

Решение научно-практической задачи

На тему: «В чем заключается основная концепция адоптивной иммунотерапии? Какие еще подходы генно-клеточной терапии существуют?»

Смирнов Сергей Владимирович | Генная терапия | 12.03.2023

Организм человека обладает прекрасными компенсаторными возможностями, благодаря которым осуществляются защита от разрушительных внешних воздействий, регуляция функций организма, регенерация и другие процессы, обеспечивающие постоянство внутренней среды организма. Так, одной из защитных систем организма является иммунная система, которая выполняет функцию распознавания и уничтожения вредоносных для организма агентов, а также злокачественных клеток самого организма. Понятие иммунитет может быть определено как «совокупность физиологических механизмов, позволяющих организму человека распознать чужеродные агенты и нейтрализовать, устранить или метаболизировать их без повреждения собственных тканей» [1]. Однако иммунная система не всегда способна адекватно устранить новоявленный дефект. Некоторые патогенные микроорганизмы способны уклоняться от механизмов защиты, например, фагоцитоза (незавершенный фагоцитоз) или персистировать в форме латентной, хронической или медленной манифестантной инфекции. В свою очередь, система PD-1/PD-L1 обеспечивает ингибирование противоопухолевого иммунитета [2]. Неспособность иммунной системы самостоятельно уничтожить инфекционный агент или злокачественное новообразование, низкая эффективность и высокая токсичность традиционных методов лечения, привели к возникновению иммунотерапии, основная концепция которой заключается лечении заболевания, при котором собственная иммунная система задействована в борьбе с недугом. Отсюда можно рассматривать адоптивную иммунотерапию, как вид иммунотерапии, использующий модифицированные биоинженерными методами иммунные клетки, вводимые в организм для восстановления структур и функций тканей и органов или активации собственных восстановительных механизмов.

При рассмотрении подходов генно-клеточной терапии следует разделить их на генные и клеточные. Согласно Федеральному закону № 86-ФЗ «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности», генная терапия – это “совокупность генно-инженерных (биотехнологических) и медицинских методов, направленных на внесение изменений в генетический аппарат соматических клеток человека в целях лечения заболеваний” [3]. Существуют лекарственные препараты для генной терапии гемофилии, спинальной мышечной атрофии, дефицита липопротеин липазы, ретинальной дистрофии, эффективность которых не сравнима с традиционными методами лечения. На данный момент существуют стратегии таргетной доставки терапевтических генов для лечения кистозного фиброза на основе метода CRISPR/Cas9 и производных технологий [4]. Всю совокупность методов генной терапии в зависимости от стратегии внесения изменений можно разделить на аугментацию, в случае которой трансген (терапевтический ген) переносится в клетки, содержащие функционально неактивный ген, и редактирование, в случае которого вносятся модификации в дефектный ген. В случае аугментации перенос функционально активного гена осуществляется посредством векторов. Вектора могут быть вирусной (аденовирус, аденоассоциированный вирус, лентивирус), полимерной (катионные полимеры, например, производные хитозана), пептидной (CP-peptides) природы, а также в качестве векторов могут использоваться дендримеры и липосомы [5-9]. Перенос трансгена может осуществляться *ex vivo* и *in vivo*. В случае переноса генов пациентов *in vivo* чаще всего используются вирусные векторы на основе аденовирусов, аденоассоциированных вирусов и лентивирусов, но на данный момент в силу наличия нейтрализующих антител к аденовирусу в популяции, блокирующих действие вектора, генотоксичности лентивирусных векторов, разрабатываются препараты на основе аденоассоциированных векторов, которые демонстрируют многообещающие результаты по данным клинических испытаний [5, 10]. На данный момент известны 3 лекарственных препарата на основе аденоассоциированных векторов, вышедшие на рынок: Glybera (alipogene tiparvovec), Luxturna (voretigene neparvovecrzyl), Zolgensma (onasemnogene abeparvovec). Примерами использования аденовирусов в качестве векторов являются препараты INGN 241 (используется для лечения меланомы), содержащий ген интерлейкина-24, сверхэкспрессия которого подавляет рост опухоли путем индукции апоптоза, и Адвексин (лечение злокачественных опухолей), несущий ген белка p53 [13]. Другая стратегия использования аденовирусных векторов – посредническое онколитическое действие. Оно обусловлено индукцией специфического и неспецифического противоопухолевого иммунного ответа. Для этого в геном непатогенного аденовируса, переносятся гены, экспрессия которых запускается каскад реакций в опухолевых клетках, приводящий к адресному противоопухолевому иммунному ответу (препарат Entolimod®) [11,12]. Среди препаратов для генной терапии на основе аденовирусов стоит упомянуть Oncorine™ (H-101), ONYX‑015 (DL1520) и Гендицин, содержащие дефектные онколитичекие вирусы, избирательно реплицирующихся в раковых клетках [13]. В случае стратегии редактирования дефектных генов, “исправления” осуществляются посредством инженерных нуклеаз: CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR-associated (Cas) endonuclease), TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nuclease), ZFN (Zinc Finger Nucleases), MN (Meganuclease). Из всех вышеперечисленных, CRISPR/Cas9 считается одной из наиболее перспективных технологией сайт-специфического мутагенеза, способного эффективно исправлять различные мутации, являющиеся причинами наследственных заболеваний. Для доставки CRISPR/Cas9 используются физические, вирусные и невирусные методы. Несмотря на значительный прогресс технологии генетического редактирования, существует ряд проблем, таких как низкая специфичность, низкая эффективность гомологически-направленной репарации (HDR) и доставки компонентов для направленного мутагенеза in vivo, а также индуцирование иммунного ответа [14].

При рассмотрении подходов клеточной терапии, стоит сперва отметить, что для *ex vivo*/*in vivo* модификации клеток, например, привнесения трансгена, используются в том числе вирусные вектора (аденовирусные и ретровирусные), поэтому подходы клеточной терапии тесно переплетены с подходами генной терапии методологической базой, однако в случае клеточной терапии регенеративным потенциалом обладают аллогенные либо аутологичные “биомедицинские клеточные продукты”, вводимые в организм человека в целях терапии заболеваний [15]. Согласно Федеральному закону № 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах», биомедицинский клеточный продукт – это “комплекс, состоящий из клеточной линии (клеточных линий) и вспомогательных веществ либо из клеточной линии (клеточных линий) и вспомогательных веществ в сочетании с прошедшими государственную регистрацию лекарственными препаратами для медицинского применения (далее - лекарственные препараты), и (или) фармацевтическими субстанциями, включенными в государственный реестр лекарственных средств, и (или) медицинскими изделиями” [16]. Среди подходов клеточной терапии можно выделить: усиление неспецифического иммунитета, индукцию специфического Т-клеточного ответа и искусственное создание Т-клеточных рецепторов (TCRs, CAR-Ts) [17]. Данные подходы будут рассмотрены далее на примере иммунотерапии опухолей. Усиление неспецифического иммунного ответа возможно за счёт добавления адъювантов (например, БЦЖ, *Corynebacterium parum*) к лизату изъятых у пациента опухолевых клеток, встраивания генов цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-7, ИЛ-4, ГМ-КСФ) в опухолевые клетки с помощью векторов и введения препарата пациенту. Однако широкое распространение иммунная терапия опухолей на основе вакцинации с адьювантами и цитокин-производящими клетками на данный момент не имеет, хотя в последнее время проводятся разработки по модификации опухолевых клеток с целью селективной индукции Т-клеточного иммунного ответа за счет экспрессии костимуяторного белка 4-1BBL и интерлейкина 12 [18]. Индукция специфического Т-клеточного ответа возможна за счёт удаления/выделения опухолевых клеток пациента, их модификации, повреждения или разрушения и введения в организм (п/к или в/в). Последние два метода менее эффективно активируют специфический Т-клеточный иммунитет по причине его низкой костимуляции. Отсутствие у клеток опухоли мембранного белка B7 (CD80/CD86), опосредующего костимуляцию Т-клеточного иммунитета за счёт связывания с рецептором CD28, позволяет уклониться от иммунного ответа хозяина [19]. Низкая костимуляция также наблюдается при терапии с использованием поврежденных или разрушенных раковых клеток. Однако трансгенная экспрессия костимулирующего лиганда B7 в клетках меланомы, вызывает активацию CD8+ T-клеточного иммунного ответа и отторжение меланомы у экспериментальных мышей [20]. Концепция следующего метода решает проблему отсутствия костимуляции: аутологичные антиген-презентирующие клетки (АПК), активированные *ex vivo* посредством поглощения антигенов лизата раковых клеток или рекомбинантных антигенов опухоли, могут активировать специфический Т-клеточный иммунный ответ *in vivo*, но их использование в иммунотерапии имеет серьёзные ограничения [17, 21]. Появление генно-инженерных опухоль-специфичных Т-клеточных рецепторов (CAR-Ts, TCR-s) стало возможным благодаря детализированному знанию о строении Т-клеточных рецепторов, получению нуклеотидных последовательностей их структурных доменов и разработке методов введения этих последовательностей в вектор для экспрессии [22-26]. Определив последовательность α- и β- цепи Т-клеточного рецептора (TCRs) опухоль инфильтрующих лимфоцитов (TILs), участвующих в уничтожении опухолевых клеток, возможно получить вектор, при введении которого в иммунные клетки пациента возможно получить популяцию модифицированных клеток, экспрессирующих искусственный TCR, для последующего введения пациенту [17, 22]. Так, ранее данный подход адоптивной иммунотерапии подразумевал использование аутологичных TIL иммунных клеток, экспансированных *ex vivo*, по причине низкой продукции данных клеток организмом. На данном подходе основано действие препарата Contego (лечение метастазирующей меланомы) [27]. Стоит отметить, что искусственный TCRs рецептор может взаимодействовать с внутриклеточными и поверхностными антигенами опухолевых клеток, включённых в комплекс MHC-I [22]. Другой подход адоптивной иммунотерапии подразумевает использование химерного антигенного рецептора (CAR-Ts), распознающего поверхностные опухолевые антигены, для активации Т-клеточного иммунного ответа [22]. Нуклеотидные последовательности, кодирующие вариабельную часть антитела, могут быть связаны в единую генетическую конструкцию с последовательностями молекулярного спейсера (Hinge) и ζ-цепью TCR для введения в иммунные клетки. Посредством такой модификации T-клетки могут узнавать и целенаправленно уничтожать опухоль. Существуют препараты, использующие данный подход адоптивной иммунотерапии – KymriahTM (лечение острого лимфобластного лейкоза) и YescartaTM (лечение В-клеточной лимфомы). Однако химерный антигенный рецептор (CAR) обладает способностью связывать свободные поверхностные антигены опухоли без использования рецептора MHC-I, что приводит к избыточной активации лимфоцитов и токсичности [22, 28].

Подходы адоптивной иммунотерапии не ограничиваются только разработкой противоопухолевых препаратов. Подходы генно-клеточной терапии используется для разработки средств лечения инфекционных заболеваний, которые с трудом поддаются лечению традиционными методами, либо не поддаются вовсе [29, 30, 31]. Другое инфекционное заболевание – гепатит Б (HBV), является опасным вирусным заболеванием печени, которое может привести к тяжелым последствиям – циррозу и раку. Кроме того, на данный момент не существует противовирусных препаратов, которые гарантируют полное выздоровление и очищение организма от патогена. На данный момент ведутся разработки CAR-T препаратов для лечения хронического гепатита Б и предотвращения гепатоцеллюлярной карциномы (HCC) [31]. Существует исследование, согласно которым две линии человеческих Т-лимфоцитов, экспрессирующих моноспецифические химерные рецепторы CAR-T, направленные против двух поверхностных S и L антигенов вируса гепатита Б, обладали противовирусной активностью *in vitro* [32]. Согласно другому исследованию, введение Т-клеток, содержащих химерный рецептор, направленный против поверхностного антигена вируса гепатита Б (HBsAg), HBV-инфицированным мышах, приводило к значительному снижению уровня HBsAg и ДНК вируса в плазме крови, но полного удаления патогена не было достигнуто [33]. Для решения проблемы возможно реализовать следующую разработку для комбинированной терапии хронической HBV инфекции: получение три-специфических CAR-T химерных рецепторов против трех поверхностных антигенов вируса (S, L, M) для клеточной терапии и моноклональных антител против белка NTCP (Na+-taurocholate cotransporting polypeptide, рецептор вируса), не обладающих цитотоксической активностью (ADCC/CDC/ADPC) и выполняющих функцию блокировки рецептора для связывания с вирусом. Существуют разработки три-специфических рецепторов CAR против антигенов ВИЧ [34]. Антигены вируса гепатита Б возможно накопить в культуре животных клеток, путем трансфекции векторов, содержащих информацию об их синтезе [35-37]. Далее возможна иммунизация животных, отбор селезёнки и получение гибридом, продуцирующие специфические антитела против антигенов HBV [38]. У полученных гибридом следует отобрать мРНК, кодирующую scFv фрагмент антител, для последующего получения вектора для экспрессии в иммунных клетках три-специфического CAR-T рецептора [34, 38]. Для увеличения доступности к поверхностным антигенам возможно использовать удлинённый спейсер (Hinge) [33]. Существует технология получения моноклональных антител, не обладающих эффекторными функциями, что может быть использовано для разработки антител против рецептора вируса [40].

Таким образом, была сформулирована основная концепция адоптивной иммунотерапии и рассмотрены существующие подходы генно-клеточной терапии. Так же было описано решение для комбинированной CAR-T иммунотерапии гепатита Б.

**Список использованной литературы и источники**

1. Donald E. Gardner, Daniel T. Kirkpatrick, Respiratory Tract, Editor(s): Philip Wexler, Encyclopedia of Toxicology (Second Edition), Elsevier, 2005, Pages 665-698, ISBN 9780123694003, <https://doi.org/10.1016/B0-12-369400-0/00844-9>.
2. Han Y, Liu D, Li L. PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer. Am J Cancer Res. 2020 Mar 1;10(3):727-742. PMID: 32266087; PMCID: PMC7136921.
3. Федеральный закон от 5 июля 1996 г. N 86-ФЗ "О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности" (с изменениями и дополнениями).
4. Maule G, Arosio D, Cereseto A. Gene Therapy for Cystic Fibrosis: Progress and Challenges of Genome Editing. Int J Mol Sci. 2020 May 30;21(11):3903. doi: 10.3390/ijms21113903. PMID: 32486152; PMCID: PMC7313467.
5. Bulcha, J.T., Wang, Y., Ma, H. et al. Viral vector platforms within the gene therapy landscape. Sig Transduct Target Ther 6, 53 (2021). https://doi.org/10.1038/s41392-021-00487-6
6. Критченков, А. С. Синтез пиридоксального производного хитозана, потенциального генно-терапевтического вектора / А. С. Критченков, Ю. А. Скорик. — Текст : непосредственный // «Неделя науки СПБПУ» Материалы научной конференции с международным участием. — СПб : Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого", 2017. — С. 19-21.
7. Alhakamy NA, Nigatu AS, Berkland CJ, Ramsey JD. Noncovalently associated cell-penetrating peptides for gene delivery applications. Ther Deliv. 2013 Jun;4(6):741-57. doi: 10.4155/tde.13.44. Erratum in: Ther Deliv. 2013 Nov;4(11):1470. PMID: 23738670; PMCID: PMC4207642.
8. Pérez-Martínez FC, Ocaña AV, Pérez-Carrión MD, Ceña V. Dendrimers as vectors for genetic material delivery to the nervous system. Curr Med Chem. 2012;19(29):5101-8. doi: 10.2174/0929867311209025101. PMID: 22963638.
9. “Lipofectamine® 3000 - Transfection Reagent Kit.” Thermofisher.com, 2014, [www.thermofisher.com/ru/ru/home/life-science/cell-culture/transfection/transfection-reagents/lipofectamine-3000-reagent.html](http://www.thermofisher.com/ru/ru/home/life-science/cell-culture/transfection/transfection-reagents/lipofectamine-3000-reagent.html). Accessed 10 Mar. 2023.
10. “Gene Therapy Clinical Trials Worldwide.” Fmphost.com, 2021, <https://a873679.fmphost.com/fmi/webd/GTCT>. Accessed 10 Mar. 2023.
11. Yoon, S.-i., O. Kurnasov, V. Natarajan, M. Hong, A. V. Gudkov, A. L. Osterman, and I. A. Wilson. 2012. “Structural Basis of TLR5-Flagellin Recognition and Signaling.” Science 335 (6070): 859–64. https://doi.org/10.1126/science.1215584. 39.
12. Gudkov, Andrei. 2012. Use of toll-like receptor and agonist for treating cancer. East Aurora, NY, US, issued August 16, 2012. <https://www.patentsencyclopedia.com/app/20120208871#b>.
13. Немцова Е.Р., Безбородова О.А., Якубовская Р.И., Каприн А.Д. Генно-терапевтические препараты в онкологии: современное состояние // Research'n Practical Medicine Journal. 2016. №4. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/genno-terapevticheskie-preparaty-v-onkologii-sovremennoe-sostoyanie> (дата обращения: 10.03.2023).
14. Yang Yue, Xu Jin, Ge Shuyu, Lai Liqin, CRISPR/Cas: Advances, Limitations, and Applications for Precision Cancer Research, Frontiers in Medicine, vol. 8, 2021, <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2021.649896>, doi: 10.3389/fmed.2021.649896, ISSN; 2296-858X
15. Perica K, Varela JC, Oelke M, Schneck J. Adoptive T cell immunotherapy for cancer. Rambam Maimonides Med J. 2015 Jan 29;6(1):e0004. doi: 10.5041/RMMJ.10179. PMID: 25717386; PMCID: PMC4327320.
16. Федеральный закон от 23 июня 2016 г. № 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах» (с изменениями и дополнениями).
17. Наглядная иммунология / Г.-Р. Бурместер, А. Пецутто ; пер. с англ. – 7-е изд. – М. : Лаборатория знаний, 2021. – 320 с. : ил. – (Наглядная медицина).
18. Tzeng SY, Patel KK, Wilson DR, Meyer RA, Rhodes KR, Green JJ. In situ genetic engineering of tumors for long-lasting and systemic immunotherapy. Proc Natl Acad Sci U S A. 2020 Feb 25;117(8):4043-4052. doi: 10.1073/pnas.1916039117. Epub 2020 Feb 7. PMID: 32034097; PMCID: PMC7049107.
19. Seliger B, Marincola FM, Ferrone S, Abken H. The complex role of B7 molecules in tumor immunology. Trends Mol Med. 2008 Dec;14(12):550-9. doi: 10.1016/j.molmed.2008.09.010. Epub 2008 Nov 3. PMID: 18986838; PMCID: PMC2726789.
20. Townsend SE, Allison JP. Tumor rejection after direct costimulation of CD8+ T cells by B7-transfected melanoma cells. Science. 1993 Jan 15;259(5093):368-70. doi: 10.1126/science.7678351. PMID: 7678351.
21. Eggermont LJ, Paulis LE, Tel J, Figdor CG. Towards efficient cancer immunotherapy: advances in developing artificial antigen-presenting cells. Trends Biotechnol. 2014 Sep;32(9):456-65. doi: 10.1016/j.tibtech.2014.06.007. Epub 2014 Jul 3. PMID: 24998519; PMCID: PMC4154451.
22. Zhao Q, Jiang Y, Xiang S, Kaboli PJ, Shen J, Zhao Y, Wu X, Du F, Li M, Cho CH, Li J, Wen Q, Liu T, Yi T, Xiao Z. Engineered TCR-T Cell Immunotherapy in Anticancer Precision Medicine: Pros and Cons. Front Immunol. 2021 Mar 30;12:658753. doi: 10.3389/fimmu.2021.658753. PMID: 33859650; PMCID: PMC8042275.
23. Reinherz EL. Revisiting the Discovery of the αβ TCR Complex and Its Co-Receptors. Front Immunol. 2014 Nov 21;5:583. doi: 10.3389/fimmu.2014.00583. PMID: 25484883; PMCID: PMC4240158.
24. Subklewe M, von Bergwelt-Baildon M, Humpe A. Chimeric Antigen Receptor T Cells: A Race to Revolutionize Cancer Therapy. Transfus Med Hemother. 2019 Feb;46(1):15-24. doi: 10.1159/000496870. Epub 2019 Feb 5. PMID: 31244578; PMCID: PMC6558337.
25. Wälchli S, Løset GÅ, Kumari S, Johansen JN, Yang W, Sandlie I, Olweus J. A practical approach to T-cell receptor cloning and expression. PLoS One. 2011;6(11):e27930. doi: 10.1371/journal.pone.0027930. Epub 2011 Nov 21. PMID: 22132171; PMCID: PMC3221687.
26. Subklewe M, von Bergwelt-Baildon M, Humpe A. Chimeric Antigen Receptor T Cells: A Race to Revolutionize Cancer Therapy. Transfus Med Hemother. 2019 Feb;46(1):15-24. doi: 10.1159/000496870. Epub 2019 Feb 5. PMID: 31244578; PMCID: PMC6558337.
27. “Genesis Biopharma Expands Clinical Focus to Develop Contego for Stage IV Metastatic Melanoma.” News-Medical.net, 6 June 2011, [www.news-medical.net/news/20110606/Genesis-Biopharma-expands-clinical-focus-to-develop-Contego-for-Stage-IV-metastatic-melanoma.aspx](http://www.news-medical.net/news/20110606/Genesis-Biopharma-expands-clinical-focus-to-develop-Contego-for-Stage-IV-metastatic-melanoma.aspx). Accessed 11 Mar. 2023.
28. Sterner RC, Sterner RM. CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies. Blood Cancer J. 2021 Apr 6;11(4):69. doi: 10.1038/s41408-021-00459-7. PMID: 33824268; PMCID: PMC8024391.
29. Lam S, Bollard C. T-cell therapies for HIV. Immunotherapy. 2013 Apr;5(4):407-14. doi: 10.2217/imt.13.23. PMID: 23557423; PMCID: PMC3697835.
30. Bertoletti A, Tan AT. HBV as a target for CAR or TCR-T cell therapy. Curr Opin Immunol. 2020 Oct;66:35-41. doi: 10.1016/j.coi.2020.04.003. Epub 2020 Apr 30. PMID: 32361634.
31. Seif M, Einsele H, Löffler J. CAR T Cells Beyond Cancer: Hope for Immunomodulatory Therapy of Infectious Diseases. Front Immunol. 2019 Nov 21;10:2711. doi: 10.3389/fimmu.2019.02711. PMID: 31824500; PMCID: PMC6881243.
32. Bohne F, Chmielewski M, Ebert G, Wiegmann K, Kürschner T, Schulze A, Urban S, Krönke M, Abken H, Protzer U. T cells redirected against hepatitis B virus surface proteins eliminate infected hepatocytes. Gastroenterology. 2008 Jan;134(1):239-47. doi: 10.1053/j.gastro.2007.11.002. Epub 2007 Nov 4. PMID: 18166356.
33. Kruse RL, Shum T, Tashiro H, Barzi M, Yi Z, Whitten-Bauer C, Legras X, Bissig-Choisat B, Garaigorta U, Gottschalk S, Bissig KD. HBsAg-redirected T cells exhibit antiviral activity in HBV-infected human liver chimeric mice. Cytotherapy. 2018 May;20(5):697-705. doi: 10.1016/j.jcyt.2018.02.002. Epub 2018 Apr 6. PMID: 29631939; PMCID: PMC6038120.
34. Anthony-Gonda K, Bardhi A, Ray A, Flerin N, Li M, Chen W, Ochsenbauer C, Kappes JC, Krueger W, Worden A, Schneider D, Zhu Z, Orentas R, Dimitrov DS, Goldstein H, Dropulić B. Multispecific anti-HIV duoCAR-T cells display broad in vitro antiviral activity and potent in vivo elimination of HIV-infected cells in a humanized mouse model. Sci Transl Med. 2019 Aug 7;11(504):eaav5685. doi: 10.1126/scitranslmed.aav5685. PMID: 31391322; PMCID: PMC7136029.
35. “Addgene: L-HBsAg.” Www.addgene.org, www.addgene.org/103011/. Accessed 12 Mar. 2023.
36. “Addgene: M-HBsAg.” Www.addgene.org, www.addgene.org/103012/. Accessed 12 Mar. 2023.
37. “Addgene: S-HBsAg.” Www.addgene.org, www.addgene.org/103013/. Accessed 12 Mar. 2023.
38. Köksal, Hakan & Baken, Elizabeth & Warren, David & Løset, Geir & Inderberg, Else & Wälchli, Sébastien. (2019). Chimeric Antigen Receptor preparation from hybridoma to T-cell expression. Antibody Therapeutics. 2. 10.1093/abt/tbz007.
39. Huang Z, Pang X, Zhong T, Qu T, Chen N, Ma S, He X, Xia D, Wang M, Xia M, Li B. Penpulimab, an Fc-Engineered IgG1 Anti-PD-1 Antibody, With Improved Efficacy and Low Incidence of Immune-Related Adverse Events. Front Immunol. 2022 Jun 27;13:924542. doi: 10.3389/fimmu.2022.924542. PMID: 35833116; PMCID: PMC9272907.
40. Wilkinson I, Anderson S, Fry J, Julien LA, Neville D, Qureshi O, Watts G, Hale G. Fc-engineered antibodies with immune effector functions completely abolished. PLoS One. 2021 Dec 21;16(12):e0260954. doi: 10.1371/journal.pone.0260954. PMID: 34932587; PMCID: PMC8691596.