

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①1 N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 656 532

②1 N° d'enregistrement national :

89 17443

⑤1 Int Cl⁵ : A 61 K 39/395; G 01 N 33/577

①2

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 29.12.89.

③0 Priorité :

④3 Date de la mise à disposition du public de la demande : 05.07.91 Bulletin 91/27.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de recherche : *Se reporter à la fin du présent fascicule.*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE (INSERM) — FR.

⑦2 Inventeur(s) : Bensussan Armand et Boumsell Laurence.

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire : Cabinet Regimbeau Martin Schrimpf Warcoin Ahner.

⑤4 Protéine antigénique présente sur des cellules SAT, anticorps correspondants et leurs applications.

⑤7 La présente invention concerne une protéine antigénique caractérisée en ce qu'il s'agit de la protéine $\gamma \delta 1$ ou d'un dérivé de cette protéine, à savoir la protéine $\gamma \delta 1$ non glycosylée ou comportant des glycosylations non naturelles ou un fragment de la protéine $\gamma \delta 1$ ayant les sites antigéniques essentiels de la protéine $\gamma \delta 1$, glycosylé ou non glycosylé, la protéine $\gamma \delta 1$ étant:
- une glycoprotéine de 110 ± 10 kDa,
- exprimée sur certaines cellules T portant l'hétérodimère $\gamma \delta$.

Elle concerne également les anticorps dirigés contre cette protéine, les trousse de diagnostic comportant ladite protéine ou les anticorps et un médicament comportant à titre de principe actif la protéine selon l'invention ou les anticorps correspondants.

FR 2 656 532 - A1



La présente invention concerne notamment une protéine antigénique présente sur des cellules sTA, ainsi que les anticorps correspondants et leurs applications.

5 Ces cellules sTA constituent un sous groupe des lymphocytes T CD3⁺ portant un type particulier de récepteur antigénique (TcR). Les TcR sont des glycoprotéines hétérodimériques associées de façon non covalente au complexe CD3. La plupart des lymphocytes T du thymus et des tissus lymphoïdes périphériques expriment un TcR de 90 kDa composé de deux sous-unités α et β . Mais un petit pourcentage de thymocytes, cellules
10 spléniques et lymphocytes sanguins périphériques présente une forme de TcR alternative $\gamma\delta$, de spécificité mal connue.

Jusqu'à présent les sous-populations de lymphocytes T $\gamma\delta$ ont été définies par des Ac monoclonaux contre des régions variables du TcR ou par caractérisation biochimique de la forme moléculaire du TcR. Mais on n'a
15 pas rapporté d'Ac caractérisant fonctionnellement un sous-ensemble de cellules TcR $\gamma\delta$ spécialisées.

C'est pourquoi, la présente invention concerne plus particulièrement une protéine appelée $\gamma\delta 1$.

20 Cette protéine est portée par une fraction de cellules T qui ne répondent pas vigoureusement à une stimulation par CD3. Ces cellules sTA se trouvent dans le sang d'individus normaux, mais sont surtout isolées de sang de patients, soit ayant subi une transplantation de moelle osseuse, soit de leucémiques en rémission complète.

25 La présente invention concerne plus particulièrement une protéine antigénique caractérisée en ce qu'il s'agit de la protéine $\gamma\delta 1$ ou d'un dérivé de cette protéine à savoir la protéine $\gamma\delta 1$ non glycosylée ou comportant des glycosylations non naturelles ou un fragment de la protéine $\gamma\delta 1$ ayant les sites antigéniques essentiels de la protéine $\gamma\delta 1$, glycosylé ou non glycosylé, la protéine $\gamma\delta 1$ étant :

- 30
- une glycoprotéine de 110 ± 10 kDa,
 - exprimée sur certaines cellules T portant l'hétérodimère $\gamma\delta$.

Cette protéine est un Ag d'activation produit par un sous-ensemble de cellules à un stade (jour 4) du cycle de stimulation, ces cellules ayant sans doute une activité cytotoxique, stimulables par IL2.

5 Cette glycoprotéine $\gamma\delta 1$ est caractérisée par un poids moléculaire de 110 ± 10 kDa, déterminé en conditions réductrices. En conditions non réductrices, sa masse apparente déterminée par immunoprécipitation et migration en SDS est de 103 kDa. Elle est différente de la molécule CD26 précédemment décrite, ainsi que de CD30, CD31.

10 $\gamma\delta 1$ peut être obtenu par l'action d'un Ac spécifique sur le surnageant de culture de cellules sTA. L'invention concerne également les anticorps, notamment les anticorps monoclonaux dirigés contre cette protéine, et particulièrement l'Ac monoclonal spécifique de $\gamma\delta 1$ décrit dans les exemples, obtenu par immunisation de souris BALB/c de 6 semaines par voie I.P. et I.V. (voir matériel et méthodes) par le clone de
15 cellules DS6 et par la technique des hybridomes. Cet Ac est une IgG1.

L'invention concerne également l'expression de cette protéine par des techniques d'ADN recombinant chez les eucaryotes ou les procaryotes.

20 Elle concerne également l'obtention de cette protéine par purification à partir de cellules productrices, par des techniques d'immunoprécipitation ou d'autres techniques.

L'invention concerne également l'emploi de cette protéine ou des anticorps correspondants à titre de médicament pour le traitement notamment dans des processus tumoraux, éventuellement en coopération
25 avec d'autres produits anticancéreux.

L'invention concerne également l'emploi de la protéine ou de l'Ac correspondant dans un but diagnostic d'états pathologiques.

Elle concerne également l'emploi de ces molécules dans le suivi du traitement d'affection ou comme voyant d'apparition de ces affections.

30 Les exemples ci-après permettront de mieux comprendre les autres avantages et caractéristiques de la présente invention.

Sur les dessins annexés,

- 5
- la figure 1 représente la cinétique d'expression de la molécule $\gamma\delta 1$ sur des clones de cellules T, DS6, L10 et D1, stimulés par PHA et des cellules nourricières ; les études ont été pratiquées par analyse par tri des cellules activées par fluorescence ; DS6 et D1 sont des clones exprimant les TcR $\gamma\delta$ et TcR $\alpha\beta$ liés par liaison disulfure, provenant du sang d'un patient après transplantation de moëlle osseuse ; L10 est un clone exprimant le TcR $\gamma\delta$ lié par liaison disulfure, provenant du sang d'un individu normal ;

10

 - la figure 2 représente l'analyse SDS-PAGE d'immunoprécipités d'anti- $\gamma\delta 1$ provenant de lysat de cellules DS6 ; le lysat de cellules marquées à l'iode-125 utilisé pour l'immunoprécipitation est un lysat à 1 % de NP40 provenant de cellules DS6 ; les anticorps utilisés pour l'immunoprécipitation sont des anti- $\gamma\delta 1$ (lignes 1 et 2) et CD26 "TA1" (lignes 3 et 4) ; les immunoprécipités ont été réalisés en conditions réductrices (lignes 1 et 3) ou non réductrices (lignes 2 et 4) sur SDS-PAGE 7,5 % ;

15

 - des marqueurs Mr(10^{-3}) sont indiqués sur la gauche du gel.

MATERIELS ET METHODES

20 Production d'anticorps anti- $\gamma\delta 1$.

Une souris BALB/c ayant 6 semaines est immunisée par voie intrapéritonéale avec 20×10^6 cellules du clone cellulaire DS6 T déjà décrit (19). Deux semaines plus tard, une seconde injection intrapéritonéale de 20×10^6 cellules est effectuée, et une semaine plus tard 10×10^6 cellules sont injectées par voie intrapéritonéale et 20×10^6 cellules sont injectées par voie intraveineuse. Quatre jours après la dernière immunisation, les cellules sont collectées à partir de la rate et sont fusionnées avec des cellules de myelome NS-1. Les cultures d'hybridomes sont effectuées en suivant les protocoles connus.

25

30 Les surnageants d'hybridomes sont testés pour leur réactivité sélective avec les cellules DS6 en utilisant l'immunofluorescence indirecte et une cytométrie de flux.

Le surnageant de l'une des 822 cultures d'hybridomes réagit violemment avec les cellules DS6 et ne marque pas 5 clones de cellules T exprimant TcR $\alpha\beta$. Cette culture dénommée anti- $\gamma\delta 1$ est clonée deux fois par la technique de dilution en limite. Les hybridomes clonés sont passés à plusieurs reprises par injection intrapéritonéale dans des souris BALB/c (primées avec du pristane). Les ascites sont collectées, ultracentrifugées et purifiées par affinité sur une colonne de protéine A sepharose. L'anticorps est un IgG1.

Isolement de population cellulaire

Des cellules mononuclées de sang périphérique humain (PBMC) sont préparées par centrifugation en gradient de densité Ficoll-Isopaque. La population non fractionnée est séparée entre populations négative au test rosette (E^-) et positive au test de rosette (E^+), ceci par test de rosette sur des erythrocytes de mouton à 5 %. Le mélange de test est étalé sur Ficoll-Isopaque et les populations E^- et E^+ sont séparées par centrifugation. Les cellules E^- sont récupérées à partir de l'interface, tandis que les cellules E^+ sont obtenues sous forme de culot après lyse hypotonique des erythrocytes de mouton. Les cellules du sang périphérique CD3/TcR $\gamma\delta$ sont obtenues par sélection en utilisant l'immunofluorescence directe et le microfluoromètre Facstar (Becton Dickinson Mountain View, CA). Les monocytes sont obtenus à partir des cellules E^- par adhérence sur du verre une nuit. Les lymphocytes granulaires de grande taille sont obtenus par gradient percoll. Environ 10^8 PBMC sont étalés sur un percoll 7-étapes (Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Sweden). Le gradient discontinu contenant des couches de 1,5 ml donne 42,5, 45,0, 47,5, 50,0, 52,5, 55,0 et 66,7 % de Percoll ajusté à 285 mOsm/kg H₂O avec 10 x PBS, pH 7,3, avant utilisation. L'analyse FACS montre que les fractions correspondantes au LGL ne réagissent pas avec des anticorps monoclonaux OKT3 mAb. Les cellules thymiques sont isolées selon la procédure standard (Gelin C. et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 81:4912). Les lignées cellulaires leucémiques et les lignées de cellules B transformés par EBV sont exempts de mycoplasme et maintenus en croissance logarithmique dans un milieu RPMI-1640 contenant 15 % de sérum de veau foetal et des antibiotiques.

Des échantillons de sang cryoconservés provenant de patients ayant une leucémie lymphocytaire aigüe et une leucémie myelocytaire aigüe, ainsi que des échantillons de moelle osseuse cryoconservée provenant de donneurs volontaires sains, ont été fournis par la banque du sang de l'Hôpital Saint Louis.

Clones de cellules T humaines.

Les cellules T clonées sont obtenues à partir du sang de patients présentant un immunodéficit prolongé après une transplantation de moelle osseuse allogénique (Vilmer E. et al., 1988, J. Clin. Invest. 82:755), ou de patients présentant une leucémie lymphoblastique aigue non-T, non-B en complète rémission (Bensussan A. et al., Blood (sous presse)). En plus, les clones TcR $\gamma\delta$ sont également dérivés à partir du sang d'individus normaux et sont obtenus en suivant le procédé déjà décrit précédemment (David V. et al. Scand. J. Immunol. 27:473). Des clones de cellules T portant TcR $\alpha\beta$ et TcR $\gamma\delta$ sont isolées de chaque individu. Les cellules T clonées sont obtenues par la technique de dilution limite dans laquelle les PBMC sont étalées à une concentration de 0,3 cellule par puits dans une plaque à 96 puits ayant un fond en V (Greiner, Nürtingen, FRG). Les plaques sont tout d'abord alimentées avec des couches nourricières contenant du matériau autologue irradié (6×10^4 cellules par puits) dans un milieu complet contenant 25 U/ml de rIL2 (Roussel Uclaf, Romainville, France) et 1 $\mu\text{g/ml}$ de PHA (Wellcome, Beckenham, UK). Le milieu de culture utilisé est RPMI 1640 (GIBCO, Paisley, Scotland) auquel on a ajouté 10 % de sérum AB humain inactivé par la chaleur, avec 2 mmol/l de L-glutamine et de la pénicilline (100 U/ml) streptomycine (100 $\mu\text{g/ml}$). Après 72 heures, le milieu de culture est remplacé et les clones sont soumis à un milieu contenant rIL2 et les cellules en croissance sont expansées comme cela était décrit précédemment (David V. et al., 1987, J. Immunol. 138:2831). Le sous-clonage est effectué dans les mêmes conditions de culture à 0,3 cellules par puits. Les cellules reclonées sont restimulées chaque 12 jours en présence de couches nourricières dans une plaque à 96 puits présentant un fond en V (5×10^4 cellules clonées sont étalées avec 5×10^4 PBMC irradié dans chaque puits).

Analyse phénotypique des antigènes de surfaces cellulaires

L'analyse phénotypique est effectuée par immunofluorescence indirecte avec un F(ab')₂IgG de chèvre anti-souris conjugué avec la fluorescéine. Des échantillons sont analysés sur un cytofluorographe (Facstar, Becton-Dickinson, Mountain View, CA). 10⁴ cellules sont analysées dans chaque échantillon. Les ascites dérivées d'un hybridome non réactif sont utilisées comme témoin négatif pour déterminer la fluorescence correspondant à un bruit de fond. Les anticorps monoclonaux WT31 et BMA031, qui réagissent avec les déterminants partagés sur les molécules humaines constantes T α β ont été respectivement fournis par le Docteur J.E. de Vries (Unicet Laboratories, Dardilly, France) et le Docteur A. Musitelli (Behring, Rueil, France). L'anticorps monoclonal anti-TCR δ 1 est réactif avec un épitope constant de la chaîne TcR δ (les ascites ont été communiquées par le Dr. M. Brenner, DFCI, Boston MA). L'anticorps monoclonal BB3 qui détecte V δ 2 était communiqué par le Dr. A. Moretta (INRC, Gêne, Italie et TCS1 qui réagit avec V δ 1 a été acheté chez T Cell Science, Cambridge, Ma. CD4, CD8 et CD3 ont été produits dans notre laboratoire.

Etudes biochimiques

Les protéines de surface cellulaire ont été marquées par iodination catalysée à la lactoperoxidase comme cela a été décrit par Hubbard A.L. et Cohn Z.A., 1976 In Biochemical analysis of membranes. A.H. Maddy, ed. Chapman & Hall, London, p. 427. Les cellules sont alors lysées (2x10⁷/ml) par maintien pendant 15-30 mn à 0°C dans un tampon de lyse (10mM Tris-HCl, pH 7,4, contenant 1 % (poids/volume) Nonidet P40, 0,15 M NaCl, 1 mg/ml d'albumine de sérum bovin (BSA) et 2 mM de fluorure de phényl-méthylsulphonyle, 20mM d'iodoacétamide et de l'aprotinine 1 unité internationale (Sigma) comme inhibiteur de protéase). Les noyaux sont éliminés par centrifugation pendant 10 mn à 2000 g et le surnageant est centrifugé pendant 30 mn à 100 000 g 4°C. Après centrifugation, les lysats sont dialysés à 4°C pendant une nuit pour éliminer le matériel radioactif dialysable. Les lysats cellulaires sont préclarifiés de façon très

importante avec des billes de protéines A sepharose 4B liées à CD18. Des aliquots des lysats préclarifiés sont absorbés séquentiellement soit par anti- $\gamma\delta 1$ ou anti-Tal (les ascites ayant été communiquées par Dr. E. Reinherz DFCl, Boston, MA) ces anticorps étant réticulés sur de la protéine A-sepharose (5 à 10 mg d'anticorps purifiés par ml de gel) en utilisant le diméthylpimelimidate -Hcl comme cela est décrit (Schneider C. et al., 1982, J. Biol. Chem. 257:766). Les aliquots de lysats spécifiquement appauvris sont alors immunoprécipités soit par des anti-Tal soit par des anti- $\gamma\delta 1$. Les précipités immuns sont lavés, élués en conditions réductrice et non réductrice et analysés sur 7,5 % SDS-PAGE. L'autoradiographie des plaques de gel séchées est effectuée à -70°C . Les poids moléculaires sont calculés par référence à la mobilité de protéines standards.

Essais de calcium ionisé intracellulaire

La procédure utilisée pour la mesure de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ dans des cellules uniques a été décrit par Rabinovitch P.S. et al., 1986, J. Immunol. 137:952).

Exemple 1

Spécificité des anticorps monoclonaux anti- $\gamma\delta 1$

De façon à obtenir des anticorps monoclonaux contre les structures de surface TcR $\gamma\delta$ des cellules, on immunise des souris avec des cellules portant les structures TcR $\gamma\delta$ comme cela était décrit précédemment, puis on compare les surnageants des différents hybridomes par capacité à se lier avec les cellules ayant servi à l'immunisation et à ne pas se lier avec des clones de cellules T autologue exprimant l'hétérodimérique $\alpha\beta$ TcR. L'anticorps correspondant est nommé anti- $\gamma\delta 1$ et purifié à partir des fluides d'ascites pour des expériences complémentaires.

Le tableau I rassemble les résultats observés avec les anti- $\gamma\delta 1$ purifiés et montre qu'ils reconnaissent une structure exprimée par la majorité des clones TcR $\gamma\delta$.

Parmi les cellules clonées exprimant TcR $\alpha\beta$, seuls 3 des 18 clones $\text{CD4}^{-}\text{CD8}^{+}$, et un des deux clones $\text{CD4}^{-}\text{CD8}^{-}$ sont marqués par l'anti- $\gamma\delta 1$.

En tout état de cause, aucun des 20 $\text{CD4}^{+}\text{CD8}^{-}$ ne réagit avec l'anticorps et en accord avec ces dernières observations, les lymphocytes de

sang périphérique de différents individus, y compris les donneurs des clones de cellules $T\gamma\delta 1^+$ stimulés avec la PHA aussi bien que les cellules PB non T stimulées avec PWM sont trouvés comme n'étant pas réactifs avec les anti- $\gamma\delta 1$ à différents stades après la stimulation. L'analyse de l'expression de $\gamma\delta 1$ par des clones NK $CD3^-$ montre que l'un des 5 clones est réactif avec l'anti- $\gamma\delta 1$.

L'absence de la réactivité anti- $\gamma\delta 1$ sur des cellules de sang périphérique au repos, grands lymphocytes granuleux, les thymocytes, les cellules de rate et les cellules de moelle osseuse, les cellules de lignées de cellules B et les populations tumorales, affirme que l'anti- $\gamma\delta 1$ définit une structure exprimée sur des cellules d'une population très restreinte. En outre, des cellules $TcR\gamma\delta$ au repos ne se marquent pas avec des anti- $\gamma\delta 1$, ce qui confirme que cet anticorps monoclonal est uniquement réactif avec une sous-population de cellules activées. En outre, il est intéressant de noter qu'aucune des 7 lignes tumorales, incluant la lignée cellulaire Peer, exprimant le $TcR \gamma\delta$ ne montre de réactivité avec l'anti- $\gamma\delta 1$. Ainsi, la croissance continue des cellules in vitro n'induit pas l'expression $\gamma\delta 1$.

Exemple 2

Cinétique d'expression de $\gamma\delta 1$ pendant le cycle de stimulation des clones de cellules T.

L'anti- $\gamma\delta 1$ ne marque pas les cellules $TcR\gamma\delta$ qui viennent d'être isolées du sang périphérique, mais apparaît après un un temps d'activation assez long dans les populations de cellules clonées.

La figure 1 montre l'expression de $\gamma\delta 1$ sur trois clones de cellules T représentatives à différents intervalles après leur stimulation avec la PHA.

L'intensité de la réaction anti- $\gamma\delta 1$ sur les clones $\gamma\delta 1$ positifs est maximale 4 jours après la stimulation et décroît de façon significative au jour 10 ou 12.

Le niveau de l'expression $\gamma\delta 1$ varie suivant les clones mais est indépendant de la nature du stimulus appliqué puisque les résultats sont obtenus de la même façon lorsque l'on utilise d'autres modes de stimulation.

Exemple 3Caractérisation biochimique des clones cellulaires T DS6 portant $\gamma\delta 1$.

De façon à caractériser la structure moléculaire reconnue par l'anticorps anti- $\gamma\delta 1$ des cellules DS6 sont marquées en surface avec de l'iode 125 et la lactoperoxydase.

Comme cela est indiqué dans la figure 2, les anticorps monoclonaux anti- $\gamma\delta 1$ immunoprécipitent une bande unique ayant une masse moléculaire apparente de 103 kDa en condition non réductrice (ligne 2). Cette bande n'est pas présente dans l'immunoprécipité de contrôle.

En condition réductrice, la bande se déplace et apparaît à un poids moléculaire de 110 kDa (ligne 1). Compte tenu du fait que $\gamma\delta 1$ est présent sur certaines cellules activées, il est important de comparer cette molécule à des structures déjà décrites de 103-105 kDa ayant une distribution moléculaire analogue et dénommée molécule CD26 et qui sont reconnues par l'anticorps monoclonal Ta1. Les essais effectués montrent que la molécule CD26 et $\gamma\delta 1$ sont des molécules différentes.

20

25

30

Tableau I
Réactivité d'anti- $\gamma\delta$ I avec des cellules humaines hématopoïétiques variées

<u>Cellules testées</u>	<u>Nombre de positives (*) / nombre de testées</u>
A. Clones de cellules dépendantes de rIL2 CD3/TcR $\gamma\delta^+$, CD4 ⁻ et CD8 ⁻ CD3/TcR $\gamma\delta^+$, CD4 ⁻ et CD8 ⁺ CD3/TcR $\alpha\beta^+$, CD4 ⁺ et CD8 ⁻ CD3/TcR $\alpha\beta^+$, CD4 ⁻ et CD8 ⁺ CD3/TcR $\alpha\beta^+$, CD4 ⁻ et CD8 ⁻	16/27 4/6 0/20 3/18 1/2 1/5
B. Populations de cellules hématopoïétiques normales cellules du sang périphérique E ⁺ , cellules de sang périphérique E ⁻ , grands lymphocytes granuleux, cellules de sang périphérique CD3/TcR $\gamma\delta^+$, monocytes, thymocytes, cellules spléniques et cellules de moëlle osseuse	0/5
C. Lignées de cellules leucémiques Rex, Jurkat, CEM, K562, Peer, U937 et HL60	0/7
D. Cellules malignes leucémie aiguë lymphocytaire (T, B ou non-T, non-B) leucémie aiguë myélocytaire	0/4
E. Lignée de cellules B lignée de cellules B transformées par le virus EB	0/10

(*) Réactivité de différentes populations cellulaires analysée par cytométrie de flux : + => 50% et - =< 10%

REVENDEICATIONS

5 1) Protéine antigénique caractérisée en ce qu'il s'agit de la protéine $\gamma\delta 1$ ou d'un dérivé de cette protéine, à savoir la protéine $\gamma\delta 1$ non glycosylée ou comportant des glycosylations non naturelles ou un fragment de la protéine $\gamma\delta 1$ ayant les sites antigéniques essentiels de la protéine $\gamma\delta 1$, glycosylé ou non glycosylé, la protéine $\gamma\delta 1$ étant :

- une glycoprotéine de 110 ± 10 kDa,
- exprimée sur certaines cellules T portant l'hétérodimère $\gamma\delta$.

10 2) Protéine selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comporte un marquage permettant son dosage in vitro ou sa localisation in vivo ou ex vivo.

3) Anticorps dirigé contre une protéine antigénique selon l'une des revendications 1 et 2.

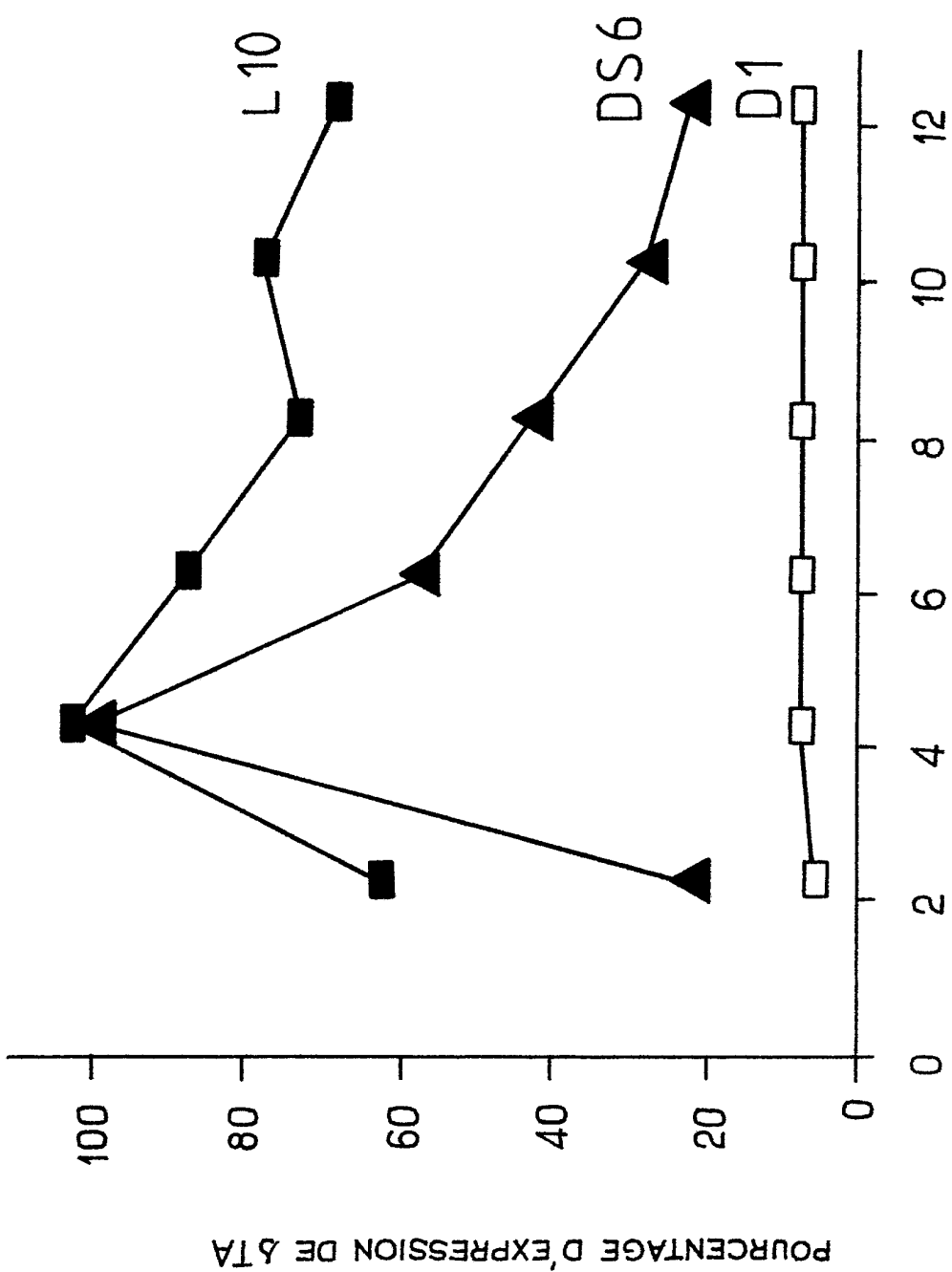
15 4) Anticorps selon la revendication 3, caractérisé en ce qu'il comporte un marquage permettant son dosage in vitro ou sa localisation in vivo ou ex vivo.

5) Trousse de diagnostic comportant une protéine ou un anticorps selon l'une des revendications 1 à 4.

20 6) Médicament comportant à titre de principe actif une protéine ou un anticorps selon l'une des revendications 1 à 4.

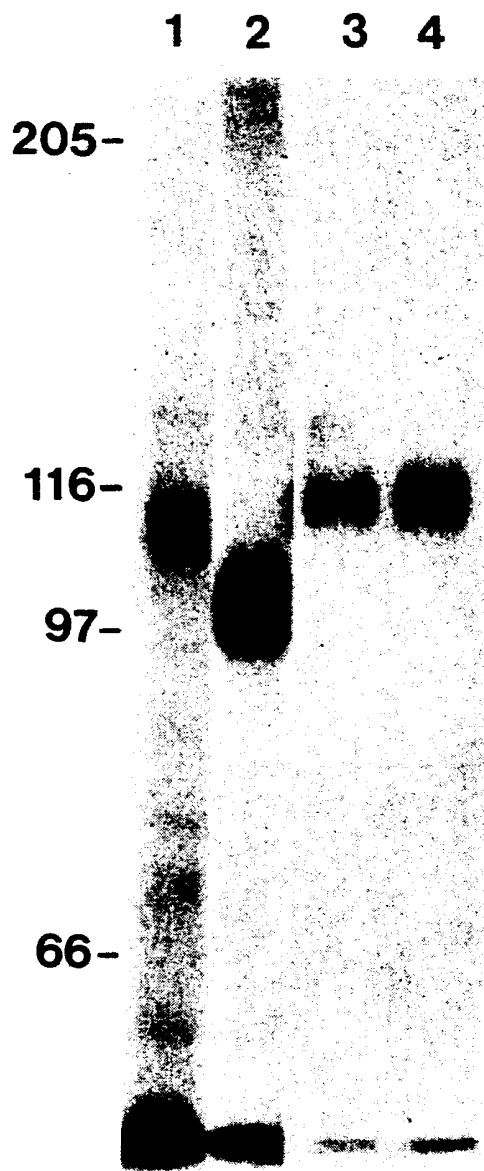
25

30



NOMBRE DE JOURS APRES LA STIMULATION

FIG.1



FIG_2

INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE
établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

FR 8917443
FA 437069

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
Y	WO-A-8 800 209 (T CELL SCIENCES, INC. et al.) * Page 17, ligne 1 - page 28, ligne 10 *	1-6
Y	FR-A-2 621 127 (INSTITUT GUSTAVE ROUSSY) * Page 3, ligne 3 - page 13, ligne 9 * -----	1-6
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.5)
		C 12 P
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
06-07-1990		REMPP G. L. E.
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant

EPO FORM 1503 03.82 (P0413)