



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2017113134, 18.09.2015

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
19.09.2014 US 62/052,947;
19.09.2014 US 62/052,901;
07.11.2014 US 62/076,836;
19.12.2014 US 62/094,603;
28.05.2015 US 62/167,650

(43) Дата публикации заявки: 19.10.2018 Бюл. №
29

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: 19.04.2017

(86) Заявка PCT:
US 2015/050975 (18.09.2015)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2016/044745 (24.03.2016)

Адрес для переписки:
119019, Москва, Гоголевский б-р, 11, этаж 3,
"Гоулинг ВЛГ (Интернэшнл) Инк.", Карпенко
Оксана Юрьевна

(71) Заявитель(и):

РЕГЕНЕРОН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)

(72) Автор(ы):

ТЕРСТОН Гэвин (US),
МЕРФИ Эндрю Дж. (US),
МАКДОНАЛЬД Линн (US),
МАКВИРТЕР Джон (US),
ТУ Нэксин (US),
ГУРЕР Каган (US),
ВОРОНИНА Вера (US)

(54) ХИМЕРНЫЕ АНТИГЕННЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

(57) Формула изобретения

1. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное, содержащее в зародышевой линии локус химерного антигенного рецептора (CAR), содержащий:

неперестроенный локус вариабельного участка, содержащий неперестроенные сегменты гена вариабельного участка иммуноглобулина (Ig); и

сегменты гена вариабельного участка иммуноглобулина (Vg), и локус константного участка, содержащий константный участок Т-клеточного рецептора (TCR):

причем человеческие неперестроенные сегменты гена вариабельного участка Ig функционально связаны с геном константного участка TCR так, что генетически модифицированное не относящееся к человеку животное экспрессирует полипептид CAR, содержащий вариабельный домен Ig, кодируемый перестроенным геном вариабельного участка Ig, происходящим от неперестроенных сегментов гена вариабельного участка Ig, и константный домен TCR, кодируемый геном константного участка TCR.

2. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 1, у

которого неперестроенные сегменты гена вариабельного участка Ig являются человеческими.

3. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 1 или 2, у которого ген константного участка TCR эндогенного для данного вида происхождения.

4. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 1 или 2, у которого ген константного участка TCR представляет собой мышиный ген константного участка TCR или крысиный ген константного участка TCR.

5. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по любому из пп. 1-4, у которого неперестроенные сегменты гена вариабельного участка Ig представляют собой человеческие сегменты гена вариабельного участка тяжелой цепи Ig (IgH).

6. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по любому из пп. 1-4, у которого неперестроенные сегменты гена вариабельного участка Ig представляют собой человеческие сегменты гена вариабельного участка легкой цепи Ig (IgL).

7. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 6, у которого сегменты гена вариабельного участка IgL представляют собой человеческие сегменты гена κ-цепи.

8. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 6, у которого сегменты гена вариабельного участка IgL представляют собой сегменты гена λ-цепи.

9. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по любому из пп. 1-8, у которого ген константного участка TCR представляет собой ген константного участка TCRα.

10. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 9, которое не экспрессирует функциональную цепь TCRα.

11. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 9, у которого локус CAR расположен в эндогенном локусе TCRα.

12. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 9, у которого неперестроенные человеческие сегменты гена вариабельного участка Ig замещают эндогенные сегменты гена вариабельного участка TCRα.

13. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 11, у которого ген константного участка TCRα представляет собой эндогенный ген константного участка TCRα.

14. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по любому из пп. 1-8, у которого ген константного участка TCR представляет собой ген константного участка TCRβ.

15. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 14, которое не экспрессирует функциональную цепь TCRβ.

16. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 14, у которого локус CAR расположен в эндогенном локусе TCRβ.

17. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 16, у которого неперестроенные человеческие сегменты гена вариабельного участка Ig замещают эндогенные сегменты гена вариабельного участка TCRβ.

18. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 16, у которого ген константного участка TCRβ представляет собой эндогенный ген константного участка TCRβ.

19. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное, содержащее в зародышевой линии первый локус CAR и второй локус CAR,

причем первый локус CAR содержит первый неперестроенный локус вариабельного участка, содержащий неперестроенные сегменты гена иммуноглобулина (Ig) V_H, D_H и J_H, и первый локус константного участка, содержащий ген константного участка Т-клеточного рецептора β(TCRβ), при этом неперестроенные сегменты гена Ig V_H, D_H и J_H функционально связаны с геном константного участка TCRβ так, что генетически модифицированное не относящееся к человеку животное экспрессирует первую полипептидную цепь CAR, содержащую вариабельный домен тяжелой цепи Ig, кодируемый перестроенным геном вариабельного участка тяжелой цепи, происходящим от неперестроенных сегментов гена Ig V_H, D_H и J_H, и константный домен TCRβ, кодируемый геном константного участка TCRβ, а

второй локус CAR содержит второй неперестроенный локус вариабельного участка, содержащий неперестроенные сегменты гена Ig V_K и J_K, и второй локус константного участка, содержащий ген константного участка Т-клеточного рецептора α (TCRα), при этом неперестроенные сегменты гена Ig V_K и J_K функционально связаны с геном константного участка TCRα так, что генетически модифицированное не относящееся к человеку животное экспрессирует вторую полипептидную цепь CAR, содержащую вариабельный домен к Ig, кодируемый перестроенным геном вариабельного участка κ-цепи Ig, происходящим от неперестроенных сегментов гена Ig V_K и J_K, и константный домен TCRα, кодируемый геном константного участка TCRα,

при этом генетически модифицированное не относящееся к человеку животное экспрессирует CAR, содержащий первую полипептидную цепь CAR и вторую полипептидную цепь CAR.

20. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 19, у которого сегменты гена Ig V_H, D_H и J_H и/или сегменты гена Ig V_K и J_K являются человеческими.

21. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 19 или 20, у которого ген константного участка TCRβ и/или ген константного участка TCRα эндогенного для данного вида происхождения.

22. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 19 или 20, у которого ген константного участка TCRβ и/или ген константного участка TCRα представляет собой мышиный ген или крысиный ген.

23. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по любому из пп. 19-22, которое не экспрессирует функциональную цепь TCRα и/или функциональную цепь TCRβ.

24. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по любому из пп. 19-23, у которого второй локус CAR расположен в эндогенном локусе TCRα.

25. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 24, у которого неперестроенные сегменты гена Ig V_K и J_K замещают эндогенные сегменты гена вариабельного участка TCRα.

26. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 24 или 25, у которого ген константного участка TCRα представляет собой эндогенный ген константного участка TCRα.

27. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по любому из пп. 19-26, у которого первый локус CAR расположен в эндогенном локусе TCRβ.

28. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по любому из пп. 27, у которого неперестроенные сегменты гена Ig V_H, D_H и J_H замещают эндогенные сегменты гена вариабельного участка TCRβ.

29. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 27

или 28, у которого ген константного участка TCR β представляет собой эндогенный ген константного участка TCR β .

30. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по любому из пп. 1-29, которое экспрессирует один или более химерных полипептидов α -цепи молекулы МНС класса I, содержащих человеческий внеклеточный домен и цитоплазматический домен эндогенного для данного вида происхождения.

31. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 30, у которого один или более химерных полипептидов α -цепи молекулы класса I выбирают из группы, состоящей из HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, HLA-g, HLA-K и HLA-L.

32. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по любому из пп. 1-31, которое экспрессирует человеческий полипептид β -2-микроглобулина.

33. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по любому из пп. 1-32, которое экспрессирует один или более химерных полипептидов α -цепи молекулы МНС класса II, содержащих человеческий внеклеточный домен и цитоплазматический домен эндогенного для данного вида происхождения, и/или один или более химерных полипептидов β -цепи молекулы МНС класса II, содержащих человеческий внеклеточный домен и цитоплазматический домен эндогенного для данного вида происхождения.

34. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 33, у которого один или более химерных полипептидов α -цепи молекулы МНС класса II выбирают из группы, состоящей из HLA-DMA, HLA-DOA, HLA-DPA, HLA-DQA и HLA-DRA, и/или один или более химерных полипептидов β -цепи молекулы МНС класса II выбирают из группы, состоящей из HLA-DMB, HLA-DOB, HLA-DPB, HLA-DQB и HLA-DRB.

35. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по любому из пп. 1-34, которое экспрессирует химерный полипептид α -цепи CD8, содержащий человеческий внеклеточный домен иммуноглобулина и цитоплазматический домен эндогенного для данного вида происхождения, и/или химерный полипептид β -цепи CD8, содержащий человеческий внеклеточный домен иммуноглобулина и цитоплазматический домен эндогенного для данного вида происхождения.

36. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по любому из пп. 1-35, которое экспрессирует химерный полипептид CD4, содержащий человеческий домен иммуноглобулина D1, человеческий домен иммуноглобулина D2, человеческий домен иммуноглобулина D3, человеческий домен иммуноглобулина D4 и цитоплазматический домен эндогенного для данного вида происхождения.

37. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по любому из пп. 1-36, у которого CAR обладает специфичностью связывания к комплексу пептид/молекула МНС.

38. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по любому из пп. 1-37, у которого CAR экспрессирован на Т-клетках.

39. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 38, у которого Т-клетки подвергаются позитивному и негативному отбору в тимусе.

40. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по любому из пп. 1-39, которое представляет собой грызуна.

41. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 40, где грызун представляет собой мышь.

42. Способ получения Т-клеток, экспрессирующих CAR, специфичный к пептиду, презентированному на молекуле МНС, включающий:

(а) воздействие на генетически модифицированное не относящееся к человеку

животное по любому из пп. 1-41 антигеном, содержащим пептид, или нуклеиновой кислотой, кодирующей антиген, содержащий пептид, таким образом, что пептид презентируется на молекуле МНС у не относящегося к человеку животного; и

(б) получение Т-клетки, экспрессирующей CAR, специфичный к пептиду, презентированному на молекуле МНС, полученной от генетически модифицированного не относящегося к человеку животного этапа (а).

43. Т-клетка, полученная в соответствии со способом по п. 42.

44. Способ получения Т-клеточной гибридомы, экспрессирующей CAR, специфичный к пептиду, презентированному на молекуле МНС, включающий:

(а) воздействие на генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по любому из пп. 1-41 антигеном, содержащим пептид, или

нуклеиновой кислотой, кодирующей антиген, содержащий пептид, таким образом, что пептид презентируется на молекуле МНС у не относящегося к человеку животного;

(б) получение Т-клетки, экспрессирующей CAR, специфичный к пептиду, презентированному на молекуле МНС, полученной от генетически модифицированного не относящегося к человеку животного этапа (а); и

(с) получение Т-клеточной гибридомы из Т-клетки этапа (б).

45. Т-клеточная гибридома, полученная в соответствии со способом по п. 44.

46. Способ получения нуклеиновой кислоты, кодирующей вариабельный домен Ig, специфичный к пептиду, презентированному на молекуле МНС, включающий:

(а) воздействие на не относящееся к человеку животное по любому из пп. 1-41 антигеном, содержащим пептид, или нуклеиновой кислотой, кодирующей антиген, содержащий пептид, таким образом, что пептид презентируется на молекуле МНС у не относящегося к человеку животного;

(б) получение Т-клетки, экспрессирующей CAR, специфичный к пептиду, презентированному на молекуле МНС, полученной от генетически модифицированного не относящегося к человеку животного этапа (а); и

(с) выделение из Т-клетки нуклеиновой кислоты, кодирующей вариабельный домен Ig CAR.

47. Нуклеиновая кислота, кодирующая вариабельный домен Ig, специфичный к пептиду, презентированному на молекуле МНС, полученная в соответствии со способом по п. 46.

48. Способ получения антитела, специфичного к пептиду, презентированному на молекуле МНС, включающий:

(а) воздействие на не относящееся к человеку животное по любому из пп. 1-41 антигеном, содержащим пептид, или нуклеиновой кислотой, кодирующей антиген, содержащий пептид, таким образом, что пептид презентируется на молекуле МНС у не относящегося к человеку животного;

(б) получение Т-клетки, экспрессирующей CAR, специфичный к пептиду, презентированному на молекуле МНС, полученной от генетически модифицированного не относящегося к человеку животного этапа (а);

(с) выделение из Т-клетки нуклеиновой кислоты, кодирующей вариабельный домен Ig CAR;

(д) создание в клетке-хозяине функциональной связи между нуклеиновыми кислотами, кодирующими вариабельный домен Ig и константный домен Ig; и

(е) культивирование клетки-хозяина в условиях, в которых клетка-хозяин экспрессирует антитело, содержащее вариабельный домен Ig и константный домен Ig.

49. Способ по п. 48, в котором константный домен Ig представляет собой человеческий константный домен Ig.

50. Антитело, специфичное к пептиду, презентированному на молекуле МНС,

полученное в соответствии со способом по п. 48 или 49.

51. Способ получения человеческой клетки, экспрессирующей CAR, содержащий человеческий вариабельный домен Ig и человеческий константный домен TCR, включающий:

(а) воздействие на не относящееся к человеку животное по любому из пп. 1-41 антигеном, содержащим пептид, или нуклеиновой кислотой, кодирующей антиген, содержащий пептид, таким образом, что пептид презентируется на молекуле МНС у не относящегося к человеку животного;

(б) получение Т-клетки не относящегося к человеку животного, экспрессирующей CAR, специфичный к пептиду, презентированному на молекуле МНС, полученной от генетически модифицированного не относящегося к человеку животного этапа (а);

(с) выделение нуклеиновой кислоты, кодирующей вариабельный домен Ig CAR, из Т-клетки не относящегося к человеку животного; и

(д) создание функциональной связи между нуклеиновой кислотой, кодирующей вариабельный домен Ig, и нуклеиновой кислотой, кодирующей человеческий константный домен TCR, в человеческой клетке таким образом, что человеческая клетка экспрессирует CAR, содержащий вариабельный домен Ig и человеческий константный домен TCR.

52. Способ по п. 51, в котором клетка человека представляет собой Т-клетку человека.

53. Способ по п. 52, в котором человеческая Т-клетка представляет собой выделенную ex-vivo человеческую Т-клетку.

54. Человеческая клетка, экспрессирующая CAR, содержащий человеческий вариабельный домен Ig и человеческий константный домен TCR, полученная в соответствии со способом по любому из пп. 51-53.

55. Клетка, экспрессирующая CAR, полученная или получаемая от генетически модифицированного не относящегося к человеку животного по любому из пп. 1-41.

56. Клетка по п. 55, причем клетка представляет собой Т-клетку.

57. Клетка по п. 55, которая представляет собой Т-клеточную гибридому.

58. Нуклеиновая кислота, содержащая перестроенный ген вариабельного участка Ig, полученная или получаемая от генетически модифицированного не относящегося к человеку животного по любому из пп. 1-41.

59. Нуклеиновая кислота по п. 58, которая кодирует CAR.

60. Нуклеиновая кислота, содержащая перестроенный ген вариабельного участка Ig, полученная или получаемая из клетки по любому из пп. 55-57.

61. Нуклеиновая кислота по п. 60, которая кодирует CAR.

62. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 60-61, в которой перестроенный ген вариабельного участка Ig кодирует вариабельный домен Ig, специфичный к пептиду, презентированному на молекуле МНС.

63. CAR, специфичный к пептиду, презентированному на молекуле МНС, полученный или получаемый от генетически модифицированного не относящегося к человеку животного по любому из пп. 1-41.

64. CAR, специфичный к пептиду, презентированному на молекуле МНС, полученный или получаемый из клетки по любому из пп. 55-57.

65. Не относящаяся к человеку эмбриональная стволовая (ЭС) клетка, содержащая в геноме локус химерного антигенного рецептора (CAR), содержащий:

неперестроенный локус вариабельного участка, содержащий неперестроенные сегменты гена вариабельного участка иммуноглобулина (Ig); и

локус константного участка, содержащий ген константного участка Т-клеточного рецептора (TCR);

причем неперестроенные сегменты гена вариабельного участка Ig функционально

связаны с геном константного участка TCR.

66. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по п. 65, в которой неперестроенные сегменты гена вариабельного участка Ig являются человеческими.

67. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по п. 65 или 66, в которой ген константного участка TCR эндогенного для данного вида происхождения.

68. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по п. 65 или 66, в которой ген константного участка TCR представляет собой мышиный ген константного участка или крысиный ген константного участка.

69. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по любому из пп. 65-68, в которой неперестроенные сегменты гена вариабельного участка Ig представляют собой человеческие сегменты гена вариабельного участка тяжелой цепи Ig (IgH).

70. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по любому из пп. 65-68, в которой неперестроенные сегменты гена вариабельного участка Ig представляют собой человеческие сегменты гена вариабельного участка легкой цепи Ig (IgL).

71. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по п. 70, в которой сегменты гена вариабельного участка IgL представляют собой человеческие сегменты гена κ-цепи.

72. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по п. 70, в которой сегменты гена вариабельного участка IgL представляют собой сегменты гена λ-цепи.

73. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по любому из пп. 65-72, в которой ген константного участка TCR представляет собой ген константного участка TCRα.

74. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по п. 73, в которой локус CAR расположен в эндогенном локусе TCRα.

75. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по п. 74, в которой неперестроенные человеческие сегменты гена вариабельного участка Ig замещают эндогенные сегменты гена вариабельного участка TCRα.

76. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по п. 74 или 75, в которой ген константного участка TCRα представляет собой эндогенный ген константного участка TCRα.

77. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по любому из пп. 68-72, в которой ген константного участка TCR представляет собой ген константного участка TCRβ.

78. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по п. 77, в которой локус CAR расположен в эндогенном локусе TCRβ.

79. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по п. 78, в которой неперестроенные человеческие сегменты гена вариабельного участка Ig замещают эндогенные сегменты гена вариабельного участка TCRβ.

80. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по п. 78 или 79, в которой ген константного участка TCRβ представляет собой эндогенный ген константного участка TCRβ.

81. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка, содержащая в геноме первый локус CAR и второй локус CAR,

причем первый локус CAR содержит первый неперестроенный локус вариабельного участка, содержащий неперестроенные сегменты гена иммуноглобулина (Ig) V_H, D_H и J_H, и первый локус константного участка, содержащий ген константного участка Т-клеточного рецептора β (TCRβ), при этом неперестроенные сегменты гена Ig V_H, D_H и J_H функционально связаны с геном константного участка TCRβ, а

второй локус CAR содержит второй неперестроенный локус вариабельного участка, содержащий неперестроенные сегменты гена Ig V_κ и J_κ, и второй локус константного участка, содержащий ген константного участка Т-клеточного рецептора α (TCRα), при этом неперестроенные сегменты гена Ig V_κ и J_κ функционально связаны с геном константного участка TCRα.

82. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по любому из пп. 65-81, которая содержит

в геноме одну или более нуклеотидных последовательностей, кодирующих химерные полипептиды α -цепи молекулы МНС класса I, содержащие человеческий внеклеточный домен и цитоплазматический домен эндогенного для данного вида происхождения.

83. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по п. 82, в которой полипептид α -цепи молекулы МНС класса I выбирают из группы, состоящей из HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, HLA-g, HLA-K и HLA-L.

84. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по любому из пп. 65-83, которая содержит в геноме нуклеотидную последовательность, кодирующую человеческий полипептид β -2-микроглобулина.

85. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по любому из пп. 65-84, которая содержит в геноме одну или более нуклеотидных последовательностей, кодирующих химерный полипептид α -цепи молекулы МНС класса II, содержащий человеческий внеклеточный домен и цитоплазматический домен эндогенного для данного вида происхождения, и/или одну или более нуклеотидных последовательностей, кодирующих химерный полипептид β -цепи молекулы МНС класса II, содержащий человеческий внеклеточный домен и цитоплазматический домен эндогенного для данного вида происхождения.

86. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по п. 85, в которой химерные полипептиды α -цепи молекулы МНС класса II выбирают из группы, состоящей из HLA-DMA, HLA-DOA, HLA-DPA, HLA-DQA и HLA-DRA, и/или полипептид β -цепи молекулы МНС класса II выбирают из группы, состоящей из HLA-DMB, HLA-DOB, HLA-DPB, HLA-DQB и HLA-DRB.

87. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по любому из пп. 65-86, которая содержит в геноме нуклеотидную последовательность, кодирующую химерный полипептид α -цепи CD8, содержащий человеческий внеклеточный домен иммуноглобулина и цитоплазматический домен эндогенного для данного вида происхождения, и/или нуклеотидную последовательность, кодирующую химерные полипептиды β -цепи CD8, содержащие человеческий внеклеточный домен иммуноглобулина и цитоплазматический домен эндогенного для данного вида происхождения.

88. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по любому из пп. 65-87, которая содержит в геноме нуклеотидную последовательность, кодирующую химерный полипептид CD4, содержащий человеческий домен иммуноглобулина D1, человеческий домен иммуноглобулина D2, человеческий домен иммуноглобулина D3, человеческий домен иммуноглобулина D4 и цитоплазматический домен эндогенного для данного вида происхождения.

89. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по любому из пп. 65-88, которая представляет собой ЭС-клетку грызуна.

90. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по п. 89, где ЭС-клетка грызуна представляет собой мышиную ЭС-клетку.

91. Способ получения генетически модифицированного не относящегося к человеку животного, которое экспрессирует CAR, включающий использование не относящейся к человеку ЭС-клетки по любому из пп. 65-90.

92. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное, созданное с использованием способа по п. 91 или получаемое по этому способу.

93. Не относящийся к человеку эмбрион, содержащий не относящуюся к человеку ЭС-клетку по любому из пп. 65-90.

94. Локус химерного антигенного рецептора (CAR), содержащий:
неперестроенный локус вариабельного участка, содержащий
неперестроенные сегменты гена вариабельного участка иммуноглобулина (Ig); и
локус константного участка, содержащий константный участок Т-клеточного рецептора (TCR);

причем неперестроенные сегменты гена вариабельного участка Ig функционально связаны с геном константного участка TCR

95. Локус CAR по п. 94, в котором сегменты гена вариабельного участка Ig являются человеческими.

96. Локус CAR по п. 94 или 95, в котором ген константного участка TCR представляет собой ген константного участка TCR грызуна.

97. Локус CAR по п. 96, в котором константный участок TCR грызуна представляет собой мышиный константный участок TCR.

98. Локус CAR, содержащий неперестроенный локус вариабельного участка, содержащий неперестроенные сегменты гена иммуноглобулина (Ig) V_H , D_H и J_H , и локус константного участка, содержащий ген константного участка Т-клеточного рецептора β (TCR β), причем неперестроенные сегменты гена Ig V_H , D_H и J_H функционально связаны с геном константного участка TCR β .

99. Локус CAR по п. 98, в котором сегменты гена Ig V_H , D_H и J_H являются человеческими.

100. Локус CAR по п. 98 или 99, в котором ген константного участка TCR β представляет собой мышиный ген константного участка TCR β .

101. Локус CAR, содержащий неперестроенный локус вариабельного участка, содержащий неперестроенные сегменты гена Ig V_K и J_K , и локус константного участка, содержащий ген константного участка Т-клеточного рецептора α (TCR α), причем неперестроенные сегменты гена Ig V_K и J_K функционально связаны с геном константного участка TCR α .

102. Локус CAR по п. 101, в котором сегменты гена Ig V_K и J_K являются человеческими.

103. Локус CAR по п. 101 или 102, в котором ген константного участка TCR α представляет собой мышиный ген константного участка TCR α .

104. Химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий первый полипептид CAR, содержащий вариабельный домен тяжелой цепи Ig и константный домен TCR β , и второй полипептид CAR, содержащий вариабельный домен легкой цепи Ig

и константный домен TCR α , причем CAR обладает специфичностью связывания к комплексу пептид/молекула МНС.

105. CAR по п. 104, в котором вариабельный домен легкой цепи Ig представляет собой вариабельный домен κ -цепи Ig.

106. CAR по п. 104, в котором вариабельный домен легкой цепи Ig представляет собой вариабельный домен λ -цепи Ig.

107. CAR по любому из пп. 104-105, в котором вариабельный домен тяжелой цепи Ig и вариабельный домен легкой цепи Ig представляют собой человеческие вариабельные домены Ig.

108. Химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий первый полипептид CAR, содержащий вариабельный домен тяжелой цепи Ig и константный домен TCR α , и второй полипептид CAR, содержащий вариабельный домен легкой цепи Ig и константный домен TCR β , причем CAR обладает специфичностью связывания к комплексу пептид/молекула МНС.

109. CAR по п. 108, в котором вариабельный домен легкой цепи Ig представляет собой вариабельный домен κ -цепи Ig.

110. CAR по п. 108, в котором вариабельный домен легкой цепи Ig представляет собой вариабельный домен λ -цепи Ig.

111. CAR по любому из пп. 108-110, в котором вариабельный домен тяжелой цепи Ig и вариабельный домен легкой цепи Ig представляют собой человеческие вариабельные домены Ig.

112. Клетка, экспрессирующая CAR по любому из пп. 104-111.

113. Клетка по п. 112, которая представляет собой Т-клетку.

114. Способ индукции иммунного ответа на комплекс пептид/молекула МНС у субъекта, включающий введение субъекту человеческой Т-клетки, экспрессирующей химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий первый полипептид CAR, содержащий человеческий вариабельный домен тяжелой цепи Ig и человеческий константный домен TCR β , и второй полипептид CAR, содержащий человеческий вариабельный домен легкой цепи Ig и человеческий константный домен TCR α , причем CAR обладает специфичностью связывания к комплексу пептид/молекула МНС.

115. Композиция нуклеиновых кислот, содержащая первую нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид CAR, содержащий вариабельный домен тяжелой цепи Ig и константный домен TCR β , и вторую нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид CAR, содержащий вариабельный домен легкой цепи Ig и константный домен TCR α , причем CAR, содержащий первый полипептид CAR и второй полипептид CAR, обладает специфичностью связывания к комплексу пептид/молекула МНС.

116. Способ получения не относящегося к человеку животного, включающий генетическую модификацию, включающую внедрение методами генной инженерии в зародышевую линию не относящегося к человеку животного локуса химерного антигенного рецептора (CAR), содержащего:

неперестроенный локус вариабельного участка, содержащий неперестроенные сегменты гена вариабельного участка иммуноглобулина (Ig); и

локус константного участка, содержащий константный участок Т-клеточного рецептора (TCR);

причем человеческие неперестроенные сегменты гена вариабельного участка Ig функционально связаны с геном константного участка TCR так, что генетически модифицированное не относящееся к человеку животное экспрессирует полипептид CAR, содержащий вариабельный домен Ig, кодируемый перестроенным геном вариабельного участка Ig, происходящим от неперестроенных сегментов гена вариабельного участка Ig, и константный домен TCR, кодируемый геном константного участка TCR.

117. Способ по п. 116, в котором неперестроенные сегменты гена вариабельного участка Ig являются человеческими.

118. Способ по п. 116 или 117, в котором ген константного участка TCR эндогенного для данного вида происхождения.

119. Способ по п. 116 или 117, в котором ген константного участка TCR представляет собой мышиный ген константного участка TCR или крысиный ген константного участка TCR.

120. Способ по любому из пп. 116-119, в котором неперестроенные сегменты гена вариабельного участка Ig представляют собой человеческие сегменты гена вариабельного участка тяжелой цепи Ig (IgH).

121. Способ по любому из пп. 116-119, в котором неперестроенные сегменты гена вариабельного участка Ig представляют собой человеческие сегменты гена вариабельного участка легкой цепи Ig (IgL).

122. Способ по п. 121, в котором сегменты гена вариабельного участка IgL представляют собой человеческие сегменты гена κ -цепи.

123. Способ по п. 121, в котором сегменты гена вариабельного участка IgL представляют собой сегменты гена λ -цепи.

124. Способ по любому из пп. 116-123, в котором ген константного участка TCR представляет собой ген константного участка TCR α .

125. Способ по п. 124, в котором локус CAR расположен в эндогенном локусе TCR α .
126. Способ по п. 125, в котором неперестроенные человеческие сегменты гена вариабельного участка Ig замещают эндогенные сегменты гена вариабельного участка TCR α .
127. Способ по п. 125, в котором ген константного участка TCR α представляет собой эндогенный ген константного участка TCR α .
128. Способ по любому из пп. 116-123, в котором ген константного участка TCR представляет собой ген константного участка TCR β .
129. Способ по п. 128, в котором локус CAR расположен в эндогенном локусе TCR β .
130. Способ по п. 129, в котором неперестроенные человеческие сегменты гена вариабельного участка Ig замещают эндогенные сегменты гена вариабельного участка TCR β .
131. Способ по п. 129, в котором ген константного участка TCR β представляет собой эндогенный ген константного участка TCR β .
132. Способ по любому из пп. 116-131, в котором не относящееся к человеку животное относится к грызунам.
133. Способ по п. 132, в котором грызун представляет собой мышь.