



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 47/6803 (2020.08); A61K 47/6849 (2020.08); A61P 35/00 (2020.08); A61P 35/02 (2020.08); A61P 43/00 (2020.08); C07K 14/7051 (2020.08); C07K 16/2809 (2020.08); G01N 33/57426 (2020.08); C07K 2317/21 (2020.08); C07K 2317/34 (2020.08); C07K 2317/56 (2020.08); C07K 2317/565 (2020.08); C07K 2317/622 (2020.08); G01N 2333/7051 (2020.08)

(21)(22) Заявка: 2016138421, 05.03.2015

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
05.03.2015

Дата регистрации:  
02.03.2021

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
05.03.2014 GB 1403905.1;  
25.09.2014 GB 1416908.0

(43) Дата публикации заявки: 05.04.2018 Бюл. № 10

(45) Опубликовано: 02.03.2021 Бюл. № 7

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 05.10.2016

(86) Заявка РСТ:  
GB 2015/050643 (05.03.2015)

(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2015/132598 (11.09.2015)

Адрес для переписки:  
190900, Санкт-Петербург, ВОХ 1125, ООО  
"ПАТЕНТИКА"

(72) Автор(ы):

ПЮЛЕ Мартен (GB),  
МАСИОСИЯ Пол (GB)

(73) Патентообладатель(и):

Отолус Лимитед (GB)

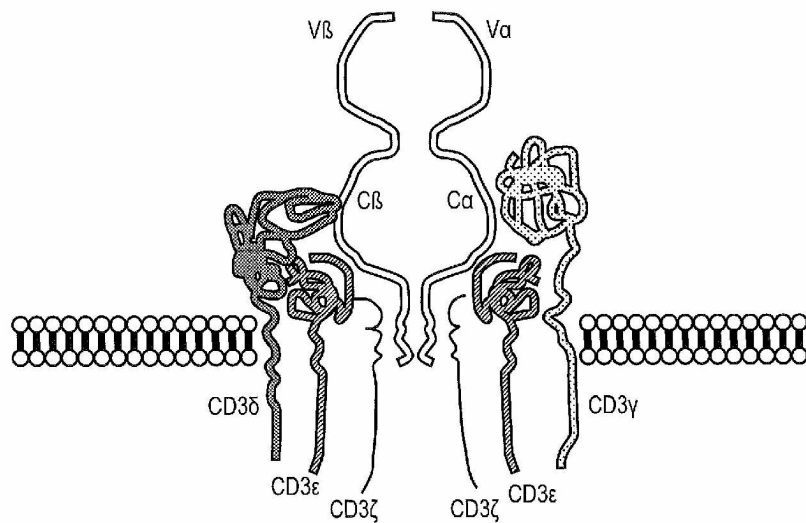
(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: WO 2009/151628 A2, 17.12.2009. WO  
2013/074916 A1, 23.05.2013. WO 2003/093318 A1,  
13.11.2003. BERGER CL et. al. "The growth of  
cutaneous T-cell lymphoma is stimulated by  
immature dendritic cells", Blood, 99(8), pp. 2929-  
39, 15.04.2002. VINEY JL et. al. "Generation of  
monoclonal antibodies against a human T cell  
receptor beta chain expressed in (см. прод.)

(54) ХИМЕРНЫЙ АНТИГЕННЫЙ РЕЦЕПТОР (CAR) С АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИМИ ДОМЕНАМИ  
К КОНСТАНТНОЙ ОБЛАСТИ  $\beta$  Т-КЛЕТОЧНОГО РЕЦЕПТОРА

(57) Реферат:

Настоящее изобретение относится к области иммунологии. Предложены применение цитолитической Т-клетки, цитолитическая Т-клетка, CAR. Также рассмотрены молекула нуклеиновой кислоты, вектор экспрессии, способ получения клетки, способ лечения Т-клеточной

лимфомы или лейкемии. Данное изобретение может найти дальнейшее применение в терапии онкологических заболеваний, связанных со злокачественными Т-клетками. 7 н. и 11 з.п. ф-лы, 29 ил., 6 табл., 13 пр.



ФИГ. 1

(56) (продолжение):  
 transgenic mice", Hybridoma, 11(6), pp. 701-13, December 1992. RU 2355703 C2, 20.05.2009.

RU 2 7 4 4 0 4 6 C 2

RU 2 7 4 4 0 4 6 C 2



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

*C07K 16/28* (2006.01)*C07K 14/725* (2006.01)*C12N 5/10* (2006.01)*C12N 5/0783* (2010.01)*C12N 15/63* (2006.01)*A61K 39/395* (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

*A61K 47/6803* (2020.08); *A61K 47/6849* (2020.08); *A61P 35/00* (2020.08); *A61P 35/02* (2020.08); *A61P 43/00* (2020.08); *C07K 14/7051* (2020.08); *C07K 16/2809* (2020.08); *G01N 33/57426* (2020.08); *C07K 2317/21* (2020.08); *C07K 2317/34* (2020.08); *C07K 2317/56* (2020.08); *C07K 2317/565* (2020.08); *C07K 2317/622* (2020.08); *G01N 2333/7051* (2020.08)

(21)(22) Application: **2016138421, 05.03.2015**(24) Effective date for property rights:  
**05.03.2015**Registration date:  
**02.03.2021**

Priority:

(30) Convention priority:  
**05.03.2014 GB 1403905.1;**  
**25.09.2014 GB 1416908.0**(43) Application published: **05.04.2018** Bull. № 10(45) Date of publication: **02.03.2021** Bull. № 7(85) Commencement of national phase: **05.10.2016**(86) PCT application:  
**GB 2015/050643 (05.03.2015)**(87) PCT publication:  
**WO 2015/132598 (11.09.2015)**Mail address:  
**190900, Sankt-Peterburg, BOX 1125, OOO**  
**"PATENTIKA"**

(72) Inventor(s):

**PYULE Marten (GB),**  
**MASIOSIYA Pol (GB)**

(73) Proprietor(s):

**Otolus Limited (GB)**(54) **CHIMERIC ANTIGEN RECEPTOR (CAR) WITH ANTIGEN-BINDING DOMAINS TO THE T-CELL RECEPTOR  $\beta$ - CONSTANT REGION**

(57) Abstract:

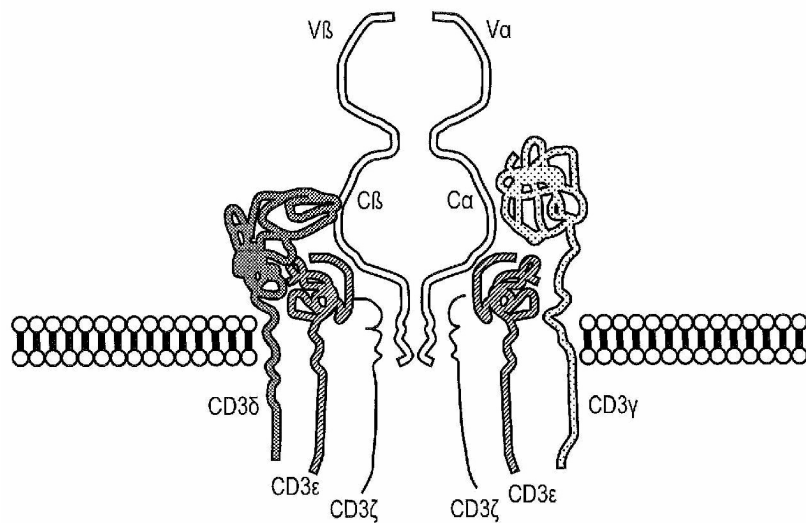
FIELD: immunology.

SUBSTANCE: application of cytolytic T-cell, cytolytic T-cell, CAR. Invention also discloses a nucleic acid molecule, an expression vector, a cell production method, a method of treating T-cell lymphoma or

leukemia.

EFFECT: present invention can find further application in therapy of oncological diseases associated with malignant T-cells.

18 cl, 29 dwg, 6 tbl, 13 ex



ФИГ. 1

RU 2 7 4 4 0 4 6 C 2

RU 2 7 4 4 0 4 6 C 2



## ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к клеткам и агентам, полезным для лечения Т-клеточной лимфомы или лейкемии.

### ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ ИЗОБРЕТЕНИЮ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

5 Лимфоидные злокачественные новообразования по большей части могут быть разделены на опухоли, происходящие или из Т-клеток, или из В-клеток. Т-клеточные злокачественные новообразования представляют собой клинически и биологически гетерогенную группу нарушений, в общей сложности, включающую 10-20%  
10 неходжкинских лимфом и 20% острых лейкемий. Наиболее часто выявляемыми гистологическими подтипами являются периферическая Т-клеточная лимфома, неуточненная (ПТКЛ-НУ); ангиоиммунобластная Т-клеточная лимфома (АИТКЛ) и анапластическая крупноклеточная лимфома (АККЛ). Из всех острых лимфобластных лейкемий (ОЛЛ) около 20% имеют Т-клеточный фенотип.

Эти заболевания, как правило, ведут себя агрессивно по сравнению, например, с В-клеточными злокачественными новообразованиями, с предполагаемой пятилетней  
15 выживаемостью всего лишь 30%. В случае Т-клеточной лимфомы они ассоциированы с высокой долей пациентов, демонстрирующих диссеминированное заболевание, неблагоприятное значение международного прогностического индикатора (PI) и преобладание внеузлового заболевания. Химиотерапия по отдельности, как правило,  
20 неэффективна, и менее чем 30% пациентов излечиваются при помощи современных способов лечения.

Более того, в отличие от В-клеточных злокачественных новообразований, где иммунотерапевтические средства, такие как моноклональное антитело против CD20  
25 ритуксимаб, значительно улучшают исход болезни, в настоящее время не существует такого же эффективного иммунотерапевтического средства с минимальной токсичностью, подходящего для лечения Т-клеточных злокачественных новообразований. Существенной трудностью в разработке иммунотерапии для Т-клеточных заболеваний является значительное перекрытие экспрессии маркеров  
30 клональных и нормальных Т-клеток, и отсутствие отдельного антигена, способного четко идентифицировать клональные (злокачественные) клетки.

Аналогичная проблема существует при нацеливании пан-В-клеточного антигена для лечения В-клеточного злокачественного новообразования. Однако, в этом случае, сопутствующее истощение В-клеточного компартмента приводит к относительно  
35 незначительной иммуносупрессии, которая легко переносится большинством пациентов. Более того, при терапевтическом лечении, которое приводит к особенно длительному истощению нормального В-компартмента, его потеря может быть в значительной степени нейтрализована введением смешанного иммуноглобулина. Ситуация совершенно  
40 иная при нацеливании на Т-клеточные злокачественные новообразования. В этом случае, сопутствующее истощение Т-клеточного компартмента приводит к тяжелой иммуносупрессии и тяжелой токсичности. Более того, не существует  
удовлетворительного способа для уменьшения потери Т-клеточного компартмента.

Токсичность частично иллюстрируется клиническими эффектами терапевтического моноклонального антитела Алемтузумаб. Этот препарат разрушает клетки, которые  
45 экспрессируют CD52, и обладает некоторой эффективностью при Т-клеточных злокачественных новообразованиях. Полезность этого препарата сильно ограничена глубоким клеточным иммунодефицитом, в основном, за счет истощения популяции Т-клеток, с заметно повышенным риском инфицирования.

Существует, таким образом, потребность в новом способе для адресной терапии Т-

клеточных злокачественных новообразований, который не ассоциирован с вышеизложенными недостатками.

## ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

**Фигура 1: Диаграмма комплекса Т-клеточного рецептора  $\alpha\beta$ /CD3.** Т-клеточный рецептор формируется из 6 различных белковых цепей, которые должны собираться в 5  
эндоплазматическом ретикулуме, чтобы экспрессироваться на клеточной поверхности. Четыре белка из комплекса CD3 (CD3 $\zeta$ , CD3 $\gamma$ , CD3 $\epsilon$  и CD3 $\delta$ ) охватывают Т-клеточный рецептор (TCR). Этот TCR наполняет комплекс специфичностью к конкретному антигену и состоит из двух цепей: TCR $\alpha$  и TCR $\beta$ . Каждая цепь TCR имеет переменный компонент, 10  
расположенный дистально по отношению к мембране, и константный компонент, расположенный проксимально по отношению к мембране. Почти все Т-клеточные лимфомы и многие из Т-клеточных лейкозов экспрессируют комплекс TCR/CD3.

**Фигура 2: Сегрегация константных областей  $\beta$  Т-клеточного рецептора (TRBC)-1 и TRBC2 во время реаранжировки Т-клеточного рецептора.** Каждая бета-цепь TCR 15  
образуется путем геномной рекомбинации определенных переменной (V), определяющей разнообразие (D), соединительной (J) и константной (TRBC) бета-областей. Геном человека содержит два очень похожих и функционально эквивалентных локуса TRBC, известных как TRBC1 и TRBC2. Во время реаранжировки гена TCR, J-область рекомбинирует или с TRBC1, или с TRBC2. Эта реаранжировка является 20  
постоянной. Т-клетки экспрессируют много копий одиночного TCR на поверхности, таким образом, каждая Т-клетка будет экспрессировать TCR, у которого константная область  $\beta$ -цепи кодируется или TRBC1, или TRBC2.

**Фигура 3: Выравнивание TRBC1 и TRBC2 человека на аминокислотном уровне.** Константные цепи TCR $\beta$ , кодируемые TRBC1 и TRBC2, различаются только по четырем 25  
аминокислотам: K/N в положении 3 TRBC, N/K в положении 4 TRBC; F/Y в положении 36 TRBC; V/E в положении 135 TRBC.

**Фигура 4: Однозначная демонстрация того, что антитело JOVI-1 связывается с TRBC1, а не с TRBC2.** Использовали генетическую инженерию клеток для однозначного доказательства того, что моноклональное антитело JOVI-1 распознает вариант TRBC1 30  
константной цепи TCR $\beta$ . Получали трехцистронную ретровирусную кассету. Она кодирует обе цепи TCR $\alpha$  и TCR $\beta$  человеческого TCR, который распознает минорный антиген гистосовместимости антиген HA1, вместе с укороченным человеческим CD34 в качестве подходящего маркерного гена. HA1 TCR исходно представляет собой TRBC2. Получали вторую ретровирусную кассету, которая была идентична первой, за 35  
исключением того, что четыре остатка в константной области TCR $\beta$ , которые отличают TRBC1 от TRBC2, были заменены на остатки, кодируемые TRBC1. Т-клетки Юркат, нокаутные по обеим цепям TCR $\alpha$  и TCR $\beta$ , трансдуцировали одним из двух векторов. Эти клетки окрашивали или пан-TCR/CD3 антителом, или моноклональным JOVI-1, конъюгированным вместе с антителами против CD34, и анализировали в проточном 40  
цитометре. Верхний ряд демонстрирует окрашивание пан-TCR/CD3 антителом по сравнению с CD34 (маркером трансдукции), нижний ряд демонстрирует окрашивание JOVI-1 по сравнению с CD34. Трансдуцированные клетки демонстрируют сходное окрашивание TCR/CD3, но только TRBC1-положительные клетки окрашиваются JOVI-1. Таким образом, JOVI-1 является специфическим антителом для TRBC1, и, более того, 45  
возможно использовать антитело для различения TRBC1 и двух TCR.

**ФИГУРА 5: Моноклональное антитело JOVI-1 отличает TRBC1 от TRBC2, распознавая остатки 3 и 4 в TRBC.** Для точного определения того, как JOVI-1 отличает TRBC1 от TRBC2, вышеописанная конструкция TRBC2 TCR HA1 была мутирована для получения

двух гибридов TRBC1/2. Дополнительный вариант получали таким образом, что только остатки 3 и 4 константной цепи TCR $\beta$  были заменены с остатков TRBC2 на остатки TRBC1. Получали дополнительный вариант, в котором только остаток 36 был изменен с остатка TRBC2 на остаток TRBC1. Т-клетки Юркат, нокаутные по TCR,

5 транслировали этими новыми конструкциями. В качестве контролей использовали исходные клетки Юркат, транслированные TRBC2 и TRBC1 и описанные в фигуре 4. Т-клетки Юркат окрашивали JOVI-1 и анализировали в проточном цитометре. Окрашивание JOVI-1 перекрывалось с окрашиванием Т-клеток Юркат, нокаутных по TCR и не транслированных TCR. JOVI-1 окрасило клетки Юркат, экспрессирующие TRBC1 TCR, а не TRBC2 TCR. JOVI-1 окрасило TRBC1/гибрид 2, в котором только TRBC остатки 3 и 4 TRBC были из TRBC1. JOVI-1 не окрасило Т-клетки Юркат, в которых только остаток 36 TRBC был из TRBC1.

**ФИГУРА 6: Пример Т-клеточной экспрессии TRBC1 у здорового донора.**

Мононуклеарные клетки периферической крови здорового донора окрашивали антителами против CD3, CD4, CD8 и JOVI-1 и анализировали путем проточной цитометрии. Популяции Т-клеток CD4+ и CD8+ показаны на верхней панели. Каждая из этих популяций дала сигнал выше порогового значения, и прямое рассеяние относительно окрашивания JOVI-1 показано на осях Y и X, соответственно. Эти данные показывают, что оба компартмента, CD4+ и CD8+, содержат клетки, которые являются TRBC1-положительными и -отрицательными. Это репрезентативные данные от одного донора.

**Фигура 7: TRBC1+ Т-клетки у нескольких здоровых доноров.** Производили забор крови у десяти здоровых доноров и окрашивали мононуклеарные клетки периферической крови, как описано выше в фигуре 4. Совокупные данные доли TRBC1 Т-клеток в обоих компартментах, CD4 и CD8, показаны на линейчатой диаграмме вместе с медианой и интервалом. Все доноры имели компартменты TRBC1+ и TRBC1-. Медиана TRBC1+ клеток в %=36%.

**Фигура 8: Клеточные линии, полученные из Т-клеточного злокачественного новообразования, окрашены JOVI-1.** Было получено несколько клеточных линий из Т-клеточных злокачественных новообразований. Многие из этих клеточных линий все еще экспрессируют TCR. Мы выбрали для исследования клетки Юркат (клеточная линия Т-клеточной лейкемии), HPB-ALL (другая клеточная линия Т-клеточной лейкемии) и HD-Mag-2 (клеточная линия Т-клеточной лимфомы). Путем окрашивания этих клеточных линий пан-TCR/CD3 антителом, мы смогли продемонстрировать, что все три линии экспрессируют TCR (левые панели, окрашивание перекрывается с контрольным окрашиванием изотипов). Затем, путем окрашивания JOVI-1 мы смогли определить, что эти Т-клеточные линии либо TRBC1-отрицательные, либо TRBC1-положительные. Только клетки Юркат (TRBC1+), а не клетки HPB-ALL или HD-Mag-2 (TRBC2+), окрашивались JOVI-1, подтверждая исключительную экспрессию или TRBC1, или TRBC2.

**Фигура 9: Селективный лизис TRBC1 Т-клеток моноклональным антителом (МАТ) JOVI-1.** Т-клетки Юркат дикого типа (CD34-, TRBC1+) смешивали с Т-клетками Юркат, нокаутными по TCR $\alpha\beta$  и транслированными TRBC2 с коэкспрессией маркерного гена CD34 (CD34+TRBC2+). Эти клетки инкубировали с JOVI-1 по отдельности, или инкубировали с JOVI-1 и комплементом в течение 1 часа. Клетки отмывали и окрашивали по CD34, аннексину V и 7-аминоактиномицину (7-AAD). Клетки анализировали проточной цитометрией. Ниже показана экспрессия CD34 в живой популяции, определенной по отрицательному аннексину-V и слабой экспрессии 7-AAD. (а) JOVI-1

отдельно; (b) JOVI-1 с комплементом. Наблюдали селективный лизис TRBC1 Т-клеток (CD34-).

**Фигура 10: Поликлональные Т-клетки, специфичные к вирусу Эпштейна-Барр (EBV), можно разделить на две приблизительно равные популяции TRBC1/2.** С использованием общепринятых способов, авторы изобретения избирательно нарастили Т-клетки, специфичные к EBV, из периферической крови здорового донора. Последующая линия имела высокую степень селективности против аутологичных В-клеток, зараженных EBV (аутолимфобластные клеточные линии, ауто-ЛКЛ), и не проявляла активности против аллогенных Т-клеток, зараженных EBV (алло-ЛКЛ), и не имела неспецифической активности естественных киллеров (при измерении тестом против клеток K562). Такая линия является репрезентативной для донорского иммунитета к EBV. (b) При окрашивании JOVI-1 эти Т-клетки типизируются в равных долях, как TRBC1 и TRBC2.

**Фигура 11: Аннотированная последовательность VH и VL JOVI-1.** Гипервариабельные области подчеркнуты и выделены жирным шрифтом.

**Фигура 12: Демонстрация того, что периферическая Т-клеточная лимфома ограничена по TRBC, а нормально циркулирующие Т-клетки - нет.** Получали Т-клетки из периферической крови пациента с циркулирующими клетками Т-клеточной лимфомы. Периферические мононуклеарные клетки выделяли и окрашивали при помощи панели антител, включающей CD5, TCR и JOVI-1. Нормальные и злокачественные Т-клетки можно было различить в цитометре по интенсивности экспрессии CD5. Яркий CD5 (нормальные Т-клетки) имели приблизительно равные популяции TRBC1 и 2. Популяции с промежуточной яркостью и слабой яркостью CD5 (опухоль) были все TRBC2-позитивные. Если бы этот пациент получал TRBC2-направленную терапию, лимфома была бы уничтожена, и приблизительно половина Т-клеток была бы сохранена.

**Фигура 13: Демонстрация того, что VH и VL полученные из JOVI-1 верны, и что они могут складываться в виде одноцепочечного вариабельного фрагмента.** Использовали супернатант исходной гибридомы, рекомбинантное антитело JOVI-1 и scFv-Fc, произведенный трансфецированными клетками 293Т для окрашивания ряда клеточных линий: Юркат, нокаутных по TCR, Юркат дикого типа, Юркат, нокаутных по TCR и трансдуцированных TRBC1 TCR в векторе с совместной экспрессией eBFP2, Юркат, нокаутных по TCR и трансдуцированных TRBD2 TCR в векторе с совместной экспрессией eBFP2. Окрашивание анализировали проточной цитометрией. И рекомбинантное антитело, и scFv связались с клетками, экспрессирующими TRBC2.

**Фигура 14: CAR на основе JOVI-1 в различных форматах.** CAR, как правило, содержат связывающий домен, спейсер, трансмембранный домен и домен для внутриклеточной передачи сигнала. В этом исследовании получали CAR, которые содержат scFv JOVI-1, спейсер, полученный или из «стебля» CD8, домена шарнир-CH2-CH3 человеческого IgG1 с мутациями, которые исключают связывание с FcR; или спейсер, полученный из IgG1 человека.

**Фигура 15: Функция CAR на основе JOVI-1.** Т-клетки из периферической крови здорового донора трансдуцировали различными вышеописанными CAR. Т-клетки также трансдуцировали CAR, специфичным к CD19, в качестве контроля. Эти Т-клетки затем объединяли с клетками-мишенями: Юркат, нокаутными по TCR, и Юркат дикого типа и клетками Раджи (линия CD19+ В-клеточной лимфомы). Данные по высвобождению хрома показаны для эффекторов против различных мишеней. Т-клетки с CAR JOVI-1 лизировали клетки Юркат, но не клетки Раджи и клетки Юркат, нокаутные по TCR.

**Фигура 16: Самоочищение Т-клеточных культур с CAR JOVI-1.** Поскольку Т-клетки

содержат приблизительно равное количество Т-клеток, позитивных или по TRBC1, или по TRBC2, возможно, что после введения CAR может происходить определенное количество «братоубийства» или самоочищения культуры. Было показано, что это имело место. В этом примере, Т-клетки с CAR окрашивали после трансдукции и анализировали проточной цитометрией. При сравнении суррогатно трансдуцированных и трансдуцированных клеток можно наблюдать, что Т-клеточная популяция теряет TRBC1-позитивные Т-клетки.

**Фигура 17: Исследование клональности Т-клеточной лейкемии из больших гранулярных лимфоцитов (ТЛ-БГЛ) -Пациент А**

**Фигура 18: Исследование клональности Т-клеточной лейкемии из больших гранулярных лимфоцитов (ТЛ-БГЛ) -Пациент В**

**Фигура 19: Исследование клональности Т-клеточной лейкемии из больших гранулярных лимфоцитов (ТЛ-БГЛ) -Пациент С**

**Фигура 20: Исследование клональности поликлональной Т-клеточной лимфомы (ПКТЛ) -Пациент D**

**Фигура 21: Стратегии отбора фагов по пептидам TRBC.** А) Два раунда отбора фагового дисплея на твердой фазе по пептидам TRBC, иммобилизованных на поверхности прямо или опосредованно. В) Три раунда отбора фагового дисплея в жидкой фазе по биотинилированным пептидам TRBC.

**Фигура 22: Анализ результатов по поликлональным фагам из отборов фагового дисплея по пептидам TRBC.** Анализ связывания посредством TRF с использованием поликлонального фага из отборов на твердой фазе проводили на пептидах TRBC, непосредственно иммобилизованных в виде конъюгатов БСА/OA (А), отборы на твердой фазе по пептидам TRBC, иммобилизованным на стрептавидине/нейтравидине (В) и из отборов в жидкой фазе (С).

**фигура 23: Схематическое представление вектора pSANG10-3F вектор.** Ген, кодирующий одноцепочечное антитело (scFv), клонируют по сайту NcoI/NotI после промотора T7 и лидерной последовательности pelB (для периплазматической транслокации). Вектор также содержит С-концевую гекса-гистициновую метку (His6) для очистки и три-FLAG метку для детекции.

**Фигура 24: Первичный скрининг агентов, специфически связывающихся с TRBC1 и TRBC2.** Связывание девятисто четырех scFv из отборов по TRBC1 (А) и TRBC2 (В) с биотинилированными TRBC1 и TRBC2 (0,5 мкг/мл), иммобилизованными на 96-луночных планшетах Nunc Maxisorp™, покрытых нейтравидином (10 мкг/мл). Связывание scFv с иммобилизованными пептидами определяли с использованием антитела к FLAG, конъюгированного с европием.

**Фигура 25: Связывание сыворотки с поликлональными антителами от кролика #13174, иммунизированного TRBC1, с пептидами TRBC1 и TRBC2.** (А) После третьей иммунизации (В) После третьей иммунизации и очистки TRBC1-специфичных антител.

**Фигура 26: Связывание сыворотки с поликлональными антителами от кролика #17363, иммунизированного пептидом TRBC2, с пептидами TRBC1 и TRBC2.** (А) После третьей иммунизации (В) После третьей иммунизации и очистки TRBC2-специфичных антител.

**Фигура 27: Связывание сыворотки с поликлональными антителами от кролика #17364, иммунизированного пептидом TRBC2, с пептидами TRBC1 и TRBC2.** (А) После третьей иммунизации (В) После третьей иммунизации и очистки TRBC2-специфичных антител.

## **СУЩНОСТЬ АСПЕКТОВ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

Авторы настоящего изобретения разработали способ, за счет которого возможно истощить популяцию злокачественных Т-клеток у индивидуума, не затрагивая

значительную часть здоровых Т-клеток. В частности, они разработали химерные антигенные рецепторы (CAR), специфичные для TRBC1 и TRBC2, для применения в лечении Т-клеточных злокачественных новообразований.

Таким образом, в первом аспекте настоящее изобретение относится к химерному антигенному рецептору (CAR), который содержит антигенсвязывающий домен, селективно связывающийся с константной областью 1 TCR-бета (TRBC1) или TRBC2.

В первом варианте осуществления первого аспекта изобретения предлагается CAR, который селективно связывается с TRBC1. В этом варианте осуществления CAR может содержать антигенсвязывающий домен, который имеет переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), которые содержат следующие определяющие комплементарности области (CDR):

VH CDR1: SEQ ID No. 7;

VH CDR2: SEQ ID No. 8;

VH CDR3: SEQ ID No. 9;

VL CDR1: SEQ ID No. 10;

VL CDR2: SEQ ID No. 11; и

VL CDR3: SEQ ID No. 12.

CAR может содержать антигенсвязывающий домен, который имеет переменную область тяжелой цепи (VH) с последовательностью, показанной в виде SEQ ID No. 1 и переменную область легкой цепи (VL) с последовательностью, показанной в виде SEQ ID No. 2.

CAR может содержать антигенсвязывающий домен, который включает scFv с аминокислотной последовательностью, показанной в виде SEQ ID No. 3.

CAR может содержать аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID No. 33, 34 и 35.

CAR может содержать CDR3 VH и/или CDR3 VL из перечисленных в таблице 1.

CAR может включать антитело или его функциональный фрагмент, который содержит:

(i) CDR3 тяжелой цепи и/или CDR3 легкой цепи;

(ii) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи; или

(iii) переменную область тяжелой цепи (VH) и/или переменную область легкой цепи (VL);

из одного из scFv, показанных в виде SEQ ID No. от 13 до 22.

Во втором варианте осуществления первого аспекта изобретения предлагается CAR, который селективно связывается с TRBC2.

В связи с этим вариантом осуществления, CAR может содержать CDR3 VH и/или CDR3 VL из перечисленных в таблице 2.

CAR может включать антитело или его функциональный фрагмент, который содержит:

(i) CDR3 тяжелой цепи и/или CDR3 легкой цепи;

(ii) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи; или

(iii) переменную область тяжелой цепи (VH) и/или переменную область легкой цепи (VL);

из одного из scFv, показанных в виде SEQ ID No. от 23 до 32.

Во втором аспекте, настоящее изобретение относится к последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей CAR по первому аспекту изобретения.

В третьем аспекте, предлагается вектор, который содержит последовательность нуклеиновой кислоты по второму аспекту изобретения.

В четвертом аспекте, предлагается клетка, которая содержит CAR по первому аспекту изобретения. Клетка может быть цитолитической иммунной клеткой, такой как Т-клетка или клеткой-естественным киллером (NK).

В пятом аспекте предлагается способ для получения клетки по четвертому аспекту изобретения, который включает этап трансдукции или трансфекции клетки последовательностью нуклеиновой кислоты по второму аспекту изобретения или вектором по третьему аспекту изобретения.

В шестом аспекте предлагается клетка по четвертому аспекту изобретения для применения в способе лечения Т-клеточной лимфомы или лейкемии у индивидуума, который включает этап введения клетки, содержащей TCRB1- или TCRB2-селективный CAR индивидууму, для того чтобы вызвать селективное истощение популяции злокачественных Т-клеток, вместе с нормальными Т-клетками, экспрессирующими ту же TRBC, что и злокачественные Т-клетки, но не вызвать истощение популяции нормальных Т-клеток, экспрессирующих TRBC, которая не экспрессируется злокачественными Т-клетками.

Способ может также включать этап исследования константной области TCR-бета (TCRB) злокачественной Т-клетки от индивидуума, чтобы определить, экспрессирует она TRBC1 или TRBC2.

Также предлагается способ лечения Т-клеточной лимфомы или лейкемии у индивидуума, который включает этап введения TCRB1- или TCRB2-селективного агента индивидууму, где агент вызывает селективное истощение популяции злокачественных Т-клеток, вместе с нормальными Т-клетками, экспрессирующими ту же TRBC, что и злокачественные Т-клетки, но не вызывает истощение популяции нормальных Т-клеток, экспрессирующих TRBC, которая не экспрессируется злокачественными Т-клетками.

В первом варианте осуществления этого аспекта изобретения, агент представляет собой TCRB1-селективный агент. Во втором варианте осуществления этого аспекта изобретения, агент представляет собой TCRB2-селективный агент.

Способ может также включать перед этапом введения этап исследования константной области TCR-бета (TCRB) злокачественной Т-клетки от индивидуума, чтобы определить, экспрессирует она TRBC1 или TRBC2.

Агент может быть истощающим моноклональным антителом или его фрагментом. Агент может быть конъюгированным антителом, которое может содержать химиотерапевтическую часть.

Агент может быть биспецифическим Т-клеточным активатором. Агент может быть химерным антигенным рецептором (CAR), который экспрессируется Т-клетками. CAR может содержать аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID No. 33, 34 и 35.

Агент может содержать антитело JOVI-1 или его функциональный фрагмент.

Агент может содержать антитело или его функциональный фрагмент с вариабельной областью тяжелой цепи (VH) и вариабельной областью легкой цепи (VL), которые содержат следующие определяющие комплементарность области (CDR):

VH CDR1: SEQ ID No. 7;

VH CDR2: SEQ ID No. 8;

VH CDR3: SEQ ID No. 9;

VL CDR1: SEQ ID No. 10;

VL CDR2: SEQ ID No. 11; и

VL CDR3: SEQ ID No. 12.

Агент может содержать антитело или его функциональный фрагмент с вариабельной

областью тяжелой цепи (VH) с аминокислотной последовательностью, показанной в виде SEQ ID No. 1, и вариабельную область легкой цепи (VL) с аминокислотной последовательностью, показанной в виде SEQ ID No. 2.

Агент может содержать ScFv с аминокислотной последовательностью, показанной в виде SEQ ID No. 3. Агент может быть предложен в виде фармацевтической композиции.

Т-клеточную лимфому или лейкемию можно выбирать из периферической Т-клеточной лимфомы, неутонченной (ПТКЛ-НУ); ангиоиммунобластной Т-клеточной лимфомы (АИТКЛ), анапластической крупноклеточной лимфомы (АККЛ), Т-клеточной лимфомы, ассоциированной с энтеропатией (ТКЛЭ), гепатоспленической Т-клеточной лимфомы (ГСТЛ), экстранодальной НК/Т-клеточной лимфомы назального типа, Т-клеточной лимфомы кожи, первичной АККЛ кожи, Т-клеточной пролимфоцитарной лейкемии и Т-клеточной острой лимфобластной лейкемии.

Настоящее изобретение также относится к агенту для применения в лечении Т-клеточной лимфомы или лейкемии согласно такому способу.

Настоящее изобретение также относится к набору, содержащему агент для применения в вышеописанном качестве.

Настоящее изобретение также относится к использованию агента для производства лекарственного средства для лечения Т-клеточной лимфомы или лейкемии по вышеописанному способу.

Настоящее изобретение также относится к способу для диагностики Т-клеточной лимфомы или лейкемии у индивидуума, который включает этап определения процента Т-клеток, которые являются TRBC1- или TRBC2-положительными, от общего числа Т-клеток в образце.

Процентное содержание TRBC1- или TRBC2-положительных Т-клеток, которое составляет больше чем приблизительно 80%, может указывать на наличие Т-клеточной лимфомы или лейкемии.

Образец может быть образцом периферической крови или биопсией.

Агент, который связывается со всеми Т-клетками, может связываться с CD3.

### **ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ**

Настоящее изобретение относится к агентам, таким как химерные антигенные рецепторы (CAR), которые селективно связываются с TRBC1 или TRBC2. Такие агенты пригодны для способов лечения Т-клеточной лимфомы или лейкемии у индивидуума. Т-клеточные злокачественные новообразования являются клональными, поэтому они экспрессируют либо TRBC1, либо TRBC2. При введении TCRB1- или TCRB2-селективного агента индивидууму, агент вызывает селективное истощение популяции злокачественных Т-клеток, вместе с нормальными Т-клетками, экспрессирующими ту же TRBC, что и злокачественные Т-клетки, но не вызывает истощение популяции нормальных Т-клеток, экспрессирующих TRBC, которая не экспрессируется злокачественными Т-клетками.

### **КОНСТАНТНАЯ ОБЛАСТЬ TCR $\beta$ (TRBC)**

Т-клеточный рецептор (TCR) экспрессируется на поверхности Т-лимфоцитов и отвечает за распознавание антигенов, связанных с молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС). Когда TCR взаимодействует с антигенным пептидом и МНС (пептид/МНС), Т-лимфоцит активируется посредством серии биохимических событий, которые опосредуются связанными с ними ферментами, ко-рецепторами, специализированными адапторными молекулами и активированными или высвобожденными факторами транскрипции.

TCR представляет собой закрепленный в мембране гетеродимер, соединенный дисульфидными связями, который в норме состоит из высоко вариабельных альфа ( $\alpha$ )



и бета ( $\beta$ ) цепей, экспрессирующихся как часть комплекса с неизменяющимися молекулами цепей CD3. Т-клетки, экспрессирующие этот рецептор обозначают как  $\alpha:\beta$  (или  $\alpha\beta$ ) Т-клетки (~95% от общего числа Т-клеток). Меньшая часть Т-клеток экспрессирует альтернативный рецептор, образованный переменными цепями гамма ( $\gamma$ ) и дельта ( $\delta$ ), и обозначается как  $\gamma\delta$  Т-клетки (~5% от общего числа Т-клеток).

Каждая  $\alpha$  и  $\beta$  цепь состоит из двух внеклеточных доменов: переменной области (V) и константной области (C), оба относятся к доменам иммуноглобулинового суперсемейства, образующим антипараллельные  $\beta$ -складки. Константная область расположена проксимально по отношению к клеточной мембране, затем следует трансмембранная область и короткий цитоплазматический хвост, в то время как переменная область связывается с комплексом пептид/МНС (см. фигура 1). Константная область TCR состоит из коротких соединительных последовательностей, в которых остаток цистеина образует дисульфидные связи, которые соединяют две цепи.

Переменные домены и  $\alpha$ -цепи, и  $\beta$ -цепи TCR имеют три гиперпеременные или определяющие комплементарность области (CDR). Переменная область  $\beta$ -цепи также имеет дополнительную область гиперпеременности (HV4), однако, в норме она не контактирует с антигеном и, таким образом, не рассматривается как CDR.

TCR также содержит до пяти неизменяемых цепей  $\gamma, \delta, \epsilon$  (в совокупности обозначаемых CD3) и  $\zeta$ . Субъединицы CD3 и  $\zeta$  опосредуют передачу сигнала с TCR через специфические цитоплазматические домены, которые взаимодействуют с молекулами-вторичными мессенджерами и адапторными молекулами после распознавания антигена посредством  $\alpha\beta$  или  $\gamma\delta$ . Экспрессии комплекса TCR на поверхности клетки предшествует парная сборка субъединиц, в которой играют роль и трансмембранные, и внеклеточные домены  $\alpha$  и  $\beta$  TCR, и  $\gamma$  и  $\delta$  CD3.

TCR, таким образом, обычно состоит из комплекса CD3 и  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей TCR, которые, в свою очередь состоят из переменных и константных областей (фигура 1).

Локус (Chr7:q34), который предоставляет  $\beta$ -константную область TCR (TRBC) был дублирован в ходе эволюционной истории с получением двух практически идентичных и функционально эквивалентных генов: *TRBC1* и *TRBC2* (фигура 2), которые различаются только по четырем аминокислотам в зрелом белке, производимом обоими генами (фигура 3). Каждый TCR будет содержать, взаимоисключающим образом, или *TRBC1* или *TRBC2*, и по существу, каждая  $\alpha\beta$  Т-клетка будет экспрессировать или *TRBC1*, или *TRBC2*, взаимоисключающим образом.

Авторы настоящего изобретения установили, что, несмотря на сходство между последовательностью *TRBC1* и *TRBC2*, их возможно различить. Авторы изобретения также установили, что аминокислотные последовательности *TRBC1* и *TRBC2* можно различать, когда они находятся *in situ* на поверхности клетки, например, Т-клетки.

### ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ КЛЕТКИ

Термин «злокачественный» применяют в настоящем документе в соответствии с его стандартным значением по отношению к клетке, у которой отсутствует самоограничение по росту, которая может быть способна прорасти в соседние ткани и может быть способна распространяться в отдаленную ткань. По существу, термин «злокачественная Т-клетка» применяют в настоящем документе для обозначения клонально разрастающейся Т-клетки в отношении лимфомы или лейкемии.

Способ по настоящему изобретению включает определение *TRBC* злокачественной Т-клетки. Его можно проводить с использованием известных в данной области способов. Например, можно определять при помощи способов ПЦР, вестерн-блоттинга, проточной

цитометрии или флуоресцентной микроскопии.

После того, как определен TRBC, экспрессируемый злокачественной Т-клеткой, индивидууму вводят соответствующий TRBC1- или TRBC2-селективный агент.

«Соответствующий TRBC-селективный агент» означает, что если определяют, что злокачественная Т-клетка экспрессирует TRBC1, то вводят TRBC1-селективный агент, в то время как если определяют, что злокачественная Т-клетка экспрессирует TRBC2, то вводят TRBC2-селективный агент.

### СЕЛЕКТИВНЫЙ АГЕНТ

Селективный агент связывается или с TRBC1, или с TRBC2, взаимоисключающим образом.

Как указано выше, каждая  $\alpha\beta$  Т-клетка экспрессирует TCR, который содержит или TRBC1, или TRBC2. При клональном Т-клеточном нарушении, таком как Т-клеточная лимфома или лейкоз, злокачественные Т-клетки, происходящие из одного клона, будут все экспрессировать или TRBC1, или TRBC2.

Таким образом, настоящий способ включает этап введения TRBC1- или TRBC2-селективного агента индивидууму, где агент вызывает селективное истощение популяции злокачественных Т-клеток, вместе с нормальными Т-клетками, которые экспрессируют такую же TRBC, что и злокачественные Т-клетки, но не вызывает значительного истощения популяции нормальных Т-клеток, экспрессирующих TRBC, отличную от TRBC злокачественных Т-клеток.

Поскольку TRBC-селективный агент не вызывает значительного истощения популяции нормальных Т-клеток, экспрессирующих TRBC, отличную от TRBC злокачественных Т-клеток, он не вызывает истощения всего компартмента Т-клеток. Сохранение части Т-клеточного компартмента индивидуума (т.е. Т-клеток, которые не экспрессируют такую же TRBC, что и злокачественные Т-клетки) приводит к уменьшению токсичности и снижению клеточного и гуморального иммунодефицита, а, следовательно, снижению риска инфицирования.

Введение TRBC1-селективного агента в соответствии со способом по настоящему изобретению может приводить к 5, 10, 20, 50, 75, 90, 95 или 99% истощению, т.е. уменьшению числа Т-клеток, экспрессирующих TRBC1.

Введение TRBC2-селективного агента в соответствии со способом по настоящему изобретению может приводить к 5, 10, 20, 50, 75, 90, 95 или 99% истощению, т.е. уменьшению числа Т-клеток, экспрессирующих TRBC2.

TRBC1-селективный агент может связываться с TRBC1 с аффинностью, по меньшей мере, в 2, 4, 5, 7 или 10 раз большей, чем с TRBC2. Аналогично, TRBC2-селективный агент может связываться с TRBC2 с аффинностью, по меньшей мере, в 2, 4, 5, 7 или 10 раз большей, чем с TRBC1.

TRBC1-селективный агент вызывает истощение большей доли TRBC1-экспрессирующих Т-клеток в клеточной популяции, чем TRBC2-экспрессирующих клеток. Например, соотношение истощения TRBC1-экспрессирующих Т-клеток к TRBC2-экспрессирующим клеткам может составлять, по меньшей мере, 60%:40%, 70%:30%, 80%:20%, 90%:10% или 95%:5%. Аналогично, TRBC2-селективный агент вызывает истощение большей доли TRBC2-экспрессирующих Т-клеток в клеточной популяции, чем TRBC1-экспрессирующих клеток. Например, соотношение истощения TRBC2-экспрессирующих Т-клеток к TRBC1-экспрессирующим клеткам может составлять, по меньшей мере, 60%:40%, 70%:30%, 80%:20%, 90%:10% или 95%:5%.

При помощи способа по изобретению у индивидуума удаляют злокачественные Т-клетки, не затрагивая значительную долю здоровых Т-клеток. Под «значительной

долей» подразумевают, что выживает доля Т-клеток, экспрессирующих TRBC, отличную от TRBC злокачественных Т-клеток, достаточная для того чтобы поддержать Т-клеточную функцию у индивидуума. Агент может вызывать истощение менее чем 20%, 15%, 10% или 5% Т-клеточной популяции, экспрессирующей другую TRBC.

Селективный агент может быть селективным или для TRBC1, или для TRBC2, поскольку он отличает остатки, как перечислено ниже:

- (i) N от K в положении 3 TRBC;
- (ii) K от N в положении 3 TRBC;
- (iii) K от N в положении 4 TRBC;
- (iv) N от K в положении 4 TRBC;
- (v) F от Y в положении 36 TRBC;
- (vi) Y от F в положении 36 TRBC;
- (vii) V от E в положении 135 TRBC; и/или
- (viii) E от V в положении 135 TRBC.

Селективный агент может различить любую комбинацию из вышеуказанных различий.

### АНТИТЕЛО

Агент, применяемый в способе по настоящему изобретению, может быть истощающим моноклональным антителом (МАТ) или его функциональным фрагментом, или миметиком антитела.

Термин «истощающее антитело» применяют в общепринятом смысле по отношению к антителу, которое связывается с антигеном, присутствующим на Т-клетке-мишени и опосредует смерть Т-клетки-мишени. Введение истощающего антитела индивидууму, таким образом, приводит к снижению/уменьшению числа клеток у индивидуума, экспрессирующих целевой антиген.

Как применяют в настоящем документе, «антитело» означает полипептид с антигенсвязывающим участком, который содержит, по меньшей мере, одну определяющую комплементарность область CDR. Антитело может содержать 3 CDR и иметь антигенсвязывающий участок, который эквивалентен таковому в доменном антителе (ДАТ). Антитело может содержать 6 CDR и иметь антигенсвязывающий участок, который эквивалентен таковому у классической молекулы антитела. Остальная часть полипептида может представлять собой любую последовательность, которая обеспечивает подходящий каркас для антигенсвязывающего участка и располагает его подходящим образом для связывания с антигеном. Антитело может быть целой молекулой иммуноглобулина или ее частью, такой как Fab, F(ab)'2, Fv, одиночная цепь Fv (ScFv) фрагмента или нанотело. Антитело может быть бифункциональным антителом. Антитело может представлять собой антитело, не принадлежащее человеку, химерное, гуманизированное или полностью человеческое антитело.

Антитело, таким образом, может быть любым функциональным фрагментом, который сохраняет антигенную специфичность полноразмерного антитела.

### TRBC1-СЕЛЕКТИВНЫЕ АНТИТЕЛА

Агент для применения в способе по настоящему изобретению может содержать антитело или его функциональный фрагмент с вариабельной областью тяжелой цепи (VH) и вариабельной областью легкой цепи (VL), которая включает одну или несколько из следующих определяющих комплементарность областей (CDR):

- VH CDR1: GYTFTGY (SEQ ID No. 7);
- VH CDR2: NPYNDD (SEQ ID No. 8);
- VH CDR3: GAGYNFDGAYRFFDF (SEQ ID No. 9);

VL CDR1: RSSQRLVHSNGNTYLH (SEQ ID No. 10);

VL CDR2: RVSNRFP (SEQ ID No. 11); и

VL CDR3: SQSTHVPYT (SEQ ID No. 12).

Одна или несколько CDR, каждая независимо, могут содержать или не содержать одну или несколько аминокислотных мутаций (например, замен) по сравнению с последовательностями, приведенными в SEQ ID No. с 7 до 12, при условии, что полученное антитело сохраняет способность селективно связываться с TRBC1.

Исследования показали, что CDR L3 и H3 преимущественно отвечают за высокоэнергетические взаимодействия с антигеном, таким образом, антитело или его функциональный фрагмент может содержать CDR3 VH и/или CDR3 VL, описанную выше.

При помощи фагового дисплея были идентифицированы несколько дополнительных связывающих доменов антител, которые являются высокоселективными для связывания TRBC1 по сравнению с TRBC2, как описано в примере 12.

Агент может содержать антитело или его функциональный фрагмент с вариабельной областью тяжелой цепи (VH) и/или вариабельной областью легкой цепи (VL), которая включает одну или несколько определяющих комплементарность областей (CDR3), показанных в таблице 1.

Таблица 1

ID клона	ID VH зародышевой линии	ID VL зародышевой линии	CDR3 тяжелой цепи	CDR3 легкой цепи	Связывание с TBRC1	Связывание с TBRC2
CP 01 E09	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk1 DPK1 (O18,O8)	AHNSSSWSF.....DY	QQYDNLP.....LT	403246	318
CP 01 D12	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk1 L12	GGDTYGF.....DN	QQFNAYP.....LT	392753	298
CP 01 D10	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 DPK9 (O12,O2)	GGGSGGAF.....DI	QQYN5YP.....LT	370612	306
CP 01 C08	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk1 DPK1 (O18,O8)	GYSSSWYL.....DY	QQYDNLP.....LT	352834	426
CP 01 C11	Vh1 DP-8,75 (1-02)	Vlambda6 6a	GGAG.....WN	QSHOSSN.....VW	349231	622
CP 01 F03	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk1 DPK1 (O18,O8)	GYXSSWSQ.....GL	QQYDNLP.....PT	335086	306
CP 01 E07	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk2 DPK12 (A2)	DLGGSGGAF.....DI	MQSIQL.....YT	332307	394
CP 01 D03	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk3 DPK21 (L2)	NKYGGM.....DV	QQYHRWP.....LT	327666	452
CP 01 F06	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk4 DPK24 (B3)	DDGAM.....RY	QQYYOSP.....YT	325058	286
CP 01 F02	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk1 A30	AGSYA.....DY	LQHNSYP.....LT	301955	508
CP 02 C03	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk4 DPK24 (B3)	GGRYSSNYF.....DY	QQYFGT.....PT	274905	374
CP 02 D10	Vh3 DP-50 (3-33)	Vk3 L16	VGGGSAM.....DV	QQYNDWP.....LT	259096	517
CP 02 B01	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vlambda6 6a	VSSHYDSSGYAGGF.....DY	QSFDTNLSL.....VW	258840	342
CP 02 D02	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 DPK1 (O18,O8)	GRDSSWSF.....AY	QQYDNLP.....LT	256223	393
CP 02 A02	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda2 DPL11 (2a2)	VITYSGLDF.....DY	SSYTSST.....VW	252590	385
CP 02 D04	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk1 DPK9 (O12,O2)	KGAVVPGAL.....DY	QQYN5YP.....LT	252076	493
CP 01 E10	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 DPK9 (O12,O2)	NSLYGGNSA.....DL	QQTFITP.....IT	238172	679
CP 01 H08	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 DPK1 (O18,O8)	DGGGGRF.....DY	QQYDNLP.....LT	223591	381
CP 01 F11	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vlambda6 6a	GGGALGRGM.....DV	QSYDTNN.....VW	222976	481
CP 01 F09	Vh5 DP-73 (5-51)	Vk1 DPK9 (O12,O2)	LLRSQQSYAF.....DI	QQSYSTP.....IT	217934	308
CP 02 D05	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk1 DPK1 (O18,O8)	GYSSWSF.....DV	QQYDNLP.....LT	212579	440
CP 02 A09	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk1 DPK1 (O18,O8)	AGSSGWTI.....DY	QQYDNLP.....IT	202054	336
CP 02 D03	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk1 DPK1 (O18,O8)	DKGWGF.....DY	QQYDNLP.....LT	199403	543
CP 02 C11	Vh5 DP-73 (5-51)	Vlambda6 6a	LGWVRGVNKGFF.....DY	QSYDSSN.....VW	189481	392
CP 01 H10	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 DPK1 (O18,O8)	SSYSSWGM.....DV	QQYDNLP.....LT	179830	424
CP 02 C04	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 DPK9 (O12,O2)	ANWSAGGM.....DV	QQYDDLPL.....LT	172937	722
CP 01 G03	Vh3 DP-49 (3-30.3)	Vk2 DPK13 (O11,O1)	ERGRGYSYM.....DV	MQRIEPP.....LT	168169	360
CP 01 G06	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vlambda6 6a	VARGHDAF.....DI	QSYDNTRH.....VW	166703	307
CP 01 D06	Vh1 DP-8,75 (1-02)	Vlambda6 6a	RHGM.....DV	QSYDSSN.....VW	162763	267
CP 02 B03	Vh5 DP-73 (5-51)	Vlambda6 6a	FSSGYYY.....DY	QSYDSSN.....VW	158809	312
CP 02 A12	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk3 DPK21 (L2)	DLVTGAF.....DT	QSHNDWP.....LT	152968	280
CP 01 H03	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	AIRVSGTFPENG.....DV	QSYHSSN.....VW	151902	590
CP 01 G08	Vh5 DP-74 (6-1)	Vk2 DPK16 (A23)	VRTHGM.....DV	MQATHIP.....QT	137502	736
CP 01 A06	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk4 DPK24 (B3)	GKLF.....DI	QQYSTP.....YT	136525	354
CP 02 A04	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	NGDSSGYHTSPNWF.....XL	QSYDSSN.....VW	130318	385
CP 01 F08	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda2 2c	VSTDSSSM.....DV	SSYAGSNTL.....FV	126690	545
CP 01 A08	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 DPK6 (L19)	TSQDPGAF.....DI	QQANSFP.....LT	117913	270
CP 01 D01	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	AESGVYSSNGM.....DV	QSYDSSN.....VW	116603	204
CP 02 A07	Vh3 DP-49 (3-30.3)	Vlambda6 6a	VDRVRSGM.....DV	QSYDSSN.....VW	105730	486
CP 02 B08	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	IGQYCSSTSCYM.....DV	QSYDSSN.....VW	96003	795
CP 01 D09	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 DPK1 (O18,O8)	DLGGSGGAF.....DI	QQYDNLP.....LT	92079	282
CP 01 G07	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	DSDAGYF.....DL	QSFTSSTL.....VW	77222	313
CP 01 A05	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk3 DPK21 (L2)	ASVYAGAF.....DI	QQYNKWP.....LT	75698	705
CP 02 A08	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	AGGSNAF.....DI	QSYDSSN.....VW	73410	295
CP 02 D07	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	VSTDYSGRQNWFF.....DP	QSYDSSN.....VW	72724	367
CP 01 C04	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 DPK9 (O12,O2)	QYTSGLAYYYHYM.....DV	QQSYSTP.....RT	65702	286
CP 01 A07	Vh1 DP-8,75 (1-02)	Vlambda3 DPL16 (3f)	GIRGAF.....DI	NSRDSSGNPN.....VW	63917	238
CP 01 H02	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	VGYSTTLQ.....DY	QSYDSSN.....VW	63410	266
CP 01 F10	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	MGSSYAF.....DI	QSYDSSN.....VW	58027	372
CP 02 C10	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda1 DPL2 (1c)	VGDYDSSGYLDWYF.....DL	AVWDDRLNG.....VW	53460	488
CP 02 B05	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 L12	GSDTTSFVS.....DY	QQYDSSN.....VW	51480	315
CP 01 G04	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda3 3p	AGHYYYM.....DV	QSADSSGTN.....MV	50811	354
CP 01 F08	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	VTGYPDYDSSGF.....DY	QSYDSSN.....VW	43115	562
CP 01 G05	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	VGGPPYFF.....DH	QSYDTRNQ.....VW	42789	409
CP 02 A03	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk4 DPK24 (B3)	NGLDNNGM.....DV	QQYYSIP.....YT	39382	322
CP 01 B09	Vh5 DP-73 (5-51)	Vk1 DPK9 (O12,O2)	LGTTKRAF.....DI	QQSYST.....RT	38766	803
CP 01 A10	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda1 DPL3 (1g)	VYVDHEGM.....DV	AAWDDSLF.....WL	38613	298
CP 01 H04	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk2 DPK13 (O11,O1)	WSGSGF.....DY	MQRIEPP.....LT	34030	305
CP 02 B04	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk4 DPK24 (B3)	DFGWGGAF.....DI	QQYNTNP.....LV	30975	348
CP 02 A06	Vh5 DP-73 (5-51)	Vlambda6 6a	VVGSTQH.....DY	QSYDSSN.....VW	30140	309
CP 01 F07	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	NWLLYGDPPQNAF.....DI	QSYDSTNL.....VW	29443	331
CP 01 H01	Vh5 DP-73 (5-51)	Vk1 DPK9 (O12,O2)	LYFDWTFADSQNAF.....DI	QQSYSTP.....LT	26847	349
CP 01 G10	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda3 DPL16 (3f)	VGYQLLYADYFF.....DY	NSRDSSGNH.....LV	26520	360
CP 01 G11	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk1 DPK9 (O12,O2)	GAMGL.....DY	QQSYSTP.....FT	26087	292
CP 01 G01	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda3 DPL16 (3f)	VYLSGVHAF.....DV	DSRDRTRVNX.....WI	25464	423
CP 01 A12	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vk1 DPK1 (O18,O8)	TERWLQF.....DY	QQYDNLP.....PS	23458	331
CP 01 H05	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk2 DPK15 (A19,A3)	NGDYAF.....DY	MQALQTP.....YT	20298	322
CP 02 B07	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	ASRYSGSYHF.....DY	QSYDSSN.....VW	19598	217
CP 01 G09	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vlambda2 DPL11 (2a2)	HGSQGGF.....DI	SSYTSST.....LV	18725	449
CP 02 C02	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk2 DPK15 (A19,A3)	VGYMGM.....DV	MQALQTP.....YT	18320	468
CP 01 D05	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	NTPGIAAGP.....DS	QSYDSTNL.....VW	17240	299
CP 01 D08	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vlambda6 6a	VGTITVTSF.....DY	QSYDANL.....VW	16499	291
CP 02 A11	Vh3 DP-46 (3-30.3)	Vlambda6 6a	VGGPLNDAF.....DI	QSPDENIS.....VW	13370	329
CP 02 D08	Vh3 DP-49 (3-30.5)	Vk3 DPK22 (A27)	HSSGGAF.....DI	HQSATSP.....LT	12277	560

Если агент представляет собой доменное антитело, он может содержать 3 CDR, т.е. или CDR1-CDR3 VH, или CDR1-CDR3 VL.

Агент может содержать антитело или его функциональный фрагмент, который содержит переменную область тяжелой цепи (VH) с аминокислотной последовательностью, показанной в виде SEQ ID No. 1, и переменную область легкой цепи (VL) с аминокислотной последовательностью, показанной в виде SEQ ID No. 2.

SEQ\_ID\_1 Jovi-1 VH

EVRLQQSGPDLIKPGASVKMSCKASGYTFTGYVMHWVKQRPQGGLWIGFINPYND  
DIQSNERFRGKATLTSKSSSTTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFW  
GQGTTLTVSS

SEQ\_ID\_2 Jovi-1 VL

DVVMTQSPLSLPVSLGDAQSISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYLVKPGQSPKLLIYRVS

NRFPGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGIYFCSQSTHVPYTFGGGGTKLEIKR

Агент может содержать ScFv с аминокислотной последовательностью, показанной в виде SEQ ID No. 3.

SEQ\_ID\_3 Jovi-1 scFv

5 EVRLQQSGPDLIKPGASVKMSCKASGYTFTGYVMHWVKQRPGQGLEWIGFINPYND  
DIQSNERFRGKATLTSDKSSTTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFW  
GQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMQTQSPLSLPVSLGDQASISCRSSQRLVHSNG  
NTYLHWYLQKPGQSPKLLIYRVSNRFPGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGIYFCS  
QSTHVPYTFGGGGTKLEIKR

10 Альтернативно, агент может содержать антитело или его функциональный фрагмент, который включает:

(i) CDR3 тяжелой цепи и/или CDR3 легкой цепи;

(ii) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи; или

15 (iii) варибельную область тяжелой цепи (VH) и/или варибельную область легкой цепи (VL);

из одного из scFv, показанных в виде SEQ ID No. 13-22.

В последовательностях, показанных в виде SEQ ID No. 13-22, части VH и VL в последовательности показаны жирным шрифтом, а последовательности CDR1 и CDR2 для тяжелых и легких цепей подчеркнуты. Последовательности CDR3 для VH и VL

20 приведены в таблице 1.

SEQ ID No. 13\_(CP\_01\_E09)

**QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGR**  
**FTISRDN****SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAHN****SSWSFDYWGQGT****LVTV**  
**SSGGGSGGGGSGGGASDIQMTQSPSSLSASVGD****RVTITCRASQ****SSSYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASN****LETG**  
25 **VPSRFSGSGSGTDFTFTIS****SLQPED****IATYYCQQYDN****LPLTFGGG****TKVDIKRTAAA**

SEQ ID No. 14 (CP\_01\_D12)

**EVQLLES****GGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGR**  
**FTISRDN****SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGG****DTYGFLDNWGQGT****MTMTV**  
**SSGGGSGGGGSGGGASDIQMTQSPSSLSASVGD****RVTITCRASQ****SSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYKASS****LESG**  
30 **VPSRFSGSGSGTDFTLTIS****SLQPED****FATYYCQQFN****AYPLTFGGG****TKVEIKRTAAA**

SEQ ID No. 15 (CP\_01\_D10)

**QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSSKYYADSVKGR**  
**FTISRDN****SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGGG****SFGAFDIWGQGT****LVTV**  
**SSGGGSGGGGSGGGASDIQMTQSPSSLSASVGD****RVTITCRASQ****SSSYRLNWYQQKPGKAPNLLIYAASS****LQSG**  
35 **VPSRFSGSGSGTDFTLTIS****SLQPED****FATYYCQQYNS****YPLTFGGG****TKLEIKRTAAA**

SEQ ID No. 16 (CP\_01\_C08)

**EVQLLES****GGGAVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYA****DSVKGR**  
**FTISRDN****SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAS****GYSSSWYLDYWGQGT****LVTV**  
**SSGGGSGGGGSGGGASDIQMTQSPSSVSASVGD****RVTITCASQ****DISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASN****LETG**  
40 **VPSRFSGSGSGTDFTFTIS****SLQPED****IATYYCQQYDN****LPLTFGGG****TKVEIKRTAAA**

SEQ ID No. 17 (CP\_01\_C11)

**QVQLVESGA****EVKKPGASVKV****SCKASGYTFTGY****MMHWVRQAPGQGLEWMGRINP****NSGGTNYAQKFQGR**  
**VTMTRD****TSISTAYMEL****SRLRSDDTAVYYCAS****GGAGWNWGQGT****MTMTV**  
**SSGGGSGGGGSGGGASN****FMLTQPHSV****SESPGKTATIS****CTRSSG****SIASNYVQWYQQRPG****SAPTIVYEDNQR****PFG**  
45 **VPDRFSGSIDSSSN****SASLTISGLKTEDEAD****YYCQSHDSSNV****VFGGGTQLTVLGQ****PAA**

SEQ ID No. 18 (CP\_01\_F03)

**EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGR**  
**FTISRDN****SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARG****Y?ASSWSQGLWGQGT****LVTV**

SSGGGSGGGGSGGGASDIQMTQSPSSLSASVDRVITTCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLEIG  
VPSRFSGSGSGTDFTFITISLQPEDATYYCQQYDNLPPFTFGGGTKVEIKRTAAA

SEQ ID No. 19 (CP\_01\_E07)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGR  
5 FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLGGSGGAFDIWGQGTLVTV  
SSGGGSGGGGSGGGASDIVMTQIPHSLSVTPGQPASSCKSSQLLYSDGKTYLYWYLOKPGQPQLIYEVSNRFSG  
VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQSIQLYTFGGQGTKVDIKRTAAA

SEQ ID No. 20 (CP\_01\_D03)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAPGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGR  
10 FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNKQYGM DVWGGQTLVTV  
SSGGGSGGGGSGGGASDIVMTQSPATLSLAPGERATLSCRASQSVGSNLA WYQQKPGQAPSLIYDASTRATG  
IPARFSGSGSGTDFTLTISSLQSEDAVYYCQQYHRWPLTFGGGTKVEIKRTAAA

SEQ ID No. 21 (CP\_01\_F06)

EVQLLES GGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGR  
15 FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDDGAMRYWGGQGTMTVT  
SSGGGSGGGGSGGGASDIQMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPKLLIYWASTIRESG  
VPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYDSPYTFGGQGTKVDIKRTAAA

SEQ ID No. 22 (CP\_01\_F02)

QVQLVESGGGVVQPGRPLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGR  
20 FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAGYSYADYWGQGTMTVT  
SSGGGSGGGGSGGGASDIQMTQSPSSLSASVGD RVITTCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSG  
VPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPLTFGGGTKVDIKRTAAA

TRBC2-СПЕЦИФИЧНЫЕ АГЕНТЫ

При помощи фагового дисплея были идентифицированы несколько дополнительных  
25 связывающих доменов антител, которые являются высокоселективными для связывания  
TRBC2 по сравнению с TRBC1, как описано в примере 12.

Агент может содержать антитело или его функциональный фрагмент с вариабельной  
областью тяжелой цепи (VH) и/или вариабельной областью легкой цепи (VL), которая  
включает одну или несколько определяющих комплементарность областей (CDR3),

30 показанных в таблице 2.

Таблица 2

35

40

45

ID	клона	Номер фагового дисплея VH	Номер фагового дисплея VL	Группа CDR3: CDR3 тяжелой цепи	Группа CDR3: CDR3 легкой цепи	Связывание с TRBC2	Связывание с TRBC1
CP_03_E05	Vh3_DP-47_(3-23)	Vlambda6_6a		38: TRSSGAF.....DI	11 HSYDSNNH.....SV	217270	1617
CP_03_D05	Vh1_DP-8,75_(1-02)	Vlambda3_DPL23_(3r)		33: PRGRGSF.....DI	27 QAWDTNLG.....G	212721	762
CP_03_H06	Vh3_DP-35_(3-11)	Vlambda6_6a		20: ARVGGM.....DV	19 QSFADNLH.....V	167971	391
CP_03_C12	Vh1_DP-8,75_(1-02)	Vk2_DPK12_(A2)		27: DTGPI.....DY	5 MQGIGLP.....PT	167371	789
CP_03_G02	Vh1_DP-7_(1-46)	Vk1_DPK9_(O12,O2)		10: GVWNSGSYLG.....D	30 QQSYSTP.....LT	151586	787
CP_03_D04	Vh3_DP-46_(3-30,3)	Vlambda6_6a		28: GGFTVPGGAF.....DI	13 QSYDASN.....VI	143051	1210
CP_03_F10	Vh1_DP-8,75_(1-02)	Vlambda2_2c		42: FGERYAF.....DI	9 SAYTGSN.....YV	139767	1683
CP_03_G09	Vh6_DP-74_(6-1)	Vlambda3_3j		34: DQWLANYYYYGM.....W	34 QVWDSNS.....W	138659	979
CP_03_F09	Vh1_DP-7_(1-46)	Vlambda6_6a		8: NRGGSYKSVGM.....C	36 QSYDEV5.....VV	131852	889
CP_03_D09	Vh1_DP-15_(1-08)	Vlambda6_6a		11: VSSYYGM.....DV	28 QSYNSNH.....W	128690	544
CP_03_F02	Vh1_DP-15_(1-08)	Vlambda6_6a		3: APASSAH.....DH	14 QSYDSSH.....VV	127081	1507
CP_02_E03	Vh3_DP-46_(3-30,3)	Vk1_DPK9_(O12,O2)		16: QRGVYGM.....DV	12 QQSRSTP.....LT	122650	1979
CP_03_H07	Vh3_DP-31_(3-09)	Vlambda2_DPL11_(2a2)		14: SSVAAAGAF.....DI	22 SSYTSSST.....WV	120948	1233
CP_03_C02	Vh5_DP-73_(5-51)	Vlambda2_DPL10_(2b2)		13: LSGRGLGF.....DY	10 SSYAGSNN.....W	100238	1904
CP_03_E09	Vh1_DP-8,75_(1-02)	Vlambda2_DPL11_(2a2)		5: DHYF.....DY	21 NSYTRSST.....LV	99580	1011
CP_03_D08	Vh3_DP-46_(3-30,3)	Vlambda6_6a		19: SGRRVTAI.....DY	8 QSYDDTN.....VV	92074	453
CP_03_E11	Vh1_DP-8,75_(1-02)	Vlambda3_3h		37: MGRYSSSW.....NI	3 QAWDTNIG.....G	91813	940
CP_03_B05	Vh5_DP-73_(5-51)	Vlambda2_DPL10_(2b2)		12: HSRFGPAF.....DI	23 SSYAGSNN.....YV	88004	815
CP_03_H02	Vh1_DP-8,75_(1-02)	Vlambda3_DPL23_(3r)		25: DREAF.....DI	3 QAWDTNIG.....G	87576	1829
CP_03_D02	Vh5_DP-73_(5-51)	Vlambda2_DPL10_(2b2)		7: LRGRVSYGSDAF.....D	17 SSYAGSST.....FV	84907	1096
CP_03_E01	Vh1_DP-8,75_(1-02)	Vlambda3_DPL16_(3l)		36: LLNAVITYAF.....DI	4 NSRDSSGF.....PV	81606	498
CP_03_C11	Vh1_DP-8,75_(1-02)	Vlambda2_DPL11_(2a2)		2: IGIVGGF.....DY	18 SSYTSSS.....IL	78572	1079
CP_03_B12	Vh3_DP-47_(3-23)	Vlambda6_6a		9: IEYSSSPYF.....DY	16 QSYDSNNR.....VL	70734	1120
CP_03_E03	Vh1_DP-7_(1-46)	Vlambda3_DPL16_(3l)		18: DLPLTTVTITTGAF.....DI	7 SSRDSSGNH.....LV	69661	356
CP_03_F01	Vh1_DP-8,75_(1-02)	Vlambda3_DPL23_(3r)		40: DSGSYS.....DY	3 QAWDTNIG.....G	66921	1633
CP_03_C01	Vh6_DP-74_(6-1)	Vlambda3_3j		31: ASYPYYYYYGM.....D	29 QVWDSSTAN.....V	58194	825
CP_03_G07	Vh6_DP-74_(6-1)	Vlambda6_6a		41: ALGHF.....DF	32 QSYDSSNH.....V	57147	1278
CP_03_E02	Vh5_DP-73_(5-51)	Vlambda2_DPL11_(2a2)		35: FTGGSAL.....YM	26 SSYAGNSN.....LV	52212	362
CP_03_C07	Vh1_DP-8,75_(1-02)	Vlambda3_DPL23_(3r)		17: DASGY.....DY	3 QAWDTNIG.....G	43547	1074
CP_03_H04	Vh1_DP-8,75_(1-02)	Vlambda1_DPL5_(1b)		1: DLGTYYGSGD.....DY	2 GTWDSLSAG.....Q	35180	1103
CP_03_E06	Vh1_DP-8,75_(1-02)	Vlambda3_DPL16_(3l)		39: VGELLGAF.....DI	35 SSDLSDNDNH.....PI	34777	917
CP_03_H03	Vh1_DP-5_(1-24)	Vlambda1_DPL2_(1c)		15: GL.....GV	37 AAWDDSLNG.....Y	33358	1405
CP_03_G11	Vh5_DP-73_(5-51)	Vlambda2_DPL12_(2e)		23: HSGVGGLAF.....DI	31 SSYAGSST.....YV	30854	836
CP_03_G01	Vh6_DP-74_(6-1)	Vk1_L9		4: GGSIAAALAF.....DI	20 HQYDVYP.....PT	30762	1039
CP_03_H01	Vh1_DP-15_(1-08)	Vlambda3_DPL16_(3l)		30: VEYSRNGM.....DV	6 NSRDSSGNH.....LV	29826	1203
CP_03_F11	Vh1_DP-15_(1-08)	Vlambda6_6a		22: GRYN.....LI	15 QSYDSSN.....WV	24172	1152
CP_03_C06	Vh1_DP-14_(1-18)	Vlambda6_6a		32: LDYYGM.....DV	33 QSYDSSN.....QV	23031	937
CP_03_D03	Vh1_DP-15_(1-08)	Vlambda6_6a		26: GGLSSAF.....DI	24 QSYDSSN.....VV	22905	1283
CP_03_G05	Vh5_DP-73_(5-51)	Vlambda2_DPL12_(2e)		6: YGGGL.....DV	25 SSYAGSYT.....LV	22037	813
CP_03_G12	Vh3_DP-47_(3-23)	Vlambda2_DPL11_(2a2)		21: PDHLTVF.....DY	1 SSYTPSS.....VL	20349	942
CP_03_C10	Vh1_DP-8,75_(1-02)	Vlambda3_DPL23_(3r)		24: VGYGM.....DV	3 QAWDTNIG.....G	18438	896
CP_03_F04	Vh1_DP-8,75_(1-02)	Vlambda3_DPL23_(3r)		29: YEGYAGF.....DY	3 QAWDTNIG.....G	13541	1047

Агент может содержать антители или его функциональный фрагмент, который

включает:

(i) CDR3 тяжелой цепи и/или CDR3 легкой цепи;

(ii) CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи; или

(iii) переменную область тяжелой цепи (VH) и/или переменную область легкой цепи (VL);

из одного из scFv, показанных в виде SEQ ID No. 23-32.

В последовательностях, показанных в виде SEQ ID No. 23-32, части VH и VL в последовательности показаны жирным шрифтом, а последовательности CDR1 и CDR2 для тяжелых и легких цепей подчеркнуты. Последовательности CDR3 для VH и VL приведены в таблице 2.

SEQ ID No. 23 (CP\_03\_E05)

**EVQLVESGGGVVQPGGSLRLS**CAASGFTFSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGGSGSTYYADSVKGR  
FSISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTSSGAFDIWGQGTLVTV  
SSGGGSGGGGSGGGGASNFMLTQPHSVSESPGKTVTISCIRSSGSIASKYVQWYQQRPGSSPTTVIEDNQRPSC  
VPDRFSGSIDTSSNSASLTISGLRTEDEADYYCHSYDSNNHVSFVGGGGTKVTVLGQPAA

SEQ ID No. 24 (CP\_03\_D05)

**QVQLVESGA**EVKKPGASVKVSKASGYITFTGYYMHVWRQAPGQGLEWMGRINPNSGGTINYAQKFQGR  
VTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCASPRGRGSAFDIWGQGTLVTV  
SSGGGSGGGGSGGGGASSYELTQPPSVSVSPGQTATISCSGDLGGKYGHVYQKKPGQSPVLVLYQDRKRPAG



IPERFSGSSSGNTITLTISGTQAVDEADYYCQAWDTNLGGVFGGGTKVTVLGQPAA

SEQ ID No. 25 (CP\_03\_H06)

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS~~SDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVEGR~~  
FTISRDN~~AKNSLYLQMN~~SLRTEDTAVYYCARARVGGMDVWGQGTMTVTV  
5 SSGGGGSGGGGSGGGASNFMLTQPHSVSESPGKTVTISC~~TRSSGSIASNYVQWYQQRPGSSPTTVIYEDNQRP~~SG  
VPDRFSGSIDSSSNSASLTISGLKTEDEADYYCQSFADADNLHVVF~~GGG~~TKLTVLGQPAA

SEQ ID No. 26 (CP\_03\_C12)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGIN~~Y~~AQKFQGR  
VTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDTGPI~~DYWGQGTMTVTV~~  
10 SSGGGGSGGGGSGGGASDIVMTQIPLSLVIFGPAS~~ICKSSQLHSDGKTYLYWYLQKPGQPPQLLYEVS~~NRFSG  
VPDKFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGIQLPPTFGGGTKVDIKRTAAA

SEQ ID No. 27 (CP\_03\_G02)

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSY~~AI~~SWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGR  
VTMTRDTSISTIVYMELSSLRSEDTAVYYCARGVWNSG~~SYLGF~~DYWGQGT~~LVTV~~  
15 SSGGGGSGGGGSGGGASDIQMTQSPSSLSASVGD~~RVTITCQASQDISNYLNWYQKPGKAPKLLIYAASS~~LQSG  
VPSRFSGSGSGTDFTLTIS~~SLQ~~PEDFATYYCQQSYSTPLTFGGG~~TKLEIKRTAAA~~

SEQ ID No. 28 (CP\_03\_D04)

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS~~SYAMH~~WVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADS~~VKGR~~  
FTISRDN~~SKNTLYLQMN~~SLRAEDTAVYYCARGGFTVPGGA~~FDIWGQGT~~LVTV  
20 SSGGGGSGGGGSGGGASNFMLTQPHSVSDSPGKTVTISC~~TRSSGRIGSNFVQWYQQRPGSSPTTVIYEDDQRP~~SG  
VPARFSGSIDSSSNSASLTISGLTTADEAGYYCQSYDASN~~VIFGGG~~TKLTVLGQPAA

SEQ ID No. 29 (CP\_03\_F10)

EVQLVESGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGRINPNSGGIN~~Y~~AQKFQGR  
VTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARFGERYAF~~DIWGQGT~~LVTV  
25 SSGGGGSGGGGSGGGASQSELTQPPSASGSPGQSVTISCIGTIDVGAHFVSWYQH~~IPGKAPKLLISEVR~~KRASG  
VPDRFSGSRSGNTASLTVSGLQSEDEADYFC~~SA~~YTGSNYVFGSGTKLTVLGQPAA

SEQ ID No. 30 (CP\_03\_G09)

QVQLQQSGPGLVKPSQTL~~SLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSK~~WYNDYAVSVKSR  
ITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARDQWL~~ANYYYYGMDVWGQGT~~LVTV  
30 SSGGGGSGGGGSGGGASSYELTQPLSVSVALGQTARITCGGNIGSKNVHWYQKPGQAPVLVIYRD~~NNRPSG~~  
IPERFSGSNSGNTATLTISKAQAGDEADYYCQVWDSNSWVF~~GGG~~TKLTVLGQPAA

SEQ ID No. 31 (CP\_03\_F09)

QMQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFASYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGR  
VTMTRDTSISTVYME~~LSRLR~~SDDTAVYYCASNRGGSYKSVGMDVWGQGT~~TVTV~~  
35 SSGGGGSGGGGSGGGASNFMLTQPQSVSESPGKTVTISC~~TRSSGNEASKYVQWYQQRPGSSPTTVIYENYQRP~~SG  
VPDRFSGSIDSSSNSATLTISGLKTEDEADYYCQSYDEVSVVF~~GGG~~TQLTVLGQPAA

SEQ ID No. 32 (CP\_03\_D09)

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCEASGYTFTSY~~AI~~SWVRQAPGQGLEWMGWMNPNSGNTIGY~~AQKFQGR~~  
VTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARVSSYYGMDVWGQGT~~LVTV~~  
40 SSGGGGSGGGGSGGGASNFMLTQPLSVSESPGKTVTISC~~TRSSGSIASNYVQWYQQRPGSAPT~~TVIYEDNQRP~~SG~~  
VPDRFSGSIDSSSNSASLTISGLKTEDEADYYCQSYNSSNHWF~~GGG~~TKVTVLGQPAA

Варианты вышеуказанных аминокислотных последовательностей также можно использовать в настоящем изобретении, при условии, что полученное антитело связывается с TRBC1 или TRBC2 без значительного перекрестного реагирования. Как правило, такие варианты имеют высокую степень идентичности последовательности с одной из вышеуказанных последовательностей.

Способы выравнивания последовательностей для сравнения хорошо известны в данной области.

Средство поиска основного локального выравнивания (BLAST) NCBI доступно в нескольких источниках, включая Национальный центр биологической информации (NCBI, Bethesda, Md.) и Интернет, для применения в связи с программами анализа последовательностей blastp, blastn, blastx, tblastn и tblastx. Описание определения идентичности последовательности с использованием этой программы доступно на веб-сайте NCBI в Интернет.

Варианты доменов VL или VH или scFv, как правило, имеют, по меньшей мере, приблизительно 75%, например, по меньшей мере, приблизительно 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности последовательности с последовательностями, приведенными в виде SEQ ID No 1-3, 13-32.

Как правило, варианты могут содержать одну или несколько консервативных аминокислотных замен по сравнению с исходной аминокислотной последовательностью или последовательностью нуклеиновой кислоты. Консервативные замены представляют собой такие замены, которые по существу не влияют на аффинность или не снижают аффинность антитела относительно связывания с TRBC1 или TRBC2. Например, антитело человека, которое специфически связывается с TRBC1 или TRBC2, может включать до 1, до 2, до 5, до 10, или до 15 консервативных замен, в любом из или в обоих VH или VL по сравнению с любой из последовательностей, приведенных в виде SEQ ID No. 1-3 или 13-32, и сохраняет специфическое связывание с TRBC1 или TRBC2.

Функционально похожие аминокислоты, которые можно заменять путем консервативной замены, хорошо известны специалисту в данной области. Следующие шесть групп представляют собой примеры аминокислот, которые считаются консервативными заменами одна для другой: 1) Аланин (A), Серин (S), Треонин (T); 2) Аспарагиновая кислота (D), Глутаминовая кислота (E); 3) Аспарагин (N), Глутамин (Q); 4) Аргинин (R), Лизин (K); 5) Изолейцин (I), Лейцин (L), Метионин (M), Валин (V); и 6) Фенилаланин (F), Тирозин (Y), Триптофан (W).

#### ПОЛУЧЕНИЕ АНТИТЕЛ

Получение антител можно проводить с использованием стандартных лабораторных способов. Антитела можно получать из сыворотки животных, или, в случае моноклональных антител или их фрагментов, производить в клеточной культуре. Для получения антител можно использовать технологию рекомбинантных ДНК в соответствии с общеизвестным способом в клеточной культуре бактерий или млекопитающих.

Способы для продукции моноклональных антител хорошо известны в данной области. В кратком изложении, моноклональные антитела, как правило, производят путем слияния миеломных клеток с клетками селезенки от мыши или кролика, которые были иммунизированы желаемым антигеном. В настоящем документе, желаемый антиген представляет собой пептид TRBC1 или TRBC2, или цепь TCR $\beta$ , содержащую или TRBC1, или TRBC2.

Альтернативно, антитела и родственные молекулы, в частности scFv, можно производить вне иммунной системы путем комбинирования библиотек цепей VH и VL рекомбинантным образом. Такие библиотеки могут быть сконструированы и отобраны с использованием технологии фагового дисплея, как описано в примере 12.

#### ИДЕНТИФИКАЦИЯ TRBC1/TRBC2-СЕЛЕКТИВНЫХ АНТИТЕЛ

Антитела, которые являются селективными или для TRBC1, или для TRBC2, можно идентифицировать с использованием способов, которые являются стандартными в данной области. Способы для определения специфичности связывания антитела в качестве неограничивающих примеров включают иммуноферментный анализ (ELISA),

вестерн-блоттинг, иммуногистохимию, проточную цитометрию, способ резонансного переноса энергии флуоресценции (FRET), библиотеки фагового дисплея, скрининги двойных гибридов дрожжей, ко-иммунопреципитацию, бимолекулярную комплементацию флуоресценции и тандемную аффинную очистку.

Для выявления антитела, которое является селективным или для TRBC1, или для TRBC2, оценивают связывание антитела с каждым из TRBC1 и TRBC2. Как правило, оценку производят, определяя связывание антитела с каждой TRBC отдельно. Антитело, которое является селективным, связывается или с TRBC1, или с TRBC2, без значительного связывания с другой TRBC.

#### МИМЕТИКИ АНТИТЕЛ

Агент альтернативно может быть молекулой, которая не была получена из иммуноглобулина или на его основе. Был разработан ряд "антителомиметических" сконструированных белков с повторами (DRP) для изучения связывающих свойств не-антительных полипептидов.

Белки с повторами, такие как анкирин или белки, богатые лейциновыми повторами, являются повсеместно распространенными связывающими молекулами, которые встречаются, в отличие от антител, внутри- и внеклеточно. Их уникальная модульная архитектура отличается повторяющимися структурными единицами (повторами), которые уложены вместе в стопку с образованием удлиненных доменов с повторами, выставляя вариабельные и модульные поверхности для связывания мишеней. На основании этой модульности можно получать комбинаторные библиотеки полипептидов с весьма разнообразной специфичностью связывания. DARPins (сконструированные белки с анкириновыми повторами) являются одним из примеров миметика антитела на основе этой технологии.

Для антикалинов специфичность связывания получена от липокалинов, семейства белков, которые исполняют целый ряд функций *in vivo*, связанных с физиологическим транспортом и хранением химически чувствительных или нерастворимых соединений. Липокалины имеют прочную внутреннюю структуру, содержащую высоко консервативный  $\beta$ -цилиндр, который поддерживает четыре петли на одном конце белка. Эти петли для входа в карман для связывания и конформационные различия в этой части молекулы отвечают за изменения в специфичности связывания между различными липокалинами.

Авимеры получены из большого семейства доменов внеклеточного рецептора человека при помощи перемешивания экзонов *in vitro* и фагового дисплея, создающих мультидоменные белки со связывающими и ингибиторными свойствами.

Версатела представляют собой небольшие белки с массой 3-5 кДа с >15% цистеинов, которые образуют каркас с высокой плотностью дисульфидов, замещаая гидрофобную сердцевину, присутствующую у большинства белков. Замещение большого числа гидрофобных аминокислот, составляющих гидрофобную сердцевину, небольшим числом дисульфидов приводит к белку, который меньше по размеру, более гидрофильный, более устойчивый к протеазам и нагреванию и имеет низкую плотность Т-клеточных эпитопов. Все четыре этих свойства приводят в результате к белку со значительно сниженной иммуногенностью. Версатела можно также производить в *E. coli*, и они являются хорошо растворимыми и стабильными.

#### КОНЬЮГАТЫ

Антитело или миметик может быть конъюгатом антитела или миметика и другого агента или антитела, например конъюгат может быть детектируемой частью или химиотерапевтической частью.

Детектируемая часть может быть флуоресцентным фрагментом, например, флуоресцентным пептидом. «Флуоресцентный пептид» относится к полипептиду, который при возбуждении излучает свет на детектируемой длине волны. Примеры флуоресцентных белков в качестве неограничивающих примеров включают

5 флуоресцеинизотиоцианат (FITC), фикоэритрин (PE), аллофикоцианин (APC), зеленый флуоресцентный белок (GFP), улучшенный GFP, красный флуоресцентный белок (RFP), синий флуоресцентный белок (BFP) и mCherry.

TRBC1- или TRBC2-селективный агент, конъюгированный с детектируемой частью, можно использовать для определения TRBC злокачественной Т-клетки.

10 Химиотерапевтическая часть, как применяют в настоящем документе, относится к части, которая является разрушительной для клетки и которая представляет собой часть, снижающую жизнеспособность клетки. Химиотерапевтическая часть может быть цитотоксическим лекарственным средством. Химиотерапевтическое средство, рассматриваемое в качестве неограничивающих примеров, включает алкилирующие

15 средства, нитрозомочевины, этиленимины/метилмеламин, алкилсульфонаты, антиметаболиты, аналоги пиримидина, эпиподофилотоксины, ферменты, такие как L-аспарагиназа; модификаторы биологического ответа, такие как IFN $\alpha$ , IL-2, G-CSF и GM-CSF; координационные комплексы с платиной, такие как цисплатин и карбоплатин, антрацендионы, замещенную мочевины, такую как гидроксимочевина, производные

20 метилгидразина, включая N-метилгидразин (MNH) и прокарбазин, препараты, подавляющие надпочечники, такие как митотан (o,p'-DDD) и аминоклотеимид; гормоны и антагонисты, включая антагонисты адренокортикостероидов, такие как преднизон и эквиваленты, дексаметазон и аминоклотеимид; прогестин, такой как

25 гидроксипрогестерона капроат, медроксипрогестерона ацетат и мегестрола ацетат; эстроген, такой как эквиваленты диэтилstilбестрола и этинилэстрадиола; антиэстроген, такой как тамоксифен; андрогены, включая тестостерона пропионат и флуоксиместерон/ эквиваленты; антиандрогены, такие как флутамид, аналоги гонадотропин-рилизинг

гормона и леупролид; и нестероидные антиандрогены, такие как флутамид.

TRBC-селективный агент, конъюгированный с химиотерапевтической частью, способен осуществлять направленную доставку химиотерапевтической части к клеткам, которые экспрессируют или TRBC1, или TRBC2.

#### БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ Т-КЛЕТОЧНЫЕ АКТИВАТОРЫ

Был разработан широкий спектр молекул на основании базовой концепции о наличии двух антитело-подобных связывающих доменов.

35 Биспецифические молекулы, активирующие Т-клетки, представляют собой класс биспецифических антитело-подобных молекул, которые были первично разработаны для применения в качестве противоопухолевых лекарственных средств. Они направляют иммунную систему хозяина, более конкретно, цитотоксическую активность Т-клеток, против клетки-мишени, такой как злокачественная клетка. В этих молекулах, один

40 связывающий домен связывается с Т-клеткой через рецептор CD3, а другой с клетками-мишенями, такими как опухолевая клетка (через опухоль-специфическую молекулу). Поскольку биспецифическая молекула связывается и с клеткой-мишенью, и с Т-клеткой, она приводит клетку-мишень в сближение с Т-клеткой, так что Т-клетка может оказывать свой эффект, например, цитотоксический эффект, на злокачественную клетку.

45 Образование комплекса Т-клетка:биспецифическое АТ:злокачественная клетка вызывает передачу сигнала в Т-клетке, приводя, например, к высвобождению цитотоксических медиаторов. В идеале, агент только вызывает желаемую передачу сигнала в присутствии клетки-мишени, приводя к избирательному лизису.

Биспецифические молекулы, активирующие Т-клетки, были разработаны в ряде различных форматов, но один из наиболее распространенных представляет собой слияние двух одноцепочечных вариабельных фрагментов (scFvs) различных антител. Эти молекулы иногда обозначают BiTEs (Биспецифические Т-клеточные активаторы).

Агент, применяемый в способе по настоящему изобретению, может быть биспецифической молекулой, которая селективно распознает TRBC1 или TRBC2 и способна активировать Т-клетку. Например, агент может быть BiTE. Агент, применяемый в способе, может содержать:

(i) первый домен, который связывается или с TRBC1, или с TRBC2; и

(ii) второй домен, способный активировать Т-клетку.

Биспецифическая молекула может содержать сигнальный пептид для облегчения своей продукции. Сигнальный пептид может вызывать секрецию биспецифической молекулы клеткой-хозяином, так что биспецифическую молекулу можно выделить из супернатанта клетки-хозяина.

Сигнальный пептид может находиться на аминоконце молекулы. Биспецифическая молекула может иметь общую формулу: сигнальный пептид-первый домен-второй домен.

Биспецифическая молекула может содержать спейсерную последовательность для соединения первого домена со вторым доменом и пространственного разделения двух доменов.

Спейсерная последовательность может, например, включать шарнир из IgG1 или «стебель» из CD8. Линкер может альтернативно содержать альтернативную линкерную последовательность, которая имеет аналогичную длину и/или доменные спейсерные свойства, как и шарнир IgG1 или «стебель» CD8.

Биспецифическая молекула может содержать JOVI-1, или его функциональный фрагмент, как определено выше.

#### ХИМЕРНЫЙ АНТИГЕННЫЙ РЕЦЕПТОР (CAR)

Химерные антигенные рецепторы (CARs), также известные как химерные Т-клеточные рецепторы, искусственные Т-клеточные рецепторы и химерные иммунорецепторы, представляют собой сконструированные рецепторы, которые прививают произвольную специфичность на иммунную эффекторную клетку. В классическом CAR, специфичность моноклонального антитела прививают на Т-клетку. Нуклеиновые кислоты, кодирующие CAR, могут быть перенесены в Т-клетки при помощи, например, ретровирусных векторов. Таким образом, можно получать большое количество опухоль-специфических Т-клеток для переноса адоптивных клеток. Клинические исследования Фазы I этого подхода продемонстрировали эффективность.

Связывающий домен CAR для целевого антигена обычно сливают через спейсер и трансмембранный домен с эндодоменом, который содержит внутриклеточный Т-клеточный сигнальный домен или ассоциирован с ним. Когда CAR связывается с антигеном-мишенью, это приводит к передаче активирующего сигнала на ту Т-клетку, которая экспрессирует CAR на своей поверхности.

Агент, применяемый в способе по настоящему изобретению, может быть CAR, который селективно распознает TRBC1 или TRBC2. Агент может быть Т-клеткой, которая экспрессирует CAR, селективно распознающий TRBC1 или TRBC2.

CAR может также содержать трансмембранный домен, который перекрывает мембрану. Он может содержать гидрофобную альфа-спираль. Трансмембранный домен может быть получен из CD28, который придает хорошую стабильность рецептору.

Эндодомен представляет собой часть CAR, участвующую в передаче сигнала.

Эндодомен или содержит внутриклеточный Т-клеточный сигнальный домен или ассоциирован с ним. После распознавания антигена рецепторы кластеризуются, и сигнал передается клетке. Наиболее широко используемым компонентом для Т-клеточной передачи сигнала является тот из CD3-зета, который содержит три иммунорецепторных тирозиновых активирующих мотива (ITAM). Он передает сигнал активации на Т-клетку после связывания с антигеном. CD3-зета может не обеспечивать полностью компетентный сигнал активации, и может быть необходима дополнительная ко-стимуляторная передача сигнала. Например, можно использовать химерные CD28 и OX40 с CD3-зета для передачи пролиферативного сигнала/сигнала выживаемости, или можно использовать все три вместе.

Эндодомен CAR может содержать эндодомен CD28, и OX40 и эндодомен CD3-зета.

CAR может содержать сигнальный пептид, так что когда CAR экспрессируется внутри клетки, такой как Т-клетка, формирующийся белок направляется в эндоплазматический ретикулум и затем к клеточной поверхности, где он экспрессируется.

CAR может содержать спейсерную последовательность для соединения TRBC-связывающего домена с трансмембранным доменом и пространственного разделения TRBC-связывающего домена и эндодомена. Гибкий спейсер позволяет TRBC-связывающему домену ориентироваться в различных направлениях, чтобы делать возможным связывание TRBC.

Спейсерная последовательность может, например, включать Fc-область IgG1, шарнир IgG1 или «стебель» CD8, или их сочетание. Линкер может альтернативно содержать альтернативную линкерную последовательность, которая имеет аналогичную длину и/или доменные спейсерные свойства, как и Fc-область IgG1, шарнир IgG1 или «стебель» CD8.

Выявлено, что CAR, содержащие спейсер на основе шарнира IgG1 или «стебля» CD8, показали наилучшую эффективность против клеток Юркат (фигура 15). Спейсер, таким образом, может содержать шарнир IgG1 или «стебель» CD8, или спейсер, который имеет аналогичную длину и/или доменные спейсерные свойства, как и шарнир IgG1 или «стебель» CD8.

Спейсер из человеческого IgG1 может быть изменен для удаления Fc-связывающих мотивов.

CAR может содержать антитело JOVI-1 или его функциональный фрагмент, как определено выше.

CAR может содержать аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID No. 33, 34 и 35.

>SEQ\_ID\_33 JOVI-1 CAR со спейсером из «стебля» CD8

METDTLLLVLLVWIPGSTGEVRLQQSGPDLIKPGASVKMSCKASGYTFTGYVMHW  
VKQRPGQGLEWIGFINPYNDIQSNERFRGKATLTSDKSSTTAYMELSSLTSEDSAVYY  
CARGAGYNFDGAYRFFDFWGGGTTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMQTSPSLPV  
SLGDQASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYRVSNRFPGVDPDRFSGSGSG  
TDFTLKISRVEAEDLGIYFCSQSTHVPYTFGGGKLEIKRSDPTTTPAPRPPTPAPTIASQP  
LSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIFWVLVVGGLVACYSLLVTVAFIIFWVRSKRS  
RLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRDQRLPPDAHKKPPGGGSFRTPIQ  
EEQADAHSTLAKIRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM  
GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKHDGLYQGLSTATKDTYD  
ALHMQALPPR

>SEQ\_ID\_34 JOVI-1 CAR со спейсером шарнир-CH2-CH3pva

METDTLLLVLLVWIPGSTGEVRLQQSGPDLIKPGASVKMSCKASGYTFTGYVMHW

VKQRPQGQLEWIGFINPYNDDIQSNERFRGKATLTSDKSSTTAYMELSSLTSEDSAVYY  
 CARGAGYNFDGAYRFFDFWGGQTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPLSLPV  
 SLGDQASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYRVSNRFPGVDPDRFSGSGSG  
 TDFTLKISRVEAEDLGIYFCSQSTHVPYTFGGGTKEIKRSDPAEPKSPDKTHTCPPCPAP  
 5 PVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP  
 REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY  
 TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK  
 LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKKDPKFWVLVVGVLACYS  
 LLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRDQRLP  
 10 PDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKIRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRR  
 EEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG  
 HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

>SEQ\_ID\_35 JOVI-1 CAR со спейсером из шарнира IgG1

METDTLLLVLLVWIPGSTGEVRLQQSGPDLIKPGASVKMSCKASGYTFTGYVMHW  
 15 VKQRPQGQLEWIGFINPYNDDIQSNERFRGKATLTSDKSSTTAYMELSSLTSEDSAVYY  
 CARGAGYNFDGAYRFFDFWGGQTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSPLSLPV  
 SLGDQASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYRVSNRFPGVDPDRFSGSGSG  
 TDFTLKISRVEAEDLGIYFCSQSTHVPYTFGGGTKEIKRSDPAEPKSPDKTHTCPPCPKD  
 PKFWVLVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPY  
 20 YAPPRDFAAYRSRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKIRVKFSRSADAPA  
 YQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMA  
 EAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

В приведенных выше последовательностях CAR одна или несколько из 6 CDR  
 независимо могут содержать или не содержать одну или несколько аминокислотных  
 25 мутаций (например, замен) по сравнению с последовательностями, приведенными в  
 виде SEQ ID No. С 7 до 12, при условии, что полученный CAR сохраняет способность  
 связываться с TRBC1.

Варианты вышеуказанных аминокислотных последовательностей также можно  
 использовать в настоящем изобретении, при условии, что полученный CAR связывается  
 30 с TRBC1 или TRBC2 и не имеет значительного перекрестного реагирования. Как правило,  
 такие варианты имеют высокую степень идентичности последовательности с одной из  
 последовательностей, приведенных в виде SEQ ID No. 33, 34 или 35.

Варианты CAR, как правило, имеют, по меньшей мере, приблизительно 75%,  
 например, по меньшей мере, приблизительно 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%  
 35 идентичности последовательности с одной из последовательностей, приведенных в  
 виде SEQ ID No 33, 34 и 35.

#### НУКЛЕИНОВАЯ КИСЛОТА

Настоящее изобретение дополнительно относится к нуклеиновой кислоте,  
 кодирующей агент, такой как BiTE или CAR по первому аспекту изобретения.

40 Последовательность нуклеиновой кислоты может кодировать CAR, содержащий  
 одну из аминокислотных последовательностей, показанных в виде SEQ ID No. 33, 34 и  
 35.

Как применяют в настоящем документе, термины «полинуклеотид», «нуклеотид»,  
 и «нуклеиновая кислота» предназначены для того, чтобы быть синонимами друг для  
 45 друга.

Специалисту следует понимать, что многочисленные различные полинуклеотиды и  
 нуклеиновые кислоты могут кодировать одинаковый полипептид в результате  
 вырожденности генетического кода. Кроме того, следует понимать, что специалисты

с использованием рутинных способов могут производить нуклеотидные замены, которые не влияют на полипептидную последовательность, кодируемую полинуклеотидами, описанными в настоящем документе, для соответствия использованию кодонов любого конкретного организма-хозяина, в котором предполагается экспрессировать

5 полипептиды.

Нуклеиновые кислоты по изобретению могут содержать ДНК или РНК. Они могут быть одноцепочечными или двухцепочечными. Они могут также быть полинуклеотидами, которые включают в себя синтетические или модифицированные нуклеотиды. Ряд различных типов модификации олигонуклеотидов известен в данной области. Эти модификации включают метилфосфонатные и тиофосфатные остовы, добавление акридиновых или полилизиновых цепей на 3' и/или 5'-концах молекулы. Для целей применения, описанных в настоящем документе, следует понимать, что полинуклеотиды могут быть модифицированы любым способом, доступным в данной области. Такие модификации можно проводить для того чтобы улучшить активность

15 *in vivo* или продолжительность жизни интересующих полинуклеотидов.

Термины «вариант», «гомолог» или «производное» по отношению к нуклеотидной последовательности включают любую замену, вариацию, модификацию, замещение, делецию или добавление одной (или более) нуклеиновых кислот в последовательности или к последовательности.

20 **ВЕКТОР**

Настоящее изобретение также относится к вектору или набору векторов, которые содержат одну или несколько последовательностей нуклеиновой кислоты/кислот по изобретению. Такой вектор можно использовать для введения последовательности нуклеиновой кислоты/кислот в клетку-хозяина, таким образом, что он экспрессирует

25 CAR по первому аспекту изобретения.

Вектор, например, может быть плазмидой или вирусным вектором, таким как ретровирусный вектор или лентивирусный вектор, или вектор на основе транспозона или синтетическая мРНК.

Вектор может быть способен к трансфекции или трансдукции Т-клеток или NK-

30 клеток.

## **КЛЕТКА**

Настоящее изобретение также относится к клетке, такой как иммунная клетка, содержащая CAR по первому аспекту изобретения.

Клетка может содержать нуклеиновую кислоту или вектор по настоящему

35 изобретению.

Клетка может быть Т-клеткой или клеткой-естественным киллером (NK).

Т-клетки могут быть Т-клетками или Т-лимфоцитами, которые представляют собой тип лимфоцита, играющего центральную роль в клеточном иммунитете. Их можно отличить от других лимфоцитов, таких как В-клетки и клетки-естественные киллеры (NK-клетки) по наличию Т-клеточного рецептора (TCR) на клеточной поверхности. Существуют различные типы Т-клеток, резюмированные ниже.

Хелперные Т-клетки (ТН-клетки) помогают другим лейкоцитам в иммунологических процессах, включая созревание В-клеток в плазматические клетки и В-клетки памяти, и активацию цитотоксических Т-клеток и макрофагов. ТН-клетки экспрессируют на

45 поверхности CD4. ТН-клетки активируются, когда им презентируют пептидные антигены при помощи молекул МНС класса II на поверхности антигенпредставляющих клеток (АПС). Эти клетки могут относиться к одному из нескольких подтипов, включая ТН1, ТН2, ТН3, ТН17, Тн9, или TFH, которые секретируют различные цитокины для облегчения



различных типов иммунных ответов.

Цитолитические Т-клетки (ТС-клетки, или ЦТЛ) разрушает клетки, инфицированные вирусами, и опухолевые клетки, и также вовлечены в отторжение трансплантата. ЦТЛ экспрессируют CD8 на поверхности. Эти клетки распознают свои мишени при связывании с антигеном, ассоциированным с МНС класса I, который присутствует на поверхности всех ядродержащих клеток. При помощи IL-10, аденозина и других молекул, секретируемых регуляторными Т-клетками, клетки CD8+ можно инактивировать до анергического статуса, который предотвращает аутоиммунные заболевания, такие как экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит.

Т-клетки памяти представляют собой подтип антиген-специфических Т-клеток, которые персистируют длительное время после того как инфекция устранена. Они быстро нарастают до большого количества эффекторных Т-клеток после повторной презентации распознанного ими антигена, таким образом, обеспечивая иммунную систему "памятью" против прошлых инфекций. Т-клетки памяти включают три подтипа: Т-клетки центральной памяти (ТСМ-клетки) и два типа Т-клеток эффекторной памяти (ТЕМ-клетки и ТЕМРА-клетки). Клетки памяти могут быть или CD4+, или CD8+. Т-клетки памяти, как правило, экспрессируют белок клеточной поверхности CD45RO.

Регуляторные Т-клетки (Трег-клетки), ранее известные как супрессорные Т-клетки, являются ключевыми для поддержания иммунологической толерантности. Их основная роль заключается в выключении Т-клеточного иммунитета в направлении к концу иммунной реакции и в подавлении аутореактивных Т-клеток, которые избежали процесса негативной селекции в тимусе.

Были описаны два главных класса CD4+ Трег-клеток - природные Трег-клетки и адаптивные Трег-клетки.

Природные Трег-клетки (также известные как CD4+CD25+FoxP3+ Трег-клетки) появляются в тимусе и связаны с взаимодействиями между развивающимися Т-клетками с миелоидными (CD11c+) и плазмочитарными (CD123+) дендритными клетками, которые были активированы тимусным стромальным лимфопозитивом (TSLP). Природные Трег-клетки можно отличить от других Т-клеток по наличию внутриклеточной молекулы, называемой FoxP3. Мутации в гене FOXP3 могут предотвращать развитие регуляторных Т-клеток, вызывая летальное аутоиммунное заболевание - синдром дисрегуляции иммунитета, полиэндокринопатии и энтеропатии (IPEX).

Адаптивные Трег-клетки (также известные как Tr1-клетки или Th3-клетки) могут возникать во время нормального иммунного ответа.

Клетка может быть клеткой-естественным киллером (или НК-клеткой). НК-клетки образуют часть врожденной иммунной системы. НК-клетки обеспечивают быстрые ответы на внутренние сигналы от клеток, инфицированных вирусами, независимым от МНС образом.

НК-клетки (принадлежащие к группе врожденных лимфоидных клеток) определяются как большие гранулярные лимфоциты (БГЛ) и составляют третий тип клеток, дифференцирующихся от общего лимфоидного предшественника, производящего В и Т-лимфоциты. Известно, что НК-клетки дифференцируются и созревают в костном мозге, лимфоузле, селезенке, миндалинах и тимусе, где они затем попадают в циркуляцию.

Клетки с CAR по изобретению могут быть любым из вышеупомянутых типов клеток.

Т-клетки или НК-клетки, экспрессирующие CAR по первому аспекту изобретения, могут быть созданы *ex vivo* или из собственной периферической крови пациента (первая партия), или в окружении трансплантата гематопоетических стволовых клеток из

периферической крови донора (вторая партия), или из периферической крови неродственного донора (третья партия).

Альтернативно, Т-клетки или НК-клетки, экспрессирующие CAR по первому аспекту изобретения, могут быть получены при дифференцировке *ex vivo* индуцибельных клеток-предшественников или эмбриональных клеток-предшественников в Т- или НК-клетки. Альтернативно, можно использовать иммортализованную Т-клеточную линию, которая сохраняет свою литическую функцию и могла бы действовать в качестве терапевтического средства.

Во всех этих вариантах осуществления, клетки с CAR получают путем введения ДНК или РНК, кодирующей CAR, одним из многих способов, включающих трансдукцию вирусным вектором, трансфекцию ДНК или РНК.

Клетка с CAR по изобретению может быть *ex vivo* Т- или НК-клетка от индивидуума. Т- или НК-клетка может быть из образца мононуклеарной клетки периферической крови (PBMC). Т- или НК-клетки можно активировать и/или наращивать перед тем как их трансдуцируют нуклеиновой кислотой, кодирующей CAR по первому аспекту изобретения, например, путем обработки моноклональным антителом против CD3.

Т- или НК-клетку по изобретению можно производить путем:

- (i) выделения образца, содержащего Т- или НК-клетку у индивидуума или из других вышеуказанных источников; и
- (ii) трансдукции или трансфекции Т- или НК-клеток последовательностью нуклеиновой кислоты/кислот, кодирующих CAR по изобретению.

Т- или НК клетки можно затем выделять, например, отбирать на основе экспрессии антигенсвязывающего домена антигенсвязывающего полипептида.

Настоящее изобретение также относится к набору, который включает Т- или НК-клетку, содержащую CAR по первому аспекту изобретения.

#### **ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ**

Настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции, содержащей множество клеток, экспрессирующих CAR по первому аспекту изобретения. Фармацевтическая композиция может дополнительно содержать фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципиент. Фармацевтическая композиция может необязательно содержать один или несколько дополнительных фармацевтически активных полипептидов и/или соединений. Такой состав может находиться, например, в форме, подходящей для внутривенного вливания.

#### **Т-КЛЕТОЧНАЯ ЛИМФОМА И/ИЛИ ЛЕЙКЕМИЯ**

Настоящее изобретение относится к агентам, клеткам и способам лечения Т-клеточной лимфомы и/или лейкемии.

Способ лечения Т-клеточной лимфомы и/или лейкемии относится к терапевтическому применению агента. В настоящем изобретении агент можно вводить индивидууму, у которого есть в наличии заболевание, Т-клеточная лимфома и/или лейкемия, для того чтобы уменьшить, снизить, улучшить, по меньшей мере, один симптом, ассоциированный с заболеванием и/или для того чтобы замедлить, уменьшить или блокировать прогрессирование заболевания.

Способ по настоящему изобретению можно использовать для лечения любой лимфомы и/или лейкемии, ассоциированной с клональным распространением клетки, экспрессирующей Т-клеточный рецептор (TCR), содержащий константную область  $\beta$ . По существу настоящее изобретение относится к способу лечения заболевания, которое включает злокачественные Т-клетки, экспрессирующие TCR, который содержит TRBC.

Способ по настоящему изобретению можно использовать для лечения Т-клеточной

лимфомы, при которой злокачественная Т-клетка экспрессирует TCR, который содержит TRBC. «Лимфому» применяют в настоящем документе в соответствии с ее стандартным значением по отношению к злокачественной опухоли, которая, как правило, развивается в лимфоузлах, но может также поражать селезенку, костный мозг, кровь и другие органы. Лимфома, как правило, присутствует в виде плотной опухоли из лимфоидных клеток. Первичным симптомом, ассоциированным с лимфомой, является лимфоаденопатия, хотя вторичные (В) симптомы могут включать лихорадку, ночную потливость, потерю массы, потерю аппетита, утомляемость, дыхательную недостаточность и кожный зуд.

Способ по настоящему изобретению можно использовать для лечения Т-клеточной лейкемии, при которой злокачественная Т-клетка экспрессирует TCR, который содержит TRBC. «Лейкемию» применяют в настоящем документе в соответствии с ее стандартным значением по отношению к злокачественной опухоли крови или костного мозга.

Ниже представлен иллюстративный, не исчерпывающий перечень заболеваний, которые можно лечить способом по настоящему изобретению.

#### ПЕРИФЕРИЧЕСКАЯ Т-КЛЕТОЧНАЯ ЛИМФОМА

Периферические Т-клеточные лимфомы представляют собой относительно редкие лимфомы, и на них приходится менее 10% от всех неходжкинских лимфом (НХЛ). Однако они ассоциированы с агрессивным клиническим течением, и причины и точное клеточное происхождение большинства Т-клеточных лимфом все еще не определены.

Лимфома, как правило, впервые манифестирует в виде опухания на шее, подмышкой или в паху. Дополнительное опухание может происходить там, где расположены другие лимфоузлы, например, в селезенке. Как правило, увеличенные лимфоузлы могут вторгаться в пространство кровеносных сосудов, нервов или желудка, приводя к опуханию рук и ног, покалыванию и онемению, или к ощущениям наполненности, соответственно. Симптомы лимфомы также включают неспецифические симптомы, такие как лихорадка, озноб, необъяснимая потеря массы, ночная потливость, вялость и зуд.

Классификация ВОЗ использует морфологические и иммунофенотипические отличительные признаки в сочетании с клиническими аспектами и, в некоторых случаях, с генетикой для того чтобы определить прогностически и терапевтически значимую классификацию для периферических Т-клеточных лимфом (Swerdlow *et al.*; WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th ed.; Lyon: IARC Press; 2008). Анатомическая локализация неопластических Т-клеток частично соответствует их предполагаемым нормальным клеточным партнерам и функциям и, как таковые, Т-клеточные лимфомы ассоциированы с лимфоузлами и периферической кровью. Этот подход позволяет лучше понимать некоторые из проявлений Т-клеточных лимфом, включая распределение клеток, некоторые аспекты морфологии и даже связанные с ними клинические результаты.

Наиболее распространенными Т-клеточными лимфомами являются периферическая Т-клеточная лимфома, не уточненная (ПТКЛ-НУ) включающая 25% от общего числа, а затем ангиоиммунобластная Т-клеточная лимфома (АИТКЛ) (18,5%).

#### ПЕРИФЕРИЧЕСКАЯ Т-КЛЕТОЧНАЯ ЛИМФОМА, НЕ УТОЧНЕННАЯ (ПТКЛ-НУ)

ПТКЛ-НУ включает более 25% от всех периферических Т-клеточных лимфом и НК/Т-клеточных лимфом, и является наиболее распространенным субтипом. Ее диагностируют по исключению, как не соответствующую ни одной из конкретных зрелых Т-клеточных лимфом, перечисленных в действующем на данный момент списке

ВОЗ 2008. Как таковая, она является аналогом диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, не уточненной (ДКБКЛ-НУ).

Большинство пациентов являются взрослыми со средним возрастом от 60 лет и соотношением мужчин к женщинам 2:1. Большинство случаев являются по своей природе узловыми, однако, внеузловое расположение встречается приблизительно у 13% пациентов и наиболее часто включает кожу и желудочно-кишечный тракт.

Цитологический спектр очень широк, в диапазоне от полиморфологического до мономорфологического. Были описаны три морфологически определенных варианта, включая лимфоэпителиоидный (Леннерта) вариант, вариант Т-зоны и фолликулярный вариант. Лимфоэпителиоидный вариант ПТКЛ включает обилие сопутствующих эпителиоидных гистиоцитов и обычно является положительным по CD8. Его ассоциируют с лучшим прогнозом. Фолликулярный вариант ПТКЛ-НУ проявляется как потенциально отличающаяся клиничко-патологическая форма.

Большинство ПТКЛ-НУ имеют зрелый Т-клеточный фенотип и большинство случаев являются положительными по CD4. 75% случаев демонстрируют вариабельную потерю, по меньшей мере, одного пан-Т-клеточного маркера (CD3, CD2, CD5 или CD7), с наиболее частым подавлением CD7 и CD5. Могут экспрессироваться CD30 и редко CD15, при этом CD15 является неблагоприятным прогностическим признаком.

Экспрессия CD56, хотя и редкая, также имеет отрицательное прогностическое влияние. Дополнительные неблагоприятные прогностические патологические факторы включают скорость пролиферации больше чем 25% на основании экспрессии KI-67, и присутствия более чем 70% трансформированных клеток. Иммунофенотипический анализ этих лимфом предлагает малое понимание их биологии.

#### АНГИОИММУНОБЛАСТНАЯ Т-КЛЕТОЧНАЯ ЛИМФОМА (АИТКЛ)

АИТКЛ представляет собой системное заболевание, характеризующееся полиморфным инфильтратом, захватывающим лимфоузлы, выраженные наружные эндотелиальные венулы (НЭВ) и периваскулярное расширение сетей фолликулярных дендритных клеток (ФДК). АИТКЛ рассматривается как Т-клеточная лимфома *de novo*, происходящая из  $\alpha\beta$  Т-клеток фолликулярного хелперного типа (ТФН), которые обычно находятся в зародышевых центрах.

АИТКЛ представляет собой вторую наиболее частую нозологическую форму среди периферических Т-клеточных лимфом и НК/Т-клеточных лимфом, составляя приблизительно 18,5% случаев. Она встречается в интервале от среднего до пожилого возраста, со средним возрастом 65 лет, и приблизительно равной встречаемостью у мужчин и женщин. Клинически, пациенты, как правило, имеют позднюю стадию заболевания с генерализованной лимфоаденопатией, гепатоспленомегалией и выраженными системными симптомами. Обычно присутствует кожная сыпь с ассоциированным зудом. Часто присутствует поликлональная гипергаммаглобулинемия, ассоциированная с аутоиммунными явлениями.

При АИТКЛ описаны три различных морфологических паттерна. Раннее поражение при АИТКЛ (Паттерн I), как правило, демонстрирует сохранившуюся архитектуру с характерными гиперпластическими фолликулами. Неопластическая пролиферация локализована на периферии фолликулов. При Паттерне II узловая архитектура частично стерта с сохранением нескольких регрессировавших фолликулов. Субкапсулярные синусы сохранены и даже расширены. Паракортикальная область содержит разветвленные НЭВ и присутствует пролиферация ФДК за пределами В-клеточного фолликула. Неопластические клетки имеют размер от небольшого до среднего, с минимальной цитологической атипией. Они часто имеют прозрачную или бледную

цитоплазму, и могут демонстрировать четкие клеточные мембраны. Как правило, очевиден полиморфный воспалительный фон.

Хотя АИТКЛ представляет собой Т-клеточное злокачественное новообразование, присутствует характерное размножение В-клеток и плазматических клеток, которое вероятно отражает функцию неопластических клеток как ТFH-клеток. Присутствуют и EBV-положительные и EBV-отрицательные В-клетки. Иногда, атипичные В-клетки могут напоминать Ходжкин/Рид-Штернберг-подобные клетки морфологически и иммунофенотипически, что иногда приводит к диагностической путанице с этой формой. В-клеточная пролиферация при АИТКЛ может быть обширной, и у некоторых пациентов развиваются вторичные EBV-положительные диффузные крупноклеточные В-клеточные лимфомы (ДККБКЛ) или - более редко - EBV-отрицательные В-клеточные опухоли, часто с плазмочитарной дифференцировкой.

Неопластические CD4-положительные Т-клетки при АИТКЛ демонстрируют устойчивую экспрессию CD10 и CD279 (PD-1) и являются положительными по CXCL13. CXCL13 приводит к увеличенному рекрутингу В-клеток в лимфоузлы через адгезию к HЭВ, активацию В-клеток, плазмочитарную дифференцировку и распространение сетей ФДК; все факторы вносят вклад в морфологические и клинические признаки АИТКЛ. Интенсивная экспрессия PD-1 в перифолликулярных опухолевых клетках особенно полезна при различении Паттерна I АИТКЛ с реактивной фолликулярной и паракортикальной гиперплазией.

Фолликулярный вариант ПТКЛ-НУ представляет собой другую форму с фенотипом ТFH. В противоположность АИТКЛ, у него нет выраженных HЭВ или экстрафолликулярной пролиферации сетей ФДК. Неопластические клетки могут формировать внутрифолликулярные агрегаты, имитируя В-клеточную фолликулярную лимфому, но могут также иметь паттерн внутрифолликулярного роста или включать расширенные зоны мантии. Клинически, фолликулярный вариант ПТКЛ-НУ отличается от АИТКЛ, поскольку у пациентов чаще присутствует ранняя стадия заболевания с частичным включением лимфоузлов и могут отсутствовать системные симптомы, ассоциированные с АИТКЛ.

#### 30 АНАПЛАСТИЧЕСКАЯ КРУПНОКЛЕТОЧНАЯ ЛИМФОМА (АККЛ)

АККЛ могут быть подразделены как АККЛ-«киназа анапластической лимфомы» (ALK)+ или АККЛ-ALK-.

АККЛ-ALK+ является одной из хорошо охарактеризованных форм периферических Т-клеточных лимфом, с характерными «отличительными клетками» с подковообразными ядрами и экспрессирующими ALK и CD30. На ее долю приходится приблизительно 7% от всех периферических Т-клеточных и NK-клеточных лимфом, и она наиболее часто встречается в первые три декады жизни. У пациентов часто присутствует лимфоаденопатия, но общим является вовлеченность внеузловых участков (кожа, кости, мягкие ткани, легкое, печень) и В-симптомы.

АККЛ-ALK+ демонстрирует широкий морфологический спектр, с пятью описанными различными паттернами, но все варианты содержат какие-то отличительные клетки. Отличительные клетки имеют эксцентрические подковообразные или почкообразные ядра, и выраженную перинуклеарную эозинофильную область Гольджи. Опухолевые клетки растут сцепленным образом с предрасположенностью к вовлечению синуса. Мелкие опухолевые клетки преобладают в мелкоклеточном варианте, а в лимфогистиоцитарном варианте обилие гистиоцитов маскирует присутствие опухолевых клеток, многие из которых невелики.

По определению, все случаи показывают положительность по ALK и CD30, как

правило, с более слабой экспрессией в мелких опухолевых клетках. Часто наблюдают потерю пан-Т-клеточных маркеров, в 75% случаев с потерей поверхностной экспрессии CD3.

Экспрессия ALK является результатом характерного рецидивирующего генетического изменения, состоящего в транслокации гена *ALK* на хромосоме 2p23 в один из многих генов-партнеров, что приводит к экспрессии химерного белка. Наиболее распространенным геном-партнером, встречающимся в 75% случаев, является ген нуклеофосмина (*NPM1*) на хромосоме 5q35, что приводит к t(2;5)(p23;q35). Клеточное распределение ALK в различных вариантах транслокации может варьировать в зависимости от гена-партнера.

АККЛ-ALK- включена в виде предварительной категории в классификацию ВОЗ 2008. Ее определяют как CD30-положительную Т-клеточную лимфому, которая морфологически неотличима от АККЛ-ALK+ со сцепленной моделью роста и присутствием отличительных клеток, но с отсутствием экспрессии белка ALK.

Пациентами, как правило, являются взрослые в возрасте между 40 и 65 годами, в отличие от АККЛ-ALK+, которая более распространена у детей и молодых людей. АККЛ-ALK- может захватывать и лимфоузлы, и внеузловые ткани, хотя последнее наблюдают менее часто, чем при АККЛ-ALK+. Большинство случаев АККЛ-ALK- демонстрируют архитектуру лимфоузла со складками сцепленных неопластических клеток с типичными «отличительными» признаками. В отличие от АККЛ-ALK+, мелкоклеточный морфологический вариант не распознается.

В отличие от формы ALK+, АККЛ-ALK- демонстрирует большее сохранение экспрессии Т-клеточных маркеров, в то время как экспрессия цитотоксических маркеров и поверхностного антигена эпителиоцитов (ЕМА) менее вероятна. Профили экспрессии генов и рекуррентный хромосомный дисбаланс различны при АККЛ-ALK- и АККЛ-ALK+, подтверждая, что они являются различными формами на молекулярном и генетическом уровне.

АККЛ-ALK- клинически отличается как от АККЛ-ALK+, так и от ПТКЛ-НУ, со значимыми отличиями в прогнозе между этими тремя различными формами. Сообщают, что пятилетняя общая выживаемость при АККЛ-ALK- составляет 49%, и она не так хороша, как выживаемость при АККЛ-ALK+ (около 70%), но в то же время значительно лучше, чем выживаемость при ПТКЛ-НУ (32%).

#### Т-КЛЕТОЧНАЯ ЛИМФОМА, АССОЦИИРОВАННАЯ С ЭНТЕРОПАТИЕЙ (ТКЛЭ)

ТКЛЭ представляет собой агрессивную неоплазию, которая, как считают, происходит из внутриэпителиальных Т-клеток кишечника. В классификации ВОЗ 2008 различают два морфологически, иммуногистохимически и генетически различных типа ТКЛЭ: Тип I (представляющий большинство ТКЛЭ) и Тип II (составляющий 10-20% случаев).

Тип I ТКЛЭ, как правило, ассоциирован с явной или бессимптомной глютеночувствительной энтеропатией, и более часто наблюдается у пациентов северно-европейской выборки из-за высокой распространенности глютеневой болезни в этой популяции.

Наиболее часто, бляшки ТКЛЭ обнаруживают в тощей или подвздошной кишке (90% случаев), с редкими случаями в двенадцатиперстной кишке, толстой кишке, желудке, или областях вне желудочно-кишечного тракта. Кишечные поражения, как правило, являются многоочаговыми с изъязвлением слизистой. Клиническое течение ТКЛЭ является агрессивным, и большинство пациентов умирают от заболевания или осложнений заболевания в течение одного года.

Цитологический спектр ТКЛЭ типа I является широким, и некоторые случаи могут содержать анапластические клетки. Присутствует полиморфный воспалительный фон, который в некоторых случаях может скрывать неопластический компонент. Слизистая оболочка кишечника в областях, прилегающих к опухоли, часто демонстрирует признаки

5 глютеновой болезни с «притуплением» ворсинок и увеличенным числом внутриэпителиальных лимфоцитов (ВЭЛ), которые могут представлять поврежденные клетки-предшественники.

Согласно иммуногистохимии, неопластические клетки часто являются CD3+CD4-CD8-CD7+CD5-CD56-βF1+ и содержат цитотоксические белки, ассоциированные с

10 гранулами (TIA-1, гранзим В, перфорин). CD30 частично экспрессируется практически во всех случаях. CD103, который представляет собой хоминг-рецептор слизистой, может экспрессироваться при ТКЛЭ.

Тип II ТКЛЭ, также обозначаемый как мономорфная CD56+ кишечная Т-клеточная лимфома, определяют как опухоль кишечника, которая состоит из мономорфных Т-

15 клеток размером от небольшого до среднего, экспрессирующих и CD8, и CD56. Часто присутствует латеральное распространение опухоли внутрь слизистой, и отсутствие воспалительного фона. Большинство случаев экспрессируют γδ TCR, однако, есть случаи, ассоциированные с αβ TCR.

Тип II ТКЛЭ имеет более широкое распространение в мире, чем Тип I ТКЛЭ и часто

20 наблюдается в азиатских или латиноамериканских популяциях, у которых редко наблюдается глютеновая болезнь. У индивидуумов европейского происхождения ТКЛЭ, типа II составляет приблизительно 20% от кишечных Т-клеточных лимфом, с историей глютеновой болезни, по меньшей мере, в подгруппе случаев. Клиническое течение является агрессивным.

#### 25 ГЕПАТОСПЛЕНИЧЕСКАЯ Т-КЛЕТОЧНАЯ ЛИМФОМА (ГСТЛ)

ГСТЛ представляет собой агрессивную системную неоплазию, в основном, происходящую из γδ цитотоксических Т-клеток врожденной иммунной системы, однако, в редких случаях она может также происходить из αβ Т-клеток. Это одна из наиболее редких Т-клеточных лимфом, и, как правило, она поражает подростков и молодых

30 людей (средний возраст, 35 лет) с сильным преобладанием мужчин.

#### ЭКСТРАНОДАЛЬНАЯ НК/Т-КЛЕТОЧНАЯ ЛИМФОМА НАЗАЛЬНОГО ТИПА

Экстранодальная НК/Т-клеточная лимфома назального типа представляет собой агрессивное заболевание, часто с деструктивными поражениями средней линии и некрозом. Большинство случаев являются производными НК-клеток, но некоторые

35 происходят из цитотоксических Т-клеток. Она везде ассоциирована с вирусом Эпштейна-Барр (EBV).

#### Т-КЛЕТОЧНАЯ ЛИМФОМА КОЖИ

Способ по настоящему изобретению также можно использовать для лечения Т-клеточной лимфомы кожи.

40 Т-клеточная лимфома кожи (ТКЛК) характеризуется миграцией злокачественных Т-клеток к коже, что вызывает появление различных повреждений. Эти повреждения меняют форму с прогрессированием заболевания, как правило, сначала появляется то, что выглядит как сыпь, и, в конечном итоге, формируются бляшки и опухоли перед метастазированием в другие части организма.

45 Кожные Т-клеточные лимфомы включают те, которые упомянуты в следующем иллюстративном неисчерпывающем списке: фунгоидный микоз, восходящий ретикулез, синдром Сезари, гранулематозная дряблая кожа, лимфоматозный папулез, хронический лихеноидный параспориоз, CD30+ кожная Т-клеточная лимфома, вторичная кожная

CD30+ крупноклеточная лимфома, CD30- кожная крупноклеточная Т-клеточная лимфома без фунгоидного микоза, плеоморфная Т-клеточная лимфома, лимфома Леннерта, подкожная Т-клеточная лимфома и лимфангиома.

Признаки и симптомы ТКЛК варьируют в зависимости от конкретного заболевания, из которых два наиболее распространенных типа представляют собой фунгоидный микоз и синдром Сезари. Классический фунгоидный микоз делится на три стадии:

Пятно (атрофическое или неатрофическое): Неспецифический дерматит, пятна на нижней части туловища и ягодиц; минимальный/отсутствующий зуд;

Бляшка: интенсивно зудящие бляшки, лимфоаденопатия; и

Опухоль: Склонная к изъязвлению.

Синдром Сезари определяется эритродермией и лейкозом. Признаки и симптомы включают отечную кожу, лимфоаденопатию, ладонный и/или подошвенный гиперкератоз, алопецию, дистрофию ногтей, выворот века и гепатоспленомегалию.

Из всех первичных кожных лимфом, 65% представляют собой Т-тип клеток. Наиболее распространенным иммунофенотипом является CD4-положительный. Для этих заболеваний не существует общей патофизиологии, поскольку термин Т-клеточная лимфома кожи охватывает широкий спектр нарушений.

Первичные этиологические механизмы для развития Т-клеточной лимфомы кожи (например, фунгоидного микоза) не выяснены. Фунгоидному микозу может предшествовать хроническое воспалительное заболевание кожи, опосредованное Т-клетками, которое может иногда прогрессировать в летальную лимфому.

#### ПЕРВИЧНАЯ КОЖНАЯ АККЛ (К-АККЛ)

К-АККЛ часто неотличима от ALC-ALK- по морфологии. Она определяется как кожная опухоль из крупных клеток с анапластической, плеоморфной или иммунобластной морфологией с более чем 75% клеток, экспрессирующих CD30. Вместе с лимфоматоидным папулезом (ЛП) К-АККЛ относится к спектру первичных кожных CD30-положительных Т-клеточных лимфопролиферативных нарушений, которые как группа включают вторую наиболее распространенную группу кожных Т-клеточных лимфопролифераций после фунгоидного микоза.

Профиль иммуногистохимического окрашивания очень похож на АККЛ-ALK- с большей долей случаев с положительным окрашиванием по цитотоксическим маркерам. По меньшей мере, 75% опухолевых клеток должны быть положительными по CD30. CD15 также может экспрессироваться, и, когда происходит поражение лимфоузлов, дифференциальный диагноз с классической лимфомой Ходжкина может быть трудным. Редкие случаи АККЛ-ALK+ могут происходить с кожными повреждениями, и могут напоминать К-АККЛ.

#### Т-КЛЕТОЧНАЯ ОСТРАЯ ЛИМФОБЛАСТНАЯ ЛЕЙКЕМИЯ

Т-клеточная острая лимфобластная лейкемия (Т-ОЛЛ) составляет приблизительно 15% и 25% от ОЛЛ в детской и взрослой когортах, соответственно. Пациенты, как правило, имеют высокое число лейкоцитов, и может проявляться органомегалия, в частности, медиастинальное расширение, и поражение ЦНС.

Способ по настоящему изобретению можно использовать для лечения Т-ОЛЛ, которая ассоциирована с злокачественной Т-клеткой, экспрессирующей TCR, который содержит TRBC.

#### Т-КЛЕТОЧНАЯ ПРОЛИМФОЦИТАРНАЯ ЛЕЙКЕМИЯ

Т-клеточный пролимфоцитарный лейкоз (Т-ПЛЛ) представляет собой лейкемию со зрелыми Т-клетками с агрессивным поведением и предрасположенностью к крови, костному мозгу, лимфоузлам, печени, селезенке, и поражению кожи. Т-ПЛЛ первично



поражает взрослых в возрасте старше 30 лет. Другие названия включают Т-клеточную хроническую лимфоцитарную лейкемию, "узловатый тип" Т-клеточной лейкемии, и Т-пролимфоцитарную лейкемию/Т-клеточную лимфоцитарную лейкемию.

В периферической крови Т-ПЛЛ состоит из лимфоцитов среднего размера с 5 одиночными ядрышками и базофильной цитоплазмой с единичными полостями или отростками. Ядрышки, как правило, имеют форму от круглой до овальной, и единичные пациенты имеют клетки с более неправильной формой границ ядра, которая сходна с мозговидной формой ядра, наблюдаемой при синдроме Сезари. Мелкоклеточный вариант составляет 20% от всех случаев Т-ПЛЛ, и вариант с клетками, подобными 10 клеткам Сезари, (мозговидный) наблюдают в 5% случаев.

Т-ПЛЛ имеет иммунофенотип зрелого (пост-тимического) Т-лимфоцита, и неопластические клетки, как правило, положительны по пан-Т-антигенам CD2, CD3, и CD7 и отрицательны по TdT и CD1a. Иммунофенотип CD4+/CD8- присутствует в 60% случаев, иммунофенотип CD4+/CD8+ присутствует в 25%, и иммунофенотип CD4-/CD8+ 15 присутствует в 15% случаев.

### ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ

Способ по настоящему изобретению может включать этап введения агента в форме фармацевтической композиции.

Агент можно вводить с фармацевтически приемлемым носителем, разбавителем, 20 эксципиентом или адъювантом. Фармацевтический носитель, эксципиент или разбавитель можно выбирать с учетом намеченного пути введения и стандартной фармацевтической практики. Фармацевтические композиции могут содержать в качестве носителя, эксципиента или разбавителя или в дополнение к носителю, эксципиенту или разбавителю любое подходящее связывающее средство/средства, смазочное средство/средства, 25 суспендирующее средство/средства, покрывающее средство/средства, агент/агенты, повышающие растворимость, и другие носители.

### ВВЕДЕНИЕ

Введение агента можно производить при помощи любого из ряда путей, которые делают активный ингредиент биодоступным. Например, агент можно вводить 30 пероральным и парентеральным путями, интраперитонеально, внутривенно, подкожно, чрезкожно, внутримышечно, путем местной доставки, например, через катетер или стент.

Как правило, терапевт определит фактическую дозировку, которая будет наиболее подходящей для индивидуума, и она будет варьировать в зависимости от возраста, 35 массы и ответа конкретного пациента. Дозировка такова, что она достаточна для уменьшения или истощения числа клональных Т-клеток, экспрессирующих или TRBC1, или TRBC2.

### ПРИМЕНЕНИЕ

Настоящее изобретение также относится к агенту для применения в лечении Т-клеточной лимфомы в соответствии со способом по первому аспекту. Агент может 40 быть любым агентом, определенным выше.

Настоящее изобретение также относится к применению агента, определенного выше, в производстве лекарственного средства для лечения Т-клеточной лимфомы в соответствии со способом по первому аспекту.

### НАБОР

Настоящее изобретение дополнительно относится к набору, включающему агент, определенный выше, для применения для лечения Т-клеточной лимфомы в соответствии со способом по первому аспекту.

Набор может также содержать реагент(-ы), подходящие для определения TRBC злокачественной Т-клетки. Например, набор может содержать праймеры для ПЦР или антитело (антитела), которые специфичны или для TRBC1, или для TRBC2.

## СПОСОБ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ Т-КЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЫ И/ИЛИ ЛЕЙКЕМИИ

Настоящее изобретение дополнительно относится к способу определения наличия Т-клеточной лимфомы или лейкемии у индивидуума, включающему этап определения доли Т-клеток в образце от индивидуума, которые являются или TRBC1-, или TRBC2-положительными.

Т-клеточные лимфомы включают клональное размножение отдельных злокачественных Т-клеток. Как таковое, наличие Т-клеточной лимфомы у индивидуума можно выявить, определяя долю Т-клеток или с TRBC1, или с TRBC2 в образце, полученном от пациента.

Образец может быть образцом периферической крови, образцом лимфы или образцом, взятым напрямую из опухоли, например, биопсийным образцом.

Доля Т-клеток от общего числа, которые являются TRBC1- или TRBC2-положительными, указывающая на наличие Т-клеточной лимфомы или лейкемии, может составлять, например 80, 85, 90, 95, 98 или 99% от общей популяции клеток.

Способ может включать определение инфильтрации отдельными популяциями Т-клеток в биопсии или образце. В настоящем изобретении на наличие Т-клеточной лимфомы или лейкемии указывает то, если 80, 85, 90, 95, 98 или 99% от общей популяции Т-клеток в образце являются или TRBC1, или TRBC2.

Общее число Т-клеток в образце можно выявлять, определяя число клеток в образце, экспрессирующих CD3, CD4, CD8 и/или CD45. Также можно использовать сочетание этих маркеров.

Долю от общего числа Т-клеток в образце, которые экспрессируют или TRBC1, или TRBC2 можно определять при помощи способов, известных в данной области, например, проточной цитометрии, иммуногистохимии или флуоресцентной микроскопии.

Изобретение будет теперь дополнительно описано в виде примеров, которые призваны помочь специалисту в данной области в осуществлении изобретения и никоим образом не ограничивают объем изобретения.

### ПРИМЕРЫ

#### Пример 1 - Распознавание TRBC1 и TRBC2-экспрессирующих клеток

Антитело JOVI-1 ранее было описано у Viney *et al.* (Hybridoma; 1992; 11(6); 701- 713) и доступно коммерчески (Abcam, ab5465). Авторы настоящего изобретения определили, что JOVI-1 способно распознавать клетки на основании специфической экспрессии TRBC1 или TRBC2.

Авторы изобретения создали два плазмидных вектора, доставляющих полные переменные и константные области TCR, которые различаются только по экспрессии или TRBC1, или TRBC2. Эти плазмиды применяли для получения ретровирусного супернатанта путем временной трансфекции клеток 293Т. Этот супернатант применяли, чтобы стабильно трансдуцировать Т-клетки Юркат, нокаутные по TCR (клеточная линия Т-ALL с мутацией в локусе бета-цепи TCR, препятствующей экспрессии этой цепи, и, таким образом, полного поверхностного комплекса TCR/CD3). Это привело к получению клеточных линий, которые идентичны, за исключением экспрессии или TRBC1, или TRBC2. Окрашивание этих клеточных линий выявило полную экспрессию поверхностного комплекса TCR/CD3, и только клетки, экспрессирующие TRBC1, окрашивались при помощи антитела JOVI-1 (фигура 4).

**Пример 2 CD4+ и CD8+ Т-клетки здорового донора содержат отдельные TRBC1-положительные и TRBC1-отрицательные популяции**

Авторы изобретения тестировали антитело JOVI-1 на первичных Т-клетках человека от здоровых доноров. Эти анализы выявили, что все доноры имели доли и CD4+, и CD8+ Т-клеток, которые экспрессировали TRBC1, и доли каждого из них, которые не экспрессировали. Приблизительно 20-50% нормальных CD4+ и CD8+ Т-клеток являются TRBC1-положительными (фигуры 6 и 7).

**Пример 3 - Клональные Т-клеточные линии, экспрессирующие TCR, являются TRBC1-положительными или отрицательными**

Клеточные линии были получены из исходной популяции клональной опухоли у пациента. Окрашивание Т-клеточных линий, экспрессирующих TCR, выявило, что Т-клетки экспрессируют или TRBC1, или TRBC2, подтверждая, что он является маркером клональности. Из трех протестированных Т-клеточных линий, клетки Юркат (известные как TRBC1+), но не клетки HPB-ALL или HD-Mag-2 (известные как TRBC2+), окрашиваются JOVI-1, подтверждая эксклюзивную экспрессию или TRBC1, или TRBC2 (фигура 8).

**Пример 4 - Первичные клональные Т-клетки у пациентов с Т-пролимфоцитарной лейкемией являются TRBC1-положительными или отрицательными**

Клональные Т-клетки, выделенные из периферической крови пациентов с Т-пролимфоцитарной лейкемией (Т-ПЛЛ), являются или однородно TRBC1-положительными, или TRBC1-отрицательными.

**Пример 5 - Влияние мутации остатков, которые являются уникальными для TCBC1**

Получали плазмидные векторы, кодирующие TCR, которые являются идентичными, за исключением мутаций гибрида TRBC1/2 в константной области  $\beta$ -цепи TCR. Анализ показал, что JOVI-1 распознает различия в остатках в положениях 3 и 4 константной цепи TCR $\beta$ , указывая на то, что эти остатки доступны для распознавания антителом и являются, вероятно, наилучшими мишенями для создания агентов, отличающих TRBC1 от TRBC2, или TRBC2 от TRBC1 (фигура 5).

**Пример 6 - Специфический лизис TRBC1-, а не TRBC2-TCR-экспрессирующих Т-клеток.**

Т-клетки Юркат дикого типа (CD34-, TRBC1+) смешивали с Т-клетками Юркат, нокаутными по TCR $\alpha\beta$  и трансдуцированными TRBC2 с коэкспрессией маркерного гена CD34 (CD34+TRBC2+). Эти клетки инкубировали с JOVI-1 отдельно или инкубировали с JOVI-1 и комплементом в течение 1 часа. Клетки отмывали и окрашивали по CD34, аннексину V и 7-AAD. Клетки анализировали проточной цитометрией.

На фигуре 9 показана экспрессия CD34 в живых популяциях, определенных как популяции, отрицательные по аннексину-V и со слабой экспрессией 7-AAD. Наблюдали селективный лизис Т-клеток с TRBC1 (CD34-) (фигура 9).

Т-клетки Юркат дикого типа в норме являются TRBC1+ и не экспрессируют укороченный маркерный ген CD34. Как описано выше, авторы изобретения получили линию Юркат TRBC2+ путем трансдукции Т-клеток Юркат, нокаутных по TCR $\alpha\beta$ , ретровирусным вектором, который кодирует TRBC2 TCR, а также укороченный маркерный ген CD34. Эти Т-клетки затем смешивали вместе. Затем, авторы изобретения инкубировали Т-клетки или с JOVI-1 по отдельности или с JOVI-1 и комплементом в течение 1 часа. Для удобства, авторы изобретения могли различать популяции TRBC1 и TRBC2 по окрашиванию по маркерному гену CD34 и, таким образом, избежали невыявления TRBC1 TCR из-за интернализации TCR после длительной инкубации с МАТ против TCR. Клетки отмывали и окрашивали на CD34, аннексин V и 7-AAD. Клетки анализировали проточной цитометрией. Путем гейтинга живых клеток (т.е.

клеток, которые были отрицательными по аннексину V и имели слабую яркость 7-AAD) авторы изобретения смогли определить, что TRBC1 Т-клетки подвергаются селективному лизису JOVI-1 в присутствии комплемента (фигура 9).

**Пример 7 - Поликлональные Т-клетки, специфичные по вирусу Эпштейна-Барр (EBV), можно разделить на две приблизительно равные популяции TRBC1/2.**

Т-клетки периферической крови были получены от здорового донора крови. Выделяли моноклеарные клетки, и большинство клеток были криоконсервированы. Небольшое количество клеток было заражено лабораторным штаммом EBV (B95-8). Через несколько недель возникла иммортализованная зараженная EBV клеточная линия, известная как лимфобластная клеточная линия (ЛКЛ). Известно, что такая клеточная линия представляет большую коллекцию различных антигенов EBV. Предварительно криоконсервированные моноклеарные клетки были разморожены и повторно стимулированы этой линией ЛКЛ еженедельно в течение 4 недель в присутствии IL2. Этот способ селективно наращивает EBV-специфические Т-клетки из моноклеарной популяции периферической крови. Известно, что такой способ приводит к поликлональной линии, где >90% Т-клеток являются EBV-специфическими и отражают донорский иммунитет к EBV. Специфичность проверяли, демонстрируя высокий уровень лизиса аутологических клеток ЛКЛ, но не аллогенных клеток ЛКЛ или K562 (фигура 10a). Эту клеточную линию затем окрашивали JOVI-1, и было показано, что она содержит приблизительно равную смесь TRBC1 и TRBC2 Т-клеток (фигура 10b).

Таким образом, если вводят терапевтическое средство, которое истощает или TRBC-1-, или TRBC2-компармент, адекватный иммунитет к EBV будет сохраняться. Поскольку иммунитет к EBV рассматривается в качестве модельной системы иммунного ответа, резонно предположить, что иммунитет к другим патогенам будет в равной степени сохранен.

**Пример 8 - Окрашивание при помощи JOVI1 циркулирующей периферической Т-клеточной лимфомы**

Гипотеза состояла в том, что Т-клеточные лимфомы, являясь клональными, будут экспрессировать или TRBC1, или TRBC2 Т-клеточные рецепторы, в то время как нормальные Т-клетки, являясь поликлональными, будут включать популяцию Т-клеток, которая представляет собой смесь Т-клеток с TRBC1 или TRBC2. Чтобы продемонстрировать это, получали образец крови Т-клеточной лимфомы от пациента, чья лимфома циркулировала в периферической крови. Моноклеарные клетки периферической крови выделяли и окрашивали панелью антител, которая включала CD5 и JOVI1. Сначала выявляли общую Т-клеточную популяцию (которая содержит и лимфомные, и нормальные Т-клетки). Эта популяция содержала Т-клетки с нормальной (яркой) экспрессией CD5 и Т-клетки со промежуточной/слабой экспрессией CD5. Первые представляют собой нормальные Т-клетки, в то время как последние представляют лимфому. Далее исследовали связывание с JOVI-1, и результаты показаны на фигуре 12.

Популяции с промежуточным и слабым CD5 (опухоль) были все TRBC2-положительными.

**Пример 9 - Выявление последовательностей VH/VL JOVI-1**

С использованием быстрой амплификации концов кДНК (5' RACE) с праймерами, которые отжигаются на константных областях CH1 IgG мыши и константной области каппа мыши, мы выделили единичную функциональную последовательность VH и единичную функциональную последовательность VL из гибридомы JOVI-1. Последовательности VH и VL представляют собой SEQ ID 1 и 2, соответственно (см.

выше). Аннотированная последовательность VH и VL показана на фигуре 11.

Эти последовательности VH и VL клонировали обратно в рамку считывания с тяжелой цепью IgG мыши и легкой цепью каппа, соответственно. Кроме того, VH и VL были слиты для образования одноцепочечного вариабельного фрагмента (scFv), который был затем слит с областью шарнир-CH2-CH3 IgG2a мыши для создания scFv-Fv. Аминокислотная последовательность scFv приведена в подробном описании в виде SEQ ID No. 3. Рекомбинантное антитело и рекомбинантный scFv-Fc получали путем трансфекции клеток 293Т. Вместе с JOVI-1 из гибридомы, окрашивали следующие клетки: клетки Юркат, нокаутные по TCR; клетки Юркат дикого типа; клетки Юркат, нокаутные по TCR и трансдуцированные TRBC1 с ко-экспрессией eBFP2 и клетки Юркат, нокаутные по TCR и трансдуцированные TRBC2 с ко-экспрессией eBFP2. И рекомбинантное антитело, и scFv-Fc, полученный из JOVI, связывали TRBC2, подтверждая, что мы идентифицировали правильные VH/VL, и что VH/VL JOVI-1 можно сложить в виде scFv. Эти данные по связыванию показаны на фигуре 13.

#### **Пример 10 - Функция CAR на основе JOVI-1**

scFv JOVI-1 клонировали в форматах CAR. Для выявления, какая длина спейсера будет приводить к оптимальному CAR JOVI-1, получали третье поколение CAR или с Fc-спейсером человека, спейсером из стебля CD8 человека или со спейсером, полученным из шарнира IgG1 (фигура 4). Первичные Т-клетки человека от нормальных доноров трансдуцировали этими CAR и сравнивали лизис клеток Юркат и клеток Юркат, нокаутных по TCR. CAR с scFv JOVI-1, которые имели спейсер или из шарнира IgG1 или из стебля CD8, лизировали клетки Юркат, но не клетки Юркат, нокаутные по TCR (фигура 5), демонстрируя ожидаемую специфичность. Поскольку Т-клетки здоровых доноров, трансдуцированные CAR, должны иметь смесь TRBC 1/2 Т-клеток, то ожидалось, что культуры будут «самоочищаться». Фактически, это и наблюдали. Окрашивание JOVI-1 Т-клеточных культур с CAR, которые стали 100% TRBC2-отрицательными, показано на фигуре 6.

#### **МАТЕРИАЛЫ И СПОСОБЫ**

##### **ДЕМОНСТРАЦИЯ СПЕЦИФИЧНОСТИ JOVI-1**

Получали трехцистронную ретровирусную кассету, которая кодировала хорошо охарактеризованный TCR человека, а также подходящий маркерный ген. Кодировющие последовательности для TCR $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей получали при помощи синтеза гена *de novo* из перекрывающихся олигонуклеотидов. Эти цепи были соединены в рамке считывания с пептидом 2А ящура для ко-экспрессии. Укороченный маркерный ген CD34 клонировали из кДНК путем ПЦР и экспрессировали совместно с цепями TCR с использованием участка внутренней посадки рибосомы (IRES). Эту кассету вставляли в ретровирусный вектор. Варианты этой конструкции получали путем соединения перекрывающейся ПЦР с праймерами, которые вносили желаемые мутации. Точность конструкций подтверждали секвенированием по Сэнгеру. Клетки Юркат линии 76 представляют собой хорошо охарактеризованное производное Т-клеточной линии Юркат, нокаутной по обоим цепям TCR,  $\alpha$  и  $\beta$ . Эту линию Юркат трансдуцировали вышеуказанными ретровирусными векторами с использованием стандартных способов.

##### **ОКРАШИВАНИЕ И АНАЛИЗ КЛЕТОК ЮРКАТ, Т-КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ**

Клетки Юркат получали из Европейской коллекции клеточных культур животных (ЕСАСС) и конструировали, как описано выше. Другие Т-клеточные линии также получали от ЕСАСС. Периферическую кровь брали путем венозной пункции у здоровых доноров. Кровь обрабатывали фиколлом для выделения моноклеарных клеток.

Клетки окрашивали JOVI-1, а также коммерчески доступными моноклональными антителами, которые распознают все TCR и CD3. В случае сконструированных Т-клеток, клетки окрашивали антителами, которые распознают CD34. В случае мононуклеарных клеток периферической крови, клетки окрашивали антителами, которые распознают CD4 и CD8. Антитела приобретали, конъюгированными с подходящими флуорофорами, так что можно было получать независимые флуоресцентные сигналы с одновременным анализом клеток в проточном цитометре.

#### ДЕМОНСТРАЦИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ЛИЗИСА Т-КЛЕТОК С TRBC1

Т-клетки Юркат дикого типа (TRBC1 - TCR), и Т-клетки Юркат TCR KO с введенным TRBC2 TCR смешивали вместе в соотношении 1:1. Эту смесь клеток Юркат затем инкубировали с моноклональным антителом JOVI-1 в концентрации 1 мкг/мл в отсутствие или в присутствии комплемента. Через четыре часа клетки окрашивали аннексином-V и 7AAD, и CD34. Удобно то, что по маркерному гену CD34 можно различать клетки Юркат дикого типа (TRBC1) и трансгенные (TRBC2). Клеточные популяции анализировали проточной цитометрией. Живые клетки селективно исследовали путем гейтинга цитометрических событий, которые были отрицательными по аннексину-V и имели слабую яркость по 7AAD. Таким образом, была исследована выживаемость трансгенных Т-клеток (TRBC2) по сравнению с Т-клетками дикого типа (TRBC1).

#### Пример 11 - Исследование клональности Т-клеточных лимфопролиферативных нарушений

Четырех пациентов, трех с Т-клеточным лимфопролиферативным заболеванием с большими гранулярными лимфоцитами (ТЛ-БГЛ) и одного с периферической Т-клеточной лимфомой (ПТКЛ) тестировали чтобы подтвердить, что злокачественные клетки были однородно или TRBC1- положительными, или отрицательными.

У пациентов с Т-лимфопролиферативными заболеваниями собирали цельную кровь или костный мозг. Мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) получали путем центрифугирования в градиенте Фиколл. Свежеполученные PBMC осаждали и окрашивали в течение 20 минут соответствующими предварительно конъюгированными антителами. Клетки затем отмывали и ресуспендировали в фосфатно-солевом буфере и сразу же анализировали проточной цитометрией на BD LSR Fortessa II. Живые лимфоциты идентифицировали по свойствам прямого/бокового светорассеяния (FSc/SSc) и по неспособности поглощать краситель для выявления мертвых клеток. Т-клетки идентифицировали по окрашиванию с анти-TCR альфа/бета антителом. Опухолевые и нормальные Т-клеточные популяции идентифицировали с использованием соответствующих красителей для клеточной поверхности для каждого образца, в зависимости от иммунофенотипа, предварительно определенного в клиническом лабораторном анализе.

Результаты показаны на фигурах с 18 до 21.

У пациента А (ТЛ-БГЛ, фигура 18), нормальные Т-клетки были яркие по CD7, и содержали смесь CD4/CD8 клеток и смешанную популяцию TRBC1+ или TRBC1- клеток. Напротив, злокачественные клетки были CD7- или CD7-слабыми, были однородно CD8+CD4-, и были однородно TRBC1-.

У пациента В (ТЛ-БГЛ, фигура 19), злокачественные клетки были идентифицированы как CD4-, CD8+, CD7+ CD57+ и были клонально TRBC1- (выделенная панель).

Нормальные CD4+CD8- и CD4-CD8+ Т-клетки содержали TRBC1+ и TRBC1- популяции.

У пациента С (ТЛ-БГЛ, фигура 20), нормальные CD4+ и CD8+ Т-клеточные популяции были на 30-40% TRBC1+. Злокачественные клетки были идентифицированы как CD4-,

CD8+, CD7+ CD57+ и были клонально TRBC1+ (выделенная панель, следует заметить, что 84% клеток являются TRBC1, оставшиеся 16%, вероятно, загрязнены «нормальными» Т-клетками). Нормальные CD4+CD8- и CD4-CD8+ Т-клетки содержали TRBC1+ и TRBC1-популяции.

- 5 У пациента D (ПТКЛ-НУ, фигура 21), злокачественные клетки в костном мозге, выявленные на основании высокого прямого светорассеяния (FSC) и слабой яркости CD5 и CD4, были однородно TRBC1+, в то время как CD4+CD8- и CD4-CD8+ Т-клетки содержали и TRBC1+, и TRBC1-популяции.

- 10 **Пример 12 - Получение моноклональных антител человека, которые различают две изоформы константного домена  $\beta$ -цепи Т-клеточного рецептора, с использованием фагового дисплея**

- 15 Для того чтобы получить антитела, которые различают TRBC2 и TRBC1, были синтезированы пептидные фрагменты, покрывающие область различия между двумя изоформами TRBC. Из четырех аминокислотных различий между TRBC2 и TRBC1, два были обнаружены в начале константных доменов. Были синтезированы пептиды (см. ниже), представляющие эти области, и использованы для создания антител.

**TRBC2** VLEDLKNVFPPEVAV (SEQ ID No. 36)

**TRBC1** VLEDLNKVPPEVAV (SEQ ID No. 37)

- 20 Эти пептиды получали в биотинилированной, не-биотинилированной и модифицированной цистеином формах (путем добавления цистеина на С-конце). Модифицированные цистеином формы TRBC1 и TRBC2 затем конъюгировали с модифицированным бычьим сывороточным альбумином (Imm-Link БСА, Innova 462-001) или овальбумином (Imm-Link Ovalbumin, Innova 461-001) в соответствии с условиями, рекомендованными производителем.

- 25 **Результаты**

Отборы антител фагового дисплея

- 30 Конструировали библиотеки фагового дисплея человека и проводили отборы фагов, как описано в (Schofieldetal.,2007 Геном Biol8, R254). Для того чтобы идентифицировать TRBC1- и TRBC2-специфичные антитела в библиотеке антител, проводили множественные раунды отборов фагового дисплея. Использовали параллельно две стратегии отбора фагов для того, чтобы максимизировать шанс получения большой панели специфических связывающих агентов. Эти стратегии известны как отбор на твердой фазе и отбор в жидкой фазе (фигура 21). При отборе на твердой фазе, фаговые антитела имеют возможность связываться с целевым антигеном, иммобилизованным на твердой поверхности (Schofieldetal.,2007,как выше). При отборе в жидкой фазе, фаговые антитела связываются с биотинилированным антигеном в растворе, и комплекс фаговое антитело-антиген затем захватывается парамагнитными гранулами, покрытыми стрептавидином или нейтравидином. В пределах стратегии отбора на твердой фазе использовали два различных подхода иммобилизации или презентации антигена. При 40 использовании первого подхода, пептиды TRBC, конъюгированные с бычьим сывороточным альбумином (БСА) или овальбумином (ОА) были иммобилизованы в иммунопробирках Maxisorp™ путем прямой абсорбции. При использовании второго подхода, биотинилированные пептиды TRBC были опосредованно иммобилизованы в иммунопробирках Maxisorp™, которые были предварительно покрыты стрептавидином 45 или нейтравидином.

Для того чтобы отобрать антитела, которые специфичны к желаемому пептиду, все отборы проводили в присутствии избытка противоположного пептида. Например, все отборы по TRBC1 проводили в присутствии 10-кратного молярного избытка не-

биотинилированного TRBC2. Этот способ известен как «деселекция» и ожидалось, что он истощит антитела, которые распознают общие эпитопы на обоих пептидах TRBC, поскольку эти антитела предпочтительно связываются с избытком TRBC2 в растворе. Во избежание обогащения клонами с антителами, которые связываются с белком-носителем (БСА или ОА) или партнером по иммобилизации (стрептавидином или нейтравидином от Thermo fisher scientific), использовали комбинацию двух стратегий.

Первая стратегия заключалась в смене партнера по конъюгации или иммобилизации между раундами отбора. Для пептидов, иммобилизованных напрямую, первый раунд отборов проводили на БСА-пептиде, а для раунда 2 использовали конъюгат ОА-пептид. Аналогично, биотинилированные пептиды TRBC были иммобилизованы на стрептавидине в раунде 1, и применяли нейтравидин для иммобилизации в раунде 2.

Вторая стратегия заключалась в истощении фаговой библиотеки любых связывающих агентов к партнерам по конъюгации/иммобилизации при проведении «деселекции» в раунде 1. Для пептидов, иммобилизованных напрямую, «деселекцию» проводили при помощи этапа связывания фаг-пептид в присутствии 10-кратного молярного избытка свободного БСА в растворе. В случае биотинилированных пептидов, иммобилизованных на стрептавидине, фаговую библиотеку предварительно инкубировали с парамагнитными гранулами, покрытыми стрептавидином. Гранулы удаляли перед добавлением фага к пробиркам с антигеном, таким образом, ограничивая попадание в отбор агента, связывающего стрептавидин. Различные использованные условия отбора обобщены на фигуре 21. См. таблицу 3 для подробной информации об условиях отбора.

Поликлональный фаг, полученный в результате раунда 2 отбора, тестировали при помощи ELISA с использованием различных презентаций пептидов или вспомогательных белков. Они включают пептиды TRBC, напрямую иммобилизованные в виде конъюгатов БСА или ОА, или биотинилированные пептиды, иммобилизованные опосредованно на стрептавидине или нейтравидине. Контрольные белки включали стрептавидин, нейтравидин, БСА и неродственный антиген. Связывание фагов выявляли при помощи антитела мыши к M13 (GE healthcare) с последующим антителом против мышиного Fc, меченным европием (Perkin Elmers), с использованием флуоресценции с временным разрешением (TRF) (фигура 22). Этот результат демонстрирует предпочтительное связывание популяций поликлональных фагов с соответствующим пептидом TRBC (по сравнению с противоположным пептидом TRBC). Например, поликлональный фаг, полученный при отборе по TRBC1, показал значительно более высокий сигнал связывания с TRBC1, чем с TRBC2, и наоборот. Присутствовало слабое связывание или связывание отсутствовало с партнерами по иммобилизации или конъюгации и с неродственным антигеном.

#### Субклонирование одноцепочечного антитела (scFv) и моноклональный скрининг

Популяции scFv на выходе из раунда-2 и раунда-3 отбора субклонировали в экспрессирующий вектор pSANG10-3F и трансформировали клетки E.coli BL21 (DE3). 1128 индивидуальных трансформантов (564 клон/пептида TRBC) высаживали в 12×96-луночные культуральные планшеты (94 клонов/плашку) и индуцировали экспрессию антител при помощи среды для аутоиндуцирования. Рекомбинантные моноклональные антитела, секретируемые в культуральный супернатант в течение ночи после индукции, тестировали на связывание с биотинилированными TRBC1 и TRBC2, иммобилизованными на 96-луночных планшетах Nunc Maxisorp™, покрытых нейтравидином. Из 564 клонов, отсортированных из отборов по TRBC1, 255 клонов были признаны специфичными для TRBC1 (>10000 единиц TRF для TRBC1 и <1000



единиц TRF для TRBC2). 138 TRBC2-специфичных связывающих агентов (>10000 единиц TRF для TRBC2 и <2000 единиц TRF для TRBC1) были идентифицированы из 564 клонов, отсортированных из отборов по TRBC2. На фигуре 24 представлен репрезентативный профиль связывания от одного 96-луночного планшета, полученного из отбора или по TRBC1 (фигура 24А) или по TRBC2 (фигура 24В). Подробности конкретных связывающих агентов, полученных с использованием различных условий отбора, обобщены в таблице 5.

142 и 138 специфичных связывающих агентов были выбраны из отборов по TRBC1 и TRBC2, соответственно, для анализа последовательности и дальнейшей характеристики. Последовательности тщательно выбранных клонов получали путем секвенирования по Сэнгеру с использованием набора BigDye® terminator v3.1 cycle sequencing (Life technologies). Последовательности ДНК анализировали для определения белковой последовательности, и были идентифицированы CDR доменов VH и VL. Анализ областей CDR3 VH и VL выявил 74 уникальных клон TRBC1 и 42 уникальных клон TRBC2 (где уникальность определяли как любую комбинацию последовательностей CDR3 VH и CDR3 VL). TRBC1-специфичные клоны и последовательности их CDR3 VH и CDR3 VL обобщены в таблице 1 выше. TRBC2-специфичные клоны и последовательности их CDR3 VH и CDR3 VL обобщены в таблице 2 выше.

**Таблица 3А. Подробности отбора по TRBC на твердой фазе**

Отборы на твердой фазе					
Антиген для отбора	Число раундов	Концентрация антигена	Иммунизация	Деселекция антигенов в раунде 1	Деселекция антигенов в раунде 2
BCA TRBC1 (Раунд 1), OA TRBC1 (Раунд 2)	2	10 мкг/мл	Прямая	BCA (100 мкг/мл), TRBC2 (30 мкМ)	TRBC2 (30 мкМ)
BCA TRBC2 (Раунд 1), OA TRBC2 (Раунд 2)	2	10 мкг/мл	Прямая	BCA (100 мкг/мл), TRBC1 (30 мкМ)	TRBC1 (30 мкМ)
Био-TRBC1 (Раунд 1 и 2)	2	3 мкг/мл	Гранулы со стрептавидином (Раунд 1), Нейтравидин (Раунд 2)	Гранулы со стрептавидином, TRBC2 (30 мкг/мл)	Гранулы с нейтравидином, TRBC2 (30 мкг/мл)
Био-TRBC2 (Раунд 1 и 2)	2	3 мкг/мл	Гранулы со стрептавидином (Раунд 1), Нейтравидин (Раунд 2)	Гранулы со стрептавидином, TRBC1 (30 мкг/мл)	Гранулы с нейтравидином, TRBC1 (30 мкг/мл)

**Таблица 3В Подробности отбора по TRBC в жидкой фазе**

Отборы в жидкой фазе					
Антиген для отбора	Число раундов	Концентрация антигена	Деселекция антигенов в раунде 1	Деселекция антигенов в раунде 2	Деселекция антигенов в раунде 3
Био-TRBC1 (Раунд 1,2 и 3)	3	500 нМ	Гранулы со стрептавидином, TRBC2 (5 мкМ)	Гранулы со стрептавидином, TRBC2 (5 мкМ)	Гранулы с нейтравидином, TRBC2 (5 мкМ)
Био-TRBC2 (Раунд 1,2 и 3)	3	500 нМ	Гранулы со стрептавидином, TRBC1 (5 мкМ)	Гранулы со стрептавидином, TRBC1 (5 мкМ)	Гранулы с нейтравидином, TRBC1 (5 мкМ)

**Таблица 4: Количества в результате отборов**

Тип отбора	Число раундов	Антиген	Количество бляшкообразующих единиц (Раунд 1)	Количество бляшкообразующих (Раунд 2)	Количество бляшкообразующих (Раунд 3)
Твердая фаза	2	BCA/OA TRBC1	$1,0 \times 10^4$	$6,0 \times 10^5$	Н.Д.
Твердая фаза	2	BCA/OA TRBC2	$1,5 \times 10^3$	$2,2 \times 10^6$	Н.Д.
Твердая фаза	2	Био-TRBC1	$5,0 \times 10^3$	$2,0 \times 10^5$	Н.Д.
Твердая фаза	2	Био-TRBC2	$3,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^4$	Н.Д.

Жидкая фаза	3	Био-TRBC1	$1,5 \times 10^6$	$>10^8$	$>10^8$
Жидкая фаза	3	Био-TRBC2	$2,7 \times 10^5$	$>10^8$	$>10^8$

Таблица 5: Подробности моноклонального скрининга

5	Номер отбора	Тип отбора	Антиген для отбора	Промежуточный результат отбора	Число отобранных клонов	Число специфических связывающих агентов
	262	Твердая фаза, непрямая иммобилизация	TRBC1	Раунд-2	186	93
	263	Твердая фаза, непрямая иммобилизация	TRBC2	Раунд-2	186	68
10	264	Жидкая фаза	TRBC1	Раунд-2	186	83
	265	Жидкая фаза	TRBC2	Раунд-2	186	29
	266	Жидкая фаза	TRBC1	Раунд-3	94	47
	267	Жидкая фаза	TRBC2	Раунд-3	94	33
	268	Твердая фаза, прямая иммобилизация (БСА/ОА)	TRBC1	Раунд-2	94	32
15	269	Твердая фаза, прямая иммобилизация (БСА/ОА)	TRBC2	Раунд-2	94	9

### Пример 13 - Выработка поликлонального антитела к TRBC путем иммунизации кроликов пептидами

Для того чтобы получить антитела, которые различают TRBC2 и TRBC1, синтезировали два пептида, которые покрывают основную область дифференцировки между двумя изоформами TRBC и использовали для иммунизации кроликов.

Использовали следующие пептидные последовательности:

TRBC1: VLEDLNKVPPEVAVC (SEQ ID No. 38)

TRBC2: VLEDLKNVPPEVAVC (SEQ ID No. 39).

Синтезировали 15 мг пептидов TRBC1 и TRBC2. Конъюгировали гемоцианин моллюска фиссуреллы (KLH) с пептидами TRBC1 и TRBC2 через С-концевые цистеины, присутствующие на пептидах. Для каждого пептида иммунизировали по два новоанглийских кролика; всего три раза при помощи пептида TRBC1 или TRBC2, конъюгированного с KLH. После третьей иммунизации кроликов умерщвляли и обескровливали, и собирали сыворотку для очистки. Неочищенную сыворотку, полученную от кроликов пропускали через колонку с гранулами перекрестно-сшитой агарозной смолы, вместе с пептидом, использованным для иммунизации, для сбора антител, специфичных для общих сегментов и эпитопу пептида, специфичному для изоформы TRBC. Первоначально очищенный супернатант затем очищали дополнительно с использованием колонки с иммобилизованным альтернативным пептидом для удаления антител, специфичных к общим сегментам пептида.

#### Протокол ELISA

Покрывающий антиген(-ы):

А: пептид TRBC1

В: пептид TRBC2

Покрывающая концентрация: 4 мкг/мл, 100 мкл/лунку

Покрывающий буфер: Фосфатно-солевой буфер, pH 7,4

Вторичное антитело: Козлиное антитело против кроличьего IgG (H&L), конъюгированное с пероксидазой

Результаты показаны на фигурах 25 и 26. Этим способом возможно создать поликлональную сыворотку, содержащую антитела, специфические к TRBC1 или TRBC2.

Список последовательностей

<110> UCL Business PLC

<120> Способ

<130> P104381PCT  
 <150> GB 1403905.1  
 <151> 2014-03-05  
 <150> GB 1416908.0  
 5 <151> 2014-09-25  
 <160> 272  
 <170> PatentIn version 3.5  
 <210> 1  
 <211> 124  
 10 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Вариабельный домен тяжелой цепи (VH) Jovi-1 VH  
 <400> 1  
 15 Glu Val Arg Leu Gln Gln Ser Gly Pro Asp Leu Ile Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr  
 20 25 30  
 Val Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 20 35 40 45  
 Gly Phe Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Asp Ile Gln Ser Asn Glu Arg Phe  
 50 55 60  
 Arg Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 25 Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Gly Ala Gly Tyr Asn Phe Asp Gly Ala Tyr Arg Phe Phe Asp  
 100 105 110  
 Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser  
 30 115 120  
 <210> 2  
 <211> 113  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 35 <220>  
 <223> Вариабельный домен легкой цепи (VL) Jovi-1 VL  
 <400> 2  
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly  
 1 5 10 15  
 40 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Arg Leu Val His Ser  
 20 25 30  
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Pro Gly Val Pro  
 45 50 55 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Phe Cys Ser Gln Ser

RU 2 744 046 C2

				85					90					95		
	Thr	His	Val	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
				100					105					110		
	Arg															
5	<210>	3														
	<211>	252														
	<212>	БЕЛОК														
	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
10	<223>	Jovi-1 scFv														
	<400>	3														
	Glu	Val	Arg	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Pro	Asp	Leu	Ile	Lys	Pro	Gly	Ala
	1			5					10					15		
	Ser	Val	Lys	Met	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Gly	Tyr
15			20					25					30			
	Val	Met	His	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
		35					40					45				
	Gly	Phe	Ile	Asn	Pro	Tyr	Asn	Asp	Asp	Ile	Gln	Ser	Asn	Glu	Arg	Phe
		50				55					60					
20	Arg	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Ser	Asp	Lys	Ser	Ser	Thr	Thr	Ala	Tyr
	65					70				75					80	
	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90				95			
	Ala	Arg	Gly	Ala	Gly	Tyr	Asn	Phe	Asp	Gly	Ala	Tyr	Arg	Phe	Phe	Asp
25			100					105					110			
	Phe	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Leu	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly
		115					120					125				
	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Val	Val	Met	Thr
		130				135					140					
30	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Ser	Leu	Gly	Asp	Gln	Ala	Ser	Ile
	145				150					155					160	
	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Arg	Leu	Val	His	Ser	Asn	Gly	Asn	Thr	Tyr
			165					170				175				
	Leu	His	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
35			180					185				190				
	Tyr	Arg	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Pro	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly
		195				200					205					
	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala
		210				215					220					
40	Glu	Asp	Leu	Gly	Ile	Tyr	Phe	Cys	Ser	Gln	Ser	Thr	His	Val	Pro	Tyr
	225				230					235					240	
	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg				
			245					250								
	<210>	4														
45	<400>	4														
	000															
	<210>	5														
	<400>	5														

000  
 <210> 6  
 <400> 6  
 000  
 5 <210> 7  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 10 <223> Определяющая комплементарность область (CDR) переменного домена  
 тяжелой цепи (VH) CDR1  
 <400> 7  
 Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr  
 1 5  
 15 <210> 8  
 <211> 6  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 20 <223> VH CDR2  
 <400> 8  
 Asn Pro Tyr Asn Asp Asp  
 1 5  
 <210> 9  
 25 <211> 15  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> VH CDR3  
 30 <400> 9  
 Gly Ala Gly Tyr Asn Phe Asp Gly Ala Tyr Arg Phe Phe Asp Phe  
 1 5 10 15  
 <210> 10  
 <211> 16  
 35 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Вариабельная область легкой цепи (VL) CDR1  
 <400> 10  
 40 Arg Ser Ser Gln Arg Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His  
 1 5 10 15  
 <210> 11  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 45 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> VL CDR2  
 <400> 11

Arg Val Ser Asn Arg Phe Pro  
 1 5  
 <210> 12  
 <211> 9  
 5 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> VL CDR3  
 <400> 12  
 10 Ser Gln Ser Thr His Val Pro Tyr Thr  
 1 5  
 <210> 13  
 <211> 247  
 <212> БЕЛОК  
 15 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> Одноцепочечный фрагмент вариабельного домена (scFv) CP\_01\_E09  
 <400> 13  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 20 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 25 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 30 85 90 95  
 Ala Arg Ala His Asn Ser Ser Ser Trp Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln  
 100 105 110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 115 120 125  
 35 Gly Ser Gly Gly Gly Ala Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser  
 130 135 140  
 Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala  
 145 150 155 160  
 Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly  
 40 165 170 175  
 Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly  
 180 185 190  
 Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe  
 195 200 205  
 45 Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln  
 210 215 220  
 Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp  
 225 230 235 240

Ile Lys Arg Thr Ala Ala Ala  
245

<210> 14  
<211> 246  
5 <212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> scFv CP\_01\_D12  
<400> 14

10 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
20 25 30  
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
15 35 40 45  
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80  
20 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ala Lys Gly Gly Asp Thr Tyr Gly Phe Leu Asp Asn Trp Gly Gln Gly  
100 105 110  
Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
25 115 120 125  
Ser Gly Gly Gly Ala Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr  
130 135 140  
Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser  
145 150 155 160  
30 Gln Ser Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys  
165 170 175  
Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val  
180 185 190  
Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
35 195 200 205  
Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln  
210 215 220  
Phe Asn Ala Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile  
225 230 235 240  
40 Lys Arg Thr Ala Ala Ala  
245

<210> 15  
<211> 246  
<212> БЕЛОК  
45 <213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> scFv CP\_01\_D10  
<400> 15

RU 2744 046 C2

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
20 25 30  
5 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45  
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
10 65 70 75 80  
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ala Lys Gly Gly Gly Ser Phe Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly  
100 105 110  
15 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
115 120 125  
Ser Gly Gly Gly Ala Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser  
130 135 140  
Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser  
20 145 150 155 160  
Gln Ser Ile Ser Arg Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys  
165 170 175  
Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val  
180 185 190  
25 Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr  
195 200 205  
Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln  
210 215 220  
Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
30 225 230 235 240  
Lys Arg Thr Ala Ala Ala  
245

<210> 16

<211> 246

35 <212> БЕЛЮК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> scFv CP\_01\_C08

<400> 16

40 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Ala Val Gln Pro Gly Arg  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
20 25 30  
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
45 35 40 45  
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr



RU 2744 046 C2

	65		70		75		80									
	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90						95	
	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Ser	Ser	Trp	Tyr	Leu	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly
5			100						105					110		
	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly
			115					120					125			
	Ser	Gly	Gly	Gly	Ala	Ser	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser
			130				135					140				
10	Val	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ala	Ser
			145				150				155				160	
	Gln	Asp	Ile	Ser	Asn	Tyr	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys
				165					170						175	
	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Asp	Ala	Ser	Asn	Leu	Glu	Thr	Gly	Val
15			180						185				190			
	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Phe	Thr
			195					200					205			
	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Ile	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln
			210				215					220				
20	Tyr	Asp	Asn	Leu	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile
			225				230				235				240	
	Lys	Arg	Thr	Ala	Ala	Ala										
				245												
	<210>	17														
25	<211>	245														
	<212>	БЕЛЮК														
	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
	<223>	scFv CP_01_C11														
30	<400>	17														
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
	1			5					10					15		
	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Gly	Tyr
			20					25					30			
35	Tyr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35				40						45			
	Gly	Arg	Ile	Asn	Pro	Asn	Ser	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
			50				55					60				
	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr
40			65			70				75					80	
	Met	Glu	Leu	Ser	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95		
	Ala	Ser	Gly	Gly	Ala	Gly	Trp	Asn	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr
			100					105					110			
45	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly
			115				120					125				
	Ala	Ser	Asn	Phe	Met	Leu	Thr	Gln	Pro	His	Ser	Val	Ser	Glu	Ser	Pro
			130				135					140				

Gly Lys Thr Ala Thr Ile Ser Cys Thr Arg Ser Ser Gly Ser Ile Ala  
145 150 155 160  
Ser Asn Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ala Pro Thr  
165 170 175  
5 Thr Val Ile Tyr Glu Asp Asn Gln Arg Pro Phe Gly Val Pro Asp Arg  
180 185 190  
Phe Ser Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile  
195 200 205  
Ser Gly Leu Lys Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser His  
10 210 215 220  
Asp Ser Ser Asn Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu  
225 230 235 240  
Gly Gln Pro Ala Ala  
245  
15 <210> 18  
<211> 247  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
20 <223> scFv CP\_01\_F03  
<220>  
<221> прочий\_признак  
<222> (101)..(101)  
<223> Хаа может быть любой встречающейся в природе аминокислотой  
25 <400> 18  
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
20 25 30  
30 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45  
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
35 65 70 75 80  
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ala Arg Gly Tyr Xaa Ala Ser Ser Trp Ser Gln Gly Leu Trp Gly Gln  
100 105 110  
40 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
115 120 125  
Gly Ser Gly Gly Gly Ala Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser  
130 135 140  
Ser Leu Ser Ala Ser Val Arg Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala  
45 145 150 155 160  
Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly  
165 170 175  
Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly

RU 2744 046 C2

		180		185		190											
	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Phe	
			195					200					205				
	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Ile	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	
5		210				215					220						
	Gln	Tyr	Asp	Asn	Leu	Pro	Pro	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	
	225				230					235						240	
	Ile	Lys	Arg	Thr	Ala	Ala	Ala										
				245													
10	<210>	19															
	<211>	251															
	<212>	БЕЛОК															
	<213>	Искусственная последовательность															
	<220>																
15	<223>	scFv CP_01_E07															
	<400>	19															
	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg	
	1			5					10					15			
	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	
20			20					25					30				
	Gly	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
		35				40					45						
	Ala	Val	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	
	50				55				60								
25	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	
	65				70				75						80		
	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
			85			90				95							
	Ala	Lys	Asp	Leu	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ala	Phe	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	
30			100			105							110				
	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	
		115				120							125				
	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ala	Ser	Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	His	
	130				135				140								
35	Ser	Leu	Ser	Val	Thr	Pro	Gly	Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	
	145				150				155						160		
	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Tyr	Ser	Asp	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Tyr	Trp	Tyr	
			165			170							175				
	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Glu	Val	Ser	
40			180			185							190				
	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	
		195			200								205				
	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	
	210				215								220				
45	Val	Tyr	Tyr	Cys	Met	Gln	Ser	Ile	Gln	Leu	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	
	225				230					235					240		
	Thr	Lys	Val	Asp	Ile	Lys	Arg	Thr	Ala	Ala	Ala						
				245					250								

<210> 20  
 <211> 244  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 5 <220>  
 <223> scFv CP\_01\_D03  
 <400> 20  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 10 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Pro Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 15 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 20 Ala Arg Asn Lys Gln Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly  
 115 120 125  
 Gly Gly Ala Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser  
 25 130 135 140  
 Leu Ala Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser  
 145 150 155 160  
 Val Gly Ser Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro  
 165 170 175  
 30 Ser Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala  
 180 185 190  
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
 195 200 205  
 Ser Leu Gln Ser Glu Asp Ile Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr His  
 35 210 215 220  
 Arg Trp Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
 225 230 235 240  
 Thr Ala Ala Ala  
 <210> 21  
 40 <211> 249  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> scFv CP\_01\_F06  
 45 <400> 21  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

RU 2744 046 C2

		20		25		30											
		Gly	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35							40					45			
		Ala	Val	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
5		50						55					60				
		Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
		65					70				75					80	
		Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85						90				95		
10		Ala	Lys	Asp	Asp	Gly	Ala	Met	Arg	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val
				100					105					110			
		Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly
				115				120					125				
		Gly	Ala	Ser	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Asp	Ser	Leu	Ala	Val
15		130						135				140					
		Ser	Leu	Gly	Glu	Arg	Ala	Thr	Ile	Asn	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Val
		145				150					155					160	
		Leu	Tyr	Ser	Ser	Asn	Asn	Lys	Asn	Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys
					165					170				175			
20		Pro	Gly	Gln	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Trp	Ala	Ser	Thr	Arg	Glu
				180					185					190			
		Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe
				195				200					205				
		Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Ala	Glu	Asp	Val	Ala	Val	Tyr	Tyr
25		210						215				220					
		Cys	Gln	Gln	Tyr	Tyr	Asp	Ser	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys
		225				230					235					240	
		Val	Asp	Ile	Lys	Arg	Thr	Ala	Ala	Ala							
						245											
30		<210>	22														
		<211>	244														
		<212>	БЕЛЮК														
		<213>	Искусственная последовательность														
		<220>															
35		<223>	scFv CP_01_F02														
		<400>	22														
		Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
		1			5					10				15			
		Pro	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
40				20					25					30			
		Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35						40					45				
		Ala	Val	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
		50						55					60				
45		Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
		65				70				75						80	
		Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85					90				95			

RU 2744 046 C2

	Ala	Arg	Ala	Gly	Tyr	Ser	Tyr	Ala	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met
				100					105					110		
	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
				115				120					125			
5	Gly	Gly	Ala	Ser	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser
				130				135				140				
	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Gly
	145					150					155					160
	Ile	Arg	Asn	Asp	Leu	Gly	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro
10					165					170					175	
	Lys	Arg	Leu	Ile	Tyr	Ala	Ala	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser	Gly	Val	Pro	Ser
				180					185					190		
	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser
				195				200					205			
15	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	His	Asn
				210				215				220				
	Ser	Tyr	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Asp	Ile	Lys	Arg
	225					230					235					240
	Thr	Ala	Ala	Ala												
20	<210>	23														
	<211>	249														
	<212>	БЕЛЮК														
	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
25	<223>	scFv CP_03_E05														
	<400>	23														
	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
	1			5					10					15		
	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
30				20					25					30		
	Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
				35				40					45			
	Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
				50				55				60				
35	Lys	Gly	Arg	Phe	Ser	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
	65					70					75					80
	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85						90					95	
	Ala	Arg	Thr	Arg	Ser	Ser	Gly	Ala	Phe	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
40				100					105					110		
	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
				115				120					125			
	Gly	Gly	Gly	Ala	Ser	Asn	Phe	Met	Leu	Thr	Gln	Pro	His	Ser	Val	Ser
				130				135				140				
45	Glu	Ser	Pro	Gly	Lys	Thr	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Arg	Ser	Ser	Gly
	145					150					155					160
	Ser	Ile	Ala	Ser	Lys	Tyr	Val	Gln	Trp	Tyr	Gln	Gln	Arg	Pro	Gly	Ser
					165					170					175	

Ser Pro Thr Thr Val Ile Tyr Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val  
180 185 190  
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ile Asp Thr Ser Ser Asn Ser Ala Ser  
195 200 205  
5 Leu Thr Ile Ser Gly Leu Arg Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys  
210 215 220  
His Ser Tyr Asp Ser Asn Asn His Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys  
225 230 235 240  
Val Thr Val Leu Gly Gln Pro Ala Ala  
10 245  
<210> 24  
<211> 246  
<212> БЕЛЮК  
<213> Искусственная последовательность  
15 <220>  
<223> scFv CP\_03\_D05  
<400> 24  
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15  
20 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr  
20 25 30  
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45  
Gly Arg Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
25 50 55 60  
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80  
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
30 Ala Ser Pro Arg Gly Arg Gly Ser Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly  
100 105 110  
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
115 120 125  
Ser Gly Gly Gly Ala Ser Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val  
35 130 135 140  
Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Thr Ile Ser Cys Ser Gly Asp Gln  
145 150 155 160  
Leu Gly Gly Lys Tyr Gly His Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Gly Gln Ser  
165 170 175  
40 Pro Val Leu Val Leu Tyr Gln Asp Arg Lys Arg Pro Ala Gly Ile Pro  
180 185 190  
Glu Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ile Thr Leu Thr Ile  
195 200 205  
Ser Gly Thr Gln Ala Val Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp  
45 210 215 220  
Asp Thr Asn Leu Gly Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val  
225 230 235 240  
Leu Gly Gln Pro Ala Ala

245

<210> 25

<211> 249

<212> БЕЛЮК

5 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> scFv CP\_03\_H06

<400> 25

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly  
10 1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr  
20 25 30  
Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45  
15 Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60  
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
65 70 75 80  
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
20 85 90 95  
Ala Arg Ala Arg Val Gly Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met  
100 105 110  
Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly  
115 120 125  
25 Gly Gly Ala Ser Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu  
130 135 140  
Ser Pro Gly Lys Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Arg Ser Ser Gly Ser  
145 150 155 160  
Ile Ala Ser Asn Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ser  
30 165 170 175  
Pro Thr Thr Val Ile Tyr Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro  
180 185 190  
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu  
195 200 205  
35 Thr Ile Ser Gly Leu Lys Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln  
210 215 220  
Ser Phe Asp Ala Asp Asn Leu His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys  
225 230 235 240  
Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Ala Ala

40 245

<210> 26

<211> 248

<212> БЕЛЮК

<213> Искусственная последовательность

45 <220>

<223> scFv CP\_03\_C12

<400> 26

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala



RU 2744 046 C2

	1		5		10		15
	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys
				20			25
	Tyr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln
5			35			40	
	Gly	Trp	Ile	Asn	Pro	Asn	Ser
			50			55	
	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr
	65				70		
10	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg
				85			90
	Ala	Arg	Asp	Thr	Gly	Pro	Ile
			100			105	
	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly
15			115			120	
	Gly	Ala	Ser	Asp	Ile	Val	Met
			130			135	
	Thr	Pro	Gly	Gln	Pro	Ala	Ser
	145				150		
20	Leu	His	Ser	Asp	Gly	Lys	Thr
				165			170
	Gly	Gln	Pro	Pro	Gln	Leu	Leu
			180			185	
	Gly	Val	Pro	Asp	Lys	Phe	Ser
25			195			200	
	Leu	Lys	Ile	Ser	Arg	Val	Glu
			210			215	
	Met	Gln	Gly	Ile	Gln	Leu	Pro
	225				230		
30	Asp	Ile	Lys	Arg	Thr	Ala	Ala
				245			
	<210>	27					
	<211>	249					
	<212>	БЕЛОК					
35	<213>	Искусственная последовательность					
	<220>						
	<223>	scFv CP_03_G02					
	<400>	27					
	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser
40	1			5			10
	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys
			20				25
	Ala	Ile	Ser	Trp	Val	Arg	Gln
			35			40	
45	Gly	Ile	Ile	Asn	Pro	Ser	Gly
			50			55	
	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr
	65				70		

RU 2744 046 C2

	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85					90					95	
	Ala	Arg	Gly	Val	Trp	Asn	Ser	Gly	Ser	Tyr	Leu	Gly	Phe	Asp	Tyr	Trp
				100					105					110		
5	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
			115					120					125			
	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ala	Ser	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser
		130					135					140				
	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys
10	145					150				155						160
	Gln	Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Ser	Asn	Tyr	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys
				165					170					175		
	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Ala	Ala	Ser	Ser	Leu	Gln
			180						185					190		
15	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe
		195					200						205			
	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr
		210					215					220				
	Cys	Gln	Gln	Ser	Tyr	Ser	Thr	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys
20	225					230				235						240
	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Ala	Ala	Ala							
					245											
	<210>	28														
	<211>	251														
25	<212>	БЕЛОК														
	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
	<223>	scFv CP_03_D04														
	<400>	28														
30	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Arg
	1				5					10					15	
	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30			
	Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
35			35				40						45			
	Ala	Val	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
		50				55						60				
	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
	65				70				75						80	
40	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95		
	Ala	Arg	Gly	Gly	Phe	Thr	Val	Pro	Gly	Gly	Ala	Phe	Asp	Ile	Trp	Gly
			100					105					110			
	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly
45			115					120					125			
	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ala	Ser	Asn	Phe	Met	Leu	Thr	Gln	Pro	His
		130				135					140					
	Ser	Val	Ser	Asp	Ser	Pro	Gly	Lys	Thr	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Arg

RU 2744 046 C2

	145		150		155		160
	Ser Ser Gly Arg Ile Gly Ser Asn Phe Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg						
		165		170		175	
	Pro Gly Ser Ser Pro Thr Thr Val Ile Tyr Glu Asp Asp Gln Arg Pro						
5		180		185		190	
	Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn						
		195		200		205	
	Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Thr Thr Ala Asp Glu Ala Gly						
		210		215		220	
10	Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ala Ser Asn Val Ile Phe Gly Gly Gly						
	225		230		235		240
	Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Ala Ala						
		245		250			
	<210> 29						
15	<211> 247						
	<212> БЕЛОК						
	<213> Искусственная последовательность						
	<220>						
	<223> scFv CP_03_F10						
20	<400> 29						
	Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala						
	1	5		10		15	
	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr						
		20		25		30	
25	Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met						
		35		40		45	
	Gly Arg Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe						
		50		55		60	
	Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr						
30	65		70		75		80
	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys						
		85		90		95	
	Ala Arg Phe Gly Glu Arg Tyr Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr						
		100		105		110	
35	Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser						
		115		120		125	
	Gly Gly Gly Ala Ser Gln Ser Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser						
		130		135		140	
	Gly Ser Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Thr						
40	145		150		155		160
	Asp Val Gly Ala Phe His Phe Val Ser Trp Tyr Gln His Thr Pro Gly						
		165		170		175	
	Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Ser Glu Val Arg Lys Arg Ala Ser Gly						
		180		185		190	
45	Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu						
		195		200		205	
	Thr Val Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ser						
		210		215		220	

Ala Tyr Thr Gly Ser Asn Tyr Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Thr  
 225 230 235 240  
 Val Leu Gly Gln Pro Ala Ala  
 245

5 <210> 30  
 <211> 252  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>

10 <223> scFv CP\_03\_G09  
 <400> 30  
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn  
 15 20 25 30  
 Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu  
 35 40 45  
 Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala  
 50 55 60  
 20 Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn  
 65 70 75 80  
 Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val  
 85 90 95  
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Gln Trp Leu Ala Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly  
 100 105 110  
 25 Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly  
 115 120 125  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ala Ser Ser Tyr Glu  
 130 135 140  
 30 Leu Thr Gln Pro Leu Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Ala Arg  
 145 150 155 160  
 Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Asn Val His Trp Tyr  
 165 170 175  
 Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Arg Asp Asn  
 180 185 190  
 35 Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly  
 195 200 205  
 Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Lys Ala Gln Ala Gly Asp Glu Ala  
 210 215 220  
 40 Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Asn Ser Trp Val Phe Gly Gly  
 225 230 235 240  
 Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Ala Ala  
 245 250  
 <210> 31  
 45 <211> 252  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>

<223> scFv CP\_03\_F09

<400> 31

Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15  
5 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ala Ser Tyr  
20 25 30  
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45  
10 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60  
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr  
65 70 75 80  
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
15 Ala Ser Asn Arg Gly Gly Ser Tyr Lys Ser Val Gly Met Asp Val Trp  
100 105 110  
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
115 120 125  
20 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ala Ser Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro  
130 135 140  
Gln Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr  
145 150 155 160  
Arg Ser Ser Gly Asn Phe Ala Ser Lys Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln  
165 170 175  
25 Arg Pro Gly Ser Ser Pro Thr Thr Val Ile Tyr Glu Asn Tyr Gln Arg  
180 185 190  
Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser  
195 200 205  
30 Asn Ser Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Leu Lys Thr Glu Asp Glu Ala  
210 215 220  
Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Glu Val Ser Val Val Phe Gly Gly  
225 230 235 240  
Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Ala Ala  
245 250

35 <210> 32

<211> 249

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

40 <223> scFv CP\_03\_D09

<400> 32

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser  
1 5 10 15  
45 Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
20 25 30  
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45  
Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

RU 2744 046 C2

	50		55		60											
	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asn	Thr	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr
	65					70					75					80
	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
5					85					90					95	
	Ala	Arg	Val	Ser	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
				100					105					110		
	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
				115					120					125		
10	Gly	Gly	Gly	Ala	Ser	Asn	Phe	Met	Leu	Thr	Gln	Pro	Leu	Ser	Val	Ser
				130					135					140		
	Glu	Ser	Pro	Gly	Lys	Thr	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Arg	Ser	Ser	Gly
	145					150					155					160
	Ser	Ile	Ala	Ser	Asn	Tyr	Val	Gln	Trp	Tyr	Gln	Gln	Arg	Pro	Gly	Ser
15					165						170				175	
	Ala	Pro	Thr	Thr	Val	Ile	Tyr	Glu	Asp	Asn	Gln	Arg	Pro	Ser	Gly	Val
				180					185					190		
	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Ile	Asp	Ser	Ser	Ser	Asn	Ser	Ala	Ser
				195					200					205		
20	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys
				210					215					220		
	Gln	Ser	Tyr	Asn	Ser	Ser	Asn	His	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys
	225					230					235					240
	Val	Thr	Val	Leu	Gly	Gln	Pro	Ala	Ala							
25					245											
	<210>	33														
	<211>	537														
	<212>	БЕЛОК														
	<213>	Искусственная последовательность														
30	<220>															
	<223>	Химерный антигенный рецептор (CAR), JOVI-1 CAR со «стеблевым»														
		спейсером CD8														
	<400>	33														
	Met	Glu	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Val	Trp	Ile	Pro
35	1				5					10				15		
	Gly	Ser	Thr	Gly	Glu	Val	Arg	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Pro	Asp	Leu	Ile
				20					25					30		
	Lys	Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Met	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr
				35				40						45		
40	Phe	Thr	Gly	Tyr	Val	Met	His	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly
				50			55					60				
	Leu	Glu	Trp	Ile	Gly	Phe	Ile	Asn	Pro	Tyr	Asn	Asp	Asp	Ile	Gln	Ser
	65				70					75						80
	Asn	Glu	Arg	Phe	Arg	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Ser	Asp	Lys	Ser	Ser
45					85					90					95	
	Thr	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala
				100					105					110		
	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Gly	Ala	Gly	Tyr	Asn	Phe	Asp	Gly	Ala	Tyr

RU 2744 046 C2

	115		120		125											
	Arg	Phe	Phe	Asp	Phe	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Leu	Thr	Val	Ser	Ser
	130						135					140				
	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp
5	145					150					155					160
	Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Ser	Leu	Gly	Asp
					165					170					175	
	Gln	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Arg	Leu	Val	His	Ser	Asn
				180					185					190		
10	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	His	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro
		195						200					205			
	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Arg	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Pro	Gly	Val	Pro	Asp
	210						215					220				
	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile	Ser
15	225					230				235						240
	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Ile	Tyr	Phe	Cys	Ser	Gln	Ser	Thr
					245					250					255	
	His	Val	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg
				260					265					270		
20	Ser	Asp	Pro	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
25	305					310				315						320
	Ile	Phe	Trp	Val	Leu	Val	Val	Val	Gly	Gly	Val	Leu	Ala	Cys	Tyr	Ser
					325					330					335	
	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Ala	Phe	Ile	Ile	Phe	Trp	Val	Arg	Ser	Lys	Arg
				340				345					350			
30	Ser	Arg	Leu	Leu	His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg	Pro
		355						360					365			
	Gly	Pro	Thr	Arg	Lys	His	Tyr	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro	Pro	Arg	Asp	Phe
	370						375				380					
	Ala	Ala	Tyr	Arg	Ser	Arg	Asp	Gln	Arg	Leu	Pro	Pro	Asp	Ala	His	Lys
35	385					390				395						400
	Pro	Pro	Gly	Gly	Gly	Ser	Phe	Arg	Thr	Pro	Ile	Gln	Glu	Glu	Gln	Ala
					405					410					415	
	Asp	Ala	His	Ser	Thr	Leu	Ala	Lys	Ile	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser
				420					425				430			
40	Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln	Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu
		435					440					445				
	Leu	Asn	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg
	450						455					460				
	Gly	Arg	Asp	Pro	Glu	Met	Gly	Gly	Lys	Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln
45	465					470				475						480
	Glu	Gly	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Gln	Lys	Asp	Lys	Met	Ala	Glu	Ala	Tyr
					485					490				495		
	Ser	Glu	Ile	Gly	Met	Lys	Gly	Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His	Asp

	500		505		510
	Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala				
	515		520		525
	Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg				
5	530		535		
	<210> 34				
	<211> 727				
	<212> БЕЛОК				
	<213> Искусственная последовательность				
10	<220>				
	<223> JOVI-1 CAR со спейсером H-CH2-CH3pvaa				
	<400> 34				
	Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Val Trp Ile Pro				
	1 5 10 15				
15	Gly Ser Thr Gly Glu Val Arg Leu Gln Gln Ser Gly Pro Asp Leu Ile				
	20 25 30				
	Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr				
	35 40 45				
	Phe Thr Gly Tyr Val Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly				
20	50 55 60				
	Leu Glu Trp Ile Gly Phe Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Asp Ile Gln Ser				
	65 70 75 80				
	Asn Glu Arg Phe Arg Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser				
	85 90 95				
25	Thr Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala				
	100 105 110				
	Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ala Gly Tyr Asn Phe Asp Gly Ala Tyr				
	115 120 125				
	Arg Phe Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser				
30	130 135 140				
	Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp				
	145 150 155 160				
	Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp				
	165 170 175				
35	Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Arg Leu Val His Ser Asn				
	180 185 190				
	Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro				
	195 200 205				
	Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Pro Gly Val Pro Asp				
40	210 215 220				
	Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser				
	225 230 235 240				
	Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Phe Cys Ser Gln Ser Thr				
	245 250 255				
45	His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg				
	260 265 270				
	Ser Asp Pro Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro				
	275 280 285				



RU 2744 046 C2

	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	
	290						295					300					
	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ala	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	
	305					310					315					320	
5	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	
					325					330					335		
	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	
				340					345					350			
	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	
10			355					360					365				
	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	
	370						375					380					
	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	
	385				390						395					400	
15	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	
				405					410						415		
	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	
				420					425					430			
	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	
20			435					440					445				
	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	
	450						455					460					
	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	
	465				470					475						480	
25	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	
				485						490					495		
	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Lys	Asp	Pro	Lys	Phe	
			500						505					510			
	Trp	Val	Leu	Val	Val	Val	Gly	Gly	Val	Leu	Ala	Cys	Tyr	Ser	Leu	Leu	
30			515				520						525				
	Val	Thr	Val	Ala	Phe	Ile	Ile	Phe	Trp	Val	Arg	Ser	Lys	Arg	Ser	Arg	
	530					535						540					
	Leu	Leu	His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly	Pro	
	545				550						555					560	
35	Thr	Arg	Lys	His	Tyr	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro	Pro	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala	
				565						570					575		
	Tyr	Arg	Ser	Arg	Asp	Gln	Arg	Leu	Pro	Pro	Asp	Ala	His	Lys	Pro	Pro	
			580					585					590				
	Gly	Gly	Gly	Ser	Phe	Arg	Thr	Pro	Ile	Gln	Glu	Glu	Gln	Ala	Asp	Ala	
40			595					600					605				
	His	Ser	Thr	Leu	Ala	Lys	Ile	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	
	610						615					620					
	Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln	Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	
	625				630						635					640	
45	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg	Gly	Arg	
				645						650					655		
	Asp	Pro	Glu	Met	Gly	Gly	Lys	Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln	Glu	Gly	
			660						665					670			

Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu  
675 680 685  
Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu  
690 695 700  
5 Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His  
705 710 715 720  
Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg  
725  
<210> 35  
10 <211> 511  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> JOVI-1 CAR с шарнирным спейсером IgG1  
15 <400> 35  
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Val Trp Ile Pro  
1 5 10 15  
Gly Ser Thr Gly Glu Val Arg Leu Gln Gln Ser Gly Pro Asp Leu Ile  
20 20 25 30  
Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr  
35 40 45  
Phe Thr Gly Tyr Val Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly  
50 55 60  
Leu Glu Trp Ile Gly Phe Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Asp Ile Gln Ser  
25 65 70 75 80  
Asn Glu Arg Phe Arg Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser  
85 90 95  
Thr Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala  
100 105 110  
30 Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ala Gly Tyr Asn Phe Asp Gly Ala Tyr  
115 120 125  
Arg Phe Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser  
130 135 140  
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp  
35 145 150 155 160  
Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly Asp  
165 170 175  
Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Arg Leu Val His Ser Asn  
180 185 190  
40 Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro  
195 200 205  
Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Pro Gly Val Pro Asp  
210 215 220  
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser  
45 225 230 235 240  
Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Phe Cys Ser Gln Ser Thr  
245 250 255  
His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

	260	265	270
	Ser Asp Pro Ala Glu Pro Lys	Ser Pro Asp Lys Thr His	Thr Cys Pro
	275	280	285
5	Pro Cys Pro Lys Asp Pro Lys Phe Trp Val Leu Val Val Gly Gly		
	290	295	300
	Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe		
	305	310	315
	Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn		
	325	330	335
10	Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr		
	340	345	350
	Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Asp Gln Arg Leu		
	355	360	365
15	Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly Gly Ser Phe Arg Thr Pro		
	370	375	380
	Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser Thr Leu Ala Lys Ile Arg		
	385	390	395
	Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln		
	405	410	415
20	Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp		
	420	425	430
	Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro		
	435	440	445
25	Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp		
	450	455	460
	Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg		
	465	470	475
	Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr		
	485	490	495
30	Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg		
	500	505	510
	<210> 36		
	<211> 15		
	<212> БЕЛОК		
35	<213> Искусственная последовательность		
	<220>		
	<223> синтетический пептид для TRBC2		
	<400> 36		
	Val Leu Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val		
40	1 5 10 15		
	<210> 37		
	<211> 15		
	<212> БЕЛОК		
	<213> Искусственная последовательность		
45	<220>		
	<223> синтетический пептид для TRBC1		
	<400> 37		
	Val Leu Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val		

1 5 10 15

<210> 38

<211> 16

<212> БЕЛОК

5 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> синтетический пептид для TRBC1

<400> 38

Val Leu Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Cys

10 1 5 10 15

<210> 39

<211> 16

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

15 <220>

<223> Синтетический пептид для TRBC2

<400> 39

Val Leu Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Cys

1 5 10 15

20 <210> 40

<211> 175

<212> БЕЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 40

25 Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro Ser

1 5 10 15

Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala

20 25 30

Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly

30 35 40 45

Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys Glu

50 55 60

Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg

65 70 75 80

35 Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln

85 90 95

Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp Arg

100 105 110

Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala

40 115 120 125

Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala

130 135 140

Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val

145 150 155 160

45 Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp

165 170 175

<210> 41

<211> 175

<212> БЕЛОК  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 41  
 Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro Ser  
 5 1 5 10 15  
 Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala  
 20 25 30  
 Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly  
 35 40 45  
 10 Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys Glu  
 50 55 60  
 Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg  
 65 70 75 80  
 Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln  
 15 85 90 95  
 Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp Arg  
 100 105 110  
 Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala  
 115 120 125  
 20 Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala  
 130 135 140  
 Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val  
 145 150 155 160  
 Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp  
 25 165 170 175  
 <210> 42  
 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 30 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_E09  
 <400> 42  
 Ala His Asn Ser Ser Ser Trp Ser Phe  
 1 5  
 35 <210> 43  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 40 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_D12  
 <400> 43  
 Gly Gly Asp Thr Tyr Gly Phe Leu  
 1 5  
 <210> 44  
 45 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>

<223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_D10  
 <400> 44  
 Gly Gly Gly Ser Phe Gly Ala Phe  
 1 5  
 5 <210> 45  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 10 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_C08  
 <400> 45  
 Gly Tyr Ser Ser Ser Trp Tyr Leu  
 1 5  
 <210> 46  
 15 <211> 4  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_C11  
 20 <400> 46  
 Gly Gly Ala Gly  
 1  
 <210> 47  
 <211> 9  
 25 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_F03  
 <220>  
 30 <221> прочий\_признак  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Хаа может быть любой встречающейся в природе аминокислотой  
 <400> 47  
 Gly Tyr Хаа Ala Ser Ser Trp Ser Gln  
 35 1 5  
 <210> 48  
 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 40 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_E07  
 <400> 48  
 Asp Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ala Phe  
 1 5  
 45 <210> 49  
 <211> 6  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_D03  
 <400> 49  
 Asn Lys Gln Tyr Gly Met  
 5 1 5  
 <210> 50  
 <211> 5  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 10 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_F06  
 <400> 50  
 Asp Asp Gly Ala Met  
 1 5  
 15 <210> 51  
 <211> 6  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 20 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_F02  
 <400> 51  
 Ala Gly Tyr Ser Tyr Ala  
 1 5  
 <210> 52  
 25 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_C03  
 30 <400> 52  
 Gly Gly Arg Tyr Ser Ser Asn Tyr Phe  
 1 5  
 <210> 53  
 <211> 7  
 35 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_D10  
 <400> 53  
 40 Val Gly Glu Gly Ser Ala Met  
 1 5  
 <210> 54  
 <211> 15  
 <212> БЕЛОК  
 45 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_B01  
 <400> 54

Val Ser Ser His Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Ala Gly Gly Phe  
1 5 10 15  
<210> 55  
<211> 9  
5 <212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_D02  
<400> 55  
10 Gly Arg Asp Ser Ser Ser Trp Ser Pro  
1 5  
<210> 56  
<211> 9  
<212> БЕЛОК  
15 <213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_A02  
<400> 56  
Val Thr Thr Tyr Ser Gly Leu Asp Phe  
20 1 5  
<210> 57  
<211> 10  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность  
25 <220>  
<223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_D04  
<400> 57  
Lys Gly Ala Val Val Val Pro Gly Ala Leu  
30 1 5 10  
<210> 58  
<211> 9  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
35 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_E10  
<400> 58  
Asn Ser Leu Tyr Gly Gly Asn Ser Ala  
1 5  
<210> 59  
40 <211> 7  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_H08  
45 <400> 59  
Asp Gly Gly Gly Gly Arg Phe  
1 5  
<210> 60



<211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 5 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_F11  
 <400> 60  
 Gly Gly Gly Ala Leu Gly Arg Gly Met  
 1 5  
 <210> 61  
 10 <211> 11  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_F09  
 15 <400> 61  
 Leu Leu Arg Ser Gly Gly Gln Ser Tyr Ala Phe  
 1 5 10  
 <210> 62  
 <211> 8  
 20 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_D05  
 <400> 62  
 25 Gly Tyr Ser Ser Ser Trp Ser Phe  
 1 5  
 <210> 63  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 30 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_A09  
 <400> 63  
 Ala Gly Ser Ser Gly Trp Thr Leu  
 35 1 5  
 <210> 64  
 <211> 6  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 40 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_D03  
 <400> 64  
 Asp Lys Gly Trp Gly Phe  
 1 5  
 45 <210> 65  
 <211> 11  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_C11  
 <400> 65  
 Leu Gly Val Val Arg Gly Val Met Lys Gly Phe  
 5 1 5 10  
 <210> 66  
 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 10 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_H10  
 <400> 66  
 Ser Ser Tyr Ser Ser Ser Trp Gly Met  
 1 5  
 15 <210> 67  
 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 20 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_C04  
 <400> 67  
 Ala Asn Ser Trp Ser Ala Gly Gly Met  
 1 5  
 <210> 68  
 25 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_G03  
 30 <400> 68  
 Glu Arg Gly Arg Gly Tyr Ser Tyr Met  
 1 5  
 <210> 69  
 <211> 9  
 35 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_G06  
 <400> 69  
 40 Val Ala Arg Gly Ile His Asp Ala Phe  
 1 5  
 <210> 70  
 <211> 4  
 <212> БЕЛОК  
 45 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_D06  
 <400> 70

Arg His Gly Met  
 1  
 <210> 71  
 <211> 8  
 5 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_B03  
 <400> 71  
 10 Phe Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Tyr  
 1 5  
 <210> 72  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 15 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_A12  
 <400> 72  
 Asp Leu Val Thr Thr Gly Ala Phe  
 20 1 5  
 <210> 73  
 <211> 12  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 25 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_H03  
 <400> 73  
 Ala Ile Arg Val Ser Gly Thr Pro Glu Asn Gly Phe  
 1 5 10  
 30 <210> 74  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 35 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_G08  
 <400> 74  
 Val Arg Ile Thr His Gly Met  
 1 5  
 <210> 75  
 40 <211> 5  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_A06  
 45 <400> 75  
 Gly Lys Leu Ala Phe  
 1 5  
 <210> 76

<211> 15  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 5 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_A04  
 <400> 76  
 Asn Gly Asp Ser Ser Gly Tyr His Thr Ser Pro Asn Trp Tyr Phe  
 1 5 10 15  
 <210> 77  
 10 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_E08  
 15 <400> 77  
 Val Ser Thr Asp Ser Ser Ser Met  
 1 5  
 <210> 78  
 <211> 8  
 20 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_A08  
 <400> 78  
 25 Thr Ser Gln Asp Pro Gly Ala Phe  
 1 5  
 <210> 79  
 <211> 11  
 <212> БЕЛОК  
 30 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_D01  
 <400> 79  
 Ala Glu Ser Gly Val Tyr Ser Ser Asn Gly Met  
 35 1 5 10  
 <210> 80  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 40 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_A07  
 <400> 80  
 Val Asp Arg Val Arg Ser Gly Met  
 1 5  
 45 <210> 81  
 <211> 12  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_B08  
 <400> 81  
 Ile Gly Gln Tyr Cys Ser Ser Thr Ser Cys Tyr Met  
 5 1 5 10  
 <210> 82  
 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 10 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_D09  
 <400> 82  
 Asp Leu Gly Gly Ser Gly Gly Ala Phe  
 1 5  
 15 <210> 83  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 20 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_G07  
 <400> 83  
 Asp Ser Asp Ala Gly Tyr Phe  
 1 5  
 <210> 84  
 25 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_A05  
 30 <400> 84  
 Ala Ser Ile Val Ala Ser Gly Ala Phe  
 1 5  
 <210> 85  
 <211> 7  
 35 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_A08  
 <400> 85  
 40 Ala Gly Gly Ser Asn Ala Phe  
 1 5  
 <210> 86  
 <211> 12  
 <212> БЕЛОК  
 45 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_D07  
 <400> 86

Val Ser Thr Asp Ser Tyr Gly Arg Gln Asn Trp Phe  
1 5 10  
<210> 87  
<211> 14  
5 <212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_C04  
<400> 87  
10 Gln Tyr Thr Ser Gly Arg Leu Ala Tyr Tyr Tyr His Tyr Met  
1 5 10  
<210> 88  
<211> 6  
<212> БЕЛОК  
15 <213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_A07  
<400> 88  
Gly Ile Arg Gly Ala Phe  
20 1 5  
<210> 89  
<211> 8  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность  
25 <220>  
<223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_H02  
<400> 89  
Val Gly Tyr Ser Thr Thr Gln Leu  
1 5  
30 <210> 90  
<211> 8  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
35 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_F10  
<400> 90  
Met Ala Gly Ser Tyr Tyr Ala Phe  
1 5  
40 <210> 91  
<211> 15  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_C10  
45 <400> 91  
Val Gly Asp Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Leu Asp Trp Tyr Phe  
1 5 10 15  
<210> 92

<211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 5 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_B05  
 <400> 92  
 Gly Ser Asp Thr Thr Ser Phe Val Ser  
 1 5  
 <210> 93  
 10 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_G04  
 15 <400> 93  
 Ala Gly His Tyr Tyr Tyr Tyr Met  
 1 5  
 <210> 94  
 <211> 13  
 20 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_F08  
 <400> 94  
 25 Val Thr Gly Tyr Pro Asp Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Phe  
 1 5 10  
 <210> 95  
 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 30 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_G05  
 <400> 95  
 Val Glu Gly Gly Pro Pro Tyr Tyr Phe  
 35 1 5  
 <210> 96  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 40 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_A03  
 <400> 96  
 Asn Gly Leu Asp Asn Tyr Gly Met  
 1 5  
 45 <210> 97  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_B09  
 <400> 97  
 Leu Gly Thr Thr Lys Arg Ala Phe  
 5 1 5  
 <210> 98  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 10 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_A10  
 <400> 98  
 Val Tyr Val Asp His Glu Gly Met  
 1 5  
 15 <210> 99  
 <211> 6  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 20 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_H04  
 <400> 99  
 Trp Ser Gly Ser Gly Phe  
 1 5  
 <210> 100  
 25 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_B04  
 30 <400> 100  
 Asp Phe Gly Trp Gly Gly Ala Phe  
 1 5  
 <210> 101  
 <211> 7  
 35 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_A05  
 <400> 101  
 40 Val Val Gly Gly Thr Gln His  
 1 5  
 <210> 102  
 <211> 14  
 <212> БЕЛОК  
 45 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_F07  
 <400> 102



Asn Trp Leu Leu Tyr Tyr Gly Asp Pro Gln Gln Asn Ala Phe  
1 5 10  
<210> 103  
<211> 13  
5 <212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_H01  
<400> 103  
10 Leu Tyr Phe Asp Trp Phe Ala Asp Ser Gln Asn Ala Phe  
1 5 10  
<210> 104  
<211> 13  
<212> БЕЛОК  
15 <213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_G10  
<400> 104  
Val Gly Tyr Gln Pro Leu Leu Tyr Ala Asp Tyr Tyr Phe  
20 1 5 10  
<210> 105  
<211> 5  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность  
25 <220>  
<223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_G11  
<400> 105  
Gly Ala Met Gly Leu  
1 5  
30 <210> 106  
<211> 10  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
35 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_G01  
<400> 106  
Val Tyr Tyr Leu Ser Gly Val His Ala Phe  
1 5 10  
40 <210> 107  
<211> 7  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_A12  
45 <400> 107  
Thr Glu Arg Trp Leu Gln Phe  
1 5  
<210> 108

<211> 6  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 5 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_H05  
 <400> 108  
 Asn Gly Asp Tyr Ala Phe  
 1 5  
 <210> 109  
 10 <211> 10  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_B07  
 15 <400> 109  
 Ala Ser Arg Tyr Ser Gly Ser Tyr His Phe  
 1 5 10  
 <210> 110  
 <211> 7  
 20 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_G09  
 <400> 110  
 25 His Gly Ser Gln Gly Gly Phe  
 1 5  
 <210> 111  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 30 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_C02  
 <400> 111  
 Val Gly Tyr Met Gly Gly Met  
 35 1 5  
 <210> 112  
 <211> 10  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 40 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_D05  
 <400> 112  
 Asn Thr Pro Gly Ile Ala Ala Ala Gly Pro  
 1 5 10  
 45 <210> 113  
 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_01\_D08  
 <400> 113  
 Val Gly Thr Thr Thr Val Thr Ser Phe  
 5 1 5  
 <210> 114  
 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 10 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_A11  
 <400> 114  
 Val Gly Gly Pro Leu Asn Asp Ala Phe  
 1 5  
 15 <210> 115  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 20 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_D08  
 <400> 115  
 His Ser Ser Gly Gly Ala Phe  
 1 5  
 <210> 116  
 25 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_E09  
 30 <400> 116  
 Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro  
 1 5  
 <210> 117  
 <211> 7  
 35 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_D12  
 <400> 117  
 40 Gln Gln Phe Asn Ala Tyr Pro  
 1 5  
 <210> 118  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 45 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_D10  
 <400> 118

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro  
 1 5  
 <210> 119  
 <211> 7  
 5 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_C08  
 <400> 119  
 10 Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro  
 1 5  
 <210> 120  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 15 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_C11  
 <400> 120  
 Gln Ser His Asp Ser Ser Asn  
 20 1 5  
 <210> 121  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 25 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_F03  
 <400> 121  
 Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro  
 1 5  
 30 <210> 122  
 <211> 6  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 35 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_E07  
 <400> 122  
 Met Gln Ser Ile Gln Leu  
 1 5  
 <210> 123  
 40 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_D03  
 45 <400> 123  
 Gln Gln Tyr His Arg Trp Pro  
 1 5  
 <210> 124

<211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 5 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_F06  
 <400> 124  
 Gln Gln Tyr Tyr Asp Ser Pro  
 1 5  
 <210> 125  
 10 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_F02  
 15 <400> 125  
 Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro  
 1 5  
 <210> 126  
 <211> 6  
 20 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_C03  
 <400> 126  
 25 Gln Gln Tyr Phe Gly Thr  
 1 5  
 <210> 127  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 30 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_D10  
 <400> 127  
 Gln Gln Tyr Asn Asp Trp Pro  
 35 1 5  
 <210> 128  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 40 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_B01  
 <400> 128  
 Gln Ser Phe Asp Thr Asn Ser Leu  
 1 5  
 45 <210> 129  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_D02  
 <400> 129  
 Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro  
 5 1 5  
 <210> 130  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 10 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_A02  
 <400> 130  
 Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr  
 1 5  
 15 <210> 131  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 20 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_D04  
 <400> 131  
 Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro  
 1 5  
 <210> 132  
 25 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_E10  
 30 <400> 132  
 Gln Gln Thr Phe Thr Thr Pro  
 1 5  
 <210> 133  
 <211> 7  
 35 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_H08  
 <400> 133  
 40 Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro  
 1 5  
 <210> 134  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 45 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_F11  
 <400> 134

Gln Ser Tyr Asp Thr Asn Asn  
1 5  
<210> 135  
<211> 7  
5 <212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_F09  
<400> 135  
10 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro  
1 5  
<210> 136  
<211> 7  
<212> БЕЛОК  
15 <213> Искусственная последовательность  
<220>  
<223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_D05  
<400> 136  
Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro  
20 1 5  
<210> 137  
<211> 7  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность  
25 <220>  
<223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_A09  
<400> 137  
Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro  
1 5  
30 <210> 138  
<211> 7  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
35 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_D03  
<400> 138  
Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro  
1 5  
40 <210> 139  
<211> 7  
<212> БЕЛОК  
<213> Искусственная последовательность  
<220>  
45 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_C11  
<400> 139  
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn  
1 5  
<210> 140

<211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 5 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_H10  
 <400> 140  
 Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro  
 1 5  
 <210> 141  
 10 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_C04  
 15 <400> 141  
 Gln Gln Tyr Asp Asp Leu Pro  
 1 5  
 <210> 142  
 <211> 7  
 20 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_G03  
 <400> 142  
 25 Met Gln Arg Ile Glu Phe Pro  
 1 5  
 <210> 143  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 30 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_G06  
 <400> 143  
 Gln Ser Tyr Asp Asn Thr Arg His  
 35 1 5  
 <210> 144  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 40 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_D06  
 <400> 144  
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn  
 1 5  
 45 <210> 145  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность



<220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_B03  
 <400> 145  
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn  
 5 1 5  
 <210> 146  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 10 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_A12  
 <400> 146  
 Gln Gln His Asn Asp Trp Pro  
 1 5  
 15 <210> 147  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 20 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_H03  
 <400> 147  
 Gln Ser Tyr His Ser Ser Asn Leu  
 1 5  
 <210> 148  
 25 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_G08  
 30 <400> 148  
 Met Gln Ala Thr His Phe Pro  
 1 5  
 <210> 149  
 <211> 7  
 35 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_A06  
 <400> 149  
 40 Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro  
 1 5  
 <210> 150  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 45 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_A04  
 <400> 150

Gln Ser Tyr Asp Asp Ser Asn Tyr  
 1 5  
 <210> 151  
 <211> 9  
 5 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_E08  
 <400> 151  
 10 Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Asn Thr Leu  
 1 5  
 <210> 152  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 15 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_A08  
 <400> 152  
 Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro  
 20 1 5  
 <210> 153  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 25 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_D01  
 <400> 153  
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Ile  
 1 5  
 30 <210> 154  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 35 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_A07  
 <400> 154  
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ile His  
 1 5  
 <210> 155  
 40 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_B08  
 45 <400> 155  
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Thr His  
 1 5  
 <210> 156

<211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 5 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_D09  
 <400> 156  
 Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro  
 1 5  
 <210> 157  
 10 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_G07  
 15 <400> 157  
 Gln Ser Phe Thr Ser Ser Thr Leu  
 1 5  
 <210> 158  
 <211> 7  
 20 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_A05  
 <400> 158  
 25 Gln Gln Tyr Asn Lys Trp Pro  
 1 5  
 <210> 159  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 30 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_A08  
 <400> 159  
 Gln Ser Tyr Asp Asp Ser Asn Tyr  
 35 1 5  
 <210> 160  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 40 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_D07  
 <400> 160  
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn His  
 1 5  
 45 <210> 161  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_C04  
 <400> 161  
 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro  
 5 1 5  
 <210> 162  
 <211> 10  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 10 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_A07  
 <400> 162  
 Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn Pro Asn  
 1 5 10  
 15 <210> 163  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 20 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_H02  
 <400> 163  
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn Leu  
 1 5  
 <210> 164  
 25 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_F10  
 30 <400> 164  
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn His  
 1 5  
 <210> 165  
 <211> 9  
 35 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_C10  
 <400> 165  
 40 Ala Val Trp Asp Asp Arg Leu Asn Gly  
 1 5  
 <210> 166  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 45 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_B05  
 <400> 166

Gln Gln Tyr Asp Ser Tyr Ser  
 1 5  
 <210> 167  
 <211> 9  
 5 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_G04  
 <400> 167  
 10 Gln Ser Ala Asp Ser Ser Gly Thr Asn  
 1 5  
 <210> 168  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 15 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_F08  
 <400> 168  
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn His  
 20 1 5  
 <210> 169  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 25 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_G05  
 <400> 169  
 Gln Ser Tyr Asp Thr Arg Asn Gln  
 1 5  
 30 <210> 170  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 35 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_A03  
 <400> 170  
 Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro  
 1 5  
 <210> 171  
 40 <211> 6  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_B09  
 45 <400> 171  
 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr  
 1 5  
 <210> 172

<211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 5 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_A10  
 <400> 172  
 Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Phe  
 1 5  
 <210> 173  
 10 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_H04  
 15 <400> 173  
 Met Gln Arg Ile Glu Phe Pro  
 1 5  
 <210> 174  
 <211> 7  
 20 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_B04  
 <400> 174  
 25 Gln Gln Tyr Tyr Asn Thr Pro  
 1 5  
 <210> 175  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 30 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_A05  
 <400> 175  
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Ile  
 35 1 5  
 <210> 176  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 40 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_F07  
 <400> 176  
 Gln Ser Tyr Asp Ser Thr Asn Leu  
 1 5  
 45 <210> 177  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_H01  
 <400> 177  
 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro  
 5 1 5  
 <210> 178  
 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 10 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_G10  
 <400> 178  
 Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His  
 1 5  
 15 <210> 179  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 20 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_G11  
 <400> 179  
 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro  
 1 5  
 <210> 180  
 25 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_G01  
 30 <220>  
 <221> прочий\_признак  
 <222> (9)..(9)  
 <223> Xaa может быть любой встречающейся в природе аминокислотой  
 <400> 180  
 35 Asp Ser Arg Asp Thr Arg Val Asn Xaa  
 1 5  
 <210> 181  
 <211> 6  
 <212> БЕЛОК  
 40 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_A12  
 <400> 181  
 Gln Gln Tyr Asp Asn Leu  
 45 1 5  
 <210> 182  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_H05  
 <400> 182  
 5 Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro  
 1 5  
 <210> 183  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 10 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_B07  
 <400> 183  
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn  
 15 1 5  
 <210> 184  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 20 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_G09  
 <400> 184  
 Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr  
 1 5  
 25 <210> 185  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 30 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_C02  
 <400> 185  
 Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Pro  
 1 5  
 <210> 186  
 35 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_D05  
 40 <400> 186  
 Gln Ser Tyr Asp Ser Thr Asn His  
 1 5  
 <210> 187  
 <211> 8  
 45 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_01\_D08



<400> 187  
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ala Asn Leu  
 1 5  
 <210> 188  
 5 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_A11  
 10 <400> 188  
 Gln Ser Phe Asp Glu Asn Ile Ser  
 1 5  
 <210> 189  
 <211> 7  
 15 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_D08  
 <400> 189  
 20 His Gln Ser Ala Thr Ser Pro  
 1 5  
 <210> 190  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 25 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_E05  
 <400> 190  
 Thr Arg Ser Ser Gly Ala Phe  
 30 1 5  
 <210> 191  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 35 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_D05  
 <400> 191  
 Pro Arg Gly Arg Gly Ser Ala Phe  
 1 5  
 40 <210> 192  
 <211> 6  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 45 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_H06  
 <400> 192  
 Ala Arg Val Gly Gly Met  
 1 5

<210> 193  
 <211> 5  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 5 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_C12  
 <400> 193  
 Asp Thr Gly Pro Ile  
 1 5  
 10 <210> 194  
 <211> 11  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 15 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_G02  
 <400> 194  
 Gly Val Trp Asn Ser Gly Ser Tyr Leu Gly Phe  
 1 5 10  
 <210> 195  
 20 <211> 10  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_D04  
 25 <400> 195  
 Gly Gly Phe Thr Val Pro Gly Gly Ala Phe  
 1 5 10  
 <210> 196  
 <211> 7  
 30 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_F10  
 <400> 196  
 35 Phe Gly Glu Arg Tyr Ala Phe  
 1 5  
 <210> 197  
 <211> 12  
 <212> БЕЛОК  
 40 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_G09  
 <400> 197  
 Asp Gln Trp Leu Ala Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met  
 45 1 5 10  
 <210> 198  
 <211> 11  
 <212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_F09  
 <400> 198  
 5 Asn Arg Gly Gly Ser Tyr Lys Ser Val Gly Met  
 1 5 10  
 <210> 199  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 10 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_D09  
 <400> 199  
 Val Ser Ser Tyr Tyr Gly Met  
 15 1 5  
 <210> 200  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 20 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_F02  
 <400> 200  
 Ala Pro Ala Ser Ser Ala His  
 1 5  
 25 <210> 201  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 30 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_02\_E03  
 <400> 201  
 Gln Arg Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met  
 1 5  
 <210> 202  
 35 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_H07  
 40 <400> 202  
 Ser Ser Val Ala Ala Gly Ala Phe  
 1 5  
 <210> 203  
 <211> 8  
 45 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_C02

<400> 203  
 Leu Ser Gly Arg Gly Leu Gly Phe  
 1 5  
 <210> 204  
 5 <211> 4  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон СР\_03\_E09  
 10 <400> 204  
 Asp His Tyr Phe  
 1  
 <210> 205  
 <211> 8  
 15 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон СР\_03\_D08  
 <400> 205  
 20 Ser Gly Arg Arg Val Thr Ala Ile  
 1 5  
 <210> 206  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 25 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон СР\_03\_E11  
 <400> 206  
 Met Gly Arg Tyr Ser Ser Ser Trp  
 30 1 5  
 <210> 207  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 35 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон СР\_03\_B05  
 <400> 207  
 His Ser Arg Phe Gly Pro Ala Phe  
 1 5  
 40 <210> 208  
 <211> 5  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 45 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон СР\_03\_H02  
 <400> 208  
 Asp Arg Glu Ala Phe  
 1 5

<210> 209  
 <211> 13  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 5 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_D02  
 <400> 209  
 Leu Arg Gly Arg Tyr Ser Tyr Gly Tyr Ser Asp Ala Phe  
 1 5 10  
 10 <210> 210  
 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 15 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_E01  
 <400> 210  
 Leu Leu Asn Ala Val Thr Tyr Ala Phe  
 1 5  
 <210> 211  
 20 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_C11  
 25 <400> 211  
 Ile Gly Val Ile Gly Gly Phe  
 1 5  
 <210> 212  
 <211> 10  
 30 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_B12  
 <400> 212  
 35 Ile Glu Tyr Ser Ser Ser Ser Pro Tyr Phe  
 1 5 10  
 <210> 213  
 <211> 13  
 <212> БЕЛОК  
 40 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_E03  
 <400> 213  
 Asp Leu Leu Pro Thr Thr Val Thr Thr Thr Gly Ala Phe  
 45 1 5 10  
 <210> 214  
 <211> 6  
 <212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_F01  
 <400> 214  
 5 Asp Ser Gly Ser Tyr Ser  
 1 5  
 <210> 215  
 <211> 12  
 <212> БЕЛОК  
 10 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_C01  
 <400> 215  
 Ala Ser Tyr Pro Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met  
 15 1 5 10  
 <210> 216  
 <211> 5  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 20 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_G07  
 <400> 216  
 Ala Leu Gly His Phe  
 1 5  
 25 <210> 217  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 30 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_E02  
 <400> 217  
 Phe Thr Thr Gly Ser Ala Leu  
 1 5  
 <210> 218  
 35 <211> 5  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_C07  
 40 <400> 218  
 Asp Ala Ser Gly Tyr  
 1 5  
 <210> 219  
 <211> 11  
 45 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_H04

<400> 219  
 Asp Leu Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Ser Gly Asp  
 1 5 10  
 <210> 220  
 5 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_E06  
 10 <400> 220  
 Val Gly Glu Leu Leu Gly Ala Phe  
 1 5  
 <210> 221  
 <211> 8  
 15 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_E05  
 <400> 221  
 20 His Ser Tyr Asp Ser Asn Asn His  
 1 5  
 <210> 222  
 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 25 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_G11  
 <400> 222  
 His Ser Gly Val Gly Gly Leu Ala Phe  
 30 1 5  
 <210> 223  
 <211> 10  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 35 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_G01  
 <400> 223  
 Gly Gly Ser Ile Ala Ala Ala Leu Ala Phe  
 1 5 10  
 40 <210> 224  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 45 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_H01  
 <400> 224  
 Val Glu Tyr Ser Arg Asn Gly Met  
 1 5

<210> 225  
 <211> 4  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 5 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_F11  
 <400> 225  
 Gly Arg Tyr Asn  
 1  
 10 <210> 226  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 15 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_C06  
 <400> 226  
 Leu Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met  
 1 5  
 <210> 227  
 20 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_D03  
 25 <400> 227  
 Gly Gly Leu Ser Ser Ala Phe  
 1 5  
 <210> 228  
 <211> 5  
 30 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_G05  
 <400> 228  
 35 Tyr Gly Gly Gly Leu  
 1 5  
 <210> 229  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 40 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_G12  
 <400> 229  
 Pro Asp His Leu Thr Val Phe  
 45 1 5  
 <210> 230  
 <211> 6  
 <212> БЕЛОК



<213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_C10  
 <400> 230  
 5 Val Gly Tyr Tyr Gly Met  
 1 5  
 <210> 231  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 10 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 тяжелой цепи, клон CP\_03\_F04  
 <400> 231  
 Tyr Glu Gly Tyr Ala Gly Phe  
 15 1 5  
 <210> 232  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 20 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_D05  
 <400> 232  
 Gln Ala Trp Asp Thr Asn Leu Gly  
 1 5  
 25 <210> 233  
 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 30 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_H06  
 <400> 233  
 Gln Ser Phe Asp Ala Asp Asn Leu His  
 1 5  
 <210> 234  
 35 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_C12  
 40 <400> 234  
 Met Gln Gly Ile Gln Leu Pro  
 1 5  
 <210> 235  
 <211> 7  
 45 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_G02

<400> 235  
 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro  
 1 5  
 <210> 236  
 5 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_D04  
 10 <400> 236  
 Gln Ser Tyr Asp Ala Ser Asn  
 1 5  
 <210> 237  
 <211> 7  
 15 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_F10  
 <400> 237  
 20 Ser Ala Tyr Thr Gly Ser Asn  
 1 5  
 <210> 238  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 25 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_G09  
 <400> 238  
 Gln Val Trp Asp Ser Asn Ser  
 30 1 5  
 <210> 239  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 35 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_F09  
 <400> 239  
 Gln Ser Tyr Asp Glu Val Ser  
 1 5  
 40 <210> 240  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 45 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_D09  
 <400> 240  
 Gln Ser Tyr Asn Ser Ser Asn His  
 1 5

<210> 241  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 5 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_F02  
 <400> 241  
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser His  
 1 5  
 10 <210> 242  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 15 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_02\_E03  
 <400> 242  
 Gln Gln Ser Arg Ser Thr Pro  
 1 5  
 <210> 243  
 20 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_H07  
 25 <400> 243  
 Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr  
 1 5  
 <210> 244  
 <211> 9  
 30 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_C02  
 <400> 244  
 35 Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Ser Asn Leu  
 1 5  
 <210> 245  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 40 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_E09  
 <400> 245  
 Asn Ser Tyr Thr Arg Ser Ser Thr  
 45 1 5  
 <210> 246  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_D08  
 <400> 246  
 5 Gln Ser Tyr Asp Asp Thr Asn  
 1 5  
 <210> 247  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 10 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_E11  
 <400> 247  
 Gln Ala Trp Asp Thr Asn Ile Gly  
 15 1 5  
 <210> 248  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 20 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_B05  
 <400> 248  
 Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Asn Asn  
 1 5  
 25 <210> 249  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 30 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_H02  
 <400> 249  
 Gln Ala Trp Asp Thr Asn Ile Gly  
 1 5  
 <210> 250  
 35 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_D02  
 40 <400> 250  
 Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Ser Thr  
 1 5  
 <210> 251  
 <211> 8  
 45 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_E01

<400> 251  
 Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Phe  
 1 5  
 <210> 252  
 5 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_C11  
 10 <400> 252  
 Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser  
 1 5  
 <210> 253  
 <211> 8  
 15 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_B12  
 <400> 253  
 20 Gln Ser Tyr Asp Ser Asn Asn Arg  
 1 5  
 <210> 254  
 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 25 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_E03  
 <400> 254  
 Ser Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His  
 30 1 5  
 <210> 255  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 35 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_F01  
 <400> 255  
 Gln Ala Trp Asp Thr Asn Ile Gly  
 1 5  
 40 <210> 256  
 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 45 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_C01  
 <400> 256  
 Gln Val Trp Asp Ser Ser Thr Ala Asn  
 1 5

<210> 257  
 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 5 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_G07  
 <400> 257  
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn His His  
 1 5  
 10 <210> 258  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 15 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_E02  
 <400> 258  
 Ser Ser Tyr Ala Gly Asn Ser Asn  
 1 5  
 <210> 259  
 20 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_C07  
 25 <400> 259  
 Gln Ala Trp Asp Thr Asn Ile Gly  
 1 5  
 <210> 260  
 <211> 10  
 30 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_H04  
 <400> 260  
 35 Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Gly  
 1 5 10  
 <210> 261  
 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 40 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_E06  
 <400> 261  
 Ser Ser Leu Asp Ser Asn Asp Asn His  
 45 1 5  
 <210> 262  
 <211> 9  
 <212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_H03  
 <400> 262  
 5 Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly  
 1 5  
 <210> 263  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 10 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_G11  
 <400> 263  
 Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Ser Thr  
 15 1 5  
 <210> 264  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 20 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_G01  
 <400> 264  
 His Gln Tyr Asp Val Tyr Pro  
 1 5  
 25 <210> 265  
 <211> 9  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 30 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_H01  
 <400> 265  
 Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His  
 1 5  
 <210> 266  
 35 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_F11  
 40 <400> 266  
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn  
 1 5  
 <210> 267  
 <211> 7  
 45 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_C06

<400> 267  
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn  
 1 5  
 <210> 268  
 5 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_D03  
 10 <400> 268  
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Asn  
 1 5  
 <210> 269  
 <211> 8  
 15 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_G05  
 <400> 269  
 20 Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Tyr Thr  
 1 5  
 <210> 270  
 <211> 7  
 <212> БЕЛОК  
 25 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_G12  
 <400> 270  
 Ser Ser Tyr Thr Pro Ser Ser  
 30 1 5  
 <210> 271  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 35 <220>  
 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_C10  
 <400> 271  
 Gln Ala Trp Asp Thr Asn Ile Gly  
 1 5  
 40 <210> 272  
 <211> 8  
 <212> БЕЛОК  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 45 <223> CDR3 легкой цепи, клон CP\_03\_F04  
 <400> 272  
 Gln Ala Trp Asp Thr Asn Ile Gly  
 1 5



## (57) Формула изобретения

1. Применение цитолитической Т-клетки, содержащей химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий антигенсвязывающий домен, который селективно связывается с константной областью TCR бета (TRBC) для лечения Т-клеточной лимфомы или лейкемии у индивидуума, чтобы вызвать селективное истощение злокачественных Т-клеток вместе с нормальными Т-клетками, экспрессирующими ту же TRBC, что и злокачественные Т-клетки, но не вызывать истощения нормальных Т-клеток, экспрессирующих TRBC, которую не экспрессируют злокачественные Т-клетки, где указанная TRBC выбрана из TRBC1 и TRBC2.

2. Применение по п. 1, которое включает этап исследования константной области TCR бета (TRBC) злокачественной Т-клетки у указанного субъекта для определения того, экспрессирует ли указанная клетка TRBC1 или TRBC2.

3. Применение по п. 1 или 2, где Т-клеточная лимфома или лейкемия выбрана из периферической Т-клеточной лимфомы, из периферической Т-клеточной лимфомы, неутонченной (ПТКЛ-НУ); ангиоиммунобластной Т-клеточной лимфомы (АИТКЛ), анапластической крупноклеточной лимфомы (АККЛ), Т-клеточной лимфомы, ассоциированной с энтеропатией (ТКЛЭ), гепатоспленической Т-клеточной лимфомы (ГСТЛ), экстранодальной НК/Т-клеточной лимфомы назального типа, Т-клеточной лимфомы кожи, первичной АККЛ кожи, Т-клеточной пролимфоцитарной лейкемии и Т-клеточной острой лимфобластной лейкемии.

4. Применение по любому из пп. 1-3, где указанный CAR селективно связывается с TRBC1.

5. Применение по п. 4, где антигенсвязывающий домен указанного CAR имеет переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), которые содержат следующие определяющие комплементарность области (CDR):

VH CDR1: SEQ ID No. 7;

VH CDR2: SEQ ID No. 8;

VH CDR3: SEQ ID No. 9;

VL CDR1: SEQ ID No. 10;

VL CDR2: SEQ ID No. 11; и

VL CDR3: SEQ ID No. 12.

6. Применение по п. 4, где антигенсвязывающий домен содержит переменную область тяжелой цепи (VH) с последовательностью, показанной в виде SEQ ID No. 1, и переменную область легкой цепи (VL) с последовательностью, показанной в виде SEQ ID No. 2.

7. Применение по п. 4, где антигенсвязывающий домен содержит scFv с аминокислотной последовательностью, показанной в виде SEQ ID No. 3.

8. Применение по п. 4, где указанный CAR содержит аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID No. 4, 5 и 6.

9. Применение по любому из пп. 1-3, где указанный CAR селективно связывается с TRBC2.

10. Цитолитическая Т-клетка, способная уничтожать клетку-мишень, экспрессирующую TRBC1, которая содержит CAR, указанный CAR содержит антигенсвязывающий домен, который селективно связывается с TRBC1, где указанный антигенсвязывающий домен содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), которые содержат следующие определяющие комплементарность участки (CDR):

VH CDR1: SEQ ID NO: 7;

VH CDR2: SEQ ID NO: 8;

VH CDR3: SEQ ID NO: 9;

VL CDR1: SEQ ID NO: 10;

5 VL CDR2: SEQ ID NO: 11; и

VL CDR3: SEQ ID NO: 12.

11. CAR, который содержит антигенсвязывающий домен, который селективно связывается с TRBC1, где указанный антигенсвязывающий домен содержит  
10 варьируемую область тяжелой цепи (VH) и варьируемую область легкой цепи (VL),  
которые содержат следующие определяющие комплементарности участки (CDR):

VH CDR1: SEQ ID NO: 7;

VH CDR2: SEQ ID NO: 8;

VH CDR3: SEQ ID NO: 9;

VL CDR1: SEQ ID NO: 10;

15 VL CDR2: SEQ ID NO: 11; и

VL CDR3: SEQ ID NO: 12.

12. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая CAR по п. 11.

13. Вектор экспрессии, который содержит молекулу нуклеиновой кислоты по п. 12.

14. Способ получения клетки по п. 10, который включает этап трансдукции или  
20 трансфекции клетки молекулой нуклеиновой кислоты по п. 12 или вектором по п. 13.

15. Клетка по п. 10 для применения в способе лечения TRBC1<sup>+</sup> Т-клеточной лимфомы или лейкемии у индивидуума, который включает этап введения клетки, содержащей TRBC1-селективный CAR индивидууму, для того чтобы вызвать селективное истощение  
25 популяции злокачественных Т-клеток, вместе с нормальными Т-клетками,  
экспрессирующими ту же TRBC, что и злокачественные Т-клетки, но не вызвать истощение популяции нормальных Т-клеток, экспрессирующих TRBC, которая не экспрессируется злокачественными Т-клетками.

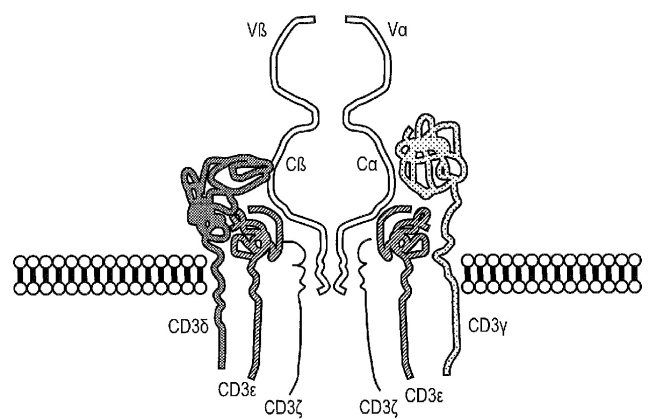
16. Клетка для применения по п. 15, где способ также включает этап исследования константной области TCR бета (TRBC) злокачественной Т-клетки от индивидуума,  
30 чтобы определить, экспрессирует она TRBC1 или TRBC2.

17. Клетка для применения по п. 15 или 16, где Т-клеточная лимфома или лейкемия выбрана из периферической Т-клеточной лимфомы, неутонченной (ПТКЛ-НУ); ангиоиммунобластной Т-клеточной лимфомы (АИТКЛ), анапластической  
35 крупноклеточной лимфомы (АККЛ), Т-клеточной лимфомы, ассоциированной с энтеропатией (ТКЛЭ), гепатоспленической Т-клеточной лимфомы (ГСТЛ),  
экстранодальной НК/Т-клеточной лимфомы назального типа, Т-клеточной лимфомы кожи, первичной АККЛ кожи, Т-клеточной пролимфоцитарной лейкемии и Т-клеточной острой лимфобластной лейкемии.

18. Способ лечения Т-клеточной лимфомы или лейкемии у индивидуума, включающий  
40 этап введения в эффективном количестве цитолитической Т-клетки, содержащей химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий антигенсвязывающий домен,  
который селективно связывается с константной областью TCR бета (TRBC) указанному субъекту, чтобы вызвать селективное истощение злокачественных Т-клеток вместе с  
нормальными Т-клетками, экспрессирующими ту же TRBC, что и злокачественные Т-  
45 клетки, но не вызывать истощения нормальных Т-клеток, экспрессирующих TRBC,  
которую не экспрессируют злокачественные Т-клетки, где указанная TRBC выбрана из TRBC1 и TRBC2.

1

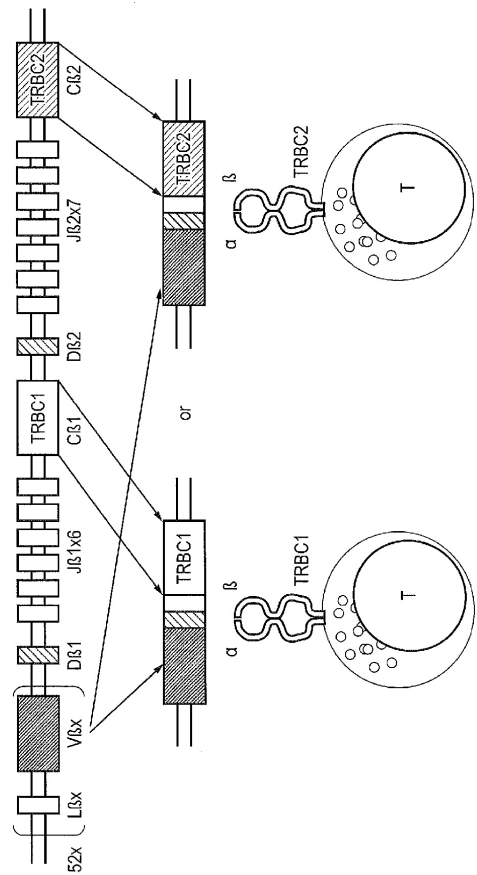
1/27



ФИГ. 1

2

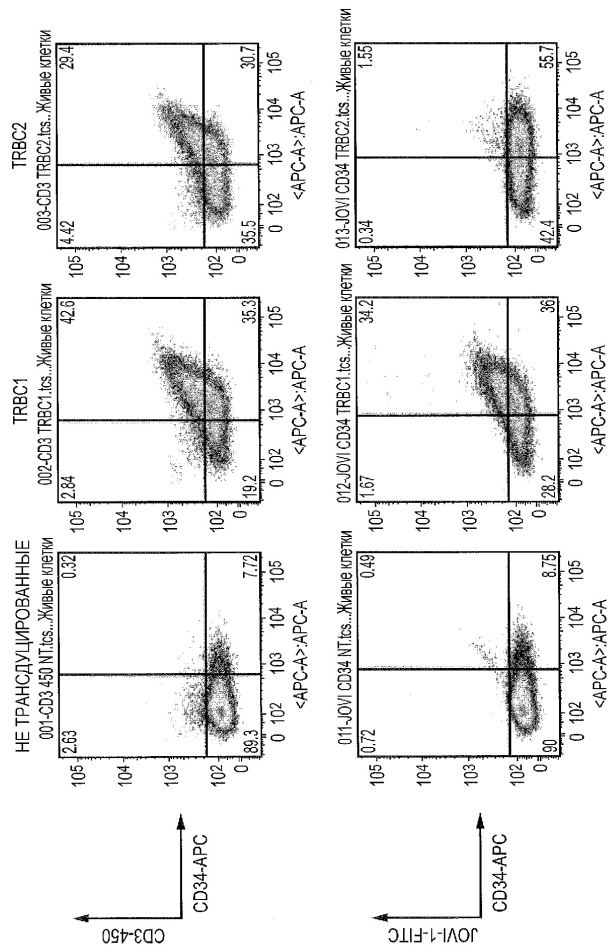
2/27



ФИГ. 2

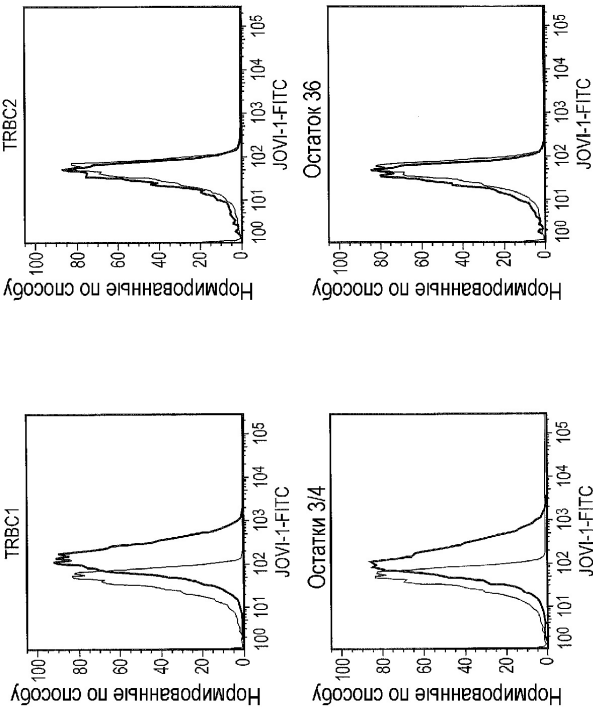
TRBC1	1	DI	KNVFPPEVAVFPPEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWVNGKEVHSGVSTDPFO
TRBC2	1	DI	KNVFPPEVAVFPPEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWVNGKEVHSGVSTDPFO
TRBC1	61	PL	KEOPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPNNHPRNHFRCVOFYGLSENDETODRAKPVTOIV
TRBC2	61	PL	KEOPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPNNHPRNHFRCVOFYGLSENDETODRAKPVTOIV
TRBC1	121	SA	AWGRADCGFTTSVSYOQGVLSATILLYEILLGKATLVAVLVSAIVLVAMVKRKD
TRBC2	121	SA	AWGRADCGFTTSVSYOQGVLSATILLYEILLGKATLVAVLVSAIVLVAMVKRKD

ФИГ. 3



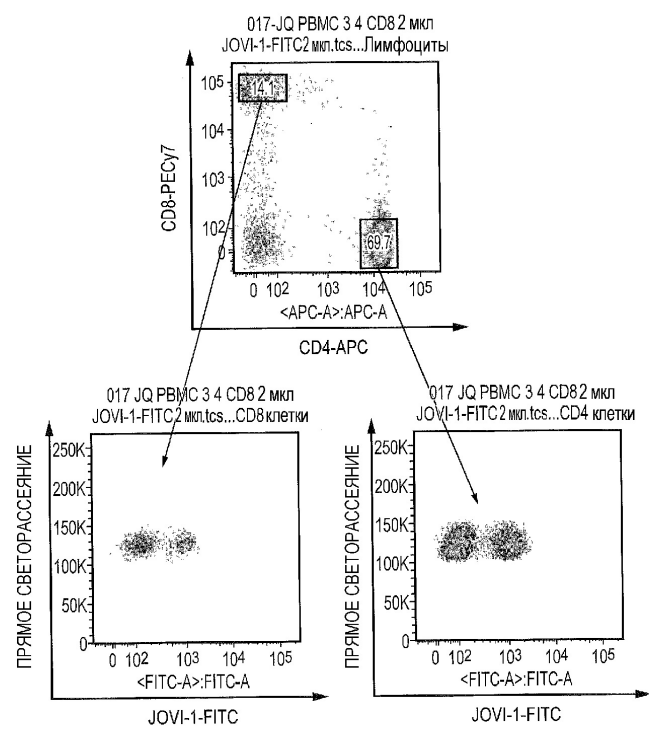
ФИГ. 4

5/27



ФИГ. 5

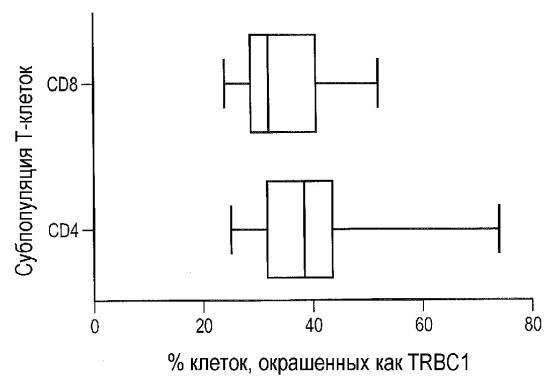
6/27



ФИГ. 6

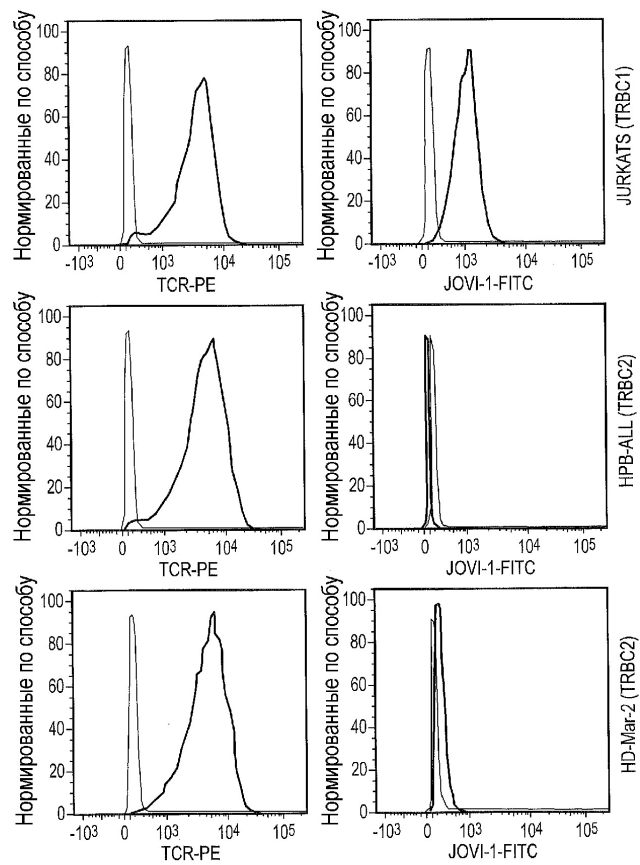


7/27



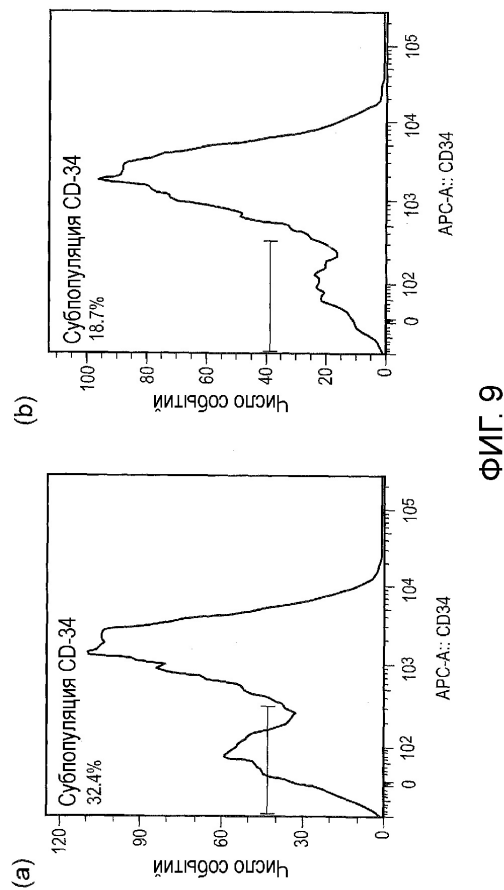
ФИГ. 7

8/27

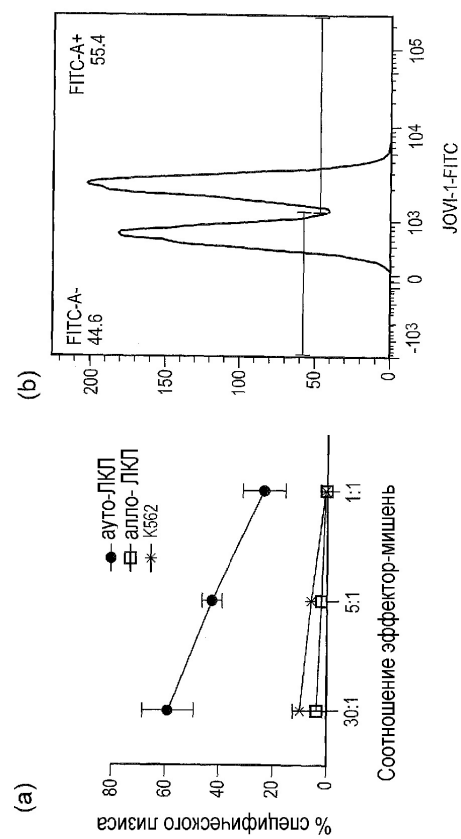


ФИГ. 8

9/27



10/27



ФИГ. 10

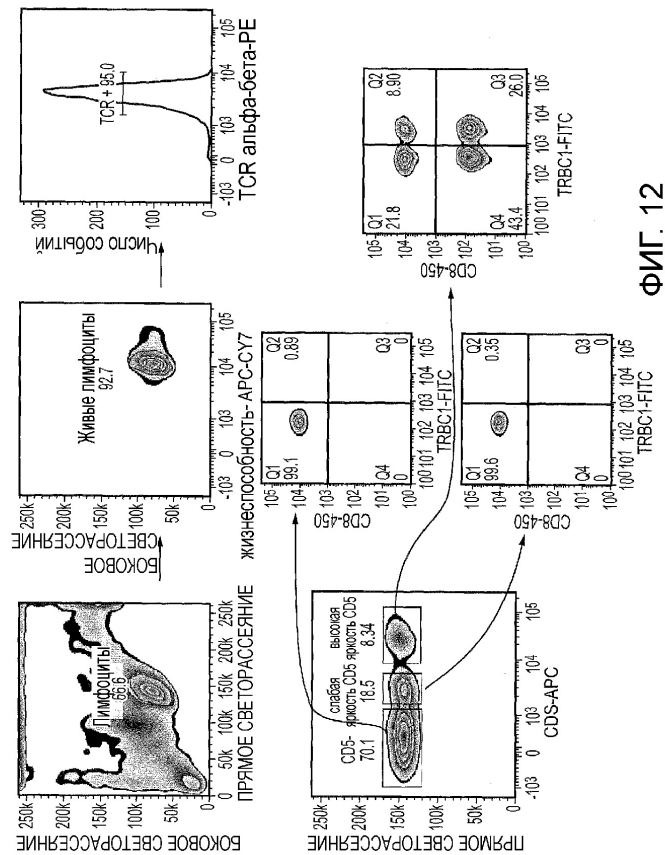
11/27

>VH  
EVRLLQQSGPDLIKPGASVKMSCKASGYTFTGYVMHWVKQRP  
GQGLEWIGFINPYNDDIQSNERFRGKATLTSDKSSTTAYMELSS  
LTSEDSAVYYCARGGAGYNFDGAYRFFDFWQGTTLTVSS

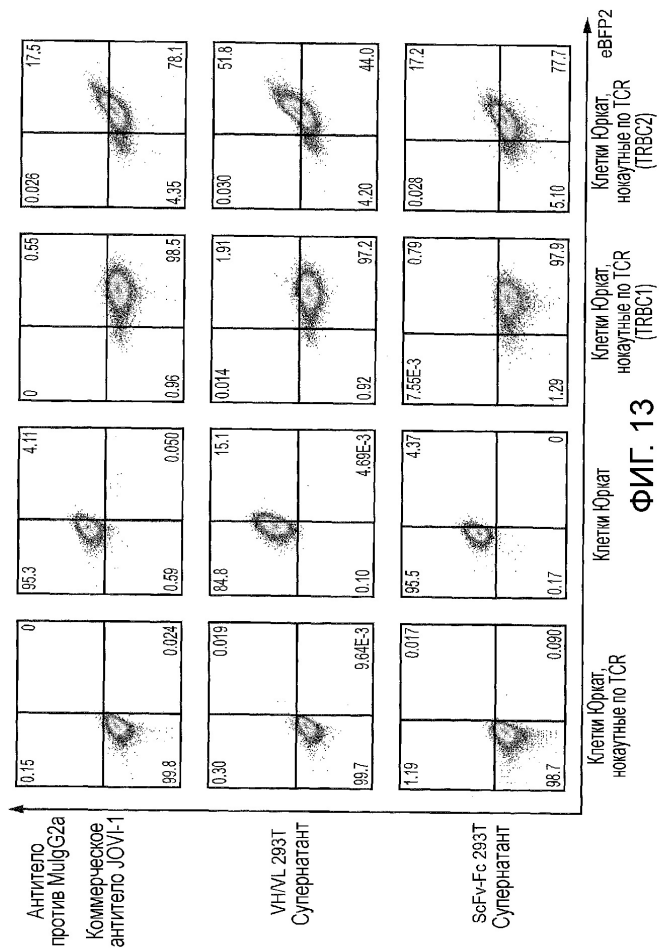
>VL  
DVVMTQSPLSLPVSLGDQASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYL  
QKPGQSPKLLIYRVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAE  
DLGIYFCSQSTHVPYTFGGGTKLEIKR

ФИГ. 11

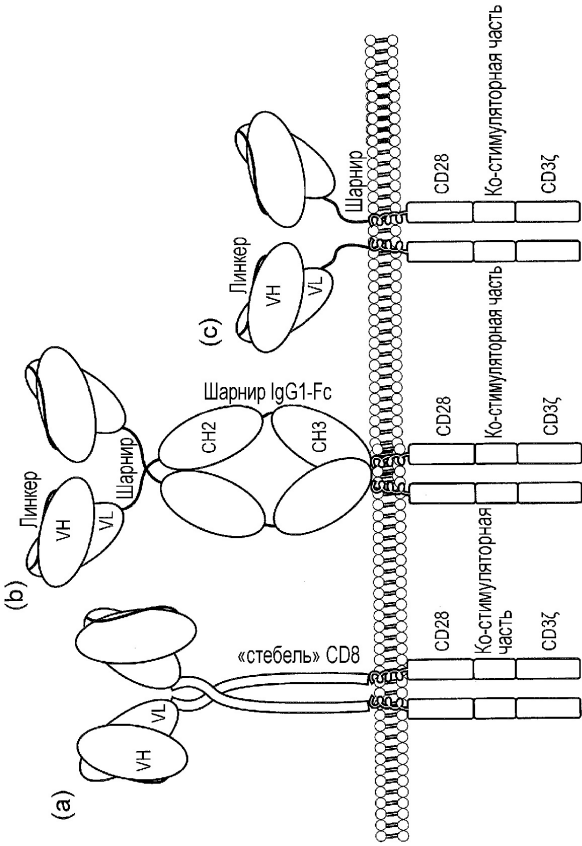
12/27



ФИГ. 12



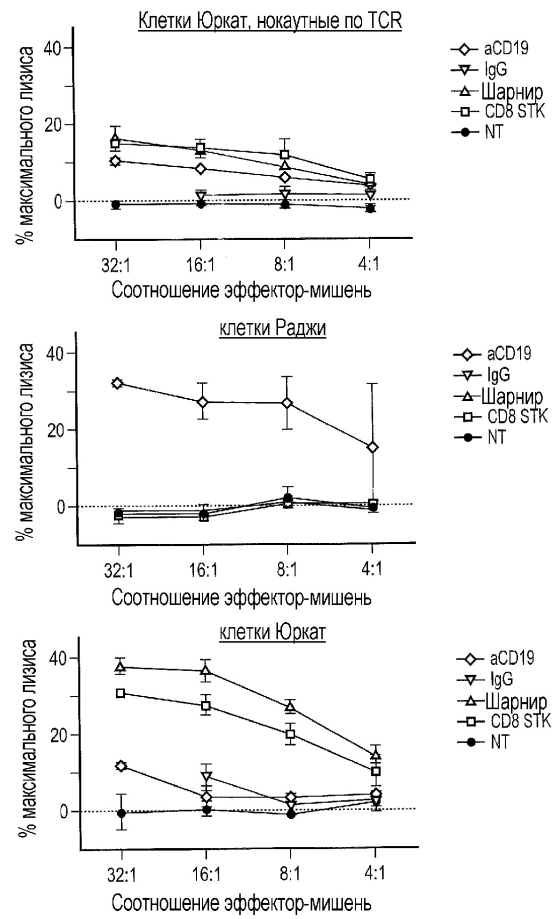
14/27



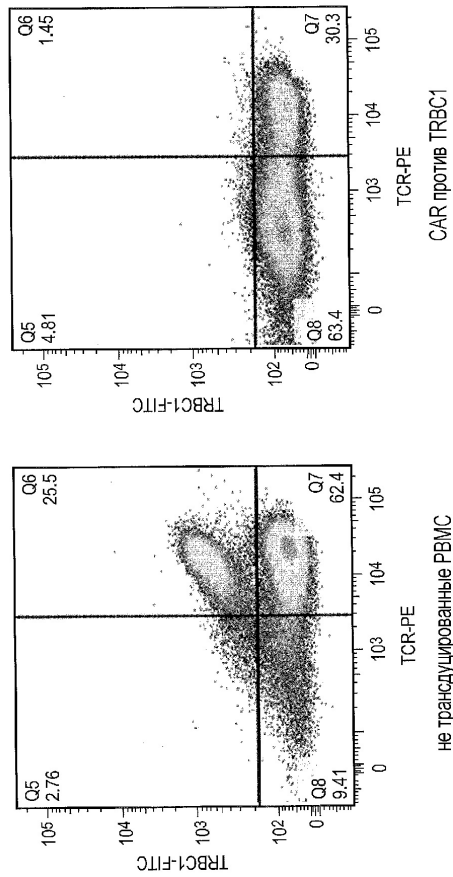
ФИГ. 14



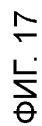
15/27

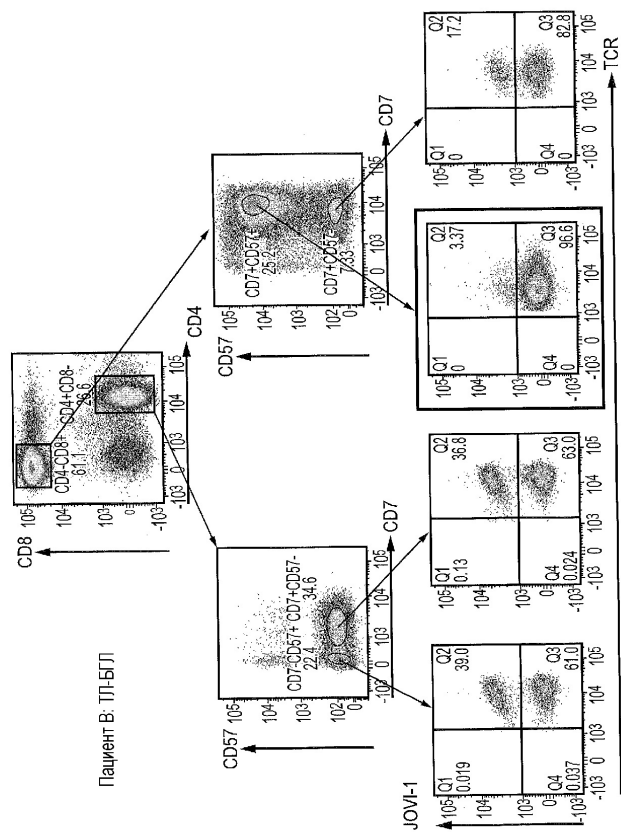


ФИГ. 15

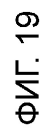


ФИГ. 16

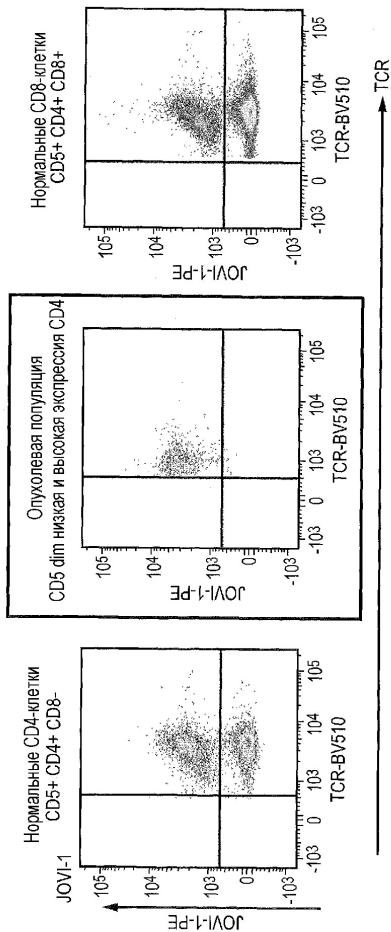




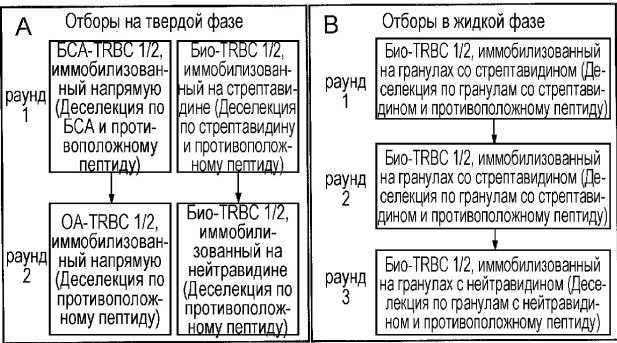
ФИГ. 18



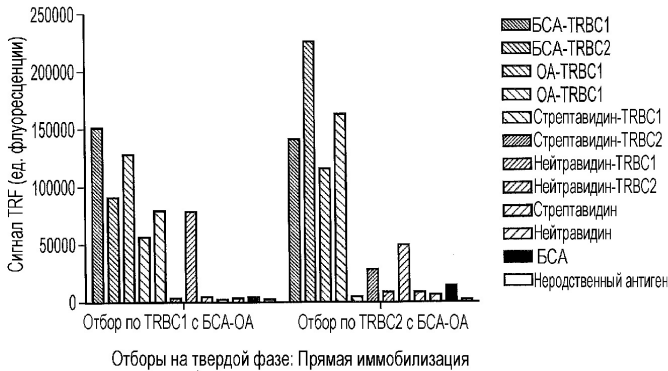
20/27



Пациент Д ПТКЛ-НУ  
ФИГ. 20

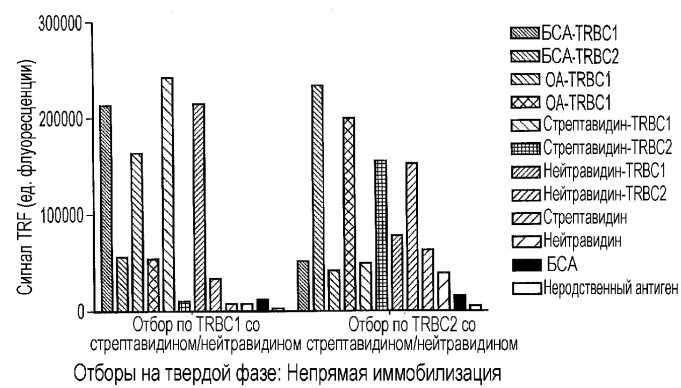


ФИГ. 21

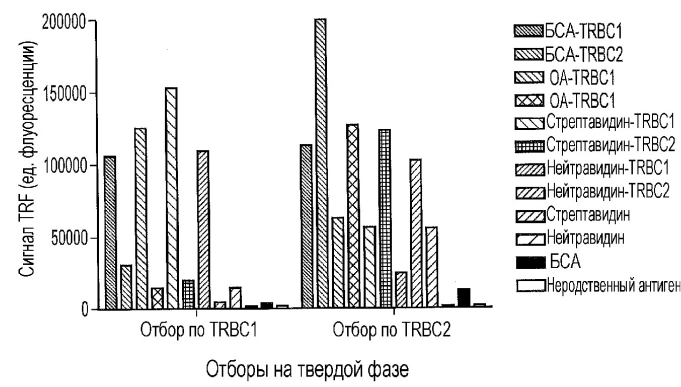


ФИГ. 22А

22/27



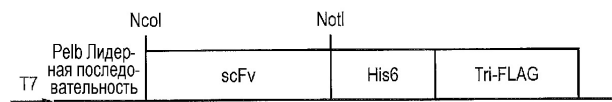
ФИГ. 22В



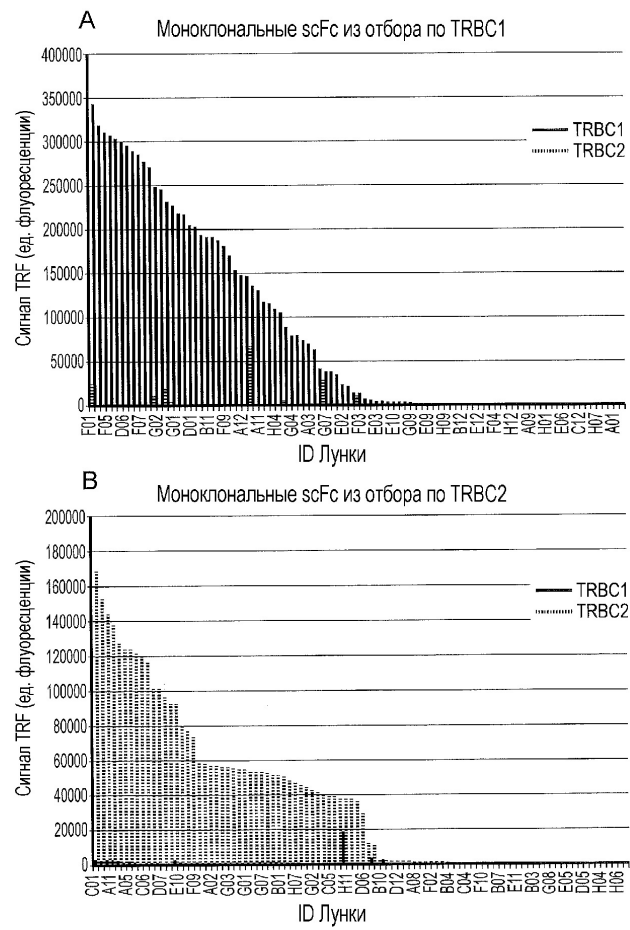
ФИГ. 22С



23/27

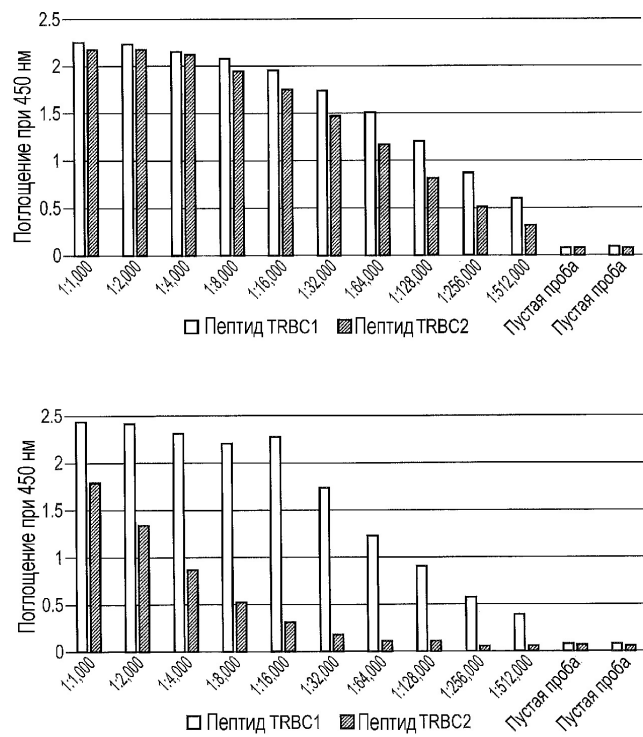


ФИГ. 23



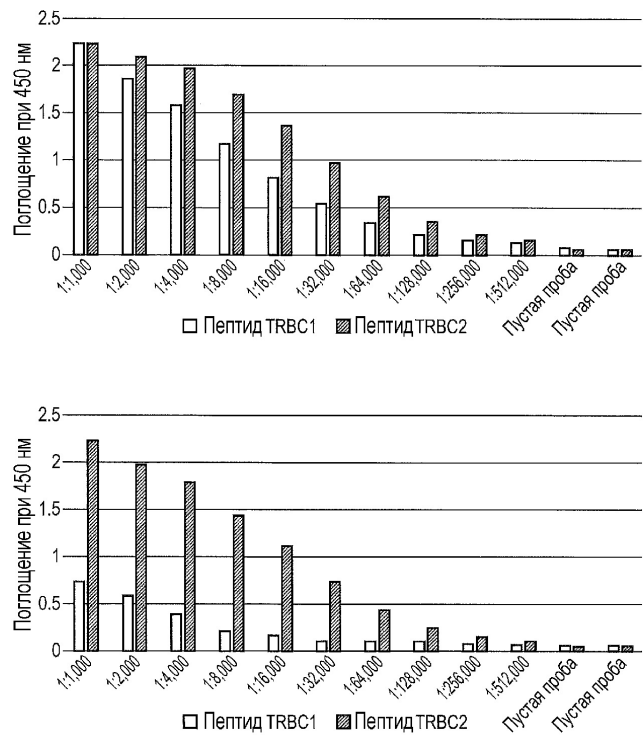
ФИГ. 24

25/27



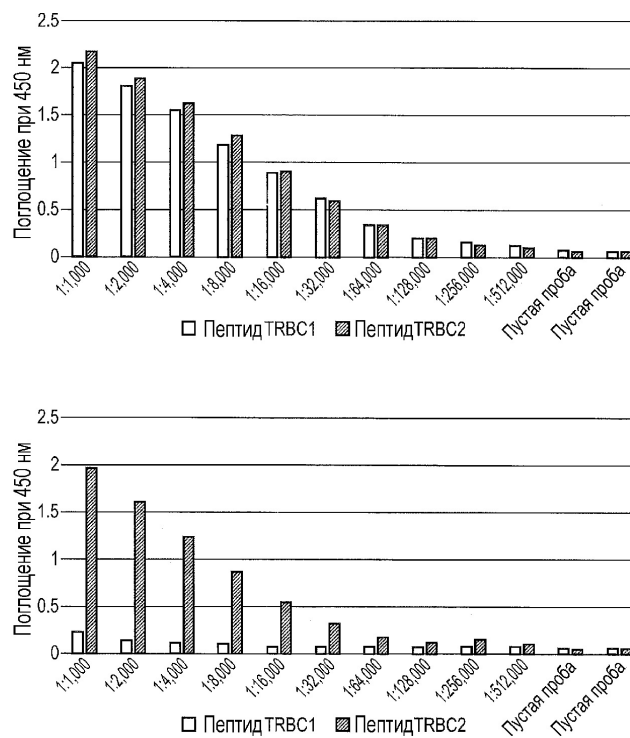
ФИГ. 25

26/27



ФИГ. 26

27/27



ФИГ. 27