theo %
100
80
60
40
20
0
269A37346
269A37348
269A37353
269A37355
38A37326
38A37331
38A37717
38A37719
Un T

FIG. 2B

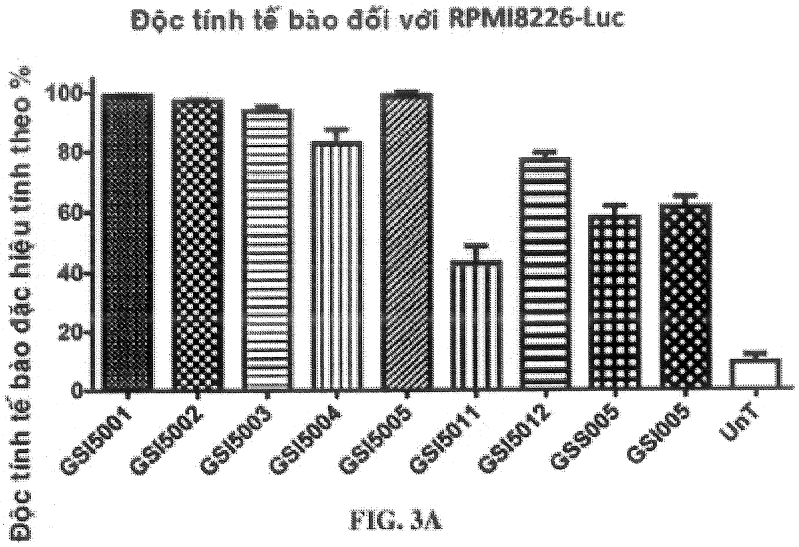


FIG. 3A

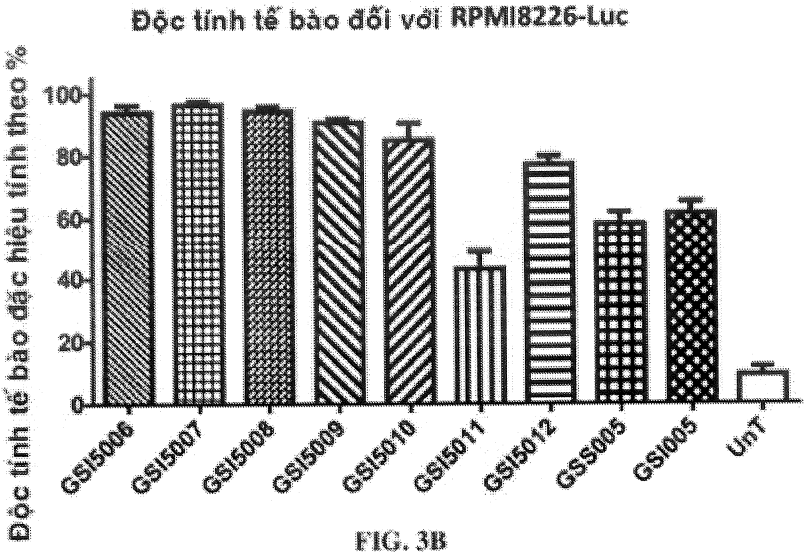


FIG. 3B

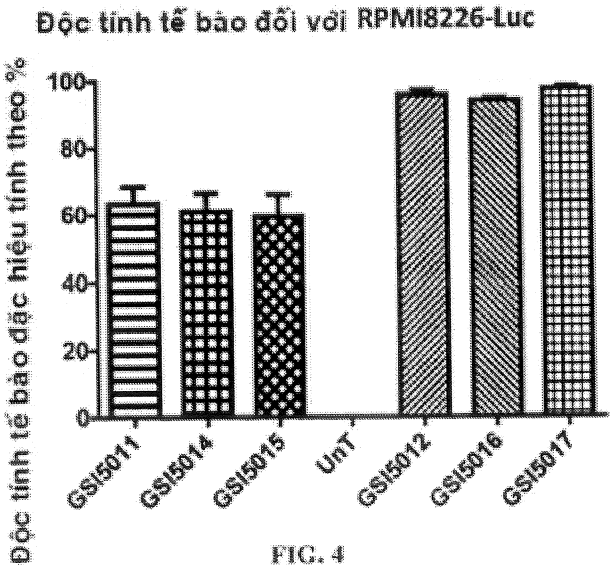
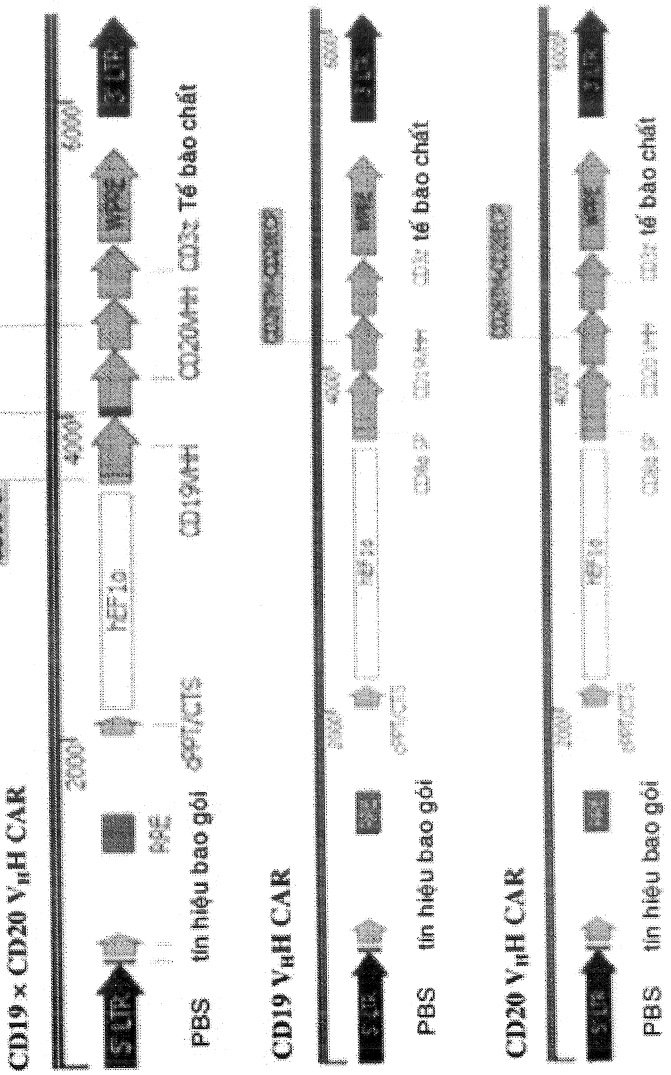


FIG. 4

FIG. 5


CD19 × CD20 VHH CAR
5' LTR
PBS
tín hiệu bao gói
CD19VHH
CD20VHH
CD3ζ Tế bào chất
3' LTR
CD19 VHH CAR
CD3ζ tế bào chất
CD20 VHH CAR

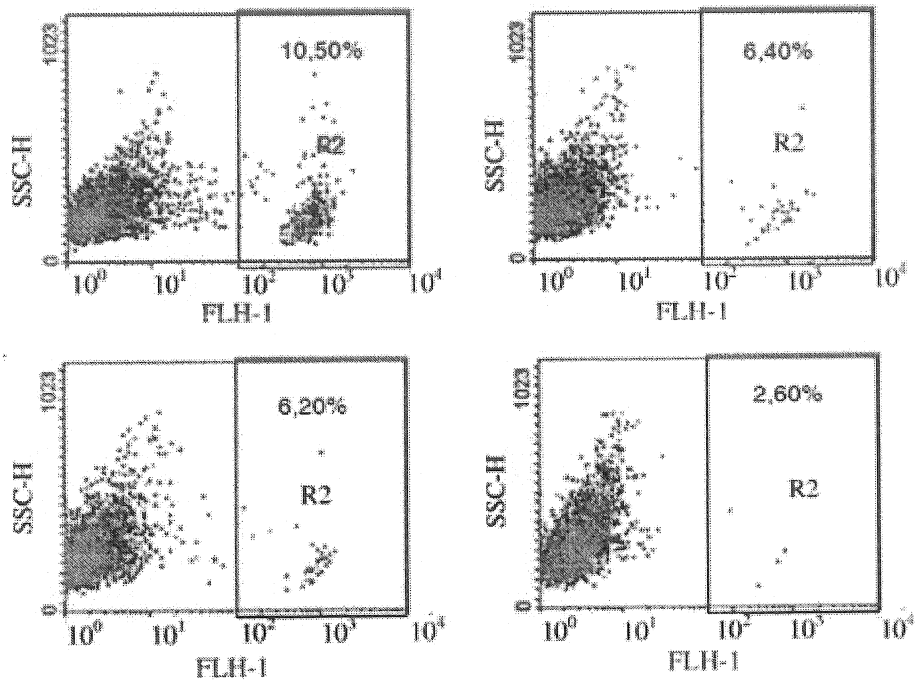

10,50%
R2
6,40%
R2
6,20%
R2
2,60%
R2
SSC-H
FLH-1
1023
0

FIG. 6

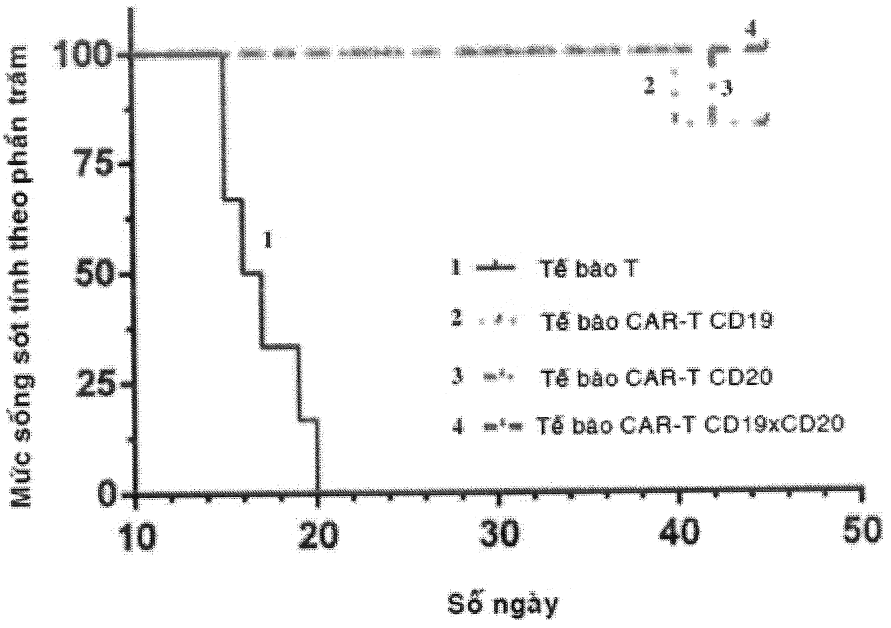

Mức sống sót tính theo phần trăm
100
75
50
25
0
10
20
30
40
50
Số ngày
1 Tế bào T
2 Tế bào CAR-T CD19
3 Tế bào CAR-T CD20
4 Tế bào CAR-T CD19xCD20

FIG. 7

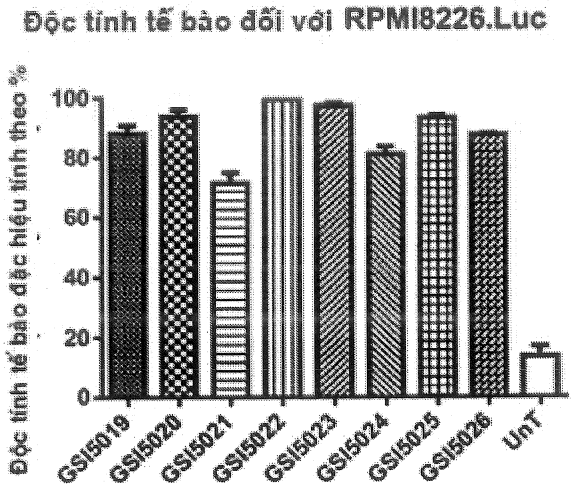

Độc tính tế bào đối với RPMI8226.Luc
Độc tính tế bào đặc hiệu tính theo %
100
80
60
40
20
0
GSI5019
GSI5020
GSI5021
GSI5022
GSI5023
GSI5024
GSI5025
GSI5026
UnT

FIG. 8A

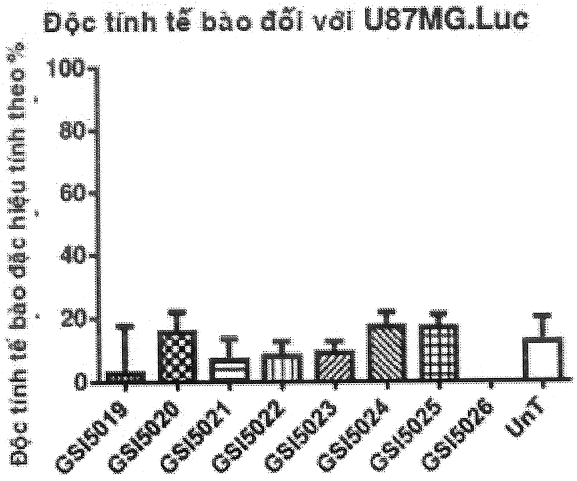

Độc tính tế bào đối với U87MG.Luc
Độc tính tế bào đặc hiệu tính theo %
100
80
60
40
20
0
GSI5019
GSI5020
GSI5021
GSI5022
GSI5023
GSI5024
GSI5025
GSI5026
UnT

FIG.8B

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Nanjing Legend Biotech Co., Ltd.
Fan, Xiaohu
Chou, Chuan-chu
Zhuang, Qiuchuan
Wang, Pingyan
Wang, Lin
Yang, Lei
Hao, Jiaying

<120> Thụ thể kháng nguyên thể khảm, axit nucleic phân lập mã hóa thụ thể kháng nguyên thể khảm này, vật truyền chứa axit nucleic phân lập này, tế bào tác động miễn dịch chứa chúng và dược phẩm chứa tế bào tác động miễn dịch này

<130> 761422000340

<140> Chưa được gán
<141> Đồng thời với văn bản này

<160> 277

<170> FastSEQ dùng cho Windows phiên bản 4.0

<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH kháng thể miền đơn CD19

<400> 1
Ile Asn Arg Met Gly
1 5

<210> 2
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH kháng thể miền đơn CD19

<400> 2
Ser Ile Thr Val Arg Gly Ile Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 3
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH kháng thể miền đơn CD19

<400> 3

Val Ser Ser Asn Arg Asp Pro Asp Tyr
1 5

<210> 4
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH kháng thể miền đơn CD20

<400> 4
Ile Gly Thr Met Gly
1 5

<210> 5
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH kháng thể miền đơn CD20

<400> 5
Ala Ile Arg Trp Ser Thr Gly Gly Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 6
<211> 20
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH kháng thể miền đơn CD20

<400> 6
Asp Arg Leu Ser Leu Asp Leu Ser Gly Arg Tyr His Tyr Asn Pro Ala
1 5 10 15
Val Tyr Asp Tyr
20

<210> 7
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH BCMA 269A37346

<400> 7
Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly
1 5 10

<210> 8

<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH BCMA 269A37348

<400> 8
Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met Ala
1 5 10

<210> 9
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH BCMA 269A37917

<400> 9
Ser Gly Arg Thr Phe Thr Met Gly
1 5

<210> 10
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH BCMA 269A37355

<400> 10
Ser Gly Gly Ile Phe Val Ile Asn Ala Met Gly
1 5 10

<210> 11
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH BCMA 269A37915

<400> 11
Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Ile Val Met Gly
1 5 10

<210> 12
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH BCMA 269A37936

<400> 12
Ser Gly Phe Thr Phe Asp Arg Ala Val Ile Val

1 5 10

<210> 13
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH BCMA 269A37953

<400> 13
Ser Thr Tyr Thr Val Asn Ser Asp Val Met Gly
1 5 10

<210> 14
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH BCMA 269A37965

<400> 14
Ser Gly Ala Thr Leu Thr Asn Asp His Met Ala
1 5 10

<210> 15
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH BCMA 269A37972

<400> 15
Ser Gly Gly Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala
1 5 10

<210> 16
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH BCMA 269A37353

<400> 16
Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly
1 5 10

<210> 17
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> CDR1 VHH BCMA 269A37948

<400> 17
Ser Gly Arg Ala Phe Ser Thr Tyr Phe Met Ala
1 5 10

<210> 18
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH BCMA 269A37346

<400> 18
Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 19
<211> 19
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH BCMA 269A37348

<400> 19
Ser Lys Ala Ser Met Asn Tyr Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15
Val Lys Gly

<210> 20
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH BCMA 269A37917

<400> 20
Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 21
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH BCMA 269A37355

<400> 21

Ser Ile Arg Gly Leu Gly Arg Thr Asn Tyr Asp Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 22
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH BCMA 269A37915

<400> 22
Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Gln Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 23
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH BCMA 269A37936

<400> 23
Phe Ile Lys Pro Ser Asp Gly Thr Ile Tyr Tyr Ile Asp Ser Leu Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 24
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH BCMA 269A37953

<400> 24
Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Gln Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 25
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH BCMA 269A37965

<400> 25
Ala Ile Asp Trp Ser Gly Arg Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Pro Val Glu
1 5 10 15
Gly

<210> 26
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH BCMA 269A37972

<400> 26
Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 27
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH BCMA 269A37353

<400> 27
Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 28
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH BCMA 269A37948

<400> 28
Gly Ile Ala Trp Ser Gly Gly Ser Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 29
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH BCMA 269A37346

<400> 29
Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe
1 5 10

<210> 30
<211> 18
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH BCMA 269A37348

<400> 30
Ala Gly Thr Gly Cys Ser Thr Tyr Gly Cys Phe Asp Ala Gln Ile Ile
1 5 10 15
Asp Tyr

<210> 31
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH BCMA 269A37917

<400> 31
Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
1 5 10

<210> 32
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH BCMA 269A37355

<400> 32
Val Tyr Val Thr Leu Leu Gly Gly Val Asn Arg Asp Tyr
1 5 10

<210> 33
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH BCMA 269A37915

<400> 33
Ala Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr
1 5 10

<210> 34
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH BCMA 269A37936

<400> 34
Ala Ser Pro Glu Asp Trp Tyr Thr Asp Trp Ile Asp Trp Ser Ile Tyr
1 5 10 15
Arg

<210> 35
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH BCMA 269A37953

<400> 35
Ala Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr
1 5 10

<210> 36
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH BCMA 269A37965

<400> 36
Val Leu Arg Ala Trp Ile Ser Tyr Asp Asn Asp Tyr
1 5 10

<210> 37
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH BCMA 269A37972

<400> 37
Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala Asp Tyr
1 5 10

<210> 38
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH BCMA 269A37353

<400> 38
Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser
1 5 10

<210> 39

<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH BCMA 269A37948

<400> 39
Ser Arg Gly Ile Glu Val Glu Glu Phe Gly Ala
 1   5   10

<210> 40
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH CD38 38A37333

<400> 40
Ser Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr Pro Met Met
 1   5   10

<210> 41
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH CD38 38A37336

<400> 41
Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asn Trp Met Tyr
 1   5   10

<210> 42
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH CD38 38A37699

<400> 42
Ser Gly Arg Ile Phe Ser Ile Asn Ala Met Gly
 1   5   10

<210> 43
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH CD38 38A37331

<400> 43
Ser Gly Ser Ile Phe Lys Val Phe Arg Val Phe Ala Met Ser

1 5 10

<210> 44
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH CD38 38A37717

<400> 44
Thr Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly
1 5 10

<210> 45
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH CD38 38A37719

<400> 45
Ser Ala Ser Ile Phe Thr Arg Leu Pro Met Gly
1 5 10

<210> 46
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH CD38 38A37330

<400> 46
Ser Gly Arg Ala Tyr Ala Thr Met Ala
1 5

<210> 47
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH CD38 38A37334

<400> 47
Ser Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr Ile Met Gly
1 5 10

<210> 48
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> CDR1 VHH CD38 38A37730

<400> 48
Ser Gln Gly Ile Phe Thr Ile Asn Ala Met Gly
1 5 10

<210> 49
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH CD38 38A37340

<400> 49
Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ala
1 5 10

<210> 50
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH CD38 38A37731

<400> 50
Ser Gly Thr Ile Val Ser Ile Ser Thr Met Gly
1 5 10

<210> 51
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR1 VHH CD38 38A37326

<400> 51
Ser Gly Arg Thr Tyr Ala Met Gly
1 5

<210> 52
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH CD38 38A37333

<400> 52
Arg Ile Ser Asp Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Asp Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 53
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH CD38 38A37336

<400> 53
Thr Ile Ser Thr Asp Gly Arg Gly Thr Tyr Tyr Lys Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 54
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH CD38 38A37699

<400> 54
Ala Ile Ser Thr Ala Gly Ser Thr Asn Tyr Gly Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 55
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH CD38 38A37331

<400> 55
Ser Ile Ser Ser Gly Glu Thr Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 56
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH CD38 38A37717

<400> 56
Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly
1 5 10 15

<210> 57
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH CD38 38A37719

<400> 57
Gly Ile Val Pro Ser Gly Arg Ile Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 58
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH CD38 38A37330

<400> 58
His Leu Arg Val Ser Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 59
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH CD38 38A37334

<400> 59
Glu Ile Ser Ser Gly Gly Met Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 60
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH CD38 38A37730

<400> 60
Glu Val Ser Ser Gly Gly Arg Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 61
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH CD38 38A37340

<400> 61
Ser Ile Ser Thr Ser Gly Gly Ile Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 62
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH CD38 38A37731

<400> 62
Thr Ile Thr Arg Arg Gly Arg Thr Asn Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 63
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR2 VHH CD38 38A37326

<400> 63
Thr Ile Ser Gly Ala Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 64
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH CD38 38A37333

<400> 64
Ile Leu Gly Leu Pro Thr
1 5

<210> 65
<211> 18
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH CD38 38A37336

<400> 65
Lys Glu Pro Arg Val Leu Met Ala Tyr Leu Arg Asn Leu Gly Asp Phe
1 5 10 15
Gly Ser

<210> 66
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> CDR3 VHH CD38 38A37699

<400> 66
Leu Asn Phe Pro Pro Tyr Val Tyr
1 5

<210> 67
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH CD38 38A37331

<400> 67
Ala Asp His Thr Phe Thr Gly Asp Phe
1 5

<210> 68
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH CD38 38A37717

<400> 68
Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr
1 5

<210> 69
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH CD38 38A37719

<400> 69
Ala Asp Thr Phe Pro Leu Pro Thr
1 5

<210> 70
<211> 19
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH CD38 38A37330

<400> 70
Gly Pro Tyr Gly Ile Leu Ala Ala Ala Arg Val Ser Asn Pro Gly Asn
1 5 10 15
Tyr Asp Tyr

<210> 71
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH CD38 38A37334

<400> 71
Ala Pro Glu Arg Gly Ser Ile Trp Tyr Ser Arg Tyr Glu Tyr Lys Tyr
1 5 10 15

<210> 72
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH CD38 38A37730

<400> 72
Val Ser Gly Trp His Val Phe Val Gly Asp Arg Ile Val
1 5 10

<210> 73
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH CD38 38A37340

<400> 73
Ala Arg Thr Trp Tyr Leu Arg Thr Ser Leu Gln Tyr Asp Tyr
1 5 10

<210> 74
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH CD38 38A37731

<400> 74
Ala Glu Val Gln Leu Asp Ile Trp Ala Ser Ala Tyr Asp Tyr
1 5 10

<210> 75
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CDR3 VHH CD38 38A37326

<400> 75

Ala Gly Lys Trp Phe Pro Ala Ala Asn Glu Tyr
1 5 10

<210> 76
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH kháng thể miền đơn CD19

<400> 76
Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Glu Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Pro Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn Ile Phe Ser Ile Asn
20 25 30
Arg Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Ala Phe Val
35 40 45
Ala Ser Ile Thr Val Arg Gly Ile Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ile Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ala Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95
Ala Val Ser Ser Asn Arg Asp Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 77
<211> 129
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH kháng thể miền đơn CD20

<400> 77
Pro Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Gly Ile Gly
20 25 30
Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ala Ile Arg Trp Ser Thr Gly Gly Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Leu Thr Val Asp
65 70 75 80
Leu Gln Met Asp Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Asp Arg Leu Ser Leu Asp Leu Ser Gly Arg Tyr His Tyr Asn
100 105 110
Pro Ala Val Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
115 120 125
Ser

<210> 78

<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37346

<400> 78
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr
20 25 30
Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45
Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe Arg
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 79
<211> 128
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37348

<400> 79
Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Gln Pro Arg Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30
Gly Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Ser Lys Ala Ser Met Asn Tyr Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ala Arg Asp Asn Ala Lys Asn Met
65 70 75 80
Val Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ser Thr Tyr Gly Cys Phe Asp Ala
100 105 110
Gln Ile Ile Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 80
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37917

<400> 80
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Thr Met Gly
20 25 30
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile
35 40 45
Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg
50 55 60
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Val Leu Gln Met
65 70 75 80
Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp
85 90 95
Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Gln Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 81
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37355

<400> 81
Ala Val Gln Leu Val Asp Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Gly Ile Phe Val Ile Asn
20 25 30
Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45
Ala Ser Ile Arg Gly Leu Gly Arg Thr Asn Tyr Asp Asp Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Asn Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr
85 90 95
Val Tyr Val Thr Leu Leu Gly Gly Val Asn Arg Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 82
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37915

<400> 82
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Ile
20 25 30
Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Gly Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Gln Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 83
<211> 128
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37936

<400> 83
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Thr Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Arg Ala
20 25 30
Val Ile Val Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Gly Val
35 40 45
Ser Phe Ile Lys Pro Ser Asp Gly Thr Ile Tyr Tyr Ile Asp Ser Leu
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Ile Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Lys Ser Leu Glu Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Ser Pro Glu Asp Trp Tyr Thr Asp Trp Ile Asp Trp Ser Ile
100 105 110
Tyr Arg Trp Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 84
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37953

<400> 84
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Met Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Gln Ser Thr Tyr Thr Val Asn Ser Asp
20 25 30
Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Gly Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Gln Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly

```
            100                 105                 110
Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 85
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37965

<400> 85

```
Ala Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
 1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Ala Thr Leu Thr Asn Asp
            20                  25                  30
His Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45
Ala Ala Ile Asp Trp Ser Gly Arg Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Pro Val
    50                  55                  60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asn Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Glu Met Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Val Leu Arg Ala Trp Ile Ser Tyr Asp Asn Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 86
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37972

<400> 86

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ser Lys Asn
            20                  25                  30
Thr Val Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Phe Val
        35                  40                  45
Ala Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys
                85                  90                  95
Ala Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 87
<211> 119

<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37353

<400> 87
Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His
20 25 30
Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val
35 40 45
Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 88
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37948

<400> 88
Ala Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Arg Ala Phe Ser Thr Tyr
20 25 30
Phe Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45
Ala Gly Ile Ala Trp Ser Gly Gly Ser Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ser Arg Gly Ile Glu Val Glu Glu Phe Gly Ala Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 89
<211> 114
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37333

<400> 89

```
Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Pro Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ser Arg Ile Ser Asp Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Asp Asp Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Arg Ile Leu Gly Leu Pro Thr Thr Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
            100                 105                 110
Ser Ser
```

<210> 90
<211> 126
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37336

<400> 90

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asn
            20                  25                  30
Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Thr Ile Ser Thr Asp Gly Arg Gly Thr Tyr Tyr Lys Asp Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Met Ser Thr Leu Leu
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Lys Glu Pro Arg Val Leu Met Ala Tyr Leu Arg Asn Leu Gly Asp
            100                 105                 110
Phe Gly Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 91
<211> 115
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37699

<400> 91

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ile Phe Ser Ile Asn
            20                  25                  30
Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
        35                  40                  45
Ala Ala Ile Ser Thr Ala Gly Ser Thr Asn Tyr Gly Asp Ser Val Lys
```

```
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80
Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
                85                  90                  95
Leu Asn Phe Pro Pro Tyr Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
            100                 105                 110
Val Ser Ser
        115
```

<210> 92
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37331

<400> 92
```
Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Glu
 1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Ser Ile Phe Lys Val Phe
            20                  25                  30
Arg Val Phe Ala Met Ser Trp Tyr Arg Gln Gly Pro Gly Lys Gln Arg
        35                  40                  45
Glu Leu Val Ala Ser Ile Ser Ser Gly Glu Thr Thr Thr Tyr Ala Asp
    50                  55                  60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
65                  70                  75                  80
Ala Tyr Leu Gln Met Asp Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95
Tyr Cys Asn Ala Asp His Thr Phe Thr Gly Asp Phe Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110
Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 93
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37717

<400> 93
```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr
            20                  25                  30
Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
        35                  40                  45
Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr Asp Asp Phe Val Ser
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80
Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg
                85                  90                  95
Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
            100                 105                 110
```

Thr Val Ser Ser
115

<210> 94
<211> 115
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37719

<400> 94
Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Ser Ile Phe Thr Arg Leu
20 25 30
Pro Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45
Val Gly Ile Val Pro Ser Gly Arg Ile Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg
85 90 95
Ala Asp Thr Phe Pro Leu Pro Thr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 95
<211> 126
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37330

<400> 95
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ala Tyr Ala Thr Met
20 25 30
Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala His
35 40 45
Leu Arg Val Ser Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly
50 55 60
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
65 70 75 80
Met Asn Met Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala
85 90 95
Gly Pro Tyr Gly Ile Leu Ala Ala Ala Arg Val Ser Asn Pro Gly Asn
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 96
<211> 123
<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37334

<400> 96
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1   5   10   15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr
            20   25   30
Ile Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Glu Glu Arg Glu Leu Val
        35   40   45
Ala Glu Ile Ser Ser Gly Gly Met Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
    50   55   60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Gly Tyr Leu
65   70   75   80
Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85   90   95
Ala Pro Glu Arg Gly Ser Ile Trp Tyr Ser Arg Tyr Glu Tyr Lys Tyr
            100   105   110
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115   120

<210> 97
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37730

<400> 97
Ala Val Gln Leu Val Asp Ser Gly Gly Gly Leu Ala Gln Thr Gly Gly
 1   5   10   15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gln Gly Ile Phe Thr Ile Asn
            20   25   30
Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Val Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
        35   40   45
Ala Glu Val Ser Ser Gly Gly Arg Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
    50   55   60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65   70   75   80
Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Arg
                85   90   95
Val Ser Gly Trp His Val Phe Val Gly Asp Arg Ile Val Trp Gly Gln
            100   105   110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115   120

<210> 98
<211> 123
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37340

<400> 98
Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp

```
 1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Ala Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ile Val
        35                  40                  45
Ser Ser Ile Ser Thr Ser Gly Gly Ile Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ala Lys Met Asn Thr Val
65                  70                  75                  80
Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
                85                  90                  95
Cys Ala Ala Arg Thr Trp Tyr Leu Arg Thr Ser Leu Gln Tyr Asp Tyr
            100                 105                 110
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 99
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37731

<400> 99

```
Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Thr Ile Val Ser Ile Ser
            20                  25                  30
Thr Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
        35                  40                  45
Ala Thr Ile Thr Arg Arg Gly Arg Thr Asn Tyr Thr Asp Ser Val Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80
Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
                85                  90                  95
Ala Glu Val Gln Leu Asp Ile Trp Ala Ser Ala Tyr Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110
Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ala Ser
        115                 120
```

<210> 100
<211> 115
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37326

<400> 100

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Tyr Ala Met Gly
            20                  25                  30
Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val Ala Thr Ile
        35                  40                  45
Ser Gly Ala Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
    50                  55                  60
```

Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Met Tyr Leu Gln Met Asn
65 70 75 80
Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Lys
85 90 95
Trp Phe Pro Ala Ala Asn Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 101
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH kháng thể miền đơn CD19

<400> 101
caggtaaagc tggaggagtc tgggggagaa ttggtgcagc ctgggggggcc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctcgggaaa catcttcagt atcaatcgca tgggctggta ccgccaggct 120
ccagggaagc agcgcgcgtt cgtcgcatct attactgttc gtggtataac aaactatgca 180
gactccgtga agggccgatt caccatttct gtagacaagt ccaaaaacac gatttatctg 240
cagatgaacg cactcaaacc tgaggacacg gccgtctatt attgtaatgc agtgtcttca 300
aacagggacc ccgactactg gggccagggg acccaggtca ccgtctcctc a 351

<210> 102
<211> 387
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH kháng thể miền đơn CD20

<400> 102
ccggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtgcagg ctggggattc tctgagactc 60
tcctgtgctg cctctggacg caccttcggt attggtacca tgggctggtt ccgccaacct 120
ccagggaagg agcgtgaatt tgtagcagct attaggtgga gtactggtgg cactcgctat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tcccgagaca acgccaagct cacggtagat 240
ctgcaaatgg acagcctgaa acctgaagac acggccgttt attactgtgc agcagataga 300
ctgtcccttg atttaagtgg tcgttaccac tacaaccccg ccgtgtatga ctattggggc 360
caggggaccc aggtcaccgt ctcctca 387

<210> 103
<211> 366
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37346

<400> 103
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtgcagc ctgggggttc tctgaggctc 60
tcctgtgaag cctctggatt cactttggat tattatgcca taggctggtt ccgccaggcc 120
ccagggaagg agcgcgaggg ggtcatatgt attagtagaa gtgatggtag cacatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa aacggtgtat 240
ctgcaaatga tcagcctgaa acctgaggac acggccgctt attactgtgc agcaggggcc 300
gattgttcgg ggtacctacg agattatgag ttccgggggc aggggaccca ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 104

<211> 384
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37348

<400> 104
caggtaaagc tggaggagtc tgggggacga ttggtgcagc caaggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag gctctggacg cactttcagt acctatggta tggcctggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgagtt cgtagcgtct aaagcatcga tgaattacag cggtagaaca 180
tactatgcag actccgtgaa gggccgattc accatcgcca gagacaacgc caagaacatg 240
gtgtttctgc aaatgaacaa cctgaagcct gaggacacgg ccgtttatta ctgtgcagcg 300
ggcactggat gctcaacata tgggtgtttt gacgcccaga taatagacta ctggggcaaa 360
gggaccctgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 105
<211> 354
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37917

<400> 105
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtgcagg ctgggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg caccttcacc atggggtggt tccgtcaggc tccagggaag 120
gagcgtgagt ttgtagcagc tattagtttg agtcctactt tagcatatta tgcagagtcc 180
gtgaagggcc gattcaccat cagccgagac aacgccaaga acacggtggt tttgcaaatg 240
aacagcctga aacctgagga cacggccctt tattactgtg cagcagaccg gaaatcagta 300
atgtctattc ggcccgacta ctggggccag gggacccagg tcaccgtctc ctca 354

<210> 106
<211> 360
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37355

<400> 106
gccgtgcagc tggtggattc tgggggaggc ttggtgcagc ctgggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgtag cctctggagg tatcttcgtc atcaatgcca tgggctggta ccgccaggct 120
ccaggaaagc agcgcgagtt ggtcgcatct attcgtggac taggcagaac aaactatgac 180
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaacaacac ggtgtatctg 240
cagatgaaca gcctggaacc tgaggacacg gccgtctact actgtacagt ctacgttaca 300
ctacttggtg gggttaatag ggactactgg ggccagggga cccaggtcac cgtctcctca 360

<210> 107
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37915

<400> 107
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg gaccttcagt agcattgtca tgggctggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgagtt tgtaggagcg attatgtgga atgatggtat tacatacttg 180

caagactccg tgaagggccg atttaccatc ttcagagaca atgccaagaa cacggtgtat 240
ctgcaaatga acagcctgaa acttgaggat acggccgttt attactgtgc agcatccaag 300
ggtagatact cggaatatga gtactggggc caggggaccc aggtcaccgt ctcctca 357

<210> 108
<211> 384
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37936

<400> 108
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtgcagg ctgggggggtc tctgacagtc 60
tcctgtacag cctctggatt cactttcgac cgtgctgtca tagtctggtt ccgccaggcc 120
cccgggaagg gccgtgaggg ggtctcattt attaaaccta gtgatggcac catatactac 180
attgactccc tgaagggccg attcacgatc tccagtgaca tcgccaagaa tacggtatat 240
ctgcaaatga aaagtctgga atcggaggac tcggccgttt attactgtgc ggcctcgcct 300
gaggactggt acacggattg gatcgactgg agtatatatc ggtggcagca ctggggccag 360
gggacccagg tcactgtctc ctca 384

<210> 109
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37953

<400> 109
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggagga atggtgcagg ctggggactc tctgagacta 60
tcctgtgtgc agtctactta caccgtcaat agcgatgtca tgggctggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgagtt tgtaggagcg attatgtgga atgatggtat tacatacttg 180
caagactccg tgaagggccg atttaccatc ttcagagaca acgccaagaa cacggtgtat 240
ctgcaaatga acagcctgaa acttgaggat acggccgttt attactgtgc agcatccaag 300
ggtagatact cggaatatga gtactggggc caggggaccc aggtcaccgt ctcctca 357

<210> 110
<211> 360
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37965

<400> 110
gcggtgcagc tggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctggggactc tctgagactc 60
tcctgtacag cctctggtgc aaccttgact aacgatcaca tggcatggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggcgtgaatt tgtagcagct attgactgga gtggtcgtac cacaaattac 180
gcagaccccg tagagggccg attcaccatc tccagaaaca acgccaagaa cacggtgtat 240
ctggaaatga acagcctgaa acttgaggac acggccgttt attactgtgc ggtcctccgc 300
gcttggatct catatgacaa tgactactgg ggccagggga cccaggtcac cgtctcctca 360

<210> 111
<211> 360
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37972

<400> 111
caggtgcagc tggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggagg caccttaagt aaaaataccg tggcttggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgggtt tgtagcgtct attacctggg atggtcgtac gacatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa cacagtgtat 240
ctgcaaatga acagcctgaa acctgaggat acggccgttt atgtctgtgc agacttaggg 300
aaatggcctg cgggcccggc ggactactgg ggccagggga cccaggtcac cgtctcctca 360

<210> 112
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37353

<400> 112
caggtaaagc tggaggagtc tgggggaggc ttggtgcagg ctgggcggtc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctgaaca caccttcagt agccatgtca tgggctggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgagtc tgttgcagtt attggctgga gagatattag cacaagctat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa gacgctgtat 240
ctgcaaatga atagcctgaa acctgaggac acggccgttt actactgtgc agcacgtcgg 300
atcgacgcag ctgactttga ttcctggggg caggggaccc aggtcaccgt ctcctcg 357

<210> 113
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH BCMA 269A37948

<400> 113
gcggtgcagc tggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctggggactc tctgagactc 60
acctgtacag cctctggacg cgccttcagt acctatttca tggcctggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgagtt tgtagcagga attgcatgga gtggtggtag cacggcgtat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa cacggtgtat 240
ctgcaaatga acagcctgaa atctgaggac acggccgttt attactgtgc cagcaggggg 300
attgaggtcg aagagtttgg tgcctggggc caggggaccc aggtcaccgt ctcgtcg 357

<210> 114
<211> 342
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37333

<400> 114
gatgtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtgcagc ctgggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgtag cctctggatt gaccttcagt agctacccca tgatgtgggt ccgccaggct 120
ccaggaaagg ggctcgagtg ggtctcacgt attagcgata gtggtggtta cacaaactat 180
gacgactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgac acctgaggac acggccgtgt attactgtag aatcctgggg 300
ttgcccacca cgggccaggg gacccaggtc accgtctcct ca 342

<210> 115
<211> 378
<212> ADN

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37336

<400> 115
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ctggtgcagc ctgggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agcaactgga tgtattgggt ccgtcaggct 120
ccagggaagg ggctcgagtg ggtcgcaact attagtactg atggtcgtgg aacatactat 180
aaagactctg tgaagggccg attcaccgtc tccagagaca acgccatgag tacgctgctt 240
ctgcaaatga acaatctgaa atctgaagat acggccgtgt attattgtgc aaaagagccg 300
agggtgttga tggcttacct gcggaacctg ggtgactttg gttcctgggg ccaggggacc 360
caggtcaccg tctcctcg 378

<210> 116
<211> 345
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37699

<400> 116
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtgcagg ctgggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggaag gatcttcagt atcaatgcca tgggctggta ccgccaggct 120
ccagggaagc agcgcgagtt ggtcgccgct attagtacgg ctggtagcac aaactatgga 180
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaagaacac ggtgtatctg 240
caaatgaaca gcctgaaacc tgaggacaca gctgtttatt actgtaattt aaattttccc 300
ccgtatgtgt actggggcca ggggacccag gtcaccgtct cctca 345

<210> 117
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37331

<400> 117
caggtaaagc tggaggagtc tgggggaggt ctggtgcagc ctggggagtc tctgagactc 60
tcctgttcag cctctggaag catcttcaaa gttttcagag tctttgccat gagctggtac 120
cgccagggtc ccgggaaaca gcgcgagttg gtcgcatcca ttagtagtgg cgagaccaca 180
acctatgcag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaacgc caagaatacg 240
gcgtatctgc aaatggacag cctgaaacct gaggacacgg ccgtctatta ctgtaatgcg 300
gatcacacct ttacaggaga cttctggggc caggggaccc aggtcaccgt ctcctca 357

<210> 118
<211> 348
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37717

<400> 118
gaggtgcagc tggtggaaag cgggggggga ctggtgcagg caggcgggtc actgagactg 60
tcatgtatcg caactgggaa ggtgtttagc atctacgaca tgggctggta taggcaggca 120
ccaggaaagc agagggagct ggtggccgag atcaccagct ccggcaccac acactacgac 180
gatttcgtgt ctggccggtt taccatcagc agagacaacg ccaagaatac agtgtatctg 240
cagatgaaca ccctgaaggc cgaggataca gccgtgtact attgccgggc taatcacgtc 300
ttcggcggct cctactgggg gcagggaact caggtcactg tgtcatcc 348

<210> 119
<211> 345
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37719

<400> 119
caggtaaagc tggaggagtc tgggggaggc tcggtgcaga ctgggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctgcaag catcttcact aggctgccca tgggctggta ccgccaggct 120
ccagggaagc agcgcgagtt ggtcgtaggc attgttccta gtggtaggat aaactatgca 180
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaagaacac ggtgtatctg 240
caaatgaaca gcctgcgccc tgaggacaca gccgtctatt actgccgcgc cgataccttc 300
cccttgccca cctggggcca ggggacccag gtcaccgtct cctca 345

<210> 120
<211> 378
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37330

<400> 120
caggtgcagc tggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctggggactc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg cgcctacgct acgatggcct ggttccgcca ggctccaggg 120
aaggagcgtg agtttgtagc acatctgcgc gtgagtggtg ataccactta ctatacagac 180
tccgtgaagg gccgattcac catctccaga gacaacgcca agaacacggc gtatctgcaa 240
atgaacatgt tgaaacctga ggacacggcc gtttattact gtgcagcggg accgtatggc 300
attcttgccg ctgccagggt cagtaatcca ggaaattatg attattgggg ccaggggacc 360
caggtcaccg tctcctca 378

<210> 121
<211> 369
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37334

<400> 121
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggact caccttcagt agttatatta tgggctggtt ccgccaggct 120
ccaggcgagg agcgcgagtt ggtcgcggaa attagtagcg gtggtatgac atcgtatgca 180
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaagaagac ggggtatctg 240
caaatgaaca gcctgaaacc tgaggacacg gccgtttact attgtgcagc ccctgagagg 300
ggtagtatct ggtacagccg ctacgaatat aagtactggg gccaggggac ccaggtcacc 360
gtctcctca 369

<210> 122
<211> 360
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37730

<400> 122
gccgtgcagc tggtggattc tgggggaggc ttggcgcaga ctgggggggtc tctgagactc 60

tcctgtgcag cctctcaagg gatcttcact atcaatgcca tgggctggta ccgccaggtt 120
ccagggaagc agcgggagtt ggtcgcagaa gttagtagtg gtggccgcac agactatgca 180
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaagaacac ggtgtacctg 240
caaatgaaca gcctgaaacc tgaggacaca ggcgtctatt attgtcgagt ttctggatgg 300
catgtgtttg tcggtgaccg catagtttgg ggccagggca ccctggtcac tgtctcctca 360

<210> 123
<211> 369
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37340

<400> 123
gatgtgcagc tggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctggggactc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg caccttcagt agctatgcca tggcctggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgagat tgtttcgtct atcagtacca gtggtggtat cacagactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccaaagaca gcgcgaagat gaacacggtg 240
tatctgcaaa tgaatagcct agaacctgag gacacggccg tttactactg tgcggcccgt 300
acatggtacc ttcgtacttc tctccaatat gactattggg gccaggggac ccaggtcacc 360
gtctcctca 369

<210> 124
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37731

<400> 124
caggtaaagc tggaggagtc tgggggaggc ttggtgcagg ctgggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgtag cctctggaac catcgtcagt atcagtacca tgggctggta ccgccaggct 120
ccagggaagc agcgcgagtt ggtcgcgact ataaccaggc gtggacgcac gaactataca 180
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaaaaacac ggtgtatctg 240
caaatgaaca gcctgaaacc tgaggacaca gccgtctatt actgtaatgc agaggtgcaa 300
ctggatatat gggcatctgc gtatgactac tggggccagg ggacccaggt caccgtcgcc 360
tca 363

<210> 125
<211> 345
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> VHH CD38 38A37326

<400> 125
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg cacctatgcc atgggctggt atcgccaggc tccagggaag 120
cagcgcgact tggtcgcaac tattagtggt gcgggtaaca caaagtatgc agactccgtg 180
aagggccgat tcaccatctc cagagacaac gccaagaaca caatgtatct gcaaatgaac 240
agcctgaaac ctgaggacac ggccgtttat tactgtgccg cgggtaaatg gttccctgct 300
gcgaatgagt actggggcca ggggacccag gtcaccgtct cctca 345

<210> 126
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit nucleic Kozak

<400> 126
gccgccacc 9

<210> 127
<211> 21
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Peptit tín hiệu CD8alpha

<400> 127
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro
20

<210> 128
<211> 63
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> trình tự axit nucleic 1 của peptit tín hiệu CD8alpha

<400> 128
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccg 63

<210> 129
<211> 63
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> trình tự axit nucleic 2 của peptit tín hiệu CD8alpha

<400> 129
atggctctgc ccgtcactgc tctgctgctg cccctggctc tgctgctgca cgccgcaaga 60
ccc 63

<210> 130
<211> 45
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> miền bản lề của CD8alpha

<400> 130
Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
1 5 10 15
Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
20 25 30
Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp
35 40 45

<210> 131
<211> 135
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> miền bản lề của CD8alpha

<400> 131
accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg 60
tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg gcgggggggcg cagtgcacac gagggggctg 120
gacttcgcct gtgat 135

<210> 132
<211> 24
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Miền xuyên màng của CD8alpha

<400> 132
Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu
1 5 10 15
Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
20

<210> 133
<211> 27
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Miền xuyên màng của CD28

<400> 133
Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu
1 5 10 15
Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val
20 25

<210> 134
<211> 72
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Miền xuyên màng của CD8alpha

<400> 134
atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc 60
acccttttact gc 72

<210> 135
<211> 81
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Miền xuyên màng của CD28

<400> 135
ttttgggtgc tggtggtggt tggtggagtc ctggcttgct atagcttgct agtaacagtg 60
gcctttatta ttttctgggt g 81

<210> 136
<211> 41
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> trình tự aa miền tế bào chất của CD28

<400> 136
Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr
1 5 10 15
Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro
20 25 30
Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
35 40

<210> 137
<211> 42
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> miền tế bào chất của CD137

<400> 137
Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
1 5 10 15
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
20 25 30
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
35 40

<210> 138
<211> 123
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự na miền tế bào chất của CD28

<400> 138
aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc 60
gggcccaccc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 120
tcc 123

<210> 139
<211> 126
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Miền tế bào chất của CD137

<400> 139
aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 60
actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 120
gaactg 126

<210> 140
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Miền tế bào chất của CD3z wt

<400> 140
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
1 5 10 15
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
20 25 30
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
35 40 45
Pro Gln Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
50 55 60
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
65 70 75 80
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
85 90 95
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
100 105 110
Arg

<210> 141
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Miền tế bào chất của CD3z Q65K

<400> 141
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly
1 5 10 15
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
20 25 30
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
35 40 45
Pro Gln Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
50 55 60
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
65 70 75 80
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
85 90 95
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
100 105 110
Arg

<210> 142
<211> 336
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Miền tế bào chất của CD3z wt

<400> 142
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc 60
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120
cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180
gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240
cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300
tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336

<210> 143
<211> 336
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Miền tế bào chất của CD3z Q65K

<400> 143
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 60
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120
cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180
gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240
cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300
tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336

<210> 144
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> trình tự gốc liên kết 1

<400> 144
Gly Gly Gly Gly Ser
 1   5

<210> 145
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> trình tự gốc liên kết 2

<400> 145
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1   5   10

<210> 146
<211> 16
<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> trình tự gốc liên kết 3

<400> 146
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 1   5   10   15

<210> 147
<211> 24
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> trình tự gốc liên kết 4

<400> 147
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 1   5   10   15
Ser Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
            20

<210> 148
<211> 34
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> trình tự gốc liên kết 5

<400> 148
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 1   5   10   15
Ser Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
            20   25   30
Gly Ser

<210> 149
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> trình tự gốc liên kết 6

<400> 149
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1   5   10   15

<210> 150
<211> 20
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> trình tự gốc liên kết 7

<400> 150
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Ser
20

<210> 151
<211> 25
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> trình tự gốc liên kết 8

<400> 151
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 152
<211> 420
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37346

<400> 152
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Gln Val Gln
20 25 30
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
35 40 45
Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly
50 55 60
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
85 90 95
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met
100 105 110
Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly
115 120 125
Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly
130 135 140
Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg
145 150 155 160
Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg
165 170 175
Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly
180 185 190
Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val
195 200 205
Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp
210 215 220

Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met
225 230 235 240
Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala
245 250 255
Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys
260 265 270
Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
275 280 285
Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
290 295 300
Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
305 310 315 320
Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
325 330 335
Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
340 345 350
Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
355 360 365
Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
370 375 380
Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
385 390 395 400
Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
405 410 415
Leu Pro Pro Arg
420

<210> 153
<211> 426
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37348

<400> 153
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Gln Val Lys
20 25 30
Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Gln Pro Arg Gly Ser Leu Arg
35 40 45
Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met Ala
50 55 60
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ser Lys
65 70 75 80
Ala Ser Met Asn Tyr Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
85 90 95
Gly Arg Phe Thr Ile Ala Arg Asp Asn Ala Lys Asn Met Val Phe Leu
100 105 110
Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
115 120 125
Ala Gly Thr Gly Cys Ser Thr Tyr Gly Cys Phe Asp Ala Gln Ile Ile
130 135 140
Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
145 150 155 160
Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
165 170 175
Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
180 185 190

```
Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu
        195                 200                 205
Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val
    210                 215                 220
Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His
225                 230                 235                 240
Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys
                245                 250                 255
His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
            260                 265                 270
Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
        275                 280                 285
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
    290                 295                 300
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
305                 310                 315                 320
Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
                325                 330                 335
Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
            340                 345                 350
Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
        355                 360                 365
Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
    370                 375                 380
Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
385                 390                 395                 400
Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
                405                 410                 415
Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
            420                 425
```

<210> 154
<211> 416
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37917

<400> 154

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Glu Val Gln
            20                  25                  30
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg
        35                  40                  45
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg
    50                  55                  60
Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser
65                  70                  75                  80
Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
                85                  90                  95
Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu
            100                 105                 110
Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser
        115                 120                 125
Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
    130                 135                 140
Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
145                 150                 155                 160
```

Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
165 170 175
Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
180 185 190
Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr
195 200 205
Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys
210 215 220
Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg
225 230 235 240
Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp
245 250 255
Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile
260 265 270
Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
275 280 285
Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
290 295 300
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly
305 310 315 320
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
325 330 335
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
340 345 350
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
355 360 365
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
370 375 380
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
385 390 395 400
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
405 410 415

<210> 155
<211> 418
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37355

<400> 155
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Ala Val Gln
20 25 30
Leu Val Asp Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
35 40 45
Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Gly Ile Phe Val Ile Asn Ala Met Gly
50 55 60
Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Ser Ile
65 70 75 80
Arg Gly Leu Gly Arg Thr Asn Tyr Asp Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
85 90 95
Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Asn Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn
100 105 110
Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Val Tyr Val
115 120 125
Thr Leu Leu Gly Gly Val Asn Arg Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
130 135 140

Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
145 150 155 160
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
165 170 175
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
180 185 190
Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala
195 200 205
Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg
210 215 220
Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro
225 230 235 240
Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro
245 250 255
Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
260 265 270
Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
275 280 285
Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
290 295 300
Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys
305 310 315 320
Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
325 330 335
Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
340 345 350
Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
355 360 365
Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
370 375 380
Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
385 390 395 400
Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
405 410 415
Pro Arg

<210> 156
<211> 417
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37915

<400> 156
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Glu Val Gln
20 25 30
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg
35 40 45
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Ile Val Met Gly
50 55 60
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Gly Ala Ile
65 70 75 80
Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Gln Asp Ser Val Lys Gly Arg
85 90 95
Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
100 105 110

Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser
115 120 125
Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
130 135 140
Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
145 150 155 160
Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
165 170 175
Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
180 185 190
Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys
195 200 205
Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser
210 215 220
Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
225 230 235 240
Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
245 250 255
Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
260 265 270
Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
275 280 285
Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
290 295 300
Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln
305 310 315 320
Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
325 330 335
Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
340 345 350
Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
355 360 365
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
370 375 380
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
385 390 395 400
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
405 410 415
Arg

<210> 157
<211> 426
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37936

<400> 157
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Glu Val Gln
20 25 30
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Thr
35 40 45
Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Arg Ala Val Ile Val
50 55 60
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Gly Val Ser Phe Ile
65 70 75 80

```
Lys Pro Ser Asp Gly Thr Ile Tyr Tyr Ile Asp Ser Leu Lys Gly Arg
                85                  90                  95
Phe Thr Ile Ser Ser Asp Ile Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
            100                 105                 110
Lys Ser Leu Glu Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser
        115                 120                 125
Pro Glu Asp Trp Tyr Thr Asp Trp Ile Asp Trp Ser Ile Tyr Arg Trp
    130                 135                 140
Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
145                 150                 155                 160
Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
                165                 170                 175
Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
            180                 185                 190
Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu
        195                 200                 205
Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val
    210                 215                 220
Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His
225                 230                 235                 240
Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys
                245                 250                 255
His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
            260                 265                 270
Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
        275                 280                 285
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
    290                 295                 300
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
305                 310                 315                 320
Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
                325                 330                 335
Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
            340                 345                 350
Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
        355                 360                 365
Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
    370                 375                 380
Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
385                 390                 395                 400
Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
                405                 410                 415
Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
            420                 425
```

<210> 158
<211> 417
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37953

<400> 158

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Glu Val Gln
            20                  25                  30
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Met Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg
        35                  40                  45
```

Leu Ser Cys Val Gln Ser Thr Tyr Thr Val Asn Ser Asp Val Met Gly
50 55 60
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Gly Ala Ile
65 70 75 80
Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Gln Asp Ser Val Lys Gly Arg
85 90 95
Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
100 105 110
Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser
115 120 125
Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
130 135 140
Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
145 150 155 160
Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
165 170 175
Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
180 185 190
Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys
195 200 205
Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser
210 215 220
Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
225 230 235 240
Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
245 250 255
Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
260 265 270
Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
275 280 285
Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
290 295 300
Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln
305 310 315 320
Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
325 330 335
Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
340 345 350
Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
355 360 365
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
370 375 380
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
385 390 395 400
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
405 410 415
Arg

<210> 159
<211> 418
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37965

<400> 159
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

```
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Ala Val Gln
            20                  25                  30
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg
        35                  40                  45
Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Ala Thr Leu Thr Asn Asp His Met Ala
    50                  55                  60
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile
65                  70                  75                  80
Asp Trp Ser Gly Arg Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Pro Val Glu Gly Arg
                85                  90                  95
Phe Thr Ile Ser Arg Asn Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Glu Met
            100                 105                 110
Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Val Leu
        115                 120                 125
Arg Ala Trp Ile Ser Tyr Asp Asn Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
    130                 135                 140
Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
145                 150                 155                 160
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
                165                 170                 175
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
            180                 185                 190
Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala
        195                 200                 205
Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg
    210                 215                 220
Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro
225                 230                 235                 240
Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro
                245                 250                 255
Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
            260                 265                 270
Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
        275                 280                 285
Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
    290                 295                 300
Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys
305                 310                 315                 320
Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
                325                 330                 335
Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
            340                 345                 350
Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
        355                 360                 365
Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
    370                 375                 380
Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
385                 390                 395                 400
Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
                405                 410                 415
Pro Arg
```

<210> 160
<211> 418
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37972

<400> 160
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Gln Val Gln
20 25 30
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg
35 40 45
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala
50 55 60
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Phe Val Ala Ser Ile
65 70 75 80
Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
85 90 95
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
100 105 110
Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Ala Asp Leu
115 120 125
Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
130 135 140
Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
145 150 155 160
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
165 170 175
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
180 185 190
Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala
195 200 205
Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg
210 215 220
Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro
225 230 235 240
Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro
245 250 255
Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
260 265 270
Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
275 280 285
Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
290 295 300
Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys
305 310 315 320
Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
325 330 335
Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
340 345 350
Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
355 360 365
Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
370 375 380
Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
385 390 395 400
Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
405 410 415
Pro Arg

<210> 161
<211> 417
<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37353

<400> 161
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Gln Val Lys
20 25 30
Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg
35 40 45
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly
50 55 60
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile
65 70 75 80
Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
85 90 95
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met
100 105 110
Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg
115 120 125
Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
130 135 140
Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
145 150 155 160
Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
165 170 175
Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
180 185 190
Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys
195 200 205
Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser
210 215 220
Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
225 230 235 240
Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
245 250 255
Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
260 265 270
Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
275 280 285
Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
290 295 300
Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln
305 310 315 320
Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
325 330 335
Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
340 345 350
Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
355 360 365
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
370 375 380
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
385 390 395 400
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
405 410 415
Arg

<210> 162
<211> 417
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37948

<400> 162
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1   5   10   15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Ala Val Gln
            20   25   30
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg
        35   40   45
Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Arg Ala Phe Ser Thr Tyr Phe Met Ala
    50   55   60
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Gly Ile
65   70   75   80
Ala Trp Ser Gly Gly Ser Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
                85   90   95
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
            100   105   110
Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Arg
        115   120   125
Gly Ile Glu Val Glu Glu Phe Gly Ala Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
    130   135   140
Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
145   150   155   160
Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
                165   170   175
Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
            180   185   190
Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys
        195   200   205
Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser
    210   215   220
Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
225   230   235   240
Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
                245   250   255
Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
            260   265   270
Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
        275   280   285
Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
    290   295   300
Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln
305   310   315   320
Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
                325   330   335
Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
            340   345   350
Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
        355   360   365
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
    370   375   380
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
385   390   395   400
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro

405 410 415
Arg

<210> 163
<211> 411
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37333

<400> 163
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
20 25 30
Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser
35 40 45
Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr Pro Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro
50 55 60
Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Ser Asp Ser Gly Gly Tyr
65 70 75 80
Thr Asn Tyr Asp Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
85 90 95
Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Thr Pro Glu
100 105 110
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ile Leu Gly Leu Pro Thr Thr Gly
115 120 125
Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Arg Arg Met His Thr Ser
130 135 140
Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
145 150 155 160
Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
165 170 175
Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val
180 185 190
Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr
195 200 205
Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu
210 215 220
His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg
225 230 235 240
Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg
245 250 255
Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe
260 265 270
Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg
275 280 285
Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser
290 295 300
Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr
305 310 315 320
Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys
325 330 335
Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn
340 345 350
Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu
355 360 365
Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly

```
    370                 375                 380
His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr
385                 390                 395                 400
Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                405                 410
```

<210> 164
<211> 423
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37336

<400> 164

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
            20                  25                  30
Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
        35                  40                  45
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asn Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro
    50                  55                  60
Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Thr Asp Gly Arg Gly
65                  70                  75                  80
Thr Tyr Tyr Lys Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp
                85                  90                  95
Asn Ala Met Ser Thr Leu Leu Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Ser Glu
            100                 105                 110
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Glu Pro Arg Val Leu Met Ala
        115                 120                 125
Tyr Leu Arg Asn Leu Gly Asp Phe Gly Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln
    130                 135                 140
Val Thr Val Ser Ser Thr Arg Arg Met His Thr Ser Thr Thr Thr Pro
145                 150                 155                 160
Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu
                165                 170                 175
Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His
            180                 185                 190
Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val
        195                 200                 205
Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile
    210                 215                 220
Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr
225                 230                 235                 240
Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln
                245                 250                 255
Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly
            260                 265                 270
Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
        275                 280                 285
Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
    290                 295                 300
Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
305                 310                 315                 320
Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
                325                 330                 335
Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
            340                 345                 350
Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
```

```
        355                 360                 365
Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
    370                 375                 380
Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
385                 390                 395                 400
Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
                405                 410                 415
Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
            420
```

<210> 165
<211> 412
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37699

<400> 165

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
            20                  25                  30
Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
        35                  40                  45
Gly Arg Ile Phe Ser Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro
    50                  55                  60
Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Ala Ile Ser Thr Ala Gly Ser Thr
65                  70                  75                  80
Asn Tyr Gly Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
                85                  90                  95
Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
            100                 105                 110
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Leu Asn Phe Pro Pro Tyr Val Tyr Trp
        115                 120                 125
Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Arg Arg Met His Thr
    130                 135                 140
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
145                 150                 155                 160
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
                165                 170                 175
Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp
            180                 185                 190
Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val
        195                 200                 205
Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu
    210                 215                 220
Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr
225                 230                 235                 240
Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr
                245                 250                 255
Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
            260                 265                 270
Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
        275                 280                 285
Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
    290                 295                 300
Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu
305                 310                 315                 320
Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
```

```
                325                 330                 335
Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
            340                 345                 350
Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
        355                 360                 365
Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
    370                 375                 380
Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
385                 390                 395                 400
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                405                 410


<210> 166
<211> 416
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37331

<400> 166
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly
            20                  25                  30
Gly Leu Val Gln Pro Gly Glu Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser
        35                  40                  45
Gly Ser Ile Phe Lys Val Phe Arg Val Phe Ala Met Ser Trp Tyr Arg
    50                  55                  60
Gln Gly Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Ser Ile Ser Ser Gly
65                  70                  75                  80
Glu Thr Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
                85                  90                  95
Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asp Ser Leu Lys
            100                 105                 110
Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Ala Asp His Thr Phe Thr
        115                 120                 125
Gly Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Arg
    130                 135                 140
Arg Met His Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
145                 150                 155                 160
Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
                165                 170                 175
Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
            180                 185                 190
Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr
        195                 200                 205
Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys
    210                 215                 220
Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg
225                 230                 235                 240
Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp
                245                 250                 255
Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile
            260                 265                 270
Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
        275                 280                 285
Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
    290                 295                 300
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly
```

305 310 315 320
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
325 330 335
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
340 345 350
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
355 360 365
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
370 375 380
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
385 390 395 400
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
405 410 415

<210> 167
<211> 413
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37717

<400> 167
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
20 25 30
Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr
35 40 45
Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro
50 55 60
Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr
65 70 75 80
His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
85 90 95
Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp
100 105 110
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr
115 120 125
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Arg Arg Met His
130 135 140
Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr
145 150 155 160
Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala
165 170 175
Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe
180 185 190
Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu
195 200 205
Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg
210 215 220
Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro
225 230 235 240
Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala
245 250 255
Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
260 265 270
Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser
275 280 285
Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys

```
    290                 295                 300
Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln
305                 310                 315                 320
Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
                325                 330                 335
Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
            340                 345                 350
Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
        355                 360                 365
Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
    370                 375                 380
Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
385                 390                 395                 400
Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                405                 410


<210> 168
<211> 412
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37719

<400> 168
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly
            20                  25                  30
Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
        35                  40                  45
Ala Ser Ile Phe Thr Arg Leu Pro Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro
    50                  55                  60
Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Val Gly Ile Val Pro Ser Gly Arg Ile
65                  70                  75                  80
Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
                85                  90                  95
Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
            100                 105                 110
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asp Thr Phe Pro Leu Pro Thr Trp
        115                 120                 125
Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Arg Arg Met His Thr
    130                 135                 140
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
145                 150                 155                 160
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
                165                 170                 175
Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp
            180                 185                 190
Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val
        195                 200                 205
Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu
    210                 215                 220
Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr
225                 230                 235                 240
Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr
                245                 250                 255
Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
            260                 265                 270
Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
```

```
        275                 280                 285
Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
    290                 295                 300
Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu
305                 310                 315                 320
Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
                325                 330                 335
Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
            340                 345                 350
Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
        355                 360                 365
Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
    370                 375                 380
Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
385                 390                 395                 400
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                405                 410


<210> 169
<211> 423
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37330

<400> 169
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
            20                  25                  30
Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
        35                  40                  45
Gly Arg Ala Tyr Ala Thr Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Glu Arg Glu Phe Val Ala His Leu Arg Val Ser Gly Asp Thr Thr Tyr
65                  70                  75                  80
Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
                85                  90                  95
Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Met Leu Lys Pro Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Pro Tyr Gly Ile Leu Ala Ala Ala
        115                 120                 125
Arg Val Ser Asn Pro Gly Asn Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
    130                 135                 140
Val Thr Val Ser Ser Thr Arg Arg Met His Thr Ser Thr Thr Thr Pro
145                 150                 155                 160
Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu
                165                 170                 175
Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His
            180                 185                 190
Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val
        195                 200                 205
Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile
    210                 215                 220
Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr
225                 230                 235                 240
Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln
                245                 250                 255
Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly
```

```
            260                 265                 270
Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
        275                 280                 285
Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
    290                 295                 300
Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
305                 310                 315                 320
Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
                325                 330                 335
Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
            340                 345                 350
Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
        355                 360                 365
Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
    370                 375                 380
Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
385                 390                 395                 400
Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
                405                 410                 415
Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
            420
```

<210> 170
<211> 420
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37334

<400> 170

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
            20                  25                  30
Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
        35                  40                  45
Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr Ile Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro
    50                  55                  60
Gly Glu Glu Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Ser Ser Gly Gly Met Thr
65                  70                  75                  80
Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
                85                  90                  95
Ala Lys Lys Thr Gly Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
            100                 105                 110
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Pro Glu Arg Gly Ser Ile Trp Tyr
        115                 120                 125
Ser Arg Tyr Glu Tyr Lys Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
    130                 135                 140
Ser Ser Thr Arg Arg Met His Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg
145                 150                 155                 160
Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg
                165                 170                 175
Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly
            180                 185                 190
Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val
        195                 200                 205
Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp
    210                 215                 220
Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met
```

225 230 235 240
Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala
245 250 255
Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys
260 265 270
Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
275 280 285
Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
290 295 300
Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
305 310 315 320
Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
325 330 335
Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
340 345 350
Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
355 360 365
Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
370 375 380
Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
385 390 395 400
Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
405 410 415
Leu Pro Pro Arg
420

<210> 171
<211> 417
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37730

<400> 171
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Ala Val Gln Leu Val Asp Ser Gly Gly
20 25 30
Gly Leu Ala Gln Thr Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
35 40 45
Gln Gly Ile Phe Thr Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Val Pro
50 55 60
Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Val Ser Ser Gly Gly Arg Thr
65 70 75 80
Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
85 90 95
Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
100 105 110
Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Arg Val Ser Gly Trp His Val Phe Val Gly
115 120 125
Asp Arg Ile Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr
130 135 140
Arg Arg Met His Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
145 150 155 160
Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
165 170 175
Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
180 185 190
Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys

```
        195                 200                 205
Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser
    210                 215                 220
Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
225                 230                 235                 240
Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
                245                 250                 255
Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
            260                 265                 270
Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
        275                 280                 285
Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
    290                 295                 300
Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln
305                 310                 315                 320
Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
                325                 330                 335
Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
            340                 345                 350
Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
        355                 360                 365
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
    370                 375                 380
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
385                 390                 395                 400
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
                405                 410                 415
Arg
```

<210> 172
<211> 420
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37340

<400> 172

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
            20                  25                  30
Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
        35                  40                  45
Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro
    50                  55                  60
Gly Lys Glu Arg Glu Ile Val Ser Ser Ile Ser Thr Ser Gly Gly Ile
65                  70                  75                  80
Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp
                85                  90                  95
Ser Ala Lys Met Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Glu Pro
            100                 105                 110
Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Thr Trp Tyr Leu Arg
        115                 120                 125
Thr Ser Leu Gln Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
    130                 135                 140
Ser Ser Thr Arg Arg Met His Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg
145                 150                 155                 160
Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg
```

```
                165                 170                 175
Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly
            180                 185                 190
Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val
        195                 200                 205
Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp
    210                 215                 220
Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met
225                 230                 235                 240
Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala
                245                 250                 255
Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys
            260                 265                 270
Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
        275                 280                 285
Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
    290                 295                 300
Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
305                 310                 315                 320
Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
                325                 330                 335
Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
            340                 345                 350
Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
        355                 360                 365
Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
    370                 375                 380
Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
385                 390                 395                 400
Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
                405                 410                 415
Leu Pro Pro Arg
            420
```

<210> 173
<211> 418
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37731

<400> 173

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly
            20                  25                  30
Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser
        35                  40                  45
Gly Thr Ile Val Ser Ile Ser Thr Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro
    50                  55                  60
Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Thr Ile Thr Arg Arg Gly Arg Thr
65                  70                  75                  80
Asn Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
                85                  90                  95
Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
            100                 105                 110
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Ala Glu Val Gln Leu Asp Ile Trp Ala
        115                 120                 125
Ser Ala Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ala Ser
```

```
    130                 135                 140
Thr Arg Arg Met His Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
145                 150                 155                 160
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
                165                 170                 175
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
            180                 185                 190
Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala
        195                 200                 205
Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg
    210                 215                 220
Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro
225                 230                 235                 240
Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro
                245                 250                 255
Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
            260                 265                 270
Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
        275                 280                 285
Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
    290                 295                 300
Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys
305                 310                 315                 320
Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
                325                 330                 335
Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
            340                 345                 350
Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
        355                 360                 365
Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
    370                 375                 380
Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
385                 390                 395                 400
Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
                405                 410                 415
Pro Arg
```

<210> 174
<211> 412
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37326

<400> 174

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
            20                  25                  30
Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
        35                  40                  45
Gly Arg Thr Tyr Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln
    50                  55                  60
Arg Asp Leu Val Ala Thr Ile Ser Gly Ala Gly Asn Thr Lys Tyr Ala
65                  70                  75                  80
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
                85                  90                  95
Thr Met Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
```

```
            100                 105                 110
Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Lys Trp Phe Pro Ala Ala Asn Glu Tyr Trp
        115                 120                 125
Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Arg Arg Met His Thr
    130                 135                 140
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
145                 150                 155                 160
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
                165                 170                 175
Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp
            180                 185                 190
Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val
        195                 200                 205
Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu
    210                 215                 220
Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr
225                 230                 235                 240
Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr
                245                 250                 255
Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
            260                 265                 270
Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
        275                 280                 285
Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
    290                 295                 300
Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu
305                 310                 315                 320
Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
                325                 330                 335
Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
            340                 345                 350
Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
        355                 360                 365
Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
    370                 375                 380
Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
385                 390                 395                 400
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                405                 410
```

<210> 175
<211> 1263
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37346

<400> 175
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatcag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg 120
gtgcagcctg ggggttctct gaggctctcc tgtgaagcct ctggattcac tttggattat 180
tatgccatag gctggttccg ccaggcccca gggaaggagc gcgagggggt catatgtatt 240
agtagaagtg atggtagcac atactatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300
agagacaacg ccaagaaaac ggtgtatctg caaatgatca gcctgaaacc tgaggacacg 360
gccgcttatt actgtgcagc aggggccgat tgttcggggt acctacgaga ttatgagttc 420
cgggggcagg ggacccaggt caccgtctcc tcaactagta ccacgacgcc agcgccgcga 480
ccaccaacac cggcgcccac catcgcgtcg cagcccctgt ccctgcgccc agaggcgtgc 540
cggccagcgg cgggggcgc agtgcacacg aggggctgg acttcgcctg tgatttttgg 600
gtgctggtgg tggttggtgg agtcctggct tgctatagct tgctagtaac agtggccttt 660

attattttct gggtgaggag taagaggagc aggctcctgc acagtgacta catgaacatg 720
actccccgcc gccccgggcc cacccgcaag cattaccagc cctatgcccc accacgcgac 780
ttcgcagcct atcgctccaa acggggcaga aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca 840
tttatgagac cagtacaaac tactcaagag gaagatggct gtagctgccg atttccagaa 900
gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg aagttcagca ggagcgcaga cgcccccgcg 960
tacaagcagg gccagaacca gctctataac gagctcaatc taggacgaag agaggagtac 1020
gatgttttgg acaagagacg tggccgggac cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag 1080
aaccctcagg aaggcctgta caatgaactg cagaaagata agatggcgga ggcctacagt 1140
gagattggga tgaaaggcga gcgccggagg ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt 1200
ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac gcccttcaca tgcaggccct gccccctcgc 1260
tga 1263

<210> 176
<211> 1281
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37348

<400> 176
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatcag gtaaagctgg aggagtctgg gggacgattg 120
gtgcagccaa ggggctctct gagactctcc tgtgcaggct ctggacgcac tttcagtacc 180
tatggtatgg cctggttccg ccaggctcca gggaaggagc gtgagttcgt agcgtctaaa 240
gcatcgatga attacagcgg tagaacatac tatgcagact ccgtgaaggg ccgattcacc 300
atcgccagag acaacgccaa gaacatggtg tttctgcaaa tgaacaacct gaagcctgag 360
gacacggccg tttattactg tgcagcgggc actggatgct caacatatgg gtgttttgac 420
gcccagataa tagactactg gggcaaaggg accctggtca ccgtctcctc aactagtacc 480
acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg gcgcccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc 540
ctgcgcccag aggcgtgccg gccagcggcg gggggcgcag tgcacacgag ggggctggac 600
ttcgcctgtg atttttgggt gctggtggtg gttggtggag tcctggcttg ctatagcttg 660
ctagtaacag tggcctttat tattttctgg gtgaggagta agaggagcag gctcctgcac 720
agtgactaca tgaacatgac tccccgccgc cccgggccca cccgcaagca ttaccagccc 780
tatgccccac cacgcgactt cgcagcctat cgctccaaac ggggcagaaa gaaactcctg 840
tatatattca aacaaccatt tatgagacca gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt 900
agctgccgat ttccagaaga agaagaagga ggatgtgaac tgagagtgaa gttcagcagg 960
agcgcagacg cccccgcgta caagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 1020
ggacgaagag aggagtacga tgttttggac aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg 1080
ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag 1140
atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac 1200
gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg 1260
caggccctgc cccctcgctg a 1281

<210> 177
<211> 1251
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37917

<400> 177
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg 120
gtgcaggctg gggggtctct gagactctcc tgtgcagcct ctggacgcac cttcaccatg 180
gggtggttcc gtcaggctcc agggaaggag cgtgagtttg tagcagctat tagtttgagt 240
cctactttag catattatgc agagtccgtg aagggccgat tcaccatcag ccgagacaac 300
gccaagaaca cggtggtttt gcaaatgaac agcctgaaac ctgaggacac ggccctttat 360
tactgtgcag cagaccggaa atcagtaatg tctattcggc ccgactactg gggccagggg 420
acccaggtca ccgtctcctc aactagtacc acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg 480

gcgcccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc ctgcgcccag aggcgtgccg gccagcggcg 540
gggggcgcag tgcacacgag ggggctggac ttcgcctgtg atttttgggt gctggtggtg 600
gttggtggag tcctggcttg ctatagcttg ctagtaacag tggcctttat tattttctgg 660
gtgaggagta agaggagcag gctcctgcac agtgactaca tgaacatgac tccccgccgc 720
cccgggccca cccgcaagca ttaccagccc tatgccccac cacgcgactt cgcagcctat 780
cgctccaaac ggggcagaaa gaaactcctg tatatattca aacaaccatt tatgagacca 840
gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt agctgccgat ttccagaaga agaagaagga 900
ggatgtgaac tgagagtgaa gttcagcagg agcgcagacg cccccgcgta caagcagggc 960
cagaaccagc tctataacga gctcaatcta ggacgaagag aggagtacga tgttttggac 1020
aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa 1080
ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag atggcggagg cctacagtga gattgggatg 1140
aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac gatggccttt accagggtct cagtacagcc 1200
accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg caggccctgc cccctcgctg a 1251

<210> 178
<211> 1257
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37355

<400> 178
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgcc gtgcagctgg tggattctgg gggaggcttg 120
gtgcagcctg gggggtctct gagactctcc tgtgtagcct ctggaggtat cttcgtcatc 180
aatgccatgg gctggtaccg ccaggctcca ggaaagcagc gcgagttggt cgcatctatt 240
cgtggactag gcagaacaaa ctatgacgac tccgtgaagg gccgattcac catctccaga 300
gacaacgcca acaacacggt gtatctgcag atgaacagcc tggaacctga ggacacggcc 360
gtctactact gtacagtcta cgttacacta cttggtgggg ttaataggga ctactggggc 420
caggggaccc aggtcaccgt ctcctcaact agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca 480
acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca 540
gcggcggggg gcgcagtgca cacgaggggg ctggacttcg cctgtgattt ttgggtgctg 600
gtggtggttg gtggagtcct ggcttgctat agcttgctag taacagtggc ctttattatt 660
ttctgggtga ggagtaagag gagcaggctc ctgcacagtg actacatgaa catgactccc 720
cgccgccccg ggcccacccg caagcattac cagccctatg ccccaccacg cgacttcgca 780
gcctatcgct ccaaacgggg cagaaagaaa ctcctgtata tattcaaaca accatttatg 840
agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa 900
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtacaag 960
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1020
ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atgggggaa agccgagaag gaagaaccct 1080
caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt 1140
gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt 1200
acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgccccc tcgctga 1257

<210> 179
<211> 1254
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37915

<400> 179
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggattg 120
gtgcaggctg ggggctctct gagactctcc tgtgcagcct ctggacggac cttcagtagc 180
attgtcatgg gctggttccg ccaggctcca gggaaggagc gtgagtttgt aggagcgatt 240
atgtggaatg atggtattac atacttgcaa gactccgtga agggccgatt taccatcttc 300
agagacaatg ccaagaacac ggtgtatctg caaatgaaca gcctgaaact tgaggatacg 360
gccgtttatt actgtgcagc atccaagggt agatactcgg aatatgagta ctggggccag 420

gggacccagg tcaccgtctc ctcaactagt accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca 480
ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg 540
gcgggggggcg cagtgcacac gaggggggctg gacttcgcct gtgatttttg ggtgctggtg 600
gtggttggtg gagtcctggc ttgctatagc ttgctagtaa cagtggcctt tattattttc 660
tgggtgagga gtaagaggag caggctcctg cacagtgact acatgaacat gactccccgc 720
cgccccgggc ccacccgcaa gcattaccag ccctatgccc caccacgcga cttcgcagcc 780
tatcgctcca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga 840
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa 900
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgcag acgcccccgc gtacaagcag 960
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1020
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1080
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1140
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1200
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgcccccctcg ctga 1254

<210> 180
<211> 1281
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37936

<400> 180
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg 120
gtgcaggctg gggggtctct gacagtctcc tgtacagcct ctggattcac tttcgaccgt 180
gctgtcatag tctggttccg ccaggccccc gggaagggcc gtgagggggt ctcatttatt 240
aaacctagtg atggcaccat atactacatt gactccctga agggccgatt cacgatctcc 300
agtgacatcg ccaagaatac ggtatatctg caaatgaaaa gtctggaatc ggaggactcg 360
gccgtttatt actgtgcggc ctcgcctgag gactggtaca cggattggat cgactggagt 420
atatatcggt ggcagcactg gggccagggg acccaggtca ctgtctcctc aactagtacc 480
acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg gcgcccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc 540
ctgcgcccag aggcgtgccg gccagcggcg gggggcgcag tgcacacgag ggggctggac 600
ttcgcctgtg atttttgggt gctggtggtg gttggtggag tcctggcttg ctatagcttg 660
ctagtaacag tggcctttat tattttctgg gtgaggagta agaggagcag gctcctgcac 720
agtgactaca tgaacatgac tccccgccgc cccgggccca cccgcaagca ttaccagccc 780
tatgccccac cacgcgactt cgcagcctat cgctccaaac ggggcagaaa gaaactcctg 840
tatatattca aacaaccatt tatgagacca gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt 900
agctgccgat ttccagaaga agaagaagga ggatgtgaac tgagagtgaa gttcagcagg 960
agcgcagacg cccccgcgta caagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 1020
ggacgaagag aggagtacga tgttttggac aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg 1080
ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag 1140
atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac 1200
gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg 1260
caggccctgc cccctcgctg a 1281

<210> 181
<211> 1254
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37953

<400> 181
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggaatg 120
gtgcaggctg gggactctct gagactatcc tgtgtgcagt ctacttacac cgtcaatagc 180
gatgtcatgg gctggttccg ccaggctcca gggaaggagc gtgagtttgt aggagcgatt 240
atgtggaatg atggtattac atacttgcaa gactccgtga agggccgatt taccatcttc 300

agagacaacg ccaagaacac ggtgtatctg caaatgaaca gcctgaaact tgaggatacg 360
gccgtttatt actgtgcagc atccaagggt agatactcgg aatatgagta ctggggccag 420
gggacccagg tcaccgtctc ctcaactagt accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca 480
ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg 540
gcgggggcg cagtgcacac gaggggctg gacttcgcct gtgatttttg ggtgctggtg 600
gtggttggtg gagtcctggc ttgctatagc ttgctagtaa cagtggcctt tattattttc 660
tgggtgagga gtaagaggag caggctcctg cacagtgact acatgaacat gactccccgc 720
cgccccgggc ccacccgcaa gcattaccag ccctatgccc caccacgcga cttcgcagcc 780
tatcgctcca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga 840
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa 900
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgcag acgcccccgc gtacaagcag 960
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1020
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1080
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1140
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1200
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgcccctcg ctga 1254

<210> 182
<211> 1257
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37965

<400> 182
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgcg gtgcagctgg tggagtctgg gggaggattg 120
gtgcaggctg gggactctct gagactctcc tgtacagcct ctggtgcaac cttgactaac 180
gatcacatgg catggttccg ccaggctcca gggaaggggc gtgaatttgt agcagctatt 240
gactggagtg gtcgtaccac aaattacgca gaccccgtag agggccgatt caccatctcc 300
agaaacaacg ccaagaacac ggtgtatctg gaaatgaaca gcctgaaact tgaggacacg 360
gccgtttatt actgtgcggt cctccgcgct tggatctcat atgacaatga ctactggggc 420
caggggaccc aggtcaccgt ctcctcaact agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca 480
acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca 540
gcggcggggg gcgcagtgca cacgaggggg ctggacttcg cctgtgattt ttgggtgctg 600
gtggtggttg gtggagtcct ggcttgctat agcttgctag taacagtggc ctttattatt 660
ttctgggtga ggagtaagag gagcaggctc ctgcacagtg actacatgaa catgactccc 720
cgccgccccg ggcccacccg caagcattac cagccctatg ccccaccacg cgacttcgca 780
gcctatcgct ccaaacgggg cagaaagaaa ctcctgtata tattcaaaca accatttatg 840
agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa 900
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtacaag 960
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1020
ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atgggggggaa agccgagaag gaagaaccct 1080
caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt 1140
gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt 1200
acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgccccc tcgctga 1257

<210> 183
<211> 1257
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37972

<400> 183
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatcag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggattg 120
gtgcaggctg ggggctctct gagactctcc tgtgcagcct ctggaggcac cttaagtaaa 180
aataccgtgg cttggttccg ccaggctcca gggaaggagc gtgggtttgt agcgtctatt 240

acctgggatg gtcgtacgac atactatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300
agagacaacg ccaagaacac agtgtatctg caaatgaaca gcctgaaacc tgaggatacg 360
gccgtttatg tctgtgcaga cttagggaaa tggcctgcgg gcccggcgga ctactggggc 420
caggggaccc aggtcaccgt ctcctcaact agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca 480
acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca 540
gcggcggggg gcgcagtgca cacgaggggg ctggacttcg cctgtgattt ttgggtgctg 600
gtggtggttg gtggagtcct ggcttgctat agcttgctag taacagtggc ctttattatt 660
ttctgggtga ggagtaagag gagcaggctc ctgcacagtg actacatgaa catgactccc 720
cgccgccccg ggcccacccg caagcattac cagccctatg ccccaccacg cgacttcgca 780
gcctatcgct ccaaacgggg cagaaagaaa ctcctgtata tattcaaaca accatttatg 840
agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa 900
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtacaag 960
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1020
ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atgggggggaa agccgagaag gaagaaccct 1080
caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt 1140
gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt 1200
acagccacca aggacaccta cgacgcccttt cacatgcagg ccctgccccc tcgctga 1257

<210> 184
<211> 1254
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37353

<400> 184
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatcag gtaaagctgg aggagtctgg gggaggcttg 120
gtgcaggctg ggcggtctct gagactctcc tgtgcagcct ctgaacacac cttcagtagc 180
catgtcatgg gctggttccg ccaggctcca gggaaggagc gtgagtctgt tgcagttatt 240
ggctggagag atattagcac aagctatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300
agagacaacg ccaagaagac gctgtatctg caaatgaata gcctgaaacc tgaggacacg 360
gccgtttact actgtgcagc acgtcggatc gacgcagctg actttgattc ctgggggcag 420
gggacccagg tcaccgtctc ctcgactagt accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca 480
ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg 540
gcgggggggcg cagtgcacac gagggggctg gacttcgcct gtgatttttg ggtgctggtg 600
gtggttggtg gagtcctggc ttgctatagc ttgctagtaa cagtggcctt tattattttc 660
tgggtgagga gtaagaggag caggctcctg cacagtgact acatgaacat gactccccgc 720
cgccccgggc ccacccgcaa gcattaccag ccctatgccc caccacgcga cttcgcagcc 780
tatcgctcca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga 840
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa 900
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgcag acgccccgc gtacaagcag 960
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1020
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1080
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1140
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1200
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgcccctcg ctga 1254

<210> 185
<211> 1254
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA 269A37948

<400> 185
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgcg gtgcagctgg tggagtctgg gggaggattg 120
gtgcaggctg gggactctct gagactcacc tgtacagcct ctggacgcgc cttcagtacc 180

tatttcatgg cctggttccg ccaggctcca gggaaggagc gtgagtttgt agcaggaatt 240
gcatggagtg gtggtagcac ggcgtatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300
agagacaacg ccaagaacac ggtgtatctg caaatgaaca gcctgaaatc tgaggacacg 360
gccgtttatt actgtgccag caggggggatt gaggtcgaag agtttggtgc ctggggccag 420
gggacccagg tcaccgtctc gtcgactagt accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca 480
ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg 540
gcgggggggcg cagtgcacac gagggggctg gacttcgcct gtgatttttg ggtgctggtg 600
gtggttggtg gagtcctggc ttgctatagc ttgctagtaa cagtggcctt tattattttc 660
tgggtgagga gtaagaggag caggctcctg cacagtgact acatgaacat gactccccgc 720
cgccccgggc ccacccgcaa gcattaccag ccctatgccc caccacgcga cttcgcagcc 780
tatcgctcca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga 840
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa 900
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgcag acgcccccgc gtacaagcag 960
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1020
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1080
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1140
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1200
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgcccctcg ctga 1254

<210> 186
<211> 1236
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37333

<400> 186
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacg atgtgcagct ggtggagtct gggggaggct tggtgcagcc tgggggtct 120
ctgagactct cctgtgtagc ctctggattg accttcagta gctaccccat gatgtgggtc 180
cgccaggctc caggaaaggg gctcgagtgg gtctcacgta ttagcgatag tggtggttac 240
acaaactatg acgactccgt gaagggccga ttcaccatct ccagagacaa cgccaagaac 300
acgctgtatc tgcaaatgaa cagcctgaca cctgaggaca cggccgtgta ttactgtaga 360
atcctggggt tgcccaccac gggccagggg acccaggtca ccgtctcctc aacgcgtcgc 420
atgcatacta gtaccacgac gccagcgccg cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg 480
tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac 540
acgagggggc tggacttcgc ctgtgatttt tgggtgctgg tggtggttgg tggagtcctg 600
gcttgctata gcttgctagt aacagtggcc tttattattt tctgggtgag gagtaagagg 660
agcaggctcc tgcacagtga ctacatgaac atgactcccc gccgccccgg gcccacccgc 720
aagcattacc agccctatgc cccaccacgc gacttcgcag cctatcgctc caaacggggc 780
agaaagaaac tcctgtatat attcaaacaa ccatttatga gaccagtaca aactactcaa 840
gaggaagatg gctgtagctg ccgatttcca gaagaagaag aaggaggatg tgaactgaga 900
gtgaagttca gcaggagcgc agacgccccc gcgtacaagc agggccagaa ccagctctat 960
aacgagctca atctaggacg aagagaggag tacgatgttt tggacaagag acgtggccgg 1020
gaccctgaga tgggggggaaa gccgagaagg aagaaccctc aggaaggcct gtacaatgaa 1080
ctgcagaaag ataagatggc ggaggcctac agtgagattg ggatgaaagg cgagcgccgg 1140
aggggcaagg ggcacgatgg cctttaccag ggtctcagta cagccaccaa ggacacctac 1200
gacgcccttc acatgcaggc cctgcccccct cgctga 1236

<210> 187
<211> 1272
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37336

<400> 187
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacg aggtgcagct ggtggagtct gggggaggcc tggtgcagcc tgggggtct 120

ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc accttcagta gcaactggat gtattgggtc 180
cgtcaggctc cagggaaggg gctcgagtgg gtcgcaacta ttagtactga tggtcgtgga 240
acatactata aagactctgt gaagggccga ttcaccgtct ccagagacaa cgccatgagt 300
acgctgcttc tgcaaatgaa caatctgaaa tctgaagata cggccgtgta ttattgtgca 360
aaagagccga gggtgttgat ggcttacctg cggaacctgg gtgactttgg ttcctggggc 420
caggggaccc aggtcaccgt ctcctcgacg cgtcgcatgc atactagtac cacgacgcca 480
gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc atcgcgtcgc agcccctgtc cctgcgccca 540
gaggcgtgcc ggccagcggc gggggggcgca gtgcacacga gggggctgga cttcgcctgt 600
gatttttggg tgctggtggt ggttggtgga gtcctggctt gctatagctt gctagtaaca 660
gtggccttta ttattttctg ggtgaggagt aagaggagca ggctcctgca cagtgactac 720
atgaacatga ctccccgccg ccccgggccc acccgcaagc attaccagcc ctatgcccca 780
ccacgcgact tcgcagccta tcgctccaaa cggggcagaa agaaactcct gtatatattc 840
aaacaaccat ttatgagacc agtacaaact actcaagagg aagatggctg tagctgccga 900
tttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa ctgagagtga agttcagcag gagcgcagac 960
gcccccgcgt acaagcaggg ccagaaccag ctctataacg agctcaatct aggacgaaga 1020
gaggagtacg atgttttgga caagagacgt ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg 1080
agaaggaaga accctcagga aggcctgtac aatgaactgc agaaagataa gatggcggag 1140
gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt 1200
taccagggtc tcagtacagc caccaaggac acctacgacg cccttcacat gcaggccctg 1260
ccccctcgct ga 1272

<210> 188
<211> 1239
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37669

<400> 188
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc aggtgcagct ggtggagtct gggggaggct tggtgcaggc tgggggtct 120
ctgagactct cctgtgcagc ctctggaagg atcttcagta tcaatgccat gggctggtac 180
cgccaggctc cagggaagca gcgcgagttg gtcgccgcta ttagtacggc tggtagcaca 240
aactatggag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaacgc caagaacacg 300
gtgtatctgc aaatgaacag cctgaaacct gaggacacag ctgtttatta ctgtaattta 360
aattttcccc cgtatgtgta ctggggccag gggacccagg tcaccgtctc ctcaacgcgt 420
cgcatgcata ctagtaccac gacgccagcg ccgcgaccac caacaccggc gcccaccatc 480
gcgtcgcagc ccctgtccct gcgcccagag gcgtgccggc cagcggcggg gggcgcagtg 540
cacacgaggg ggctggactt cgcctgtgat ttttgggtgc tggtggtggt tggtggagtc 600
ctggcttgct atagcttgct agtaacagtg gcctttatta ttttctgggt gaggagtaag 660
aggagcaggc tcctgcacag tgactacatg aacatgactc cccgccgccc cgggcccacc 720
cgcaagcatt accagcccta tgccccacca cgcgacttcg cagcctatcg ctccaaacgg 780
ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa caaccattta tgagaccagt acaaactact 840
caagaggaag atggctgtag ctgccgattt ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg 900
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 960
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 1020
cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 1080
gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 1140
cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 1200
tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgctga 1239

<210> 189
<211> 1251
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37331

<400> 189

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc aggtaaagct ggaggagtct gggggaggtc tggtgcagcc tggggagtct 120
ctgagactct cctgttcagc ctctggaagc atcttcaaag ttttcagagt ctttgccatg 180
agctggtacc gccagggtcc cgggaaacag cgcgagttgg tcgcatccat tagtagtggc 240
gagaccacaa cctatgcaga ctccgtgaag ggccgattca ccatctccag agacaacgcc 300
aagaatacgg cgtatctgca aatggacagc ctgaaacctg aggacacggc cgtctattac 360
tgtaatgcgg atcacacctt tacaggagac ttctggggcc aggggaccca ggtcaccgtc 420
tcctcaacgc gtcgcatgca tactagtacc acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg 480
gcgcccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc ctgcgcccag aggcgtgccg gccagcggcg 540
gggggcgcag tgcacacgag ggggctggac ttcgcctgtg atttttgggt gctggtggtg 600
gttggtggag tcctggcttg ctatagcttg ctagtaacag tggcctttat tattttctgg 660
gtgaggagta agaggagcag gctcctgcac agtgactaca tgaacatgac tccccgccgc 720
cccgggccca cccgcaagca ttaccagccc tatgccccac cacgcgactt cgcagcctat 780
cgctccaaac ggggcagaaa gaaactcctg tatatattca aacaaccatt tatgagacca 840
gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt agctgccgat ttccagaaga agaagaagga 900
ggatgtgaac tgagagtgaa gttcagcagg agcgcagacg cccccgcgta caagcagggc 960
cagaaccagc tctataacga gctcaatcta ggacgaagag aggagtacga tgttttggac 1020
aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa 1080
ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag atggcggagg cctacagtga gattgggatg 1140
aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac gatggccttt accagggtct cagtacagcc 1200
accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg caggccctgc cccctcgctg a 1251

<210> 190
<211> 1242
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37717

<400> 190
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacg aggtgcagct ggtggaaagc ggggggggac tggtgcaggc aggcgggtca 120
ctgagactgt catgtatcgc aactgggaag gtgtttagca tctacgacat gggctggtat 180
aggcaggcac caggaaagca gagggagctg gtggccgaga tcaccagctc cggcaccaca 240
cactacgacg atttcgtgtc tggccggttt accatcagca gagacaacgc caagaataca 300
gtgtatctgc agatgaacac cctgaaggcc gaggatacag ccgtgtacta ttgccgggct 360
aatcacgtct tcggcggctc ctactggggg cagggaactc aggtcactgt gtcatccacg 420
cgtcgcatgc atactagtac cacgacgcca gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc 480
atcgcgtcgc agcccctgtc cctgcgccca gaggcgtgcc ggccagcggc gggggggcga 540
gtgcacacga gggggctgga cttcgcctgt gatttttggg tgctggtggt ggttggtgga 600
gtcctggctt gctatagctt gctagtaaca gtggccttta ttattttctg ggtgaggagt 660
aagaggagca ggctcctgca cagtgactac atgaacatga ctccccgccg ccccgggccc 720
acccgcaagc attaccagcc ctatgcccca ccacgcgact tcgcagccta tcgctccaaa 780
cggggcagaa agaaactcct gtatatattc aaacaaccat ttatgagacc agtacaaact 840
actcaagagg aagatggctg tagctgccga tttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa 900
ctgagagtga agttcagcag gagcgcagac gcccccgcgt acaagcaggg ccagaaccag 960
ctctataacg agctcaatct aggacgaaga gaggagtacg atgttttgga caagagacgt 1020
ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg agaaggaaga accctcagga aggcctgtac 1080
aatgaactgc agaaagataa gatggcggag gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag 1140
cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt taccagggtc tcagtacagc caccaaggac 1200
acctacgacg cccttcacat gcaggccctg ccccctcgct ga 1242

<210> 191
<211> 1239
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37719

<400> 191
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc aggtaaagct ggaggagtct gggggaggct cggtgcagac tgggggtct 120
ctgagactct cctgtgcagc ctctgcaagc atcttcacta ggctgcccat gggctggtac 180
cgccaggctc cagggaagca gcgcgagttg gtcgtaggca ttgttcctag tggtaggata 240
aactatgcag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaacgc caagaacacg 300
gtgtatctgc aaatgaacag cctgcgccct gaggacacag ccgtctatta ctgccgcgcc 360
gataccttcc ccttgcccac ctggggccag gggacccagg tcaccgtctc ctcaacgcgt 420
cgcatgcata ctagtaccac gacgccagcg ccgcgaccac caacaccggc gcccaccatc 480
gcgtcgcagc ccctgtccct gcgcccagag gcgtgccggc cagcggcggg gggcgcagtg 540
cacacgaggg ggctggactt cgcctgtgat ttttgggtgc tggtggtggt tggtggagtc 600
ctggcttgct atagcttgct agtaacagtg gcctttatta ttttctgggt gaggagtaag 660
aggagcaggc tcctgcacag tgactacatg aacatgactc cccgccgccc cgggcccacc 720
cgcaagcatt accagcccta tgccccacca cgcgacttcg cagcctatcg ctccaaacgg 780
ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa caaccattta tgagaccagt acaaactact 840
caagaggaag atggctgtag ctgccgattt ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg 900
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 960
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 1020
cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 1080
gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 1140
cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 1200
tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgctga 1239

<210> 192
<211> 1272
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37330

<400> 192
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc aggtgcagct ggtggagtct gggggaggat tggtgcaggc tggggactct 120
ctgagactct cctgtgcagc ctctggacgc gcctacgcta cgatggcctg gttccgccag 180
gctccaggga aggagcgtga gtttgtagca catctgcgcg tgagtggtga taccacttac 240
tatacagact ccgtgaaggg ccgattcacc atctccagag acaacgccaa gaacacggcg 300
tatctgcaaa tgaacatgtt gaaacctgag gacacggccg tttattactg tgcagcggga 360
ccgtatggca ttcttgccgc tgccagggtc agtaatccag gaaattatga ttattggggc 420
caggggaccc aggtcaccgt ctcctcaacg cgtcgcatgc atactagtac cacgacgcca 480
gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc atcgcgtcgc agcccctgtc cctgcgccca 540
gaggcgtgcc ggccagcggc ggggggcgca gtgcacacga gggggctgga cttcgcctgt 600
gatttttggg tgctggtggt ggttggtgga gtcctggctt gctatagctt gctagtaaca 660
gtggccttta ttatttctg ggtgaggagt aagaggagca ggctcctgca cagtgactac 720
atgaacatga ctccccgccg ccccgggccc acccgcaagc attaccagcc ctatgcccca 780
ccacgcgact tcgcagccta tcgctccaaa cggggcagaa agaaactcct gtatatattc 840
aaacaaccat ttatgagacc agtacaaact actcaagagg aagatggctg tagctgccga 900
tttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa ctgagagtga agttcagcag gagcgcagac 960
gcccccgcgt acaagcaggg ccagaaccag ctctataacg agctcaatct aggacgaaga 1020
gaggagtacg atgttttgga caagagacgt ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg 1080
agaaggaaga accctcagga aggcctgtac aatgaactgc agaaagataa gatggcggag 1140
gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt 1200
taccagggtc tcagtacagc caccaaggac acctacgacg cccttcacat gcaggccctg 1260
cccctcgct ga 1272

<210> 193
<211> 1263
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> CAR CD38 38A37334

<400> 193
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacg aggtgcagct ggtggagtct gggggaggat tggtgcaggc tgggggctct 120
ctgagactct cctgtgcagc ctctggactc accttcagta gttatattat gggctggttc 180
cgccaggctc caggcgagga gcgcgagttg gtcgcggaaa ttagtagcgg tggtatgaca 240
tcgtatgcag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaacgc caagaagacg 300
gggtatctgc aaatgaacag cctgaaacct gaggacacgg ccgtttacta ttgtgcagcc 360
cctgagaggg gtagtatctg gtacagccgc tacgaatata agtactgggg ccaggggacc 420
caggtcaccg tctcctcaac gcgtcgcatg catactagta ccacgacgcc agcgccgcga 480
ccaccaacac cggcgcccac catcgcgtcg cagcccctgt ccctgcgccc agaggcgtgc 540
cggccagcgg cgggggcgc agtgcacacg agggggctgg acttcgcctg tgatttttgg 600
gtgctggtgg tggttggtgg agtcctggct tgctatagct tgctagtaac agtggccttt 660
attattttct gggtgaggag taagaggagc aggctcctgc acagtgacta catgaacatg 720
actccccgcc gccccgggcc cacccgcaag cattaccagc cctatgcccc accacgcgac 780
ttcgcagcct atcgctccaa acggggcaga aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca 840
tttatgagac cagtacaaac tactcaagag gaagatggct gtagctgccg atttccagaa 900
gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg aagttcagca ggagcgcaga cgcccccgcg 960
tacaagcagg gccagaacca gctctataac gagctcaatc taggacgaag agaggagtac 1020
gatgttttgg acaagagacg tggccgggac cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag 1080
aaccctcagg aaggcctgta caatgaactg cagaaagata agatggcgga ggcctacagt 1140
gagattggga tgaaaggcga gcgccggagg ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt 1200
ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac gcccttcaca tgcaggccct gccccctcgc 1260
tga 1263

<210> 194
<211> 1254
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37730

<400> 194
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacg ccgtgcagct ggtggattct gggggaggct tggcgcagac tgggggtct 120
ctgagactct cctgtgcagc ctctcaaggg atcttcacta tcaatgccat gggctggtac 180
cgccaggttc cagggaagca gcgggagttg gtcgcagaag ttagtagtgg tggccgcaca 240
gactatgcag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaacgc caagaacacg 300
gtgtacctgc aaatgaacag cctgaaacct gaggacacag gcgtctatta ttgtcgagtt 360
tctggatggc atgtgtttgt cggtgaccgc atagtttggg gccagggcac cctggtcact 420
gtctcctcaa cgcgtcgcat gcatactagt accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca 480
ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg 540
gcgggggcg cagtgcacac gaggggctg gacttcgcct gtgatttttg ggtgctggtg 600
gtggttggtg gagtcctggc ttgctatagc ttgctagtaa cagtggcctt tattattttc 660
tgggtgagga gtaagaggag caggctcctg cacagtgact acatgaacat gactccccgc 720
cgccccgggc ccacccgcaa gcattaccag ccctatgccc caccacgcga cttcgcagcc 780
tatcgctcca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga 840
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa 900
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgcag acgccccgc gtacaagcag 960
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1020
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1080
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1140
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1200
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgcccccctcg ctga 1254

<210> 195
<211> 1263
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37340

<400> 195
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacg atgtgcagct ggtggagtct gggggaggat tggtgcaggc tggggactct 120
ctgagactct cctgtgcagc ctctggacgc accttcagta gctatgccat ggcctggttc 180
cgccaggctc cagggaagga gcgtgagatt gtttcgtcta tcagtaccag tggtggtatc 240
acagactatg cagactccgt gaagggccga ttcaccatct ccaaagacag cgcgaagatg 300
aacacggtgt atctgcaaat gaatagccta gaacctgagg acacggccgt ttactactgt 360
gcggcccgta catggtacct tcgtacttct ctccaatatg actattgggg ccaggggacc 420
caggtcaccg tctcctcaac gcgtcgcatg catactagta ccacgacgcc agcgccgcga 480
ccaccaacac cggcgcccac catcgcgtcg cagcccctgt ccctgcgccc agaggcgtgc 540
cggccagcgg cgggggcgc agtgcacacg agggggctgg acttcgcctg tgatttttgg 600
gtgctggtgg tggttggtgg agtcctggct tgctatagct tgctagtaac agtggccttt 660
attatttct gggtgaggag taagaggagc aggctcctgc acagtgacta catgaacatg 720
actccccgcc gccccgggcc cacccgcaag cattaccagc cctatgcccc accacgcgac 780
ttcgcagcct atcgctccaa acggggcaga aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca 840
tttatgagac cagtacaaac tactcaagag gaagatggct gtagctgccg atttccagaa 900
gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg aagttcagca ggagcgcaga cgcccccgcg 960
tacaagcagg gccagaacca gctctataac gagctcaatc taggacgaag agaggagtac 1020
gatgttttgg acaagagacg tggccgggac cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag 1080
aaccctcagg aaggcctgta caatgaactg cagaaagata agatggcgga ggcctacagt 1140
gagattggga tgaaaggcga gcgccggagg ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt 1200
ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac gcccttcaca tgcaggccct gccccctcgc 1260
tga 1263

<210> 196
<211> 1257
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37731

<400> 196
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc aggtaaagct ggaggagtct gggggaggct tggtgcaggc tgggggtct 120
ctgagactct cctgtgtagc ctctggaacc atcgtcagta tcagtaccat gggctggtac 180
cgccaggctc cagggaagca gcgcgagttg gtcgcgacta taaccaggcg tggacgcacg 240
aactatacag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaacgc caaaaacacg 300
gtgtatctgc aaatgaacag cctgaaacct gaggacacag ccgtctatta ctgtaatgca 360
gaggtgcaac tggatatatg ggcatctgcg tatgactact ggggccaggg gacccaggtc 420
accgtcgcct caacgcgtcg catgcatact agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca 480
acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca 540
gcggcggggg gcgcagtgca cacgaggggg ctggacttcg cctgtgattt ttgggtgctg 600
gtggtggttg gtggagtcct ggcttgctat agcttgctag taacagtggc ctttattatt 660
ttctgggtga ggagtaagag gagcaggctc ctgcacagtg actacatgaa catgactccc 720
cgccgccccg ggcccacccg caagcattac cagccctatg ccccaccacg cgacttcgca 780
gcctatcgct ccaaacgggg cagaaagaaa ctcctgtata tattcaaaca accatttatg 840
agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa 900
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtacaag 960
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1020
ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atgggggggaa agccgagaag gaagaaccct 1080
caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt 1140
gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt 1200
acagccacca aggacaccta cgacgcccttt cacatgcagg ccctgccccc tcgctga 1257

<210> 197
<211> 1239

<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38 38A37326

<400> 197
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacg aggtgcagct ggtggagtct gggggaggat tggtgcaggc tgggggctct 120
ctgagactct cctgtgcagc ctctggacgc acctatgcca tgggctggta tcgccaggct 180
ccagggaagc agcgcgactt ggtcgcaact attagtggtg cgggtaacac aaagtatgca 240
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaagaacac aatgtatctg 300
caaatgaaca gcctgaaacc tgaggacacg gccgtttatt actgtgccgc gggtaaatgg 360
ttccctgctg cgaatgagta ctggggccag gggacccagg tcaccgtctc ctcaacgcgt 420
cgcatgcata ctagtaccac gacgccagcg ccgcgaccac caacaccggc gcccaccatc 480
gcgtcgcagc ccctgtccct gcgcccagag gcgtgccggc cagcggcggg gggcgcagtg 540
cacacgaggg ggctggactt cgcctgtgat ttttgggtgc tggtggtggt tggtggagtc 600
ctggcttgct atagcttgct agtaacagtg gcctttatta ttttctgggt gaggagtaag 660
aggagcaggc tcctgcacag tgactacatg aacatgactc cccgccgccc cgggcccacc 720
cgcaagcatt accagcccta tgccccacca cgcgacttcg cagcctatcg ctccaaacgg 780
ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa caaccattta tgagaccagt acaaactact 840
caagaggaag atggctgtag ctgccgattt ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg 900
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 960
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 1020
cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 1080
gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 1140
cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 1200
tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgctga 1239

<210> 198
<211> 495
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMAx2 269A37946 GSI5014

<400> 198
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1   5   10   15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20   25   30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe
        35   40   45
Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50   55   60
Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr
65   70   75   80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
                85   90   95
Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
            100   105   110
Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg
        115   120   125
Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
    130   135   140
Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
145   150   155   160
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr
                165   170   175
Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu

```
            180                 185                 190
Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr
        195                 200                 205
Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
    210                 215                 220
Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
225                 230                 235                 240
Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp
                245                 250                 255
Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser
            260                 265                 270
Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
        275                 280                 285
Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
    290                 295                 300
Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile
305                 310                 315                 320
Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val
                325                 330                 335
Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe
            340                 345                 350
Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly
        355                 360                 365
Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg
    370                 375                 380
Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln
385                 390                 395                 400
Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp
                405                 410                 415
Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro
            420                 425                 430
Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp
        435                 440                 445
Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg
    450                 455                 460
Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr
465                 470                 475                 480
Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                485                 490                 495
```

<210> 199
<211> 622
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMAx3 269A37946 GSI5015

<400> 199

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe
        35                  40                  45
Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr
65                  70                  75                  80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
```

```
                85                  90                  95
Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg
        115                 120                 125
Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
    130                 135                 140
Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
145                 150                 155                 160
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr
                165                 170                 175
Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
            180                 185                 190
Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr
        195                 200                 205
Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
    210                 215                 220
Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
225                 230                 235                 240
Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp
                245                 250                 255
Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
            260                 265                 270
Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
        275                 280                 285
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu
    290                 295                 300
Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg
305                 310                 315                 320
Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala
                325                 330                 335
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys
            340                 345                 350
Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala
        355                 360                 365
Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr
    370                 375                 380
Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
385                 390                 395                 400
Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
                405                 410                 415
Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
            420                 425                 430
Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp
        435                 440                 445
Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
    450                 455                 460
Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
465                 470                 475                 480
Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
                485                 490                 495
Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
            500                 505                 510
Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
        515                 520                 525
Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
    530                 535                 540
Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
545                 550                 555                 560
Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
                565                 570                 575
```

Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
580 585 590
Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
595 600 605
Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
610 615 620

<210> 200
<211> 483
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38x2 38A37717 GSI5016

<400> 200
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys
35 40 45
Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr
65 70 75 80
Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
85 90 95
Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
100 105 110
Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly
115 120 125
Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val
130 135 140
Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu
145 150 155 160
Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met
165 170 175
Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu
180 185 190
Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg
195 200 205
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
210 215 220
Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn
225 230 235 240
His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
245 250 255
Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala
260 265 270
Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg
275 280 285
Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys
290 295 300
Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu
305 310 315 320
Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu
325 330 335
Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln
340 345 350

```
Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly
        355                 360                 365
Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
    370                 375                 380
Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
385                 390                 395                 400
Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
                405                 410                 415
Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
            420                 425                 430
Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
        435                 440                 445
Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
    450                 455                 460
Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
465                 470                 475                 480
Pro Pro Arg
```

<210> 201
<211> 604
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38x3 38A37717 GSI5017

<400> 201

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys
        35                  40                  45
Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr
65                  70                  75                  80
Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
                85                  90                  95
Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
            100                 105                 110
Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly
        115                 120                 125
Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val
    130                 135                 140
Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu
145                 150                 155                 160
Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met
                165                 170                 175
Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu
            180                 185                 190
Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg
        195                 200                 205
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
    210                 215                 220
Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn
225                 230                 235                 240
His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
                245                 250                 255
```

```
Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
            260                 265                 270
Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr
        275                 280                 285
Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro
    290                 295                 300
Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr
305                 310                 315                 320
His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
                325                 330                 335
Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp
            340                 345                 350
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr
        355                 360                 365
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr
    370                 375                 380
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
385                 390                 395                 400
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
                405                 410                 415
His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
            420                 425                 430
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
        435                 440                 445
Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
    450                 455                 460
Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
465                 470                 475                 480
Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
                485                 490                 495
Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
            500                 505                 510
Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
        515                 520                 525
Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
    530                 535                 540
Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
545                 550                 555                 560
Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
                565                 570                 575
Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
            580                 585                 590
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
        595                 600
```

<210> 202
<211> 1488
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMAx2 269A37946 GSI5014

<400> 202
atggctctgc ccgtcactgc tctgctgctg cccctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtcc agctggtgga aagcggagga ggcctggtgc agccaggagg cagcctgagg 120
ctgtcctgcg aggcctctgg cttcaccctg gactactatg ccatcggctg gtttaggcag 180
gcacctggaa aggagaggga gggagtgatc tgtatctctc gcagcgacgg cagcacatac 240
tatgccgatt ccgtgaaggg ccggttcacc atcagcagag acaacgccaa gaagacagtg 300
tacctgcaga tgatctccct gaagcctgag gataccgcag catactattg cgcagcagga 360

gcagactgta gcggatacct gagggattat gagtttaggg gacagggaac ccaggtgaca 420
gtgagctccg gaggaggagg ctcccaggtg cagctggtgg agtctggagg cggcctggtg 480
cagcctggag gcagcctgag actgagctgt gaagcttccg gatttaccct ggactactat 540
gcaatcggat ggtttaggca ggcaccagga aaggagagag aaggcgtgat ctgtatctcc 600
agatctgacg gctctacata ctatgccgat agtgtcaaag gacggttcac catctctaga 660
gataatgcca agaagacagt ctatctgcag atgattagcc tgaagcccga ggacacagcc 720
gcctattact gcgcagcagg agcagattgt agtgggtatc tgagggacta tgagtttcgg 780
gggcagggga cacaggtgac agtgagttct actagtacca cgacgccagc gccgcgacca 840
ccaacaccgg cgcccaccat cgcgtcgcag cccctgtccc tgcgcccaga ggcgtgccgg 900
ccagcggcgg ggggcgcagt gcacacgagg gggctggact tcgcctgtga tatctacatc 960
tgggcgccct tggccgggac ttgtggggtc cttctcctgt cactggttat cacccctttac 1020
tgcaaacggg gcagaaagaa actcctgtat atattcaaac aaccatttat gagaccagta 1080
caaactactc aagaggaaga tggctgtagc tgccgatttc cagaagaaga agaaggagga 1140
tgtgaactga gagtgaagtt cagcaggagc gcagacgccc ccgcgtacca gcagggccag 1200
aaccagctct ataacgagct caatctagga cgaagagagg agtacgatgt tttggacaag 1260
agacgtggcc gggaccctga gatgggggga aagccgagaa ggaagaaccc tcaggaaggc 1320
ctgtacaatg aactgcagaa agataagatg gcggaggcct acagtgagat tgggatgaaa 1380
ggcgagcgcc ggaggggcaa ggggcacgat ggcctttacc agggtctcag tacagccacc 1440
aaggacacct acgacgccct tcacatgcag gccctgcccc ctcgctaa 1488

<210> 203
<211> 1869
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMAx3 269A37946 GSI5015

<400> 203
atggctctgc ccgtcactgc tctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgccgcacgc 60
cctcaggtcc agctggtcga gtcaggagga ggcctggtgc agccaggagg ctccctgcgg 120
ctgtcttgcg aggccagcgg cttcaccctg gactactatg ccatcggctg gtttaggcag 180
gcacctggaa aggagaggga gggagtgatc tgtatctcca gatctgacgg ctccacatac 240
tatgccgatt ctgtgaaggg ccggttcacc atctctagag acaacgccaa gaagacagtg 300
tacctgcaga tgatcagcct gaagcccgag gataccgcag catactattg cgcagcagga 360
gcagactgtt ccggatacct gagggattat gagtttaggg gacagggaac ccaggtgaca 420
gtgagctccg gaggaggagg ctcccaggtg cagctggtgg agtctggagg cggcctggtg 480
cagcctggag gctccctgag gctgtcttgc gaggcaagcg gcttcaccct ggattactat 540
gcaatcggat ggtttaggca ggcaccagga aaggagagag aaggcgtgat ctgtatcagc 600
cgctccgacg gcagtaccta ctatgccgat tccgtcaaag gccggttcac catctccaga 660
gacaatgcca agaagacagt ctatctgcag atgatctctc tgaagcctga ggatacagcc 720
gcctattact gtgccgcagg agcagactgt agtggctatc tgagagatta tgagtttcgc 780
ggccagggca cccaggtgac agtgtctagc ggaggaggag gcagccaggt ccagctggtg 840
gaatccggcg gaggcctggt gcagcccggc ggctccctga gactgtcctg tgaagcctcc 900
ggatttactc tggattatta cgctattgga tggttcagac aggcccctgg caaagaaaga 960
gaaggggtga tctgtatctc tcggagcgac ggctctacat actatgccga tagcgtcaag 1020
ggaagattta ccatctccag agataatgcc aagaagacag tgtatctgca gatgatttcc 1080
ctgaagcccg aggacactgc cgcctattac tgtgcagcag gagcagattg tagcgggtat 1140
ctgcgggatt atgaatttag aggacagggc actcaggtga cagtctcaag cactagtacc 1200
acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg gcgcccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc 1260
ctgcgcccag aggcgtgccg gccagcggcg gggggcgcag tgcacacgag ggggctggac 1320
ttcgcctgtg atatctacat ctgggcgccc ttggccggga cttgtggggt ccttctcctg 1380
tcactggtta tcacccttta ctgcaaacgg ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa 1440
caaccattta tgagaccagt acaaactact caagaggaag atggctgtag ctgccgattt 1500
ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc 1560
cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc tataacgagc tcaatctagg acgaagagag 1620
gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga 1680
aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc 1740
tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc cggaggggca aggggcacga tggcctttac 1800
cagggtctca gtacagccac caaggacacc tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc 1860
cctcgctaa 1869

<210> 204
<211> 1452
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38x2 38A37717 GSI5016

<400> 204
atggccctgc ctgtcaccgc tctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgctgctaga 60
cccgaagtcc agctggtcga aagtggggga ggcctggtgc aggcaggagg cagcctgagg 120
ctgtcctgca tcgccaccgg caaggtgttc agcatctacg acatgggatg gtataggcag 180
gcaccaggaa agcagagaga gctggtggcc gagatcacaa gctccggcac cacacactac 240
gacgatttcg tgtccggccg gtttaccatc tctagagaca acgccaagaa tacagtgtat 300
ctgcagatga acaccctgaa ggccgaggat acagccgtgt actattgccg ggccaatcac 360
gtgttcggag gatcctactg gggacaggga acccaggtga cagtgtctag cggaggagga 420
ggatctgagg tgcagctggt ggagagcgga ggcggcctgg tgcaggccgg aggctctctg 480
agactgagct gtattgctac cggcaaggtg ttttctatct acgatatggg ctggtatagg 540
caggcacctg gaaagcagag ggagctggtg gctgaaatca cctcctctgg aactacccat 600
tacgacgatt tcgtgagcgg caggtttacc atctcccgcg ataatgctaa aaacaccgtc 660
tacctgcaga tgaatactct gaaagctgaa gacacagccg tgtactattg tcgggctaac 720
catgtcttcg ggggctccta ttgggggcag ggaactcagg tcaccgtgtc atcaactagt 780
accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg 840
tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg gcgggggggcg cagtgcacac gaggggggctg 900
gacttcgcct gtgatatcta catctgggcg cccttggccg ggacttgtgg ggtccttctc 960
ctgtcactgg ttatcaccct ttactgcaaa cggggcagaa agaaactcct gtatatattc 1020
aaacaaccat ttatgagacc agtacaaact actcaagagg aagatggctg tagctgccga 1080
tttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa ctgagagtga agttcagcag gagcgcagac 1140
gcccccgcgt accagcaggg ccagaaccag ctctataacg agctcaatct aggacgaaga 1200
gaggagtacg atgttttgga caagagacgt ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg 1260
agaaggaaga accctcagga aggcctgtac aatgaactgc agaaagataa gatggcggag 1320
gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt 1380
taccagggtc tcagtacagc caccaaggac acctacgacg cccttcacat gcaggccctg 1440
ccccctcgct aa 1452

<210> 205
<211> 1815
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38x3 38A37717 GSI5017

<400> 205
atggctctgc ctgtcaccgc actgctgctg cccctggccc tgctgctgca cgccgcaaga 60
cctgaagtcc agctggtcga atccggagga ggcctggtgc aggcaggagg ctccctgcgg 120
ctgtcttgca tcgccaccgg caaggtgttc agcatctacg acatgggctg gtataggcag 180
gcaccaggaa agcagaggga gctggtggcc gagatcacaa gctccggcac cacacactac 240
gacgatttcg tgtccggccg gtttaccatc tctagagaca acgccaagaa tacagtgtat 300
ctgcagatga acaccctgaa ggccgaggat acagccgtgt actattgccg ggccaatcac 360
gtgttcggag gatcttactg gggacaggga acccaggtga cagtgtctag cggaggagga 420
ggatccgagg tgcagctggt ggagtctgga ggcggcctgg tgcaggccgg aggcagcctg 480
agactgtcct gtattgctac cggcaaggtg ttttccatct acgatatggg ctggtatcgg 540
caggcccctg gcaagcagag agagctggtg gctgaaatca catcctctgg aactacccat 600
tacgacgatt tcgtgagcgg caggtttacc atctcccgcg ataatgctaa aaacaccgtc 660
tacctgcaga tgaatactct gaaagctgaa gacaccgctg tgtactattg cagagctaac 720
catgtgttcg gaggaagcta ttggggccag ggcactcagg tgacagtgag ctccggcggc 780
ggcggcagtg aagtgcagct ggtggagtcc ggaggggggcc tggtgcaggc cggcggctct 840
ctgcgcctga gctgtattgc aactggaaaa gtgttttcca tttatgatat gggatggtac 900
agacaggccc ctgggaaaca gagagagctg gtggcagaaa tcacctctag tggaactacc 960

cactatgatg atttcgtgtc tggccggttt accatcagca gggataatgc taaaaacact 1020
gtctacctgc agatgaacac tctgaaagct gaagataccg ccgtgtacta ttgtagggct 1080
aaccatgtct ttgggggtc atactggggg caggggactc aggtcaccgt ctcatccact 1140
agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc 1200
ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtgca cacgaggggg 1260
ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt 1320
ctcctgtcac tggttatcac cctttactgc aaacggggca gaaagaaact cctgtatata 1380
ttcaaacaac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 1440
cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttcag caggagcgca 1500
gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 1560
agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat gggggggaaag 1620
ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 1680
gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc 1740
ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgcccttca catgcaggcc 1800
ctgccccctc gctaa 1815

<210> 206
<211> 502
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR song đặc hiệu trên cơ sở kháng thể miền đơn CD19XCD20

<400> 206
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1   5   10   15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Glu Leu
            20   25   30
Val Gln Pro Gly Gly Pro Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn
        35   40   45
Ile Phe Ser Ile Asn Arg Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50   55   60
Gln Arg Ala Phe Val Ala Ser Ile Thr Val Arg Gly Ile Thr Asn Tyr
65   70   75   80
Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys
                85   90   95
Asn Thr Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ala Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
            100   105   110
Val Tyr Tyr Cys Asn Ala Val Ser Ser Asn Arg Asp Pro Asp Tyr Trp
        115   120   125
Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130   135   140
Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Pro Val Gln Leu Val Glu
145   150   155   160
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys
                165   170   175
Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Gly Ile Gly Thr Met Gly Trp Phe Arg
            180   185   190
Gln Pro Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Arg Trp Ser
        195   200   205
Thr Gly Gly Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210   215   220
Ser Arg Asp Asn Ala Lys Leu Thr Val Asp Leu Gln Met Asp Ser Leu
225   230   235   240
Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Leu Ser
                245   250   255
Leu Asp Leu Ser Gly Arg Tyr His Tyr Asn Pro Ala Val Tyr Asp Tyr
            260   265   270
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Ile Glu Val Met Tyr
        275   280   285

```
Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His
    290                 295                 300
Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser
305                 310                 315                 320
Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr
                325                 330                 335
Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys
            340                 345                 350
Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg
        355                 360                 365
Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp
    370                 375                 380
Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
385                 390                 395                 400
Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
                405                 410                 415
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
            420                 425                 430
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
        435                 440                 445
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
    450                 455                 460
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
465                 470                 475                 480
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
                485                 490                 495
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
            500
```

<210> 207
<211> 489
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5001

<400> 207

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys
        35                  40                  45
Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr
65                  70                  75                  80
Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
                85                  90                  95
Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
            100                 105                 110
Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly
        115                 120                 125
Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val
    130                 135                 140
Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
145                 150                 155                 160
Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile
                165                 170                 175
```

```
Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys
            180                 185                 190
Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
        195                 200                 205
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln
    210                 215                 220
Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala
225                 230                 235                 240
Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln
                245                 250                 255
Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro
            260                 265                 270
Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
        275                 280                 285
Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
    290                 295                 300
Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
305                 310                 315                 320
Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys
                325                 330                 335
Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
            340                 345                 350
Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
        355                 360                 365
Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
    370                 375                 380
Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
385                 390                 395                 400
Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
                405                 410                 415
Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
            420                 425                 430
Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
        435                 440                 445
Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
    450                 455                 460
Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
465                 470                 475                 480
Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                485
```

<210> 208
<211> 494
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5002

<400> 208

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys
        35                  40                  45
Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr
65                  70                  75                  80
```

```
Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
                85                  90                  95
Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
            100                 105                 110
Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly
        115                 120                 125
Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140
Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
145                 150                 155                 160
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu
                165                 170                 175
Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg
            180                 185                 190
Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala
        195                 200                 205
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys
    210                 215                 220
Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala
225                 230                 235                 240
Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr
                245                 250                 255
Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
            260                 265                 270
Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
        275                 280                 285
Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
    290                 295                 300
Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp
305                 310                 315                 320
Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
                325                 330                 335
Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
            340                 345                 350
Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
        355                 360                 365
Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
    370                 375                 380
Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
385                 390                 395                 400
Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
                405                 410                 415
Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
            420                 425                 430
Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
        435                 440                 445
Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
    450                 455                 460
Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
465                 470                 475                 480
Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                485                 490
```

<210> 209
<211> 500
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5003

<400> 209
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys
35 40 45
Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr
65 70 75 80
Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
85 90 95
Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
100 105 110
Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly
115 120 125
Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser
145 150 155 160
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu
165 170 175
Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln
180 185 190
Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp
195 200 205
Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
210 215 220
Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys
225 230 235 240
Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser
245 250 255
Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
260 265 270
Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
275 280 285
Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
290 295 300
Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
305 310 315 320
Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
325 330 335
Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys
340 345 350
Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
355 360 365
Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
370 375 380
Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
385 390 395 400
Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
405 410 415
Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
420 425 430
Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
435 440 445
Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
450 455 460
Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly

```
465                 470                 475                 480
Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
                485                 490                 495
Leu Pro Pro Arg
            500


<210> 210
<211> 508
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5004

<400> 210
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys
        35                  40                  45
Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr
65                  70                  75                  80
Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
                85                  90                  95
Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
            100                 105                 110
Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly
        115                 120                 125
Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Gly Gly
145                 150                 155                 160
Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
                165                 170                 175
Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr
            180                 185                 190
Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly
        195                 200                 205
Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
    210                 215                 220
Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val
225                 230                 235                 240
Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr
                245                 250                 255
Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe
            260                 265                 270
Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr
        275                 280                 285
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
    290                 295                 300
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
305                 310                 315                 320
His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
                325                 330                 335
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
            340                 345                 350
Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
```

```
        355                 360                 365
Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
    370                 375                 380
Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
385                 390                 395                 400
Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
                405                 410                 415
Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
            420                 425                 430
Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
        435                 440                 445
Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
    450                 455                 460
Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
465                 470                 475                 480
Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
                485                 490                 495
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
            500                 505


<210> 211
<211> 518
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5005

<400> 211
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys
        35                  40                  45
Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr
65                  70                  75                  80
Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
                85                  90                  95
Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala
            100                 105                 110
Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly
        115                 120                 125
Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Gly Gly
145                 150                 155                 160
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
                165                 170                 175
Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
            180                 185                 190
Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe
        195                 200                 205
Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg
    210                 215                 220
Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
225                 230                 235                 240
Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser
```

```
                245                 250                 255
Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp
            260                 265                 270
Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln
        275                 280                 285
Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
    290                 295                 300
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
305                 310                 315                 320
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
                325                 330                 335
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
            340                 345                 350
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
        355                 360                 365
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
    370                 375                 380
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
385                 390                 395                 400
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
                405                 410                 415
Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
            420                 425                 430
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
        435                 440                 445
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
    450                 455                 460
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
465                 470                 475                 480
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
                485                 490                 495
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
            500                 505                 510
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
        515
```

<210> 212
<211> 489
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMAxCD38 269A37346 38A37717 GSI5006

<400> 212

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe
        35                  40                  45
Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr
65                  70                  75                  80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
                85                  90                  95
Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg
```

```
        115                 120                 125
Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
    130                 135                 140
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
145                 150                 155                 160
Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys Val
                165                 170                 175
Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln
            180                 185                 190
Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr Asp
        195                 200                 205
Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
    210                 215                 220
Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val
225                 230                 235                 240
Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly Gln
                245                 250                 255
Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro
            260                 265                 270
Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
        275                 280                 285
Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
    290                 295                 300
Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
305                 310                 315                 320
Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys
                325                 330                 335
Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
            340                 345                 350
Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
        355                 360                 365
Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
    370                 375                 380
Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
385                 390                 395                 400
Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
                405                 410                 415
Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
            420                 425                 430
Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
        435                 440                 445
Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
    450                 455                 460
Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
465                 470                 475                 480
Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                485
```

<210> 213
<211> 494
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMAxCD38 269A37346 38A37717 GSI5007

<400> 213

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
```

```
            20                  25                  30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe
        35                  40                  45
Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr
65                  70                  75                  80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
                85                  90                  95
Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg
        115                 120                 125
Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
    130                 135                 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
145                 150                 155                 160
Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile
                165                 170                 175
Ala Thr Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln
            180                 185                 190
Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly
        195                 200                 205
Thr Thr His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
    210                 215                 220
Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala
225                 230                 235                 240
Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly
                245                 250                 255
Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
            260                 265                 270
Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
        275                 280                 285
Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
    290                 295                 300
Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp
305                 310                 315                 320
Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
                325                 330                 335
Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
            340                 345                 350
Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
        355                 360                 365
Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
    370                 375                 380
Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
385                 390                 395                 400
Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
                405                 410                 415
Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
            420                 425                 430
Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
        435                 440                 445
Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
    450                 455                 460
Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
465                 470                 475                 480
Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                485                 490
```

<210> 214
<211> 500
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMAxCD38 269A37346 38A37717 GSI5008

<400> 214
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe
35 40 45
Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg
115 120 125
Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu
145 150 155 160
Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser
165 170 175
Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp
180 185 190
Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala
195 200 205
Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly
210 215 220
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln
225 230 235 240
Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala
245 250 255
Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
260 265 270
Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
275 280 285
Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
290 295 300
Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
305 310 315 320
Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
325 330 335
Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys
340 345 350
Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
355 360 365
Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
370 375 380
Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
385 390 395 400
Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
405 410 415

Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
420 425 430
Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
435 440 445
Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
450 455 460
Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
465 470 475 480
Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
485 490 495
Leu Pro Pro Arg
500

<210> 215
<211> 510
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMAxCD38 269A37346 38A37717 GSI5009

<400> 215
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe
35 40 45
Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg
115 120 125
Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
165 170 175
Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr
180 185 190
Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro
195 200 205
Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr
210 215 220
His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
225 230 235 240
Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp
245 250 255
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr
260 265 270
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Ser Thr
275 280 285
Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
290 295 300

Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
305 310 315 320
Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp
325 330 335
Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
340 345 350
Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
355 360 365
Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
370 375 380
Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
385 390 395 400
Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
405 410 415
Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
420 425 430
Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
435 440 445
Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
450 455 460
Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
465 470 475 480
Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
485 490 495
Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
500 505 510

<210> 216
<211> 518
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMAxCD38 269A37346 38A37717 GSI5010

<400> 216
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe
35 40 45
Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg
115 120 125
Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
165 170 175
Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly
180 185 190

```
Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr Gly Lys Val Phe Ser Ile
        195                 200                 205
Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu
    210                 215                 220
Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr His Tyr Asp Asp Phe Val
225                 230                 235                 240
Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
                245                 250                 255
Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
            260                 265                 270
Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
        275                 280                 285
Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
    290                 295                 300
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
305                 310                 315                 320
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
                325                 330                 335
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
            340                 345                 350
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
        355                 360                 365
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
    370                 375                 380
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
385                 390                 395                 400
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
                405                 410                 415
Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
            420                 425                 430
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
        435                 440                 445
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
    450                 455                 460
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
465                 470                 475                 480
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
                485                 490                 495
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
            500                 505                 510
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
        515
```

<210> 217
<211> 1521
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR song đặc hiệu trên cơ sở kháng thể miền đơn CD19XCD20

<400> 217
gccgccacca tggccttacc agtgaccgcc ttgctcctgc cgctggcctt gctgctccac 60
gccgccaggc cgcaggtaaa gctggaggag tctgggggag aattggtgca gcctgggggg 120
cctctgagac tctcctgtgc agcctcggga aacatcttca gtatcaatcg catgggctgg 180
taccgccagg ctccagggaa gcagcgcgcg ttcgtcgcat ctattactgt tcgtggtata 240
acaaactatg cagactccgt gaagggccga ttcaccattt ctgtagacaa gtccaaaaac 300
acgatttatc tgcagatgaa cgcactcaaa cctgaggaca cggccgtcta ttattgtaat 360
gcagtgtctt caaacaggga ccccgactac tggggccagg ggacccaggt caccgtctcc 420
tcaggcggcg gcagcggcgg cggcagcggc ggcggcagcg gcggcggcag cccggtgcag 480

ctggtggagt ctgggggagg cttggtgcag gctggggatt ctctgagact ctcctgtgct 540
gcctctggac gcaccttcgg tattggtacc atgggctggt tccgccaacc tccagggaag 600
gagcgtgaat ttgtagcagc tattaggtgg agtactggtg gcactcgcta tgcagactcc 660
gtgaagggcc gattcaccat ctcccgagac aacgccaagc tcacggtaga tctgcaaatg 720
gacagcctga aacctgaaga cacggccgtt tattactgtg cagcagatag actgtccctt 780
gatttaagtg gtcgttacca ctacaacccc gccgtgtatg actattgggg ccaggggacc 840
caggtcaccg tctcctcaat tgaagttatg tatcctcctc cttacctaga caatgagaag 900
agcaatggaa ccattatcca tgtgaaaggg aaacaccttt gtccaagtcc cctatttccc 960
ggaccttcta agccctttg ggtgctggtg gtggttggtg gagtcctggc ttgctatagc 1020
ttgctagtaa cagtggcctt tattattttc tgggtgagga gtaagaggag caggctcctg 1080
cacagtgact acatgaacat gactccccgc cgccccgggc ccacccgcaa gcattaccag 1140
ccctatgccc caccacgcga cttcgcagcc tatcgctcca gagtgaagtt cagcaggagc 1200
gcagacgccc ccgcgtacca gcagggccag aaccagctct ataacgagct caatctagga 1260
cgaagagagg agtacgatgt tttggacaag agacgtggcc gggaccctga gatgggggga 1320
aagccgagaa ggaagaaccc tcaggaaggc ctgtacaatg aactgcagaa agataagatg 1380
gcggaggcct acagtgagat tgggatgaaa ggcgagcgcc ggaggggcaa ggggcacgat 1440
ggcctttacc agggtctcag tacagccacc aaggacacct acgacgccct tcacatgcag 1500
gccctgcccc ctcgctgata a 1521

<210> 218
<211> 1470
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5001

<400> 218
atggctctgc ccgtcactgc tctgctgctg cccctggctc tgctgctgca cgccgcaaga 60
cccgaagtcc agctggtgga atctggcgga ggcctggtgc aggcaggagg cagcctgagg 120
ctgtcctgca tcgccaccgg caaggtgttc tccatctacg acatgggctg gtatcggcag 180
gccccaggca agcagagaga gctggtggcc gagatcacaa gctccggcac cacacactac 240
gacgatttcg tgtctggccg gtttaccatc agcagagaca acgccaagaa tacagtgtat 300
ctgcagatga acaccctgaa ggccgaggat acagccgtgt actattgtcg ggccaatcac 360
gtgtttggag gaagctactg gggacaggga acccaggtga cagtgtctag cggaggagga 420
ggcagccagg tgcagctggt ggagtccgga ggaggcctgg tgcagccagg aggctctctg 480
aggctgagct gcgaggcatc cggattcacc ctggactact atgccatcgg ctggtttagg 540
caggcacctg gaaaggagag ggagggagtg atctgtatct ccagatctga cggctccaca 600
tactatgccg attctgtgaa gggcaggttc accatctctc gcgataacgc caagaagaca 660
gtctacctgc agatgatcag cctgaagccc gaggacaccg cagcatacta ttgcgcagca 720
ggagcagatt gtagtggcta tctgagggac tacgagttcc gagggcaggg gacacaggtg 780
accgtgagca gcactagtac cacgacgcca gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc 840
atcgcgtcgc agcccctgtc cctgcgccca gaggcgtgcc ggccagcggc gggggcgca 900
gtgcacacga gggggctgga cttcgcctgt gatatctaca tctgggcgcc cttggccggg 960
acttgtgggg tccttctcct gtcactggtt atcacccttt actgcaaacg gggcagaaag 1020
aaactcctgt atatattcaa acaaccattt atgagaccag tacaaactac tcaagaggaa 1080
gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag 1140
ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac cagcagggcc agaaccagct ctataacgag 1200
ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agagacgtgg ccgggaccct 1260
gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 1320
aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc 1380
aaggggcacg atggccttta ccagggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc 1440
cttcacatgc aggccctgcc ccctcgctaa 1470

<210> 219
<211> 1485
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5002

<400> 219
atggctctgc ccgtcactgc tctgctgctg cccctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgaagtcc agctggtcga atccggcgga ggcctggtgc aggcaggagg cagcctgagg 120
ctgtcctgca tcgccaccgg caaggtgttc tccatctacg acatgggctg gtatcggcag 180
gccccaggca agcagagaga gctggtggcc gagatcacaa gctccggcac cacacactac 240
gacgatttcg tgtccggccg gtttaccatc tctagagaca acgccaagaa tacagtgtat 300
ctgcagatga acaccctgaa ggccgaggat acagccgtgt actattgtcg ggccaatcac 360
gtgtttggag gatcctactg gggacaggga acccaggtga cagtgtctag cggaggagga 420
ggatctggcg gaggaggcag ccaggtgcag ctggtggagt ctggaggagg cctggtgcag 480
ccaggaggct ctctgaggct gagctgcgag gcatccggat tcaccctgga ctactatgcc 540
atcggctggt ttaggcaggc acctggaaag gagagggagg gagtgatctg tatctccaga 600
tctgacggca gcacatacta tgccgattcc gtgaagggca ggttcaccat ctctcgcgat 660
aacgccaaga agacagtcta cctgcagatg atcagcctga agcccgagga caccgcagca 720
tactattgcg cagcaggagc agattgtagc ggctatctga gggattatga gtttagaggg 780
cagggaacac aggtgacagt gagcagcact agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca 840
acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca 900
gcggcggggg gcgcagtgca cacgaggggg ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg 960
gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt ctcctgtcac tggttatcac cctttactgc 1020
aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 1080
actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 1140
gaactgagag tgaagttcag caggagcgca gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac 1200
cagctctata acgagctcaa tctaggacga agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga 1260
cgtggccggg accctgagat gggggggaaag ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg 1320
tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc 1380
gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag 1440
gacacctacg acgcccttca catgcaggcc ctgccccctc gctaa 1485

<210> 220
<211> 1503
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5003

<400> 220
atggccctgc ctgtcaccgc actgctgctg cccctggctc tgctgctgca cgccgcacgc 60
cctgaagtcc agctggtcga gtccgggggа ggcctggtgc aggcaggagg cagcctgagg 120
ctgtcctgca tcgccaccgg caaggtgttc tccatctacg acatgggctg gtatcggcag 180
gccccaggca agcagagaga gctggtggcc gagatcacaa gctccggcac cacacactac 240
gacgatttcg tgagcggccg gtttaccatc tccagagaca acgccaagaa tacagtgtat 300
ctgcagatga acaccctgaa ggccgaggat acagccgtgt actattgtcg ggccaatcac 360
gtgtttggag gatcctactg gggacaggga acccaggtga cagtgtctag cggcggcggc 420
tctggaggag gaagcggagg aggatctgga ggaggctctc aggtgcagct ggtggagagc 480
ggaggaggcc tggtgcagcc aggaggcagc ctgcggctgt cctgcgaggc ctctggcttc 540
accctggact actatgccat cggctggttt aggcaggcac ctggaaagga gagggaggga 600
gtgatctgta tctccagatc tgacggctct acatactatg ccgatagcgt gaagggcagg 660
ttcaccatct cccgcgataa cgccaagaag acagtctacc tgcagatgat ctctctgaag 720
cccgaggaca ccgcagcata ctattgcgca gcaggagcag attgtagcgg gtatctgcgg 780
gattatgagt ttagaggaca ggggacacag gtcacagtca gttccactag taccacgacg 840
ccagcgccgc gaccaccaac accggcgccc accatcgcgt cgcagcccct gtccctgcgc 900
ccagaggcgt gccggccagc ggcgggggгc gcagtgcaca cgagggggct ggacttcgcc 960
tgtgatatct acatctgggc gcccttggcc gggacttgtg gggtccttct cctgtcactg 1020
gttatcaccc tttactgcaa acggggcaga aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca 1080
tttatgagac cagtacaaac tactcaagag gaagatggct gtagctgccg atttccagaa 1140
gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg aagttcagca ggagcgcaga cgcccccgcg 1200
taccagcagg gccagaacca gctctataac gagctcaatc taggacgaag agaggagtac 1260
gatgttttgg acaagagacg tggccgggac cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag 1320
aaccctcagg aaggcctgta caatgaactg cagaaagata agatggcgga ggcctacagt 1380
gagattggga tgaaaggcga gcgccggagg ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt 1440

ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac gcccttcaca tgcaggccct gccccctcgc 1500
taa 1503

<210> 221
<211> 1527
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5004

<400> 221
atggctctgc ctgtgaccgc cctgctgctg cccctggctc tgctgctgca cgccgcacga 60
cccgaagtcc agctggtgga atctggggga ggcctggtgc aggcaggagg ctctctgagg 120
ctgagctgca tcgccaccgg caaggtgttc tctatctacg acatgggctg gtatcggcag 180
gccccaggca agcagagaga gctggtggcc gagatcacaa gctccggcac cacacactac 240
gacgatttcg tgagcggccg gtttaccatc tccagagaca acgccaagaa tacagtgtat 300
ctgcagatga acaccctgaa ggccgaggat acagccgtgt actattgtcg ggccaatcac 360
gtgtttggag gaagctactg gggacaggga acccaggtga cagtgtctag cggaggagga 420
ggatccggag gaggaggatc tggaggcggc ggcggcggct ccggctctgg cggcggcggc 480
tcccaggtgc agctggtgga gtctggagga ggcctggtgc agccaggagg ctccctgcgg 540
ctgtcttgcg aggccagcgg cttcaccctg gactactatg ccatcggctg gtttaggcag 600
gcacctggaa aggagaggga gggagtgatc tgtatcagca gatccgacgg ctctacatac 660
tatgccgata gcgtgaaggg caggttcacc atcagccgcg ataacgccaa gaagacagtc 720
tacctgcaga tgatctccct gaagcccgag gacaccgcag catactattg cgcagcagga 780
gcagattgta gcggctatct gcgggattac gagtttagag gacagggcac ccaggtcacc 840
gtctcaagca ctagtaccac gacgccagcg ccgcgaccac caacaccggc gcccaccatc 900
gcgtcgcagc ccctgtccct gcgcccagag gcgtgccggc cagcggcggg gggcgcagtg 960
cacacgaggg ggctggactt cgcctgtgat atctacatct gggcgccctt ggccgggact 1020
tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc acccttttact gcaaacgggg cagaaagaaa 1080
ctcctgtata tattcaaaca accatttatg agaccagtac aaactactca agaggaagat 1140
ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc 1200
agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag cagggccaga accagctcta taacgagctc 1260
aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag 1320
atgggggaa agccgagaag gaagaaccct caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa 1380
gataagatgg cggaggccta cagtgagatt gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag 1440
gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt acagccacca aggacaccta cgacgccctt 1500
cacatgcagg ccctgccccc tcgctaa 1527

<210> 222
<211> 1557
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD38xBCMA 38A37717 269A37346 GSI5005

<400> 222
atggctctgc ctgtcactgc tctgctgctg cccctggccc tgctgctgca cgctgctaga 60
cccgaagtcc agctggtgga gtccggcgga ggcctggtgc aggcaggagg ctctctgagg 120
ctgagctgca tcgccaccgg caaggtgttc agcatctacg acatgggctg gtatcggcag 180
gccccaggca agcagagaga gctggtggcc gagatcacaa gctccggcac cacacactac 240
gacgatttcg tgagcggccg gtttaccatc tccagagaca acgccaagaa tacagtgtat 300
ctgcagatga acaccctgaa ggccgaggat acagccgtgt actattgtcg ggccaatcac 360
gtgtttggag gaagctactg gggacaggga acccaggtga cagtgtctag cggaggagga 420
ggatccggag gaggaggatc tggaggcggc ggcggcggct ccggctctgg cggcggcggc 480
agtggaggcg gcggctccgg cggcggcggc tctcaggtgc agctggtgga gtccggagga 540
ggcctggtgc agccaggagg ctccctgcgg ctgtcttgcg aggccagcgg cttcaccctg 600
gactactatg ccatcggctg gtttaggcag gcacctggaa aggagaggga gggagtgatc 660
tgtatcagca gatccgacgg ctctacatac tatgccgata gcgtgaaggg caggttcacc 720
atctcccgcg ataacgccaa gaagacagtc tacctgcaga tgatctctct gaagcccgag 780

gacaccgcag catactattg cgcagcagga gcagattgtt caggctatct gcgggattat 840
gagtttcggg gacaggggac acaggtcaca gtctccagca ctagtaccac gacgccagcg 900
ccgcgaccac caacaccggc gcccaccatc gcgtcgcagc ccctgtccct gcgcccagag 960
gcgtgccggc cagcggcggg gggcgcagtg cacacgaggg ggctggactt cgcctgtgat 1020
atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc 1080
acccttttact gcaaacgggg cagaaagaaa ctcctgtata tattcaaaca accatttatg 1140
agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa 1200
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag 1260
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1320
ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atgggggggaa agccgagaag gaagaaccct 1380
caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt 1440
gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt 1500
acagccacca aggacaccta cgacgcccttt cacatgcagg ccctgccccc tcgctaa 1557

<210> 223
<211> 1470
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMAxCD38 269A37346 38A37717 GSI5006

<400> 223
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgcccgc 60
cctcaggtcc agctggtcga gtcaggagga ggcctggtgc agccaggagg cagcctgagg 120
ctgtcctgcg aggcctctgg cttcaccctg gactactatg ccatcggctg gtttaggcag 180
gcacctggaa aggagaggga gggagtgatc tgtatctccc gctctgacgg ctctacatac 240
tatgccgata gcgtgaaggg ccggttcacc atctctagag acaacgccaa gaagacagtg 300
tacctgcaga tgatcagcct gaagccagag gataccgcag catactattg cgcagcagga 360
gcagactgtt ccggatacct gagggattat gagtttaggg gacagggaac ccaggtgaca 420
gtgagctccg gcggcggcgg cagcgaggtg cagctggtgg agtccggagg aggcctggtg 480
caggcaggag gcagcctgcg gctgtcctgc atcgccaccg gcaaggtgtt cagcatctac 540
gatatgggat ggtataggca ggcaccagga aagcagagag agctggtggc cgagatcaca 600
tctagcggca ccacacacta cgacgatttc gtgtccggcc ggtttactat ttccagggac 660
aacgccaaga atacagtgta tctgcagatg aataccctga aggccgagga tacagccgtg 720
tactattgta gagcaaatca tgtcttcggg gggtcctatt gggggcaggg cactcaggtc 780
accgtctcct caactagtac cacgacgcca gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc 840
atcgcgtcgc agcccctgtc cctgcgccca gaggcgtgcc ggccagcggc gggggggcgca 900
gtgcacacga gggggctgga cttcgcctgt gatatctaca tctgggcgcc cttggccggg 960
acttgtgggg tccttctcct gtcactggtt atcacccttt actgcaaacg gggcagaaag 1020
aaactcctgt atatattcaa acaaccattt atgagaccag tacaaactac tcaagaggaa 1080
gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag 1140
ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac cagcagggcc agaaccagct ctataacgag 1200
ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agagacgtgg ccgggaccct 1260
gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 1320
aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc 1380
aaggggcacg atggccttta ccagggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc 1440
cttcacatgc aggccctgcc ccctcgctaa 1470

<210> 224
<211> 1485
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMAxCD38 269A37346 38A37717 GSI5007

<400> 224
atggctctgc ccgtcactgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgctcgc 60
ccacaggtcc agctggtcga atcaggggga ggcctggtgc agccaggagg cagcctgagg 120
ctgtcctgcg aggcctctgg cttcaccctg gactactatg ccatcggctg gtttaggcag 180

gcacctggaa aggagaggga gggagtgatc tgtatctccc gctctgacgg ctccacatac 240
tatgccgatt ctgtgaaggg ccggttcacc atctctagag acaacgccaa gaagacagtg 300
tacctgcaga tgatcagcct gaagccagag gataccgcag catactattg cgcagcagga 360
gcagactgtt ccggatacct gagggattat gagtttaggg gacagggaac ccaggtgaca 420
gtgagctccg gaggaggagg atctggcgga ggaggcagcg aggtgcagct ggtggagtcc 480
ggcggcggcc tggtgcaggc cggcggcagc ctgcggctgt cctgcatcgc caccggcaag 540
gtgttctcta tctacgatat gggatggtat aggcaggcac caggaaagca gagagagctg 600
gtggccgaga tcacatctag cggcaccaca cactacgacg atttcgtgag cggccggttt 660
accatctcca gagacaacgc caagaataca gtgtatctgc agatgaatac cctgaaggcc 720
gaggatacag ccgtgtacta ttgtagagcc aaccatgtct tcggcgggtc atactggggg 780
cagggaactc aggtcactgt cagcagcact agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca 840
acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca 900
gcggcggggg gcgcagtgca cacgaggggg ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg 960
gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt ctcctgtcac tggttatcac cctttactgc 1020
aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 1080
actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 1140
gaactgagag tgaagttcag caggagcgca gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac 1200
cagctctata acgagctcaa tctaggacga agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga 1260
cgtggccggg accctgagat gggggggaaag ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg 1320
tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc 1380
gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag 1440
gacacctacg acgcccttca catgcaggcc ctgcccccctc gctaa 1485

<210> 225
<211> 1503
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMAxCD38 269A37346 38A37717 GSI5008

<400> 225
atggctctgc ccgtcactgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgcaagg 60
cctcaggtcc agctggtcga atcaggggga ggcctggtgc agccaggagg cagcctgagg 120
ctgtcctgcg aggcctctgg cttcaccctg gactactatg ccatcggctg gtttaggcag 180
gcacctggaa aggagaggga gggagtgatc tgtatctccc gctctgacgg cagcacatac 240
tatgccgatt ccgtgaaggg ccggttcacc atctccagag acaacgccaa gaagacagtg 300
tacctgcaga tgatctctct gaagccagag gataccgcag catactattg cgcagcagga 360
gcagactgtt ccggatacct gagggattat gagtttaggg gacagggaac ccaggtgaca 420
gtgagctccg gaggaggaag cggaggagga tccggaggcg gctctggcgg cggcagcgag 480
gtgcagctgg tggagtccgg cggcggcctg gtgcaggccg gcggctccct gcggctgtct 540
tgcatcgcca ccggcaaggt gttcagcatc tacgatatgg gatggtatag gcaggcacca 600
ggaaagcaga gagagctggt ggccgagatc acatctagcg gcaccacaca ctacgacgat 660
ttcgtgtctg gccggtttac catcagtagg gacaacgcca agaatacagt gtatctgcag 720
atgaataccc tgaaggccga ggatacagcc gtgtactatt gtagagctaa ccatgtcttc 780
ggggggtcat actgggggca gggcactcag gtcactgtct catccactag taccacgacg 840
ccagcgccgc gaccaccaac accggcgccc accatcgcgt cgcagcccct gtccctgcgc 900
ccagaggcgt gccggccagc ggcgggggggc gcagtgcaca cgaggggggct ggacttcgcc 960
tgtgatatct acatctgggc gcccttggcc gggacttgtg gggtccttct cctgtcactg 1020
gttatcaccc tttactgcaa acggggcaga aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca 1080
tttatgagac cagtacaaac tactcaagag gaagatggct gtagctgccg atttccagaa 1140
gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg aagttcagca ggagcgcaga cgcccccgcg 1200
taccagcagg gccagaacca gctctataac gagctcaatc taggacgaag agaggagtac 1260
gatgttttgg acaagagacg tggccgggac cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag 1320
aaccctcagg aaggcctgta caatgaactg cagaaagata agatggcgga ggcctacagt 1380
gagattggga tgaaaggcga gcgccggagg ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt 1440
ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac gcccttcaca tgcaggccct gcccccctcgc 1500
taa 1503

<210> 226
<211> 1533

<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMAxCD38 269A37346 38A37717 GSI5009

<400> 226
atggctctgc ccgtcaccgc actgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgcaagg 60
cctcaggtcc agctggtcga atcaggggga ggcctggtgc agccaggagg ctctctgagg 120
ctgagctgcg aggcatccgg attcaccctg gactactatg ccatcggctg gtttaggcag 180
gcacctggaa aggagaggga gggagtgatc tgtatctccc gctctgacgg cagcacatac 240
tatgccgatt ccgtgaaggg ccggttcacc atcagcagag acaacgccaa gaagacagtg 300
tacctgcaga tgatctccct gaagccagag gataccgcag catactattg cgcagcagga 360
gcagactgtt ctggatacct gagggattat gagtttaggg gacagggaac ccaggtgaca 420
gtgagctccg gaggaggagg atccggcgga ggaggctctg gcggcggcgg cggcggcagc 480
ggctccggcg gcggcggctc cgaggtgcag ctggtggagt ctggaggagg cctggtgcag 540
gcaggaggct ctctgcggct gagctgcatc gccaccggca aggtgttcag catctacgat 600
atgggatggt ataggcaggc accaggaaag cagagagagc tggtggccga gatcacatct 660
agcggcacca cacactacga cgatttcgtg tctggccggt ttactatttc cagggacaac 720
gccaagaata cagtgtatct gcagatgaat accctgaagg ccgaggatac agccgtgtac 780
tattgtagag ctaatcacgt cttcggcggc tcttattggg ggcagggaac tcaggtcact 840
gtgtcatcca ctagtactag taccacgacg ccagcgccgc gaccaccaac accggcgccc 900
accatcgcgt cgcagcccct gtccctgcgc ccagaggcgt gccggccagc ggcgggggggc 960
gcagtgcaca cgaggggggct ggacttcgcc tgtgatatct acatctgggc gcccttggcc 1020
gggacttgtg gggtccttct cctgtcactg gttatcaccc tttactgcaa acggggcaga 1080
aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca tttatgagac cagtacaaac tactcaagag 1140
gaagatggct gtagctgccg atttccagaa gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg 1200
aagttcagca ggagcgcaga cgcccccgcg taccagcagg gccagaacca gctctataac 1260
gagctcaatc taggacgaag agaggagtac gatgttttgg acaagagacg tggccgggac 1320
cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag aaccctcagg aaggcctgta caatgaactg 1380
cagaaagata agatggcgga ggcctacagt gagattggga tgaaaggcga gcgccggagg 1440
ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac 1500
gcccttcaca tgcaggccct gcccccctcgc taa 1533

<210> 227
<211> 1557
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMAxCD38 269A37346 38A37717 GSI5010

<400> 227
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cccctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtcc agctggtcga atcaggagga ggcctggtgc agccaggagg ctctctgagg 120
ctgagctgcg aggcatccgg attcaccctg gactactatg ccatcggctg gtttaggcag 180
gcacctggaa aggagaggga gggagtgatc tgtatctccc gctctgacgg cagcacatac 240
tatgccgatt ccgtgaaggg ccggttcacc atctccagag acaacgccaa gaagacagtg 300
tacctgcaga tgatctctct gaagccagag gataccgcag catactattg cgcagcagga 360
gcagactgta gcggatacct gagggattat gagtttaggg gacagggaac ccaggtgaca 420
gtgagctccg gaggaggagg atccggcgga ggaggctctg gaggcggcgg cggcggcagc 480
ggctcaggag gcggaggaag cggcggcggc ggctccggcg gcggcggctc tgaggtgcag 540
ctggtggaga gcggaggagg cctggtgcag gcaggaggct ctctgcggct gagctgcatc 600
gccaccggca aggtgttctc catctacgat atgggatggt ataggcaggc accaggaaag 660
cagagagagc tggtggccga gatcacatct agcggcacca cacactacga cgatttcgtg 720
tctggccggt ttaccatcag tagggacaac gccaagaata cagtgtatct gcagatgaat 780
accctgaagg ccgaggatac agccgtgtac tattgtagag ctaatcatgt gtttggaggg 840
tcatactggg ggcagggaac tcaggtcact gtctcatcaa ctagtaccac gacgccagcg 900
ccgcgaccac caacaccggc gcccaccatc gcgtcgcagc ccctgtccct gcgcccagag 960
gcgtgccggc cagcggcggg gggcgcagtg cacacgaggg ggctggactt cgcctgtgat 1020
atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc 1080

accctttact gcaaacgggg cagaaagaaa ctcctgtata tattcaaaca accatttatg 1140
agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa 1200
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag 1260
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1320
ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atgggggaa agccgagaag gaagaaccct 1380
caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt 1440
gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt 1500
acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgccccc tcgctaa 1557

<210> 228
<211> 663
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Miền truyền tín hiệu nội bào của CD28-CD3 zeta và TM của CD28

<400> 228
attgaagtta tgtatcctcc tccttaccta gacaatgaga agagcaatgg aaccattatc 60
catgtgaaag ggaaacacct ttgtccaagt cccctatttc ccggaccttc taagcccttt 120
tgggtgctgg tggtggttgg tggagtcctg gcttgctata gcttgctagt aacagtggcc 180
tttattattt tctgggtgag gagtaagagg agcaggctcc tgcacagtga ctacatgaac 240
atgactcccc gccgccccgg gcccacccgc aagcattacc agccctatgc cccaccacgc 300
gacttcgcag cctatcgctc cagagtgaag ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac 360
cagcagggcc agaaccagct ctataacgag ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat 420
gttttggaca agagacgtgg ccgggaccct gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac 480
cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag 540
attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc aaggggcacg atggccttta ccagggtctc 600
agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc cttcacatgc aggccctgcc ccctcgctga 660
taa 663

<210> 229
<211> 23
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> đoạn mồi phía đầu nguồn CALL001

<400> 229
gtcctggctg ctcttctaca agg 23

<210> 230
<211> 23
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> đoạn mồi phía cuối nguồn CALLOO2

<400> 230
ggtacgtgct gttgaactgt tcc 23

<210> 231
<211> 29
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> đoạn mồi phía đầu nguồn BACK-1

<400> 231
gatgtgcagc tgcaggagtc tggaggagg 29

<210> 232
<211> 29
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> đoạn mồi phía cuối nguồn BACK-2

<400> 232
gatgtgcagc tgcaggagtc tgggggagg 29

<210> 233
<211> 34
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> đoạn mồi phía cuối nguồn PMCF

<400> 233
ctagtgcggc cgctgaggag acggtgacct gggt 34

<210> 234
<211> 6
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> vị trí giới hạn EcoRI

<400> 234
gaattc 6

<210> 235
<211> 6
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> vị trí giới hạn SpeI

<400> 235
actagt 6

<210> 236
<211> 6
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> vị trí giới hạn HpaI

<400> 236
gttaac 6

<210> 237
<211> 6
<212> ADN

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> vị trí giới hạn MluI

<400> 237
acgcgt 6

<210> 238
<211> 6
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> vị trí giới hạn NsiI

<400> 238
atgcat 6

<210> 239
<211> 2307
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR BCMA, CD38 269A37346 38A37717 GSI5013 nối tiếp

<400> 239
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacg aggtgcagct ggtggaaagc ggggggggac tggtgcaggc aggcgggtca 120
ctgagactgt catgtatcgc aactgggaag gtgtttagca tctacgacat gggctggtat 180
aggcaggcac caggaaagca gagggagctg gtggccgaga tcaccagctc cggcaccaca 240
cactacgacg atttcgtgtc tggccggttt accatcagca gagacaacgc caagaataca 300
gtgtatctgc agatgaacac cctgaaggcc gaggatacag ccgtgtacta ttgccgggct 360
aatcacgtct tcggcggctc ctactggggg cagggaactc aggtcactgt gtcatccacg 420
cgtcgcatgc atactagtac cacgacgcca gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc 480
atcgcgtcgc agcccctgtc cctgcgccca gaggcgtgcc ggccagcggc gggggcgcga 540
gtgcacacga gggggctgga cttcgcctgt gatatctaca tctgggcgcc cttggccggg 600
acttgtgggg tccttctcct gtcactggtt atcacccttt actgcaaacg gggcagaaag 660
aaactcctgt atatattcaa acaaccattt atgagaccag tacaaactac tcaagaggaa 720
gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag 780
ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac cagcagggcc agaaccagct ctataacgag 840
ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agagacgtgg ccgggaccct 900
gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 960
aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc 1020
aaggggcacg atggccttta ccagggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc 1080
cttcacatgc aggccctgcc ccctcgcggc agtggagagg gcagaggaag tctgctaaca 1140
tgcggtgacg tcgaggagaa tcctggccca ggatccatgg ccttaccagt gaccgccttg 1200
ctcctgccgc tggccttgct gctccacgcc gccaggccgg ttaaccgcac gcgtcgcatg 1260
catcaggtgc agctggtgga gtctgggggа ggcttggtgc agcctggggg ttctctgagg 1320
ctctcctgtg aagcctctgg attcactttg gattattatg ccataggctg gttccgccag 1380
gccccaggga aggagcgcga gggggtcata tgtattagta gaagtgatgg tagcacatac 1440
tatgcagact ccgtgaaggg ccgattcacc atctccagag acaacgccaa gaaaacggtg 1500
tatctgcaaa tgatcagcct gaaacctgag gacacggccg cttattactg tgcagcaggg 1560
gccgattgtt cggggtacct acgagattat gagttccggg ggcaggggac ccaggtcacc 1620
gtctcctcaa ctagtaccac gacgccagcg ccgcgaccac caacaccggc gcccaccatc 1680
gcgtcgcagc ccctgtccct gcgcccagag gcgtgccggc cagcggcggg gggcgcagtg 1740
cacacgaggg ggctggactt cgcctgtgat atctacatct gggcgccctt ggccgggact 1800
tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc acccttтact gcaaacgggg cagaaagaaa 1860
ctcctgtata tattcaaaca accatttatg agaccagtac aaactactca agaggaagat 1920
ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc 1980

agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag cagggccaga accagctcta taacgagctc 2040
aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag 2100
atgggggaa agccgagaag gaagaaccct caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa 2160
gataagatgg cggaggccta cagtgagatt gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag 2220
gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt acagccacca aggacaccta cgacgccctt 2280
cacatgcagg ccctgccccc tcgctaa 2307

<210> 240
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> FR1 VHH CD19

<400> 240
Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Glu Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Pro Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn Ile Phe Ser
20 25 30

<210> 241
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> FR2 VHH CD19

<400> 241
Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Ala Phe Val Ala
1 5 10

<210> 242
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> FR3 VHH CD19

<400> 242
Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ile Tyr Leu Gln
1 5 10 15
Met Asn Ala Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Ala
20 25 30

<210> 243
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> FR4 VHH CD19

<400> 243
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 244
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> FR1 VHH CD20

<400> 244
Pro Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Gly
20 25 30

<210> 245
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> FR2 VHH CD20

<400> 245
Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala
1 5 10

<210> 246
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> FR3 VHH CD20

<400> 246
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Leu Thr Val Asp Leu Gln
1 5 10 15
Met Asp Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala
20 25 30

<210> 247
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> FR4 VHH CD20

<400> 247
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 248
<211> 357
<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD19

<400> 248
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1   5   10   15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Glu Leu
            20   25   30
Val Gln Pro Gly Gly Pro Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn
        35   40   45
Ile Phe Ser Ile Asn Arg Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50   55   60
Gln Arg Ala Phe Val Ala Ser Ile Thr Val Arg Gly Ile Thr Asn Tyr
65   70   75   80
Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys
                85   90   95
Asn Thr Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ala Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
            100   105   110
Val Tyr Tyr Cys Asn Ala Val Ser Ser Asn Arg Asp Pro Asp Tyr Trp
        115   120   125
Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Ile Glu Val Met Tyr Pro
    130   135   140
Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val
145   150   155   160
Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys
                165   170   175
Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser
            180   185   190
Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg
        195   200   205
Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro
    210   215   220
Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe
225   230   235   240
Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro
                245   250   255
Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly
            260   265   270
Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro
        275   280   285
Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr
    290   295   300
Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly
305   310   315   320
Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln
                325   330   335
Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln
            340   345   350
Ala Leu Pro Pro Arg
        355

<210> 249
<211> 369
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD20

<400> 249
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Pro Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
35 40 45
Thr Phe Gly Ile Gly Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Arg Trp Ser Thr Gly Gly Thr Arg
65 70 75 80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Leu Thr Val Asp Leu Gln Met Asp Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Leu Ser Leu Asp Leu Ser Gly
115 120 125
Arg Tyr His Tyr Asn Pro Ala Val Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
130 135 140
Gln Val Thr Val Ser Ser Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu
145 150 155 160
Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His
165 170 175
Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val
180 185 190
Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr
195 200 205
Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu
210 215 220
His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg
225 230 235 240
Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg
245 250 255
Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln
260 265 270
Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
275 280 285
Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
290 295 300
Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
305 310 315 320
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
325 330 335
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
340 345 350
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
355 360 365
Arg

<210> 250
<211> 1077
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD19

<400> 250

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccgcaggtaa agctggagga gtctggggga gaattggtgc agcctggggg gcctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctcggg aaacatcttc agtatcaatc gcatgggctg gtaccgccag 180
gctccaggga agcagcgcgc gttcgtcgca tctattactg ttcgtggtat aacaaactat 240
gcagactccg tgaagggccg attcaccatt tctgtagaca agtccaaaaa cacgatttat 300
ctgcagatga acgcactcaa acctgaggac acggccgtct attattgtaa tgcagtgtct 360
tcaaacaggg accccgacta ctggggccag gggacccagg tcaccgtctc ctcaattgaa 420
gttatgtatc ctcctcctta cctagacaat gagaagagca atggaaccat tatccatgtg 480
aaagggaaac acctttgtcc aagtccccta tttcccggac cttctaagcc cttttgggtg 540
ctggtggtgg ttggtggagt cctggcttgc tatagcttgc tagtaacagt ggcctttatt 600
attttctggg tgaggagtaa gaggagcagg ctcctgcaca gtgactacat gaacatgact 660
ccccgccgcc ccgggcccac ccgcaagcat taccagccct atgccccacc acgcgacttc 720
gcagcctatc gctccagagt gaagttcagc aggagcgcag acgcccccgc gtaccagcag 780
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 840
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 900
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 960
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1020
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgcccctcg ctgataa 1077

<210> 251
<211> 1113
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR CD20

<400> 251
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccgccggtgc agctggtgga gtctgggggg ggcttggtgc aggctgggga ttctctgaga 120
ctctcctgtg ctgcctctgg acgcaccttc ggtattggta ccatgggctg gttccgccaa 180
cctccaggga aggagcgtga atttgtagca gctattaggt ggagtactgg tggcactcgc 240
tatgcagact ccgtgaaggg ccgattcacc atctcccgag acaacgccaa gctcacggta 300
gatctgcaaa tggacagcct gaaacctgaa gacacggccg tttattactg tgcagcagat 360
agactgtccc ttgatttaag tggtcgttac cactacaacc ccgccgtgta tgactattgg 420
ggccagggga cccaggtcac cgtctcctca attgaagtta tgtatcctcc tccttaccta 480
gacaatgaga agagcaatgg aaccattatc catgtgaaag ggaaacacct ttgtccaagt 540
cccctatttc ccggaccttc taagcccttt tgggtgctgg tggtggttgg tggagtcctg 600
gcttgctata gcttgctagt aacagtggcc tttattattt tctgggtgag gagtaagagg 660
agcaggctcc tgcacagtga ctacatgaac atgactcccc gccgccccgg gcccacccgc 720
aagcattacc agccctatgc cccaccacgc gacttcgcag cctatcgctc cagagtgaag 780
ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac cagcagggcc agaaccagct ctataacgag 840
ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agagacgtgg ccgggaccct 900
gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 960
aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc 1020
aaggggcacg atggccttta ccagggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc 1080
cttcacatgc aggccctgcc ccctcgctga taa 1113

<210> 252
<211> 23
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> đoạn mồi 137P2F

<400> 252
gtccttctcc tgtcactggt tat 23

<210> 253
<211> 23

<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> đoạn mồi 137P2R

<400> 253
tcttcttctt ctggaaatcg gca 23

<210> 254
<211> 48
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> trình tự gốc liên kết 3

<400> 254
ggcggcggca gcggcggcgg cagcggcggc ggcagcggcg gcggcagc 48

<210> 255
<211> 21
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> T2A

<400> 255
Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu
1 5 10 15
Glu Asn Pro Gly Pro
20

<210> 256
<211> 63
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> T2A

<400> 256
ggcagtggag agggcagagg aagtctgcta acatgcggtg acgtcgagga gaatcctggc 60
cca 63

<210> 257
<211> 376
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR GSI5011 269A37346

<400> 257
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Gln Val Gln
20 25 30
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg

```
        35                  40                  45
Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly
    50                  55                  60
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile
65                  70                  75                  80
Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
                85                  90                  95
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met
            100                 105                 110
Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly
        115                 120                 125
Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly
    130                 135                 140
Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg
145                 150                 155                 160
Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg
                165                 170                 175
Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly
            180                 185                 190
Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr
        195                 200                 205
Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg
    210                 215                 220
Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro
225                 230                 235                 240
Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu
                245                 250                 255
Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala
            260                 265                 270
Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu
        275                 280                 285
Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly
    290                 295                 300
Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu
305                 310                 315                 320
Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser
                325                 330                 335
Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly
            340                 345                 350
Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu
        355                 360                 365
His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
    370                 375
```

<210> 258
<211> 373
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR GSI5019 269A37353

<400> 258

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Gln Val Lys
            20                  25                  30
Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg
        35                  40                  45
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly
```

```
    50                  55                  60
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile
65                  70                  75                  80
Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
                85                  90                  95
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met
            100                 105                 110
Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg
        115                 120                 125
Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
    130                 135                 140
Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
145                 150                 155                 160
Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
                165                 170                 175
Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
            180                 185                 190
Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val
        195                 200                 205
Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys
    210                 215                 220
Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr
225                 230                 235                 240
Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu
                245                 250                 255
Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro
            260                 265                 270
Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly
        275                 280                 285
Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro
    290                 295                 300
Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr
305                 310                 315                 320
Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly
                325                 330                 335
Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln
            340                 345                 350
Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln
        355                 360                 365
Ala Leu Pro Pro Arg
    370
```

<210> 259
<211> 372
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR GSI5020 269A37917

<400> 259

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Glu Val Gln
            20                  25                  30
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg
        35                  40                  45
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg
    50                  55                  60
Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser
```

65 70 75 80
Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
85 90 95
Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu
100 105 110
Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser
115 120 125
Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
130 135 140
Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
145 150 155 160
Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
165 170 175
Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
180 185 190
Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
195 200 205
Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys
210 215 220
Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
225 230 235 240
Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
245 250 255
Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
260 265 270
Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
275 280 285
Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
290 295 300
Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
305 310 315 320
Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
325 330 335
Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
340 345 350
Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
355 360 365
Leu Pro Pro Arg
370

<210> 260
<211> 369
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR GSI5012 38A37717

<400> 260
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
20 25 30
Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr
35 40 45
Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro
50 55 60
Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr
65 70 75 80
His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

```
                85                  90                  95
Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp
            100                 105                 110
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr
        115                 120                 125
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Arg Arg Met His
    130                 135                 140
Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr
145                 150                 155                 160
Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala
                165                 170                 175
Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile
            180                 185                 190
Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser
        195                 200                 205
Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
    210                 215                 220
Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
225                 230                 235                 240
Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
                245                 250                 255
Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln
            260                 265                 270
Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
        275                 280                 285
Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
    290                 295                 300
Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
305                 310                 315                 320
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
                325                 330                 335
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
            340                 345                 350
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
        355                 360                 365
Arg
```

<210> 261
<211> 1131
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR GSI5011 269A37346

<400> 261
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatcag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg 120
gtgcagcctg ggggttctct gaggctctcc tgtgaagcct ctggattcac tttggattat 180
tatgccatag gctggttccg ccaggcccca gggaaggagc gcgaggggt catatgtatt 240
agtagaagtg atggtagcac atactatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300
agagacaacg ccaagaaaac ggtgtatctg caaatgatca gcctgaaacc tgaggacacg 360
gccgcttatt actgtgcagc aggggccgat tgttcggggt acctacgaga ttatgagttc 420
cgggggcagg ggacccaggt caccgtctcc tcaactagta ccacgacgcc agcgccgcga 480
ccaccaacac cggcgcccac catcgcgtcg cagcccctgt ccctgcgccc agaggcgtgc 540
cggccagcgg cgggggcgc agtgcacacg agggggctgg acttcgcctg tgatatctac 600
atctgggcgc ccttggccgg gacttgtggg gtccttctcc tgtcactggt tatcacctt 660
tactgcaaac ggggcagaaa gaaactcctg tatatattca aacaaccatt tatgagacca 720
gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt agctgccgat ttccagaaga agaagaagga 780

ggatgtgaac tgagagtgaa gttcagcagg agcgcagacg cccccgcgta ccagcagggc 840
cagaaccagc tctataacga gctcaatcta ggacgaagag aggagtacga tgttttggac 900
aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa 960
ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag atggcggagg cctacagtga gattgggatg 1020
aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac gatggccttt accagggtct cagtacagcc 1080
accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg caggccctgc cccctcgcta a 1131

<210> 262
<211> 1122
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR GSI5019 269A37353

<400> 262
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatcag gtaaagctgg aggagtctgg gggaggcttg 120
gtgcaggctg ggcggtctct gagactctcc tgtgcagcct ctgaacacac cttcagtagc 180
catgtcatgg gctggttccg ccaggctcca gggaaggagc gtgagtctgt tgcagttatt 240
ggctggagag atattagcac aagctatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300
agagacaacg ccaagaagac gctgtatctg caaatgaata gcctgaaacc tgaggacacg 360
gccgtttact actgtgcagc acgtcggatc gacgcagctg actttgattc ctgggggcag 420
gggacccagg tcaccgtctc ctcgactagt accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca 480
ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg 540
gcgggggcg cagtgcacac gaggggctg gacttcgcct gtgatatcta catctgggcg 600
cccttggccg ggacttgtgg ggtccttctc ctgtcactgg ttatcaccct ttactgcaaa 660
cggggcagaa agaaactcct gtatatattc aaacaaccat ttatgagacc agtacaaact 720
actcaagagg aagatggctg tagctgccga tttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa 780
ctgagagtga agttcagcag gagcgcagac gcccccgcgt accagcaggg ccagaaccag 840
ctctataacg agctcaatct aggacgaaga gaggagtacg atgttttgga caagagacgt 900
ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg agaaggaaga accctcagga aggcctgtac 960
aatgaactgc agaaagataa gatggcggag gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag 1020
cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt taccagggtc tcagtacagc caccaaggac 1080
acctacgacg cccttcacat gcaggccctg ccccctcgct aa 1122

<210> 263
<211> 1119
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR GSI5020 269A37917

<400> 263
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg 120
gtgcaggctg gggggtctct gagactctcc tgtgcagcct ctggacgcac cttcaccatg 180
gggtggttcc gtcaggctcc agggaaggag cgtgagtttg tagcagctat tagtttgagt 240
cctactttag catattatgc agagtccgtg aagggccgat tcaccatcag ccgagacaac 300
gccaagaaca cggtggtttt gcaaatgaac agcctgaaac ctgaggacac ggccctttat 360
tactgtgcag cagaccggaa atcagtaatg tctattcggc ccgactactg gggccagggg 420
acccaggtca ccgtctcctc aactagtacc acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg 480
gcgcccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc ctgcgcccag aggcgtgccg gccagcggcg 540
gggggcgcag tgcacacgag ggggctggac ttcgcctgtg atatctacat ctgggcgccc 600
ttggccggga cttgtggggt ccttctcctg tcactggtta tcacccttta ctgcaaacgg 660
ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa caaccattta tgagaccagt acaaactact 720
caagaggaag atggctgtag ctgccgattt ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg 780
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc 840
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 900
cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 960

gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 1020
cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 1080
tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgctaa 1119

<210> 264
<211> 1110
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR GSI5012 38A37717

<400> 264
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacg aggtgcagct ggtggaaagc ggggggggac tggtgcaggc aggcgggtca 120
ctgagactgt catgtatcgc aactgggaag gtgtttagca tctacgacat gggctggtat 180
aggcaggcac caggaaagca gagggagctg gtggccgaga tcaccagctc cggcaccaca 240
cactacgacg atttcgtgtc tggccggttt accatcagca gagacaacgc caagaataca 300
gtgtatctgc agatgaacac cctgaaggcc gaggatacag ccgtgtacta ttgccgggct 360
aatcacgtct tcggcggctc ctactggggg cagggaactc aggtcactgt gtcatccacg 420
cgtcgcatgc atactagtac cacgacgcca gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc 480
atcgcgtcgc agcccctgtc cctgcgccca gaggcgtgcc ggccagcggc gggggcgca 540
gtgcacacga gggggctgga cttcgcctgt gatatctaca tctgggcgcc cttggccggg 600
acttgtgggg tccttctcct gtcactggtt atcacccttt actgcaaacg gggcagaaag 660
aaactcctgt atatattcaa acaaccattt atgagaccag tacaaactac tcaagaggaa 720
gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag 780
ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac cagcagggcc agaaccagct ctataacgag 840
ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agagacgtgg ccgggaccct 900
gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 960
aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc 1020
aaggggcacg atggccttta ccagggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc 1080
cttcacatgc aggccctgcc ccctcgctaa 1110

<210> 265
<211> 488
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR GSI5021

<400> 265
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1   5   10   15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20   25   30
Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His
        35   40   45
Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50   55   60
Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser
65   70   75   80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
                85   90   95
Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
            100   105   110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp
        115   120   125
Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
    130   135   140
Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly

145 150 155 160
Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Thr Met
165 170 175
Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala
180 185 190
Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly
195 200 205
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Val Leu Gln
210 215 220
Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala
225 230 235 240
Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg
260 265 270
Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg
275 280 285
Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly
290 295 300
Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr
305 310 315 320
Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg
325 330 335
Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro
340 345 350
Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu
355 360 365
Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala
370 375 380
Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu
385 390 395 400
Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly
405 410 415
Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu
420 425 430
Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser
435 440 445
Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly
450 455 460
Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu
465 470 475 480
His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 266
<211> 498
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR GSI5022

<400> 266
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His
35 40 45
Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys

```
    50                  55                  60
Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser
65                  70                  75                  80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
                85                  90                  95
Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp
        115                 120                 125
Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
    130                 135                 140
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
145                 150                 155                 160
Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175
Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190
Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr
        195                 200                 205
Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
    210                 215                 220
Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro
225                 230                 235                 240
Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met
                245                 250                 255
Ser Ile Arg Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
            260                 265                 270
Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro
        275                 280                 285
Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro
    290                 295                 300
Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp
305                 310                 315                 320
Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu
                325                 330                 335
Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
            340                 345                 350
Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
        355                 360                 365
Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
    370                 375                 380
Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln
385                 390                 395                 400
Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
                405                 410                 415
Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
            420                 425                 430
Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
        435                 440                 445
Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
    450                 455                 460
Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
465                 470                 475                 480
Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
                485                 490                 495
Pro Arg
```

<210> 267
<211> 508

<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR GSI5023

<400> 267
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His
35 40 45
Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser
65 70 75 80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp
115 120 125
Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
165 170 175
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
180 185 190
Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
195 200 205
Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu
210 215 220
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
225 230 235 240
Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
245 250 255
Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
260 265 270
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr
275 280 285
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
290 295 300
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
305 310 315 320
His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
325 330 335
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
340 345 350
Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
355 360 365
Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
370 375 380
Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
385 390 395 400
Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
405 410 415
Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
420 425 430

Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
435 440 445
Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
450 455 460
Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
465 470 475 480
Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
485 490 495
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
500 505

<210> 268
<211> 493
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR GSI5024

<400> 268
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
35 40 45
Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
50 55 60
Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu
65 70 75 80
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
85 90 95
Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
100 105 110
Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
115 120 125
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
145 150 155 160
Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His
165 170 175
Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
180 185 190
Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser
195 200 205
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
210 215 220
Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
225 230 235 240
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp
245 250 255
Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln
275 280 285
Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala
290 295 300
Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala
305 310 315 320

```
Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr
                325                 330                 335
Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
            340                 345                 350
Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser
        355                 360                 365
Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys
    370                 375                 380
Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln
385                 390                 395                 400
Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
                405                 410                 415
Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
            420                 425                 430
Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
        435                 440                 445
Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
    450                 455                 460
Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
465                 470                 475                 480
Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                485                 490
```

<210> 269
<211> 498
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR GSI5025

<400> 269

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
        35                  40                  45
Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
    50                  55                  60
Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu
65                  70                  75                  80
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
                85                  90                  95
Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
            100                 105                 110
Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
        115                 120                 125
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    130                 135                 140
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Lys Leu Glu Glu
145                 150                 155                 160
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys
                165                 170                 175
Ala Ala Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg
            180                 185                 190
Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg
        195                 200                 205
Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220
```

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225 230 235 240
Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp
245 250 255
Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
260 265 270
Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro
275 280 285
Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro
290 295 300
Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp
305 310 315 320
Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu
325 330 335
Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
340 345 350
Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
355 360 365
Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
370 375 380
Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln
385 390 395 400
Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
405 410 415
Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
420 425 430
Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
435 440 445
Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
450 455 460
Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
465 470 475 480
Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
485 490 495
Pro Arg

<210> 270
<211> 503
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR GSI5026

<400> 270
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
35 40 45
Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
50 55 60
Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu
65 70 75 80
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
85 90 95
Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
100 105 110

```
Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
        115                 120                 125
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    130                 135                 140
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln
145                 150                 155                 160
Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Arg Ser
                165                 170                 175
Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His Val
            180                 185                 190
Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val Ala
        195                 200                 205
Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
    210                 215                 220
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Leu Tyr Leu
225                 230                 235                 240
Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                245                 250                 255
Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr
            260                 265                 270
Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro
        275                 280                 285
Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro
    290                 295                 300
Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu
305                 310                 315                 320
Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys
                325                 330                 335
Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly
            340                 345                 350
Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
        355                 360                 365
Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
    370                 375                 380
Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
385                 390                 395                 400
Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
                405                 410                 415
Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
            420                 425                 430
Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
        435                 440                 445
Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
    450                 455                 460
Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
465                 470                 475                 480
Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
                485                 490                 495
Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
            500
```

<210> 271
<211> 1467
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR GSI5021

<400> 271

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtca aactggaaga atctggcgga ggcctggtgc aggcaggacg gagcctgcgc 120
ctgagctgcg cagcatccga gcacaccttc agctcccacg tgatgggctg gtttcggcag 180
gccccaggca aggagagaga gagcgtggcc gtgatcggct ggagggacat ctccacatct 240
tacgccgatt ccgtgaaggg ccggttcacc atcagccggg acaacgccaa gaagacactg 300
tatctgcaga tgaacagcct gaagcccgag gacaccgccg tgtactattg cgcagcaagg 360
agaatcgacg cagcagactt tgattcctgg ggccagggca cccaggtgac agtgtctagc 420
ggaggaggag gatctgaggt gcagctggtg gagagcggag gcggcctggt gcaggccgga 480
ggctctctga ggctgagctg tgcagcatcc ggaagaacct tcacaatggg ctggtttagg 540
caggcaccag gaaaggagag ggagttcgtg gcagcaatca gcctgtcccc taccctggcc 600
tactatgccg agagcgtgaa gggcaggttt accatctccc gcgataacgc caagaataca 660
gtggtgctgc agatgaactc cctgaaacct gaggacacag ccctgtacta ttgtgccgcc 720
gatcggaaga gcgtgatgag cattagacca gactattggg ggcagggaac acaggtgacc 780
gtgagcagca ctagtaccac gacgccagcg ccgcgaccac caacaccggc gcccaccatc 840
gcgtcgcagc ccctgtccct gcgcccagag gcgtgccggc cagcggcggg gggcgcagtg 900
cacacgaggg ggctggactt cgcctgtgat atctacatct gggcgccctt ggccgggact 960
tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc acccctttact gcaaacgggg cagaaagaaa 1020
ctcctgtata tattcaaaca accatttatg agaccagtac aaactactca agaggaagat 1080
ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc 1140
agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag cagggccaga accagctcta taacgagctc 1200
aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag 1260
atgggggaa agccgagaag gaagaaccct caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa 1320
gataagatgg cggaggccta cagtgagatt gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag 1380
gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt acagccacca aggacaccta cgacgccctt 1440
cacatgcagg ccctgccccc tcgctaa 1467

<210> 272
<211> 1497
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR GSI5022

<400> 272
atggctctgc ctgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtca aactggaaga aagtgggga ggcctggtgc aggcaggacg gagcctgcgc 120
ctgagctgcg cagcatccga gcacaccttc agctcccacg tgatgggctg gtttcggcag 180
gccccaggca aggagagaga gtccgtggcc gtgatcggct ggagggacat ctccacatct 240
tacgccgatt ctgtgaaggg ccggttcacc atcagcagag acaacgccaa gaagacactg 300
tatctgcaga tgaatagcct gaagcccgag gacaccgccg tgtactattg cgcagcaagg 360
agaatcgacg cagcagactt tgattcctgg ggccagggca cccaggtgac agtgtctagc 420
ggaggaggag gatctggagg aggaggaagc ggaggaggag gatccgaggt gcagctggtg 480
gagtctggag gcggcctggt gcaggccgga ggctctctga ggctgagctg tgcagcatcc 540
ggaagaacct tcacaatggg ctggtttagg caggcaccag gaaaggagag ggagttcgtg 600
gcagcaatca gcctgtcccc taccctggcc tactatgccg agtccgtgaa gggcaggttt 660
accatctctc gcgataacgc caagaataca gtggtgctgc agatgaacag cctgaaacct 720
gaggacacag ccctgtacta ttgtgccgcc gatcggaaga gcgtgatgag cattagaccc 780
gattattggg gacagggcac acaggtgaca gtgagtagca ctagtaccac gacgccagcg 840
ccgcgaccac caacaccggc gcccaccatc gcgtcgcagc ccctgtccct gcgcccagag 900
gcgtgccggc cagcggcggg gggcgcagtg cacacgaggg ggctggactt cgcctgtgat 960
atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc 1020
acccctttact gcaaacgggg cagaaagaaa ctcctgtata tattcaaaca accatttatg 1080
agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa 1140
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag 1200
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1260
ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atgggggaa agccgagaag gaagaaccct 1320
caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt 1380
gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt 1440
acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgccccc tcgctaa 1497

<210> 273
<211> 1527
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR GSI5023

<400> 273
atggctctgc ccgtcaccgc actgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgcaaga 60
ccacaggtca aactggaaga atcaggagga ggcctggtgc aggcaggacg gagcctgcgc 120
ctgagctgcg cagcatccga gcacaccttc agctcccacg tgatgggctg gtttcggcag 180
gccccaggca aggagagaga gtccgtggcc gtgatcggct ggagggacat ctccacatct 240
tacgccgatt ccgtgaaggg ccggttcacc atcagccggg acaacgccaa gaagacactg 300
tatctgcaga tgaacagcct gaagcccgag gacaccgccg tgtactattg cgcagcaagg 360
agaatcgacg cagcagactt tgatagctgg ggccagggca cccaggtgac agtgtctagc 420
ggaggaggag gatctggagg aggaggaagc ggaggaggag gaagcggcgg cggcggctct 480
ggcggcggcg gcagcgaggt gcagctggtg gagagcggcg gcggcctggt gcaggccggc 540
ggctctctga ggctgagctg tgcagcatcc ggaagaacct tcacaatggg ctggtttagg 600
caggcaccag gaaaggagag ggagttcgtg gcagcaatca gcctgtcccc taccctggcc 660
tactatgccg agagcgtgaa gggcaggttt accatctccc gcgataacgc caagaataca 720
gtggtgttac aaatgaacag cctgaaacct gaggacacag ccctgtacta ttgtgccgcc 780
gatcggaaga gcgtgatgag cattagaccc gattattggg ggcaggggac acaggtgacc 840
gtgagcagca ctagtaccac gacgccagcg ccgcgaccac caacaccggc gcccaccatc 900
gcgtcgcagc ccctgtccct gcgcccagag gcgtgccggc cagcggcggg gggcgcagtg 960
cacacgaggg ggctggactt cgcctgtgat atctacatct gggcgccctt ggccgggact 1020
tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc acccctttact gcaaacgggg cagaaagaaa 1080
ctcctgtata tattcaaaca accatttatg agaccagtac aaactactca agaggaagat 1140
ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc 1200
agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag cagggccaga accagctcta taacgagctc 1260
aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag 1320
atgggggggaa agccgagaag gaagaaccct caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa 1380
gataagatgg cggaggccta cagtgagatt gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag 1440
gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt acagccacca aggacaccta cgacgccctt 1500
cacatgcagg ccctgccccc tcgctaa 1527

<210> 274
<211> 1482
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR GSI5024

<400> 274
atggctctgc ctgtgaccgc actgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgcacga 60
cctgaagtcc agctggtgga atccgggggga ggcctggtgc aggcaggagg ctccctgagg 120
ctgtcttgcg cagcaagcgg aagaaccttc acaatgggct ggtttaggca ggcaccagga 180
aaggagaggg agttcgtggc cgccatctcc ctgtctccta ccctggccta ctatgccgag 240
agcgtgaagg gcaggtttac catctcccgc gacaacgcca agaatacagt ggtgctgcag 300
atgaacagcc tgaagccaga ggacacagcc ctgtactatt gcgccgccga tcggaagtct 360
gtgatgagca tcagacccga ttactggggc cagggcaccc aggtgacagt gagctccgga 420
ggaggaggat ccggcggagg aggctctcag gtgaagctgg aggagtccgg aggcggcctg 480
gtgcaggccg gacggtccct gagactgtct tgtgccgcca gcgagcacac cttctctagc 540
cacgtgatgg gatggttcag gcaggcacct ggaaaggaga gggagtccgt ggcagtgatc 600
ggatggaggg acatcagcac atcctacgcc gattctgtga agggccggtt caccatcagc 660
agagacaacg ccaagaagac actgtattta caaatgaaca gcctgaagcc cgaggatacc 720
gccgtgtact attgtgccgc ccggcggatt gacgccgcag actttgactc atgggggcag 780
ggaactcagg tgaccgtgtc ctcaactagt accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca 840
ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg 900
gcgggggggcg cagtgcacac gaggggggctg gacttcgcct gtgatatcta catctgggcg 960

ccccttggccg ggacttgtgg ggtccttctc ctgtcactgg ttatcaccct ttactgcaaa 1020
cggggcagaa agaaactcct gtatatattc aaacaaccat ttatgagacc agtacaaact 1080
actcaagagg aagatggctg tagctgccga tttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa 1140
ctgagagtga agttcagcag gagcgcagac gcccccgcgt accagcaggg ccagaaccag 1200
ctctataacg agctcaatct aggacgaaga gaggagtacg atgttttgga caagagacgt 1260
ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg agaaggaaga accctcagga aggcctgtac 1320
aatgaactgc agaaagataa gatggcggag gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag 1380
cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt taccagggtc tcagtacagc caccaaggac 1440
acctacgacg cccttcacat gcaggccctg ccccctcgct aa 1482

<210> 275
<211> 1497
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR GSI5025

<400> 275
atggccctgc ctgtcaccgc tctgctgctg cccctggccc tgctgctgca cgccgcacgc 60
cctgaggtcc agctggtcga gtccggggga ggcctggtgc aggcaggagg ctccctgagg 120
ctgtcttgcg cagcaagcgg aagaaccttc acaatgggct ggtttaggca ggcaccagga 180
aaggagaggg agttcgtggc cgccatctcc ctgtctccta ccctggccta ctatgccgag 240
tccgtgaagg gcaggtttac catctctcgc gacaacgcca agaatacagt ggtgctgcag 300
atgaactccc tgaagccaga ggacacagcc ctgtactatt gcgccgccga tcggaagtct 360
gtgatgagca tcagacccga ttactggggc cagggcaccc aggtgacagt gagctccgga 420
ggaggaggat ccggcggagg aggctctggc ggcggcggca gccaggtgaa gctggaggag 480
agcggaggcg gcctggtgca ggccggacgg tccctgagac tgtcttgtgc cgccagcgag 540
cacaccttct ctagccacgt gatgggatgg ttcaggcagg cacctggaaa ggagagggag 600
tctgtggccg tgatcggctg gagggacatc agcacatcct acgccgatag cgtgaagggc 660
cggttcacca tctccagaga caacgccaag aagacactgt atctgcagat gaatagcctg 720
aagcccgagg ataccgccgt gtactattgt gccgcccggc ggattgacgc cgcagatttt 780
gattcttggg ggcagggaac tcaggtgacc gtgtcctcaa ctagtaccac gacgccagcg 840
ccgcgaccac caacaccggc gcccaccatc gcgtcgcagc ccctgtccct gcgcccagag 900
gcgtgccggc cagcggcggg gggcgcagtg cacacgaggg ggctggactt cgcctgtgat 960
atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc 1020
acccttttact gcaaacgggg cagaaagaaa ctcctgtata tattcaaaca accatttatg 1080
agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa 1140
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag 1200
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1260
ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atgggggggaa agccgagaag gaagaaccct 1320
caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt 1380
gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt 1440
acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgccccc tcgctaa 1497

<210> 276
<211> 1512
<212> ADN
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> CAR GSI5026

<400> 276
atggctctgc ctgtgaccgc cctgctgctg cccctggccc tgctgctgca cgccgcacga 60
cctgaagtcc agctggtgga atctggcgga ggcctggtgc aggcaggagg ctccctgagg 120
ctgtcttgcg cagcaagcgg aagaaccttc acaatgggct ggtttaggca ggcaccagga 180
aaggagaggg agttcgtggc cgccatctcc ctgtctccta ccctggccta ctatgccgag 240
tctgtgaagg gcaggtttac catcagccgc gacaacgcca agaatacagt ggtgctgcag 300
atgaacagcc tgaagccaga ggacacagcc ctgtactatt gcgccgccga tcggaagtct 360
gtgatgagca tcagacccga ttactggggc cagggcaccc aggtgacagt gagctccgga 420

ggaggaggat ccggcggagg aggctctggc ggcggcggct ccggcggcgg cggctcccag 480
gtgaagctgg aggagtccgg aggcggcctg gtgcaggccg gacggtccct gagactgtct 540
tgtgccgcca gcgagcacac cttctctagc cacgtgatgg gatggttcag gcaggcacct 600
ggaaaggaga gggagagcgt ggcagtgatc ggatggaggg acatcagcac atcctacgcc 660
gattccgtga agggccggtt caccatcagc cgggacaacg ccaagaagac actgtattta 720
caaatgaaca gcctgaagcc cgaggatacc gccgtgtact attgtgccgc ccggcggatt 780
gatgccgcag actttgatag ttggggacag gggactcagg tcaccgtcag cagcactagt 840
accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg 900
tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg gcgggggcg cagtgcacac gaggggctg 960
gacttcgcct gtgatatcta catctgggcg cccttggccg ggacttgtgg ggtccttctc 1020
ctgtcactgg ttatcaccct ttactgcaaa cggggcagaa agaaactcct gtatatattc 1080
aaacaaccat ttatgagacc agtacaaact actcaagagg aagatggctg tagctgccga 1140
tttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa ctgagagtga agttcagcag gagcgcagac 1200
gcccccgcgt accagcaggg ccagaaccag ctctataacg agctcaatct aggacgaaga 1260
gaggagtacg atgttttgga caagagacgt ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg 1320
agaaggaaga accctcagga aggcctgtac aatgaactgc agaaagataa gatggcggag 1380
gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt 1440
taccagggtc tcagtacagc caccaaggac acctacgacg cccttcacat gcaggccctg 1500
ccccctcgct aa 1512

<210> 277
<211> 768
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Các CAR BCMA, CD38 269A37346 38A37717 GSI5013 nối tiếp

<400> 277
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
20 25 30
Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Ala Thr
35 40 45
Gly Lys Val Phe Ser Ile Tyr Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro
50 55 60
Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Glu Ile Thr Ser Ser Gly Thr Thr
65 70 75 80
His Tyr Asp Asp Phe Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
85 90 95
Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Ala Glu Asp
100 105 110
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg Ala Asn His Val Phe Gly Gly Ser Tyr
115 120 125
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Arg Arg Met His
130 135 140
Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr
145 150 155 160
Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala
165 170 175
Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile
180 185 190
Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser
195 200 205
Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
210 215 220
Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
225 230 235 240
Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
245 250 255

```
Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln
            260                 265                 270
Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
        275                 280                 285
Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
    290                 295                 300
Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
305                 310                 315                 320
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
                325                 330                 335
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
            340                 345                 350
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
        355                 360                 365
Arg Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val
    370                 375                 380
Glu Glu Asn Pro Gly Pro Gly Ser Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu
385                 390                 395                 400
Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg
                405                 410                 415
Thr Arg Arg Met His Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            420                 425                 430
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe
        435                 440                 445
Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    450                 455                 460
Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr
465                 470                 475                 480
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
                485                 490                 495
Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
            500                 505                 510
Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg
        515                 520                 525
Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr
    530                 535                 540
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
545                 550                 555                 560
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
                565                 570                 575
Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr
            580                 585                 590
Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
        595                 600                 605
Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile
    610                 615                 620
Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
625                 630                 635                 640
Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
                645                 650                 655
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
            660                 665                 670
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
        675                 680                 685
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
    690                 695                 700
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
705                 710                 715                 720
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
                725                 730                 735
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
```

```
            740                 745                 750
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
        755                 760                 765
```