

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 РСТ:  
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 locus химерного антигенного рецептора (CAR), содержащий:

неперестроенный locus варибельного участка, содержащий неперестроенные сегменты гена варибельного участка иммуноглобулина (Ig); и

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

причем человеческие неперестроенные сегменты гена варибельного участка Ig функционально связаны с геном константного участка TCR так, что генетически модифицированное не относящееся к человеку животное экспрессирует полипептид CAR, содержащий варибельный домен Ig, кодируемый перестроенным геном варибельного участка Ig, происходящим от неперестроенных сегментов гена варибельного 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 варибельного 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 варибельного участка Ig представляют собой человеческие сегменты гена варибельного участка тяжелой цепи Ig (IgH).

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

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

8. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по п. 6, у которого сегменты гена варибельного 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 варибельного участка Ig замещают эндогенные сегменты гена варибельного 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 варибельного участка Ig замещают эндогенные сегменты гена варибельного 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 переменного участка, содержащий неперестроенные сегменты гена иммуноглобулина (Ig) V<sub>H</sub>, D<sub>H</sub> и J<sub>H</sub>, и первый локус константного участка, содержащий ген константного участка Т-клеточного рецептора β (TCRβ), при этом неперестроенные сегменты гена Ig V<sub>H</sub>, D<sub>H</sub> и J<sub>H</sub> функционально связаны с геном константного участка TCRβ так, что генетически модифицированное не относящееся к человеку животное экспрессирует первую полипептидную цепь CAR, содержащую переменный домен тяжелой цепи Ig, кодируемый перестроенным геном переменного участка тяжелой цепи, происходящим от неперестроенных сегментов гена Ig V<sub>H</sub>, D<sub>H</sub> и J<sub>H</sub>, и константный домен TCRβ, кодируемый геном константного участка TCRβ, а

второй локус CAR содержит второй неперестроенный локус переменного участка, содержащий неперестроенные сегменты гена Ig V<sub>K</sub> и J<sub>K</sub>, и второй локус константного участка, содержащий ген константного участка Т-клеточного рецептора α (TCRα), при этом неперестроенные сегменты гена Ig V<sub>K</sub> и J<sub>K</sub> функционально связаны с геном константного участка TCRα так, что генетически модифицированное не относящееся к человеку животное экспрессирует вторую полипептидную цепь CAR, содержащую переменный домен к Ig, кодируемый перестроенным геном переменного участка к-цепи Ig, происходящим от неперестроенных сегментов гена Ig V<sub>K</sub> и J<sub>K</sub>, 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<sub>H</sub>, D<sub>H</sub> и J<sub>H</sub> и/или сегменты гена Ig V<sub>K</sub> и J<sub>K</sub> 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 мышинный 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<sub>K</sub> и J<sub>K</sub> замещают эндогенные сегменты гена переменного 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<sub>H</sub>, D<sub>H</sub> и J<sub>H</sub> замещают эндогенные сегменты гена переменного участка TCRβ.

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

или 28, у которого ген константного участка TCR $\beta$  представляет собой эндогенный ген константного участка TCR $\beta$ .

30. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по любому из пп. 1-29, которое экспрессирует один или более химерных полипептидов  $\alpha$ -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  $\alpha$ -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  $\beta$ -2-микроглобулина.

33. Генетически модифицированное не относящееся к человеку животное по любому из пп. 1-32, которое экспрессирует один или более химерных полипептидов  $\alpha$ -цепи молекулы МНС класса II, содержащих человеческий внеклеточный домен и цитоплазматический домен эндогенного для данного вида происхождения, и/или один или более химерных полипептидов  $\beta$ -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  $\alpha$ -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  $\beta$ -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  $\alpha$ -цепи CD8, содержащий человеческий внеклеточный домен иммуноглобулина и цитоплазматический домен эндогенного для данного вида происхождения, и/или химерный полипептид  $\beta$ -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

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

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:

(a) 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;

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

(c) получение Т-клеточной гибридомы из Т-клетки этапа (b).

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:

(a) 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;

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

(c) 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:

(a) 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;

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

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

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

(e) 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 переменный 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 презентуется на молекуле МНС у не относящегося к человеку животного;

(b) 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 переменный домен Ig CAR, из Т-клетки не относящегося к человеку животного; и

(d) создание функциональной связи между нуклеиновой кислотой, кодирующей переменный домен Ig, и нуклеиновой кислотой, кодирующей человеческий константный домен TCR, в человеческой клетке таким образом, что человеческая клетка экспрессирует CAR, содержащий переменный 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 переменный 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 переменного 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 переменного 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 переменного участка Ig кодирует переменный 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 переменного участка, содержащий неперестроенные сегменты гена переменного участка иммуноглобулина (Ig); и

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

причем неперестроенные сегменты гена переменного участка Ig функционально

связаны с геном константного участка TCR.

66. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по п. 65, в которой неперестроенные сегменты гена варибельного 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 мышинный 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 варибельного участка Ig представляют собой человеческие сегменты гена варибельного участка тяжелой цепи Ig (IgH).

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

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

72. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по п. 70, в которой сегменты гена варибельного участка IgL представляют собой сегменты гена  $\lambda$ -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 TCR $\alpha$ .

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

75. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по п. 74, в которой неперестроенные человеческие сегменты гена варибельного участка Ig замещают эндогенные сегменты гена варибельного участка TCR $\alpha$ .

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

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

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

79. Не относящаяся к человеку ЭС-клетка по п. 78, в которой неперестроенные человеческие сегменты гена варибельного участка Ig замещают эндогенные сегменты гена варибельного участка TCR $\beta$ .

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

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 варибельного участка, содержащий неперестроенные сегменты гена иммуноглобулина (Ig) V<sub>H</sub>, D<sub>H</sub> и J<sub>H</sub>, и первый локус константного участка, содержащий ген константного участка Т-клеточного рецептора  $\beta$  (TCR $\beta$ ), при этом неперестроенные сегменты гена Ig V<sub>H</sub>, D<sub>H</sub> и J<sub>H</sub> функционально связаны с геном константного участка TCR $\beta$ , а

второй локус CAR содержит второй неперестроенный локус варибельного участка, содержащий неперестроенные сегменты гена Ig V<sub>K</sub> и J<sub>K</sub>, и второй локус константного участка, содержащий ген константного участка Т-клеточного рецептора  $\alpha$  (TCR $\alpha$ ), при этом неперестроенные сегменты гена Ig V<sub>K</sub> и J<sub>K</sub> функционально связаны с геном константного участка TCR $\alpha$ .

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  $\alpha$ -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  $\alpha$ -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  $\beta$ -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  $\alpha$ -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  $\beta$ -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  $\alpha$ -цепи молекулы МНС класса II выбирают из группы, состоящей из HLA-DMA, HLA-DOA, HLA-DPA, HLA-DQA и HLA-DRA, и/или полипептид  $\beta$ -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  $\alpha$ -цепи CD8, содержащий человеческий внеклеточный домен иммуноглобулина и цитоплазматический домен эндогенного для данного вида происхождения, и/или нуклеотидную последовательность, кодирующую химерные полипептиды  $\beta$ -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. Лocus химерного антигенного рецептора (CAR), содержащий: неперестроенный locus варибельного участка, содержащий неперестроенные сегменты гена варибельного участка иммуноглобулина (Ig); и locus константного участка, содержащий константный участок Т-клеточного рецептора (TCR);



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

95. Лocus CAR по п. 94, в котором сегменты гена переменного участка Ig являются человеческими.

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

97. Лocus CAR по п. 96, в котором константный участок TCR грызуна представляет собой мышинный константный участок TCR.

98. Лocus CAR, содержащий неперестроенный locus переменного участка, содержащий неперестроенные сегменты гена иммуноглобулина (Ig) V<sub>H</sub>, D<sub>H</sub> и J<sub>H</sub>, и locus константного участка, содержащий ген константного участка T-клеточного рецептора β (TCRβ), причем неперестроенные сегменты гена Ig V<sub>H</sub>, D<sub>H</sub> и J<sub>H</sub> функционально связаны с геном константного участка TCRβ.

99. Лocus CAR по п. 98, в котором сегменты гена Ig V<sub>H</sub>, D<sub>H</sub> и J<sub>H</sub> являются человеческими.

100. Лocus CAR по п. 98 или 99, в котором ген константного участка TCRβ представляет собой мышинный ген константного участка TCRβ.

101. Лocus CAR, содержащий неперестроенный locus переменного участка, содержащий неперестроенные сегменты гена Ig V<sub>K</sub> и J<sub>K</sub>, и locus константного участка, содержащий ген константного участка T-клеточного рецептора α (TCRα), причем неперестроенные сегменты гена Ig V<sub>K</sub> и J<sub>K</sub> функционально связаны с геном константного участка TCRα.

102. Лocus CAR по п. 101, в котором сегменты гена Ig V<sub>K</sub> и J<sub>K</sub> являются человеческими.

103. Лocus CAR по п. 101 или 102, в котором ген константного участка TCRα представляет собой мышинный ген константного участка TCRα.

104. Химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий первый полипептид CAR, содержащий переменный домен тяжелой цепи Ig и константный домен TCRβ, и второй полипептид CAR, содержащий переменный домен легкой цепи Ig и константный домен TCRα, причем CAR обладает специфичностью связывания к комплексу пептид/молекула МНС.

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

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

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

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

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

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

111. CAR по любому из пп. 108-110, в котором переменный домен тяжелой цепи Ig и переменный домен легкой цепи Ig представляют собой человеческие переменные 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 переменный домен тяжелой цепи Ig и человеческий константный домен TCR $\beta$ , и второй полипептид CAR, содержащий человеческий переменный домен легкой цепи Ig и человеческий константный домен TCR $\alpha$ , причем CAR обладает специфичностью связывания к комплексу пептид/молекула МНС.

115. Композиция нуклеиновых кислот, содержащая первую нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид CAR, содержащий переменный домен тяжелой цепи Ig и константный домен TCR $\beta$ , и вторую нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид CAR, содержащий переменный домен легкой цепи Ig и константный домен TCR $\alpha$ , 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 переменного участка, содержащий неперестроенные сегменты гена переменного участка иммуноглобулина (Ig); и

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

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

117. Способ по п. 116, в котором неперестроенные сегменты гена переменного 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 мышинный ген константного участка TCR или крысиный ген константного участка TCR.

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

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

122. Способ по п. 121, в котором сегменты гена переменного участка IgL представляют собой человеческие сегменты гена  $\kappa$ -цепи.

123. Способ по п. 121, в котором сегменты гена переменного участка IgL представляют собой сегменты гена  $\lambda$ -цепи.

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

125. Способ по п. 124, в котором локус CAR расположен в эндогенном локусе TCR $\alpha$ .
126. Способ по п. 125, в котором неперестроенные человеческие сегменты гена вариабельного участка Ig замещают эндогенные сегменты гена вариабельного участка TCR $\alpha$ .
127. Способ по п. 125, в котором ген константного участка TCR $\alpha$  представляет собой эндогенный ген константного участка TCR $\alpha$ .
128. Способ по любому из пп. 116-123, в котором ген константного участка TCR представляет собой ген константного участка TCR $\beta$ .
129. Способ по п. 128, в котором локус CAR расположен в эндогенном локусе TCR $\beta$ .
130. Способ по п. 129, в котором неперестроенные человеческие сегменты гена вариабельного участка Ig замещают эндогенные сегменты гена вариабельного участка TCR $\beta$ .
131. Способ по п. 129, в котором ген константного участка TCR $\beta$  представляет собой эндогенный ген константного участка TCR $\beta$ .
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.