



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(51) МПК

C07K 14/705 (2006.01)

C07K 14/725 (2006.01)

C07K 19/00 (2006.01)

C12N 15/09 (2006.01)

C12N 5/10 (2006.01)

C12N 5/0783 (2010.01)

A61K 35/17 (2015.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

C07K 14/7051 (2020.08); C07K 14/70521 (2020.08); C07K 14/70578 (2020.08); C12N 5/0636 (2020.08);
A61K 35/15 (2020.08); A61P 35/00 (2020.08); C07K 2319/03 (2020.08); C07K 2319/74 (2020.08)

(21)(22) Заявка: 2017133637, 04.03.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
04.03.2016

Дата регистрации:
14.09.2021

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
05.03.2015 US 62/128,979

(43) Дата публикации заявки: 08.04.2019 Бюл. № 10

(45) Опубликовано: 14.09.2021 Бюл. № 26

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 05.10.2017

(86) Заявка РСТ:
US 2016/021064 (04.03.2016)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2016/141357 (09.09.2016)

Адрес для переписки:
123242, Москва, пл. Кудринская, д. 1, а/я 35,
"Михайлюк, Сороколат и партнеры -
патентные поверенные"

(72) Автор(ы):

ОДА, Шеннон, К. (US),
ГРИНБЕРГ, Филип, Д. (US),
ШМИТТ, Томас, М. (US)

(73) Патентообладатель(и):

ФРЕД ХАТЧИНСОН КАНСЭР РИСЕЧ
СЕНТЕР (US)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: WO 2013123061 A1, 22.08.2013.
KHARFAN-DABAJA M. A. et al.,
Immunotherapy for chronic lymphocytic
leukemia in the era of BTK inhibitors, Leukemia,
2014, V. 28, N. 3, p.507-517. CHEN X. et al.,
Fusion protein linkers: property, design and
functionality, Advanced drug delivery reviews,
2013, V. 65, N. 10, p.1357-1369. MAEDA Y. et al.,
Engineering of (см. прод.)

(54) ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СЛИТЫЕ БЕЛКИ И ПУТИ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биотехнологии, конкретно к слитому белку, связывающемуся с CD47 для передачи костимулирующего сигнала CD28 Т-клетке, и может быть использовано в медицине. Слитый белок, состоящий из CD47-связывающей части

SIRPα, трансмембранной части CD28 и сигнального домена костимулирующей молекулы CD28, может быть использован для создания Т-клеток для эффективной иммунотерапии рака, экспрессирующего CD47. 9 н. и 42 з.п. ф-лы, 13 ил., 13 пр.

(56) (продолжение):

functional chimeric protein G-VargulaLuciferase, Analytical biochemistry, 1997, V. 249, N. 2, p.147-152. MA B. Y. et al., CD28 T cell costimulatory receptor function is negatively regulated by N-linked carbohydrates, Biochemical and biophysical research communications, 2004, V. 317, N. 1, p.60-67. SUBRAMANIAN S. et al., Species-and cell

type-specific interactions between CD47 and human SIRP α , Blood, 2006, V. 107, N. 6, p.2548-2556. FRANKEL A.E. et al., Characterization of diphtheria fusion proteins targeted to the human interleukin-3 receptor, Protein engineering, 2000, V. 13, N. 8, p.575-581. PAKULA A.A. et al., Genetic analysis of protein stability and function, Annual review of genetics, 1989, V. 23, N. 1, p.289-310. MOREAUX J. et al., CD200: a putative therapeutic target in cancer, Biochemical and biophysical research communications, 2008, V. 366, N. 1, p.117-122. ЛАВРИК И. Н., Регуляция апоптоза, индуцируемого через CD95/FAS и другие "рецепторы смерти", Молекулярная биология, 2011, V. 45, N. 1, с.173-179. PROSSER M. E. et al., Tumor PD-L1 co-stimulates primary human CD8+ cytotoxic T cells modified to express a PD1: CD28 chimeric receptor, Molecular immunology, 2012, V. 51, N. 3-4, p.263-272. JONES S. et al., Lentiviral vector design for optimal T cell receptor gene expression in the transduction of peripheral blood lymphocytes and tumor-infiltrating lymphocytes, Human gene therapy, 2009, V. 20, N. 6, p.630-640.

R U 2 7 5 5 2 2 7 C 2

R U 2 7 5 5 2 2 7 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
C07K 14/705 (2006.01)
C07K 14/725 (2006.01)
C07K 19/00 (2006.01)
C12N 15/09 (2006.01)
C12N 5/10 (2006.01)
C12N 5/0783 (2010.01)
A61K 35/17 (2015.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

C07K 14/7051 (2020.08); *C07K 14/70521* (2020.08); *C07K 14/70578* (2020.08); *C12N 5/0636* (2020.08); *A61K 35/15* (2020.08); *A61P 35/00* (2020.08); *C07K 2319/03* (2020.08); *C07K 2319/74* (2020.08)

(21)(22) Application: 2017133637, 04.03.2016

(24) Effective date for property rights:
04.03.2016

Registration date:
14.09.2021

Priority:

(30) Convention priority:
05.03.2015 US 62/128,979

(43) Application published: 08.04.2019 Bull. № 10

(45) Date of publication: 14.09.2021 Bull. № 26

(85) Commencement of national phase: 05.10.2017

(86) PCT application:
US 2016/021064 (04.03.2016)

(87) PCT publication:
WO 2016/141357 (09.09.2016)

Mail address:

123242, Moskva, pl. Kudrinskaya, d. 1, a/ya 35,
"Mikhajlyuk, Sorokolat i partnery - patentnye
poverennye"

(72) Inventor(s):

ODA, Shannon, K. (US),
GREENBERG, Philip, D. (US),
SCHMITT, Thomas, M. (US)

(73) Proprietor(s):

FRED HUTCHINSON CANCER RESEARCH
CENTER (US)

(54) IMMUNOMODULATORY FUSED PROTEINS AND THEIR APPLICATION METHODS

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to the field of biotechnology, specifically to a fused protein binding to CD47 for transmitting a co-stimulating signal to a CD28 T-cell; it can be used in medicine.

EFFECT: fused protein consisting of a CD47

binding part SIRP α , a CD28 transmembrane part and a signal domain of a co-stimulating CD28 molecule can be used for creating T-cells for the effective immunotherapy of cancer expressing CD47.

51 cl, 13 dwg, 13 ex

ИНФОРМАЦИЯ О ПЕРЕЧНЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

Перечень последовательностей, прилагающийся к данной заявке, представлен в текстовом формате вместо бумажной копии и, таким образом, включен посредством ссылки в настоящее описание. Названием текстового файла, содержащего перечень последовательности, является 360056_433WO_SEQUENCE_LISTING.txt. Текстовый файл имеет размер 286 KB, был создан 4 марта 2016 г. и подается в электронном виде посредством EFS-Web.

Предпосылки

Способы иммунотерапии на основе Т-клеток начали развиваться, когда были обнаружены реактивные в отношении опухоли Т-клетки среди популяции инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (TIL) (Clark et al., Cancer Res. 29:705, 1969). Одна стратегия, известная как адоптивный перенос Т-клеток, в некоторых ситуациях предусматривает выделение инфильтрирующих опухоль лимфоцитов, предварительно отобранных по реактивности в отношении опухоли, клональное размножение реактивных в отношении опухоли Т-клеток, индуцированных антителами к CD3 и к CD28 в присутствии IL-2 и, наконец, инфузию размноженной популяции клеток обратно пациенту, имеющему опухоль (вместе с химиотерапией и повторяющимся введением IL-2) (Dudley et al., Science 298:850, 2002). Данная форма адоптивной Т-клеточной терапии с помощью инфильтрирующих опухоль лимфоцитов может быть технически громоздкой и приводит к полной ремиссии только у незначительной части пациентов с меланомой и редко является эффективной при других формах рака (Besser et al., Clin. Cancer Res. 16:2646, 2010).

Выделение реактивных в отношении опухолей Т-клеточных клонов привело к развитию еще одного иммунотерапевтического подхода - созданию рекомбинантных Т-клеточных рецепторов (TCR), специфичных к конкретным антигенам, которые могут быть введены в Т-клетки, например, с помощью векторной системы доставки для придания специфичности к желаемой мишени, такой как ассоциированный с опухолью пептид, презентируемый молекулой главного комплекса гистосовместимости (МНС), экспрессируемой на опухолевой клетке (известной у людей как молекула лейкоцитарного антигена человека (HLA)). Другой подход представляет синтетический рецептор, называемый химерным антигенным рецептором (CAR), который обычно содержит антиген-связывающий домен, который, например, в контексте противоопухолевой терапии, может связываться с опухоль-специфическим или ассоциированным антигеном, связан с одним или более внутриклеточными компонентами, содержащими эффекторные домены, такие как первичный сигнальный домен, например, сигнальный домен TCR, или, в некоторых случаях, костимулирующие сигнальные домены. В отличие от введения TIL, основные процедуры для Т-клеточной иммунотерапии с помощью сконструированных TCR или CAR в целом представляют собой генетическую модификацию Т-клеток человека с помощью трансгена, кодирующего фрагмент, нацеливающийся на опухоль, размножение ex vivo рекомбинантных Т-клеток и переливание размноженных Т-клеток обратно пациентам.

Было показано, что адоптивная Т-клеточная терапия с использованием Т-клеток, экспрессирующих рекомбинантные TCR, имеет многообещающее клиническое преимущество, особенно при определенных В-клеточных формах рака. Однако эффективная активация Т-клеток часто требует или усиливается сопутствующим костимулирующим сигналом (Chen and Flies, Nat. Rev. Immunol. 13: 227-242, 2013). В микроокружении опухоли костимулирующие молекулы обычно подавляются. В результате экзогенный стимул посредством IL-2, как правило, необходим для Т-клеток,

которые экспрессируют рекомбинантные TCR, специфичные для антигенов рака.

Активация Т-клеток инициируется, когда TCR взаимодействует с конкретным пептидом, презентруемым в МНС на антиген-презентирующей клетке (APC) (Rossy et al., *Frontiers in Immunol.* 3: 1-12, 2012). Точка взаимодействия Т-клетки и APC становится иммунологическим синапсом, который состоит из трех концентрических супрамолекулярных активационных кластеров (SMAC), в том числе центрального cSMAC, периферического pSMAC и дистального dSMAC (Rossy et al., *Frontiers in Immunol.* 3: 1-12, 2012). В пределах cSMAC костимулирующие рецепторы могут привлекать сигнальные молекулы для усиления сигнала TCR. Такие костимулирующие рецепторы могут включать в себя CD28 и в некоторых случаях образовывать микрокластеры с TCR для снижения порога активации (Chen and Flies, *Nat. Rev. Immunol.* 13: 227-242, 2013). Доступ к cSMAC для трансмембранных белков, экспрессируемых Т-клетками, может ограничиваться размером внеклеточного домена. Например, CD45 имеет большой эктодомен и, как правило, исключается из иммунологического синапса, за счет чего предотвращается его способность ингибировать передачу сигнала TCR (James and Vale, *Nature* 487:64-69, 2012).

В области иммунотерапии остается потребность в альтернативных композициях и способах, которые обеспечивают иммуномодулирующие сигналы клеткам-хозяевам для лечения различных заболеваний, таких как рак или инфекции. Раскрытые в данном документе варианты осуществления касаются этих потребностей и предоставляют другие связанные преимущества.

Краткое описание

В определенных аспектах настоящее раскрытие относится к слитому белку, содержащему внеклеточный компонент, который содержит связывающий домен, который специфически связывает мишень, внутриклеточный компонент, состоящий из внутриклеточного сигнального домена, и гидрофобный компонент, соединяющий внеклеточный и внутриклеточный компоненты, при условии, что длина комплекса слитый белок::мишень охватывает расстояние, аналогичное расстоянию между мембранами в иммунологическом синапсе.

В некоторых вариантах осуществления длина или пространственное расстояние комплекса, образованного между слитым белком и мишенью, или части такого комплекса слитый белок::мишень (как правило, внеклеточной части такого комплекса), представляет собой или охватывает определенное расстояние, например, в некоторых вариантах осуществления это расстояние, которое представляет собой менее чем или менее чем приблизительно определенное расстояние. В некоторых аспектах расстояние комплекса слитый белок::мишень (или, как правило, его внеклеточной части) составляет менее чем около или приблизительно 50 нм, менее чем около или приблизительно 40 нм, менее чем около или приблизительно 30 нм или менее чем около или приблизительно 20 нм, или равно или менее чем около или приблизительно 15 нм. В некоторых вариантах осуществления оно составляет около или приблизительно 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 нм, например, около или приблизительно 14 или 15 нм. В некоторых аспектах расстояние является аналогичным расстоянию между мембранами в иммунологическом синапсе, или представляет собой расстояние, которое является таким же, приблизительно таким же или по существу таким же, как расстояние между ближайшей частью мембраны, например остатком, внеклеточного домена TCR и ближайшей частью мембраны, например остатком, молекулы МНС (например, HLA, такой как MHC I или MHC II), относительно комплекса TCR-пептид/МНС или расстояния, охватываемого внеклеточными частями такого комплекса (или пространственного

расстояния, охватываемого внеклеточной частью, которая, как известно, содержится в синапсе, такой как комплекс, содержащий CD8, CD4, CD28 и соответствующего партнера по связыванию или его лиганда). В некоторых вариантах осуществления пространственные расстояния комплексов относятся к расстоянию между мембранами двух разных клеток, где как первая клетка, так и вторая клетка экспрессирует на своей поверхности партнера по связыванию, который может образовывать комплекс между мембранами, когда клетки находятся вблизи друг от друга. В некоторых аспектах расстояние представляет собой расстояние, которое является таким же, приблизительно таким же или по существу таким же, как расстояние, охватываемое внеклеточными частями комплекса, образованного между TCR и молекулой МНС путем когнатного взаимодействия. В некоторых аспектах, например, когда слитый белок содержит связывающий домен из молекулы, обычно способной проникать в иммунологический синапс или колокализованной с антигенным рецептором, расстояние является аналогичным или таким же, как то, которое охватывается комплексом, образованным между молекулой (имеющей связывающий домен, используемый в слитом белке) и ее естественным партнером по связыванию. В некоторых аспектах, например, когда слитый белок содержит связывающий домен из молекулы, обычно не способной проникать в иммунологический синапс или обычно не способной к колокализации с антигенным рецептором, расстояние отличается, например меньше или по существу меньше, чем расстояние, охватываемое комплексом, образованным между молекулой (имеющей связывающий домен или его функциональную часть, используемую в слитом белке) и ее естественным партнером по связыванию.

В некоторых вариантах осуществления связывающий домен внутри внеклеточного компонента слитого белка по настоящему раскрытию содержит мишень-связывающую часть молекулы, способной передавать ингибирующий сигнал, такой как ингибирующая молекула, например, иммуоингибирующая молекула, такая как иммуоингибирующий рецептор или молекула иммунной контрольной точки. В некоторых аспектах такая молекула является гликопротеином, представителем семейства контрольных точек. В определенных вариантах осуществления слитый белок, содержащий связывающий домен из гликопротеина, представителя семейства контрольных точек, не является B7 или молекулой, связывающей B7, или не является представителем суперсемейства CD28-B7 (например, не является CD28, CTLA4, ICOS или другой связывающей молекулой семейства B7). Иллюстративные гликопротеины, представители семейства контрольных точек, включают CD200R, SIRP α , CD279 (PD-1), CD2, CD95 (Fas), CTLA4 (CD152), CD223 (LAG3), CD272 (BTLA), A2aR, KIR, TIM3, CD300 или LPA5, или связывающий вариант любой такой молекулы. В некоторых вариантах осуществления связывающий домен внутри внеклеточного компонента слитого белка по настоящему раскрытию содержит партнера по связыванию любого из вышеперечисленных или связывающий вариант любой такой молекулы. В некоторых аспектах таких вариантов осуществления внутриклеточная часть слитого белка включает в себя сигнальный домен, способный передавать стимулирующий, например костимулирующий, сигнал лимфоциту, такому как Т-клетка, например костимулирующей области CD28, 41BB, ICOS или другой костимулирующей молекулы. В некоторых аспектах внутриклеточная часть слитого белка не включает внутриклеточный сигнальный домен ингибирующей молекулы, например контрольной точки или иммуоингибирующей молекулы, когда внеклеточную связывающую часть получают из контрольной точки или иммуоингибирующей молекулы. В некоторых аспектах слитый белок не включает первичный сигнальный домен, такой как сигнальный домен CD3 ζ или другой домен, способный передавать

первичный сигнал Т-клетке.

В определенных аспектах внеклеточный компонент или его связывающая часть содержит или является связывающим доменом молекулы или эктодомена, способным специфически связываться с CD200, таким как связывающая часть CD200R или его вариант. В некоторых вариантах осуществления связывающий домен представляет собой или включает связывающую область молекулы или эктодомена, которая способна специфически связываться с CD47, например эктодомен SIRP или его CD47-связывающая область, например эктодомен SIRP α или его CD47-связывающая область. В некоторых вариантах осуществления связывающий домен способен связываться с молекулой PD-L1 или PD-L2, или LAG3. Иллюстративными мишенями могут быть один или более белков, экспрессия которых увеличивается или активируется в определенных клетках или тканях, связанных с или присущих заболеванию или состоянию, подлежащих лечению или улучшению с помощью слитых белков и композиций, предусмотренных в данном документе, таких как опухолевая клетка или микроокружение опухоли, или связана с рецептором, как правило, активируемым на иммунных клетках, таких как лимфоциты, инфильтрирующие пораженные ткани, такие как опухоль.

В некоторых вариантах осуществления внеклеточный компонент дополнительно содержит одну или более дополнительных областей или доменов, например, из молекулы, отличной от той, из которой получают связывающий домен, или отличной от молекулы, с которой связывающий домен разделяет идентичность. Один или более дополнительных внеклеточных доменов может содержать спейсерную область, такую как область из молекулы иммуноглобулина, которая может содержать весь или часть шарнира, или домен константной области, такой как домен CH2 или CH3, или из другой молекулы клеточной поверхности, такой как костимулирующий рецептор, например CD28. Дополнительный внеклеточный домен(-ы) может содержать в некоторых аспектах домен мультимеризации, например, домен или последовательность димеризации, которая может способствовать гомо- или гетеродимеризации с другой молекулой, такой как мультимеризация двух или более слитых белков. В некоторых вариантах осуществления такой домен содержит часть внеклеточного домена молекулы CD28, включающую по меньшей мере ближайший трансмембранный цистеин и, как правило, внеклеточную часть между таким цистеином и мембраной или его модифицированный вариант. В некоторых аспектах такой домен содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 32, или ее часть или ее вариант, такой как имеющий по меньшей мере 90%, 95% или 99% идентичности с ней. В некоторых аспектах такой домен может быть включен для облегчения или содействия мультимеризации. В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит внеклеточный компонент, содержащий CD200-связывающий домен, такой как внеклеточная часть CD200R (или его часть, такую как его связывающий домен), например внеклеточная часть CD200R, имеющая аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 25, или кодируемая молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO: 2, или его CD200-связывающую часть или его вариант, или его связывающую часть. В некоторых аспектах таких вариантов осуществления внеклеточная часть слитого белка дополнительно содержит часть внеклеточной области CD28, такую как до от приблизительно 9 до приблизительно 12 ее аминокислот (например, 9 аминокислот или 12 аминокислот), и в некоторых аспектах включая ближайший к мембране остаток цистеина внеклеточной области CD28. В некоторых таких вариантах осуществления длина части CD200R внеклеточной области уменьшена по длине, соответствующей количеству дополнительных остатков в части, полученной из CD28, например на от приблизительно

9 до приблизительно 12 аминокислот (например, 9 аминокислот или 12 аминокислот) или на достаточное количество аминокислот, так что расстояние, охватываемое внеклеточной частью комплекса между слитым белком и молекулой CD200, аналогично, по существу аналогично или такое же, как и охватываемое внеклеточной частью

5 комплекса между CD200R человека, например CD200R, и CD200; или охватываемое внеклеточной частью комплекса между TCR в когнатном взаимодействии с молекулой МНС (например, МНС I или МНСII) при связывании с комплексом когнатный пептид-МНС; или иммунологическим синапсом. В некоторых аспектах слитый белок дополнительно содержит трансмембранный домен, такой как трансмембранный домен

10 CD28, например, трансмембранный домен, кодируемый последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 4, или его часть, или его модифицированный вариант, такой как вариант, модифицированный так, чтобы он содержал дополнительные заряженные области или остатки или гидрофильные остатки для облегчения межмолекулярных взаимодействий. В некоторых вариантах осуществления белок

15 дополнительно содержит внутриклеточный сигнальный домен CD28, такой как костимулирующий домен CD28, например домен, который способен привлекать одну или более адаптерных молекул к CD28 в ответ на связывание лиганда. В некоторых аспектах внутриклеточный домен CD28 включает или представляет собой последовательность, кодируемую нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 5,

20 или ее часть или функциональный вариант.

В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к слитому белку, содержащему внеклеточный компонент, состоящий из связывающего домена, который специфически связывает мишень, внутриклеточный компонент, состоящий из

25 внутриклеточного сигнального домена, и гидрофобный компонент, соединяющий внеклеточный и внутриклеточный компоненты, при условии, что длина комплекса слитый белок::мишень охватывает расстояние, аналогичное расстоянию между мембранами в иммунологическом синапсе, где (а) внеклеточный компонент содержит внеклеточную часть CD200R, (b) гидрофобный компонент содержит трансмембранный домен CD28, и (с) внутриклеточный компонент содержит внутриклеточный сигнальный

30 домен CD28.

В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к слитому белку, содержащему внеклеточный компонент, состоящий из связывающего домена, который специфически связывает мишень, внутриклеточный компонент, состоящий из

35 внутриклеточного сигнального домена, и гидрофобный компонент, соединяющий внеклеточный и внутриклеточный компоненты, при условии, что длина комплекса слитый белок::мишень охватывает расстояние, аналогичное расстоянию между мембранами в иммунологическом синапсе, где (а) внеклеточный компонент содержит внеклеточную часть CD200R, (b) гидрофобный компонент содержит трансмембранный домен CD28, и (с) внутриклеточный компонент содержит внутриклеточный сигнальный

40 домен CD28 и внутриклеточный сигнальный домен CD137 (4-1BB).

В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к слитому белку, содержащему внеклеточный компонент, состоящий из связывающего домена, который специфически связывает мишень, внутриклеточный компонент, состоящий из

45 внутриклеточного сигнального домена, и гидрофобный компонент, соединяющий внеклеточный и внутриклеточный компоненты, при условии, что длина комплекса слитый белок::мишень охватывает расстояние, аналогичное расстоянию между мембранами в иммунологическом синапсе, где (а) внеклеточный компонент содержит внеклеточную часть CD200R, (b) гидрофобный компонент содержит трансмембранный

домен CD28, и (с) внутриклеточный компонент содержит внутриклеточный сигнальный домен CD137 (4-1BB).

В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к слитому белку, содержащему внеклеточный компонент, состоящий из связывающего домена, который специфически связывает мишень, внутриклеточный компонент, состоящий из внутриклеточного сигнального домена, и гидрофобный компонент, соединяющий внеклеточный и внутриклеточный компоненты, при условии, что длина комплекса слитый белок::мишень охватывает расстояние, аналогичное расстоянию между мембранами в иммунологическом синапсе, где (а) внеклеточный компонент содержит внеклеточную часть SIRP α , (b) гидрофобный компонент содержит трансмембранный домен CD28, и (с) внутриклеточный компонент содержит внутриклеточный сигнальный домен CD28.

В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к слитому белку, содержащему внеклеточный компонент, состоящий из связывающего домена, который специфически связывает мишень, внутриклеточный компонент, состоящий из внутриклеточного сигнального домена, и гидрофобный компонент, соединяющий внеклеточный и внутриклеточный компоненты, при условии, что длина комплекса слитый белок::мишень охватывает расстояние, аналогичное расстоянию между мембранами в иммунологическом синапсе, где (а) внеклеточный компонент содержит внеклеточную часть CD279 (PD-1), (b) гидрофобный компонент содержит трансмембранный домен CD28, и (с) внутриклеточный компонент содержит внутриклеточный сигнальный домен CD28.

В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к слитому белку, содержащему внеклеточный компонент, состоящий из связывающего домена, который специфически связывает мишень, внутриклеточный компонент, состоящий из внутриклеточного сигнального домена, и гидрофобный компонент, соединяющий внеклеточный и внутриклеточный компоненты, при условии, что длина комплекса слитый белок::мишень охватывает расстояние, аналогичное расстоянию между мембранами в иммунологическом синапсе, где (а) внеклеточный компонент содержит внеклеточную часть CD95 (Fas), (b) гидрофобный компонент содержит трансмембранный домен CD28, и (с) внутриклеточный компонент содержит внутриклеточный сигнальный домен CD28.

В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к слитому белку, содержащему внеклеточный компонент, состоящий из связывающего домена, который специфически связывает мишень, внутриклеточный компонент, состоящий из внутриклеточного сигнального домена, и гидрофобный компонент, соединяющий внеклеточный и внутриклеточный компоненты, при условии, что длина комплекса слитый белок::мишень охватывает расстояние, аналогичное расстоянию между мембранами в иммунологическом синапсе, где (а) внеклеточный компонент содержит внеклеточную часть TIM3, (b) гидрофобный компонент содержит трансмембранный домен CD28, и (с) внутриклеточный компонент содержит внутриклеточный сигнальный домен CD28.

В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к слитому белку, содержащему внеклеточный компонент, состоящий из связывающего домена, который специфически связывает мишень, внутриклеточный компонент, состоящий из внутриклеточного сигнального домена, и гидрофобный компонент, соединяющий внеклеточный и внутриклеточный компоненты, при условии, что длина комплекса слитый белок::мишень охватывает расстояние, аналогичное расстоянию между

мембранами в иммунологическом синапсе, где (а) внеклеточный компонент содержит внеклеточную часть LAG3, (b) гидрофобный компонент содержит трансмембранный домен CD28, и (с) внутриклеточный компонент содержит внутриклеточный сигнальный домен CD28.

5 В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие относится к слитому белку, содержащему внеклеточный компонент, состоящий из связывающего домена, который специфически связывает мишень, внутриклеточный компонент, состоящий из
10 внутриклеточного сигнального домена, и гидрофобный компонент, соединяющий внеклеточный и внутриклеточный компоненты, при условии, что длина комплекса слитый белок::мишень охватывает расстояние, аналогичное расстоянию между мембранами в иммунологическом синапсе, где (а) внеклеточный компонент содержит внеклеточную часть CD2, (b) гидрофобный компонент содержит трансмембранный домен CD28, и (с) внутриклеточный компонент содержит внутриклеточный сигнальный домен CD28.

15 В определенных аспектах настоящее раскрытие относится к молекуле нуклеиновой кислоты, кодирующей слитый белок, описываемый в данном документе.

В определенных аспектах настоящее раскрытие относится к вектору, содержащему молекулу нуклеиновой кислоты, которая кодирует слитый белок, описываемый в данном документе.

20 В некоторых других аспектах настоящее раскрытие относится к клетке-хозяину, содержащей слитый белок, нуклеиновую кислоту или вектор, описываемый в данном документе.

В некоторых других аспектах предусматривается способ повышения активности иммунной клетки, включающий введение субъекту, нуждающемуся в повышенной
25 активности иммунных клеток, эффективного количества клетки-хозяина, описываемой в данном документе.

В других аспектах настоящее раскрытие относится к способу усиления или продления иммунного ответа, включающему введение субъекту, нуждающемуся в повышенной или продленной активности иммунных клеток, эффективного количества клетки-хозяина,
30 описываемой в данном документе.

В других аспектах настоящее раскрытие предусматривает способ стимуляции антигенспецифического ответа Т-клеток, включающий введение субъекту, нуждающемуся в повышенной активности иммунных клеток, эффективного количества клетки-хозяина, описываемой в данном документе.

35 В других аспектах настоящее раскрытие относится к способу ингибирования иммуносупрессивного сигнального пути, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества клетки-хозяина, описываемой в данном документе.

В других аспектах настоящее раскрытие относится к способу лечения рака, включающему введение субъекту, имеющему рак, терапевтически эффективного количества клетки-хозяина, описываемой в данном документе.

В других аспектах настоящее раскрытие относится к способу ингибирования иммунной резистентности раковых клеток, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества клетки-хозяина, описываемой в
45 данном документе.

В других аспектах настоящее раскрытие предусматривает способ лечения опухоли, включающий введение субъекту, имеющему опухоль, терапевтически эффективного количества клеток-хозяев, описываемых в данном документе, где вводимая клетка-

хозяин способна пролиферировать в иммуносупрессивном микроокружении опухоли.

В настоящем раскрытие также предусматривается способ лечения инфекции, включающий введение субъекту, имеющему инфекцию, терапевтически эффективного количества клетки-хозяина, описываемой в данном документе.

5 Эти и другие аспекты настоящего изобретения станут очевидными при обращении к следующим подробному описанию и прилагающимся графическим материалам.

Краткое описание графических материалов

На фигурах 1A и 1B показаны конструкции CD200R-CD28, экспрессируемые на
 10 высоком уровне на первичных CD8⁺ Т-клетках мыши. (A) Схематическое изображение иллюстративных конструкций CD200R-CD28. Конструкция «I» содержит внеклеточный («EC») и трансмембранный («TM») домены CD200R и внутриклеточный («IC») сигнальный домен CD28 (CD200R_{tm}-CD28). Конструкция «II» содержит внеклеточный домен CD200R и трансмембранный и внутриклеточный домены CD28 (CD200R-CD28_{tm}).
 15 Конструкции «III-V» также содержат часть внеклеточного домена CD28 до трансмембранного ближнего цистеина для содействия мультимеризации и улучшения передачи сигнала CD28. Для обеспечения каких-либо дополнительных внеклеточных аминокислот (например, от одной до приблизительно 50 аминокислот; например, иллюстративные мышинные конструкции, раскрытые в данном документе, содержат
 20 дополнительные девять (9) аминокислот, а иллюстративные человеческие конструкции, раскрытые в данном документе, содержат двенадцать (12) аминокислот), некоторые конструкции имеют усеченную часть внеклеточного или внутриклеточного домена (например, CD200R, который сохраняет N-связанный участок гликозилирования). Например, конструкция IV имеет усеченную часть CD200R, которая усекается на 3
 25 аминокислоты. Конструкция V имеет усеченную часть CD200R, которая усекается на 9 аминокислот. Конструкции «I», «II» и «V» поддерживают короткое пространственное расстояние между клетками (например, между Т-клеткой и антиген-презентирующей клеткой) и могут колокализироваться с TCR в cSMAC и передавать сильный костимулирующий сигнал. (B) Трансгенная экспрессия мышинных конструкций CD200R-CD28 на Т-клетках TCR_{gag}, обнаруживаемая с помощью антитела к CD200R.
 30 Контрольный вектор содержит зеленый флуоресцентный белок (GFP).

На фигурах 2A-2G показано, что конструкции CD200R-CD28 способствуют
 пролиферации, накоплению и эффекторной функции в ответ на опухолевые CD200⁺ клетки-мишени *in vitro* и накапливаются в иммунологическом синапсе. Спленоциты от
 35 наивных мышей TCR_{gag} стимулировали *in vitro* с помощью антител к CD3, антител к CD28 и рекомбинантного IL-2 человека (100 ед./мл) и трансдуцировали с помощью ретровирусного супернатанта в течение 2 дней. Клетки рестимулировали каждые 7 дней с помощью облученных FBL и спленоцитов и культивировали с rhIL-2 (50 ед./мл) в течение до трех стимуляций. Т-клетки использовали для анализов через 5-7 дней после
 40 последней стимуляции. (A) Пролиферация CD200R-CD28 и контрольных GFP Т-клеток TCR_{gag}, измеряемая с использованием разведения CellTrace Violet. Т-клетки стимулировали с помощью CD200⁻ FBL (верхние секции) или CD200⁺ FBL (нижние секции) в течение 3 дней. (B) Предпочтительное размножение/выживание трансдуцированных Т-клеток TCR_{gag} во время совместного культивирования с
 45 нетрансдуцированными Т-клетками TCR_{gag} в ходе недельных циклов стимуляции облученными CD200⁺ FBL и спленоцитами. (C) Обогащение трансдуцированными Т-

клетками. Повторная рестимуляция облученными опухолевыми CD200⁺ клетками обогащала клетками, трансдуцированными CD200R-9aas-CD28Cys, по сравнению с Т-клетками дикого типа, трансдуцированными пустым контрольным вектором GFP. (D) Повышенная интенсивность сигнала CD200R и CD200 в синапсе Т-клетка:FBL. Липидные рафты увеличиваются в иммунологическом синапсе (I). Слитые белки CD200R-9aas-CD28Cys колокализуются с липидными рафтами, указывая, что эти слитые белки концентрируются в пределах иммунологического синапса (III, IV). (E) CD200R-CD28⁺ CD8⁺ Т-клетки демонстрируют повышенную способность лизировать клетки CD200⁺ FBL *in vitro*. Опухолевые клетки-мишени метили с использованием различных разведений флуоресцентного красителя сукцинимидилового сложного эфира 5,6-карбоксифлуоресцеина диацетата (CFSE), как указано. Эффекторные Т-клетки TCR_{gag}, трансдуцированные указанным слитым белком CD200R-CD28 или пустым контрольным вектором, инкубировали при указанном соотношении эффектора к мишени со смесью 1:1 CD200⁺ FBL (CFSE^{hi}) и неспецифических контрольных мишеней EL4 (CFSE^l) в течение 5 часов. Процент FBL от суммы FBL и контрольных опухолевых клеток определяли с помощью проточной цитометрии. Процент лизиса определяли путем деления процента FBL, инкубированных с Т-клетками, на процент FBL, инкубированных без Т-клеток. (F) Опухолевые клетки-мишени для анализа CFSE в (G). Опухолевые клетки-мишени метили с использованием различных разведений флуоресцентных красителей CellTrace Violet (CTV) или CFSE. Получали смесь 1:1:1 клеток EL4 (CTV⁺), CD200⁺ FBL (CFSE^{hi}) и неспецифических контрольных мишеней EL4 (CFSE^l). (G) Анализ цитотоксичности CFSE. Т-клетки TCR_{gag} трансдуцировали рецептором CD200R-CD28 или контрольным вектором GFP. Эффекторные Т-клетки TCR_{gag} инкубировали при указанном соотношении эффектора к мишени со смесью 1:1 CD200⁻ FBL или CD200⁺ FBL и неспецифических контрольных мишеней EL4 в течение 4 часов. Процент FBL от суммы FBL и контрольных опухолевых клеток определяли с помощью проточной цитометрии. Процент лизиса определяли путем деления процента FBL, инкубированных с Т-клетками, на процент FBL, инкубированных без Т-клеток.

На фигурах 3А-3D показано, что Т-клетки, трансдуцированные с помощью CD200R-9aas-CD28Cys, преимущественно накапливаются в ответ на введение опухоли *in vivo* и экспрессируют поверхностные белки в соответствии с эффекторным фенотипом после введения обработанным цитоксаном мышам, несущим FBL. Трансдуцированные Т-клетки TCR_{gag} получали, как описано в примере 2. (А) Экспериментальная схема.

Мышам C57BL/6 вводили 4×10⁶ клеток CD200⁺ FBL. Через пять дней Т-клетки TCR_{gag} CD200R-9aas-CD28Cys (Thy1.1 гомозиготные) и контрольные eGFP (Thy1.1 гетерозиготные) совместно вводили обработанным цитоксаном мышам B6, несущим FBL, при 4×10⁶ клеток/мышь. IL-2 вводили каждые 2 дня (2×10⁴ ед./дозу). На 8-й день после переноса Т-клеток мышей подвергали эвтаназии и собирали селезенку и паховые лимфатические узлы. (В) Т-клетки TCR_{gag} CD200R-9aas-CD28Cys накапливались в селезенке в ответ на FBL. (LN=лимфатический узел; Spl=селезенка). (С) Сравнение поверхностных белков через 3 дня после переноса Т-клеток, трансдуцированных для экспрессии CD200R-9aas-CD28Cys, Т-клеток, трансдуцированных пустым вектором, и эндогенных Т-клеток. Т-клетки TCR_{gag} CD200R-9aas-CD28Cys экспрессировали

сниженный CD62L по сравнению с контрольными Т-клетками TCR_{gag}, что указывает на эффекторный фенотип Т-клеток. (D) Сравнение поверхностных белков через 15 дней после переноса Т-клеток, трансдуцированных для экспрессии CD200R-9aas-CD28Cys⁺, Т-клеток, трансдуцированных пустым вектором, и эндогенных Т-клеток. Т-клетки TCR_{gag} CD200R-9aas-CD28Cys экспрессируют сходные уровни белков клеточной поверхности по сравнению с контрольными Т-клетками TCR_{gag}.

На фигурах 4A-4D показано, что адоптивная иммунотерапия CD200R-CD28-трансдуцированными Т-клетками может устранять диссеминированный лейкоз. (A)

Схема эксперимента. Мышам C57BL/6 вводили 4×10^6 клеток CD200⁺ FBL. Через пять дней Т-клетки TCR_{gag} CD200R-CD28tm, CD200R-CD28Cys, CD200R-9aas-CD28Cys или

eGFP вводили i.p. обработанным цитоксаном мышам, несущим FBL, при 10^5 клеток/мышь. IL-2 вводили каждые 2 дня (2×10^4 ед./дозу) в когorte мышей, как указано. (B)

Иллюстративный пример экспрессии белков клеточной поверхности в Т-клетках, трансдуцированных CD200R-CD28tm, и нетрансдуцированных Т-клетках в день инъекции IL-2, определяемой с помощью проточной цитометрии. (C) Выживаемость мышей, обработанных в присутствии инъекций IL-2. (D) Выживаемость мышей, обработанных в отсутствие инъекций IL-2. Перенос Т-клеток TCR_{gag} CD200R-9aas-CD28Cys значительно улучшал выживаемость в отсутствие инъекций IL-2 ($p < 0,05$, логарифмический ранговый критерий Кокса-Мантеля).

На фигурах 5A-5C показано, что Т-клетки, экспрессирующие CD200R-9aas-CD28Cys, не вызывают обнаруживаемое аутоиммунное повреждение печени или инфильтрацию нормальных тканей. (A) Схема эксперимента. Обработанным цитоксаном мышам Alb/

Gag вводили 4×10^6 клеток CD200⁺ FBL. Через пять дней Т-клетки TCR_{gag} CD200R-9aas-CD28Cys и eGFP вводили i.p. обработанным цитоксаном мышам, несущим FBL, при 10^5 клеток/мышь. IL-2 вводили каждые 2 дня (2×10^4 ед./дозу) в когorte мышей, как указано.

Через три и 7 дней после переноса оценивали повреждение печени путем количественного определения уровней ферментов печени в сыворотке: аспартатаминотрансферазы (AST) и аланинаминотрансферазы (ALT). (B) Уровни AST и ALT, измеренные через 3 и 7 дней после переноса у мышей, не получавших Т-клетки, получавших контрольные Т-клетки, экспрессирующие GFP, или Т-клетки, экспрессирующие CD200R-9aas-CD28Cys, не изменялись при лечении. (C) Оценка Т-клеточной инфильтрации нормальной ткани. Ограниченное присутствие Т-клеток в ткани печени наблюдали с использованием антител, специфичных к маркеру Т-клеток CD3 (левая секция), без существенного отличия между реципиентами TCR_{gag}CD200R-9aas-CD28Cys или контрольных Т-клеток TCR_{gag} (правая секция).

На фигурах 6A-6D показано, что костимулирующие сигнальные домены 4-1BB стимулируют накопление и эффекторную функцию трансдуцированных Т-клеток *in vitro* и способствуют выживаемости имеющих опухоль реципиентов трансдуцированных Т-клеток в ответ на опухолевые CD200⁺ клетки-мишени. (A) Схематическое представление конструкций CD200R-CD28 («V»), -4-1BB («VI») и -CD28-4-1BB («VII»). (B) Размножение трансдуцированных Т-клеток TCR_{gag} по сравнению с не трансдуцированными Т-клетками TCR_{gag} после недельной стимуляции облученными CD200⁺ FBL и спленоцитами. CD200R-4-1BB и CD200R-CD28-4-1BB также способствуют

накоплению трансдуцированных Т-клеток *in vitro*. (C) CD200R-9aas-4-1BB⁺ CD8⁺ Т-клетки демонстрируют повышенную способность к лизированию клеток CD200⁺ FBL *in vitro* по сравнению с контрольными с использованием стандартного анализа цитотоксичности на основе CFSE. Процент FBL от суммы FBL и контрольных опухолевых клеток определяли с помощью проточной цитометрии. Процент лизиса определяли путем деления процента FBL, инкубированных с Т-клетками, на процент FBL, инкубированных без Т-клеток. (D) CD200R-41BB-трансдуцированные Т-клетки также стимулируют выживаемость по сравнению с контрольными. Мышам C57BL/6 вводили 4×10^6 клеток CD200⁺ FBL. Через пять дней Т-клетки TCR_{gag}CD200R-9aas-CD28, CD200R-9aas-4-1BB, CD200R-9aas-CD28-4-1BB или eGFP вводили *i.p.* обработанным цитоксаном мышам, несущим FBL, при 10^5 клеток/мышь.

На фигурах 7A-7D показано, что первичные Т-клетки человека, трансдуцированные для экспрессии слитого белка с WT1-специфичным TCR и CD200Rtm-CD28, демонстрируют повышенную пролиферацию в отношении клеток-мишеней, которые экспрессируют CD200, и повышенное продуцирование цитокинов в ответ на опухолевые клетки, которые экспрессируют CD200. (A) Экспрессия WT1₁₂₆-специфичного TCR, C4 и CD200Rtm-CD28. (B) Экспрессия CD200 в клетках Т2 и К562. Т2-клетки проявляют эндогенную экспрессию CD200 на низком уровне. (C) Пролиферация Т-клеток, как указано с помощью CFSE. Клетки, которые пролиферируют в ответ на антиген, демонстрируют снижение интенсивности флуоресценции CFSE. Т-клетки, трансдуцированные как C4, так и IFP, демонстрируют повышенную пролиферацию по отношению к клеткам-мишеням, экспрессирующим низкие уровни CD200, по сравнению с Т-клетками, трансдуцированными только C4. (D) Продуцирование цитокинов в ответ на воздействие опухолевых клеток CD200dim, как измерено с помощью проточной цитометрии. Относительно контрольных Т-клеток, трансдуцированных только TCR C4, Т-клетки, трансдуцированные как C4, так и IFP CD200Rtm-CD28, показали повышенное продуцирование цитокинов.

На фигурах 8A-8E показано, что слитые белки, содержащие внеклеточные компоненты SIRPα и костимулирующие сигнальные домены CD28, способствуют накоплению и пролиферации трансдуцированных Т-клеток *in vitro*. (A) Схематическое изображение иллюстративных конструкций SIRPα-CD28. Конструкция «I» содержит внеклеточный («EC») и трансмембранный («TM») домены SIRPα и внутриклеточный («IC») сигнальный домен CD28 (SIRPαtm-CD28). Конструкция «II» содержит внеклеточный домен SIRPα и трансмембранный и внутриклеточный домены CD28 (SIRPα-CD28tm). Конструкции «III-VI» также содержат часть внеклеточного домена CD28 до трансмембранного ближнего цистеина для содействия мультимеризации и улучшения передачи сигнала CD28. Для обеспечения дополнительных внеклеточных аминокислот (например, дополнительные девять (9) аминокислот для мышиных конструкций, или двенадцать (12) аминокислот для человеческих конструкций) некоторые конструкции имеют усеченную часть внеклеточного или внутриклеточного домена (например, SIRPα который сохраняет N-связанный участок гликозилирования). Конструкция IV имеет усеченную часть SIRPα, которая усекается на 6 аминокислот, чтобы сохранить N-связанный участок гликозилирования. Конструкция V имеет усеченную часть SIRPα, которая усекается на 9 аминокислот. Конструкция VI имеет усеченную часть SIRPα, которая усекается на 23 аминокислоты. Конструкции «I», «II» и «V» поддерживают короткое пространственное расстояние между клетками (например,

между Т-клеткой и антиген-презентирующей клеткой) и могут колокализоваться с TCR в cSMAC и передавать сильный костимулирующий сигнал. (B) Размножение трансдуцированных Т-клеток TCR_{gag} по сравнению с нетрансдуцированными Т-клетками

5 TCR_{gag} после недельной стимуляции облученными SIRPα⁺ FBL и спленоцитами.

Конструкции SIRPα-CD28 стимулируют накопление трансдуцированных Т-клеток *in vitro*, при этом SIRPα-9aas-CD28Cys демонстрирует повышенное накопление. (C)

10 Пролиферация Т-клеток, трансдуцированных конструкциями SIRPα-CD28, в анализе пролиферации с разведением CellTrace Violet (CTV). Т-клетки, экспрессирующие конструкции SIRPα-CD28, сконструированные для поддержания расстояния Т-клетка - опухолевая клетка, показали повышенную пролиферацию по сравнению с

нетрансдуцированными Т-клетками. (D) Опухолевые CD47⁺ клетки уничтожались после

совместного культивирования с SIRPα-CD28⁺ Т-клетками, трансдуцированными для

15 экспрессии конструкций SIRPαtm-CD28 или SIRPα-9aas-CD28Cys. Напротив, опухолевые клетки не уничтожались при культивировании с Т-клетками, получавшими пустой вектор или усеченный SIRPα, лишенный своего внутриклеточного домена. (E) Результаты анализа IncuCyte, используемого для количественного определения уничтожения

опухолевых CD47⁺ клеток. Опухолевые клетки CD47⁺ FBL трансдуцировали с помощью

20 mCherry. Потеря красного сигнала указывает на уничтожение опухолевых клеток. Уничтожение опухолевых клеток испытывали при соотношении эффектор:мишень,

составляющем 10:1, 2:1 и 0,4:1. SIRPα-CD28⁺ Т-клетки уничтожали опухолевые CD47⁺ клетки даже при самом низком испытываемом соотношении эффектора к мишени.

На фигурах 9A и 9B показано, что слитые белки, содержащие внеклеточные

25 компоненты PD-1 и костимулирующие сигнальные домены CD28, способствуют продуцированию цитокинов *in vitro*. (A) Схематическое изображение иллюстративных конструкций PD-1-CD28. Конструкция «I» содержит внеклеточный («EC») и

трансмембранный («TM») домены PD-1 и внутриклеточный («IC») сигнальный домен CD28 (PD1tm-CD28). Конструкция «II» содержит внеклеточный домен PD-1 и

30 трансмембранный и внутриклеточный домены CD28 (PD1-CD28tm). Конструкции «III-VII» также содержат часть внеклеточного домена CD28, смежную с трансмембранным

ближним цистеином, для содействия мультимеризации и улучшения передачи сигнала CD28. Для обеспечения дополнительных внеклеточных аминокислот (например,

дополнительные девять (9) аминокислот для мышинных конструкций, или двенадцать

35 (12) аминокислот для человеческих конструкций) конструкции IV-VII имеют усеченную часть PD-1. Конструкция IV имеет усеченную часть PD-1, которая усекается на 9

аминокислот. Конструкция V имеет усеченную часть PD-1, которая усекается на 12

аминокислот. Конструкция VI имеет усеченную часть PD-1, которая усекается на 15

40 аминокислоту. Конструкции «I», «II» и «V» поддерживают короткое пространственное расстояние между клетками (например, между Т-клеткой и антиген-презентирующей

клеткой) и могут колокализоваться с TCR в cSMAC и передавать сильный

костимулирующий сигнал. (B) PD1-CD28⁺ Т-клетки демонстрировали повышенное

45 продуцирование цитокинов в ответ на стимуляцию в течение 5 часов в присутствии Brefeldin A с клетками FBL, которые эндогенно экспрессируют лиганды PD-1, PD-L1 и PD-L2. Стимулированные Т-клетки оценивали в отношении внутриклеточной экспрессии

эффекторных цитокинов, IFNγ и TNFα, с помощью проточной цитометрии.

На фигуре 10 показана коэкспрессия TCR C4 и IFP PD-1 (PD1-12aas-CD28Cys, PD1-

15aas-CD28Cys или PD1-21aas-CD28Cys). Т-клетки, трансдуцированные с помощью С4 и PD1-12aas-CD28Cys или PD1-15aas-CD28Cys, демонстрировали высокую эффективность трансдукции и экспрессию обоих белков.

На фигурах 11А-11С показано, что слитые белки, содержащие внеклеточные компоненты Fas и костимулирующие сигнальные домены CD28, накапливаются *in vitro* при стимуляции облученными клетками FBL. (А) Схематическое изображение иллюстративных конструкций Fas-CD28. Конструкция «I» содержит внеклеточный («EC») и трансмембранный («TM») домены Fas и внутриклеточный («IC») сигнальный домен CD28 (Fastm-CD28). Конструкция «II» содержит внеклеточный домен Fas и трансмембранный и внутриклеточный домены CD28 (Fas-CD28tm). Конструкции «III» и «IV» также содержат часть внеклеточного домена CD28, смежную с трансмембранным ближним цистеином, для содействия мультимеризации и улучшения передачи сигнала CD28. Для обеспечения дополнительных внеклеточных аминокислот (например, дополнительные девять (9) аминокислот для мышиных конструкций, или двенадцать (12) аминокислот для человеческих конструкций), конструкция IV имеет усеченную часть Fas, где внеклеточный домен Fas усекается на 9 аминокислот. Конструкции «I», «II» и «IV» поддерживают короткое пространственное расстояние между клетками (например, между Т-клеткой и антиген-презентирующей клеткой) и могут колокализоваться с TCR в cSMAC и передавать сильный костимулирующий сигнал. (В) Накопление Т-клеток TCR_{gag}, трансдуцированных конструкциями Fas, при множественных стимуляциях облученными клетками FBL. Все конструкции способствовали накоплению Т-клеток по сравнению с контрольными Т-клетками. (С) Экспрессия конструкций Fas-CD28, но не полноразмерного (FL) Fas, способствует выживаемости и размножению Т-клеток при множественных стимуляциях *in vitro*.

На фигурах 12А и 12В показана структура и экспрессия слитых белков, содержащих внеклеточные компоненты LAG3 и костимулирующие сигнальные домены CD28. (А) Схематическое изображение иллюстративных конструкций LAG3-CD28. Конструкция «I» содержит внеклеточный («EC») и трансмембранный («TM») домены LAG3 и внутриклеточный («IC») сигнальный домен CD28 (LAG3tm-CD28). Конструкция «II» содержит внеклеточный домен LAG3 и трансмембранный и внутриклеточный домены CD28 (LAG3-CD28tm). Конструкции «III» и «IV» также содержат часть внеклеточного домена CD28, смежную с трансмембранным ближним цистеином, для содействия мультимеризации и улучшения передачи сигнала CD28. Для обеспечения дополнительных внеклеточных аминокислот (например, дополнительные девять (9) аминокислот для мышиных конструкций, или двенадцать (12) аминокислот для человеческих конструкций), конструкция IV имеет усеченную часть LAG3, где внеклеточный домен LAG3 усекается на 9 аминокислот. Конструкции «I», «II» и «IV» поддерживают короткое пространственное расстояние между клетками (например, между Т-клеткой и антиген-презентирующей клеткой) и могут колокализоваться с TCR в cSMAC и передавать сильный костимулирующий сигнал. (В) Экспрессия конструкций LAG3-CD28 CD8⁺ Т-клетками мыши, как определено с помощью окрашивания антителами к LAG3 и проточной цитометрии. Т-клетки, трансдуцированные для экспрессии конструкций LAG3-CD28 (LAG3tm-CD28; LAG3-CD28tm; LAG3-CD28Cys; LAG3-9aas-CD28Cys), демонстрировали экспрессию данных конструкций в отличие от контрольных Т-клеток, которые получили пустой вектор.

На фигурах 13А и 13В показана структура и экспрессия слитых белков, содержащих внеклеточные компоненты TIM3 и костимулирующие сигнальные домены CD28. (А) Схематическое изображение иллюстративных конструкций TIM3-CD28. Конструкция

«I» содержит внеклеточный («EC») и трансмембранный («TM») домены TIM3 и внутриклеточный («IC») сигнальный домен CD28 (TIM3tm-CD28). Конструкция «II» содержит внеклеточный домен TIM3 и трансмембранный и внутриклеточный домены CD28 (TIM3-CD28tm). Конструкции «III» и «IV» также содержат часть внеклеточного домена CD28, смежную с трансмембранным ближним цистеином, для содействия мультимеризации и улучшения передачи сигнала CD28. Для обеспечения дополнительных внеклеточных аминокислот (например, дополнительные девять (9) аминокислот для мышинных конструкций, или двенадцать (12) аминокислот для человеческих конструкций), конструкция IV имеет усеченную часть TIM3, где внеклеточный домен TIM3 усекается на 9 аминокислот. Конструкции «I», «II» и «IV» поддерживают короткое пространственное расстояние между клетками (например, между Т-клеткой и антиген-презентирующей клеткой) и могут колокализироваться с TCR в cSMAC и передавать сильный костимулирующий сигнал. (В) Экспрессия конструкций TIM3-CD28 CD8⁺ Т-клетками мыши, как определено с помощью окрашивания антителами к TIM3 и проточной цитометрии. Т-клетки, трансдуцированные для экспрессии конструкций TIM3-CD28 (TIM3tm-CD28; TIM3-CD28tm; TIM3-CD28Cys; TIM3-9aas-CD28Cys), как правило, демонстрировали экспрессию данных конструкций в отличие от контрольных Т-клеток, которые получили пустой вектор.

Подробное описание

Настоящее раскрытие предусматривает слитые белки, которые модулируют передачу сигнала в клетке-хозяине, такой как иммунная клетка. Например, слитые белки по настоящему раскрытию могут обеспечивать активационный или костимулирующий сигнал в Т-клетке человека, где Т-клетка может быть необязательно сконструирована так, чтобы иметь предпочтительный антигенспецифический TCR. Эти иммуномодулирующие слитые белки (IFP) могут взаимодействовать с повсеместно экспрессирующимися мишенями или с мишенями, которые обычно активируются или сверхэкспрессируются в аномальных клетках (например, раковой клетке). Такие IFP имеют внеклеточный связывающий домен и внутриклеточный сигнальный домен. При трансдукции Т-клеток сконструированными TCR (например, высокоаффинными TCR) и слитыми белками по настоящему раскрытию, которые генерируют сигналы активации, определенные варианты осуществления Т-клеток могут больше не требовать экзогенной костимуляции при взаимодействии, например, с опухолевой клеткой.

В определенных аспектах настоящее раскрытие предусматривает клетки-хозяева (например, иммунные клетки, такие как Т-клетки, дендритные клетки, НК-клетки или т.п.), содержащие IFP, векторы, кодирующие IFP, и способы активации Т-клеток, содержащих IFP, для различных терапевтических применений, включая лечение заболевания у субъекта (например, рак, инфекционное заболевание).

Перед тем, как перейти к более подробному изложению настоящего раскрытия, для его понимания может быть полезным привести определения некоторых выражений, используемых в данном документе. Дополнительные определения изложены на всем протяжении настоящего раскрытия.

В настоящем описании любой диапазон концентраций, процентный диапазон, диапазон соотношений или диапазон целых чисел следует понимать с включением значения любого целого числа в пределах указанного диапазона и, при необходимости, его долей (таких как одна десятая и одна сотая целого числа), если не указано иное. Кроме того, любой числовой диапазон, указанный в данном документе, относящийся к любому из физических признаков, такому как субъединицы, размер или толщина полимера, следует понимать с включением любого целого числа в пределах указанного

диапазона, если не указано иное. Используемое в данном документе выражение «приблизительно» означает $\pm 20\%$ к указанному диапазону, значению или позиции, если не указано иное. Следует понимать, что формы единственного числа, используемые в данном документе, относятся к «одному или более» перечисленным компонентам.

5 Использование предлогов альтернативы (например, «или») следует понимать как обозначение одной, одной и другой или любой комбинации альтернатив. Используемые в данном документе выражения «включает», «имеет» и «содержит» используют синонимично, при этом подразумевают, что выражения и их варианты толкуют как неограничивающие.

10 Выражение «состоящий, по сути, из» ограничивает объем пункта формулы изобретения конкретными материалами или стадиями или тем, что существенно не влияет на основные характеристики заявленного изобретения. Например, домен белка, область или блок (например, связывающий домен, шарнирная область, линкерный блок) или белок (который может иметь одно или более из доменов, областей или блоков)

15 «состоит, по сути, из» конкретной аминокислотной последовательности, когда аминокислотная последовательность домена, области или блока или белка содержит удлинения, делеции, мутации или любые их комбинации (например, аминокислоты на amino- или карбокси-конце или между доменами), которые, в комбинации, составляют не более 20% (например, не более 15%, 10%, 8%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1%) от длины

20 домена, области или блока или белка и не оказывают существенного влияния (т.е. не уменьшают активность более чем на 50%, например не более чем на 40%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5% или 1%) на активность домена(-ов), области(-ей), блока(-ов) или белка (например, аффинность связывания мишени у связывающего белка).

Используемое в данном документе выражение «гетерологичный», или

25 «неэндогенный», или «экзогенный» относится к любому из гена, белка, соединения, молекулы или активности, которые не являются нативными для клетки-хозяина или субъекта, или представляет собой любое из гена, белка, соединения, молекулы или активности, нативных для хозяина или клетки-хозяина, но которые были изменены или подвергнуты мутации, так что структура, активность или и то, и другое различны у

30 нативной и мутированной молекулы. В определенных вариантах осуществления гетерологичные, неэндогенные или экзогенные молекулы (например, рецепторы, лиганды) могут не быть эндогенными для клетки-хозяина или субъекта, но вместо этого нуклеиновая кислота, кодирующая такие молекулы, может быть добавлена в клетку-хозяина путем конъюгации, трансформации, трансфекции, электропорации или тому

35 подобного, где добавленная молекула нуклеиновой кислоты может интегрироваться в геном клетки-хозяина или может существовать в виде внехромосомного генетического материала (например, в виде плазмиды или другого самореплицирующегося вектора). Выражение «гомологичный» или «гомолог» относится к молекуле или активности, обнаруженной или полученной из клетки-хозяина, вида или штамма. Например,

40 гетерологичные или экзогенные молекула или ген, кодирующий молекулу, могут быть гомологичными нативному хозяину или молекуле клетки-хозяина или гену, который кодирует молекулу, соответственно, но могут иметь измененные структуру, последовательность, уровень экспрессии или их комбинации. Неэндогенная молекула может быть получена от того же вида, от другого вида или их комбинации.

45 Используемое в данном документе выражение «эндогенный» или «нативный» относится к гену, белку, соединению, молекуле или активности, которая в норме присутствует у хозяина или в клетке-хозяине и не имеет сконструированных изменений.

Выражение «связывающий домен» (также называемый «связывающей областью»

или «связывающим фрагментом»), используемое в данном документе, относится к молекуле, такой как пептид, олигопептид, полипептид или белок, которая обладает способностью специфически и нековалентно ассоциироваться, сопрягаться или объединяться с молекулой-мишенью (например, CD200, CD47, CD19, CD20, CD22, ROR1, мезотелином, PD-L1, PD-L2, PSMA, WT-1, циклином-A1). Связывающий домен включает

любого встречающегося в природе, синтетического, полусинтетического или полученного рекомбинантным способом партнера по связыванию для биологической молекулы или другой мишени, представляющей интерес, или ее связывающего белка. В некоторых вариантах осуществления связывающий домен представляет собой антиген-связывающий домен, такой как антитело или Т-клеточный рецептор (TCR) или функциональный связывающий домен или его антиген-связывающий фрагмент. Иллюстративные связывающие домены включают эктодомены рецепторов (например, эктодомены CD200R, PD-1, CTLA4, BTLA, CD2, Fas) или их связывающие части, лиганды (например, цитокины, такие как IL35, хемокины) или их связывающие части, одноцепочечные вариабельные области антител (например, доменные антитела, sFv, scFv, Fab) или их связывающие части, антиген-связывающие области Т-клеточных рецепторов (TCR), такие как одноцепочечные TCR (scTCR), или синтетические полипептиды, выбранные по специфической способности связываться с биологической молекулой.

В некоторых вариантах осуществления выражение «специфически связывается» относится к ассоциации или сопряжению связывающего домена или его слитого белка с молекулой-мишенью с аффинностью или K_a (т.е. равновесной константой ассоциации

для конкретного взаимодействия связывания с единицами $1/M$), составляющей $10^5 M^{-1}$ или больше, или связыванию с такой молекулой-мишенью в то же время без существенных ассоциации или сопряжения с любыми другими молекулами или компонентами в образце. Связывающие домены (или их слитые белки) могут классифицироваться как «высокоаффинные» связывающие домены (или их слитые белки) или «низкоаффинные» связывающие домены (или их слитые белки).

«Высокоаффинные» связывающие домены относятся к связывающим доменам с K_a по меньшей мере $10^7 M^{-1}$, по меньшей мере $10^8 M^{-1}$, по меньшей мере $10^9 M^{-1}$, по меньшей мере $10^{10} M^{-1}$, по меньшей мере $10^{11} M^{-1}$, по меньшей мере $10^{12} M^{-1}$ или по меньшей мере $10^{13} M^{-1}$. «Низкоаффинные» связывающие домены относятся к связывающим

доменам с K_a до $10^7 M^{-1}$, до $10^6 M^{-1}$, до $10^5 M^{-1}$. В качестве альтернативы, аффинность может быть определена как равновесная константа диссоциации (K_d) конкретного

взаимодействия связывания с единицами M (например, от $10^{-5} M$ до $10^{-13} M$). В

определенных вариантах осуществления связывающий домен может характеризоваться «повышенной аффинностью», что относится к подвергнутому отбору или сконструированному связывающему домену с более сильным связыванием с антигеном-мишенью, чем у связывающего домена дикого типа (или исходного). Например, повышенная аффинность может быть связана с K_a (равновесной константой ассоциации)

для антигена-мишени, которая выше, чем у связывающего домена дикого типа, или связана с K_d (константой диссоциации) для антигена-мишени, которая меньше, чем у связывающего домена дикого типа, или связана со скоростью диссоциации (K_{off}) для антигена-мишени, которая меньше, чем у связывающего домена дикого типа. Различные анализы известны для идентификации связывающих доменов по настоящему раскрытию,

которые специфически связывают конкретную мишень, а также для определения степеней аффинности связывающего домена или слитого белка, такие как вестерн-блот-анализ, ELISA и Biacore® (см. также, например, Scatchard et al., Ann. N.Y. Acad. Sci. 51: 660, 1949; и патенты США №№5283173, 5468614 или их эквиваленты).

5 Используемое в данном документе выражение «слитый белок» относится к полипептиду, который в одной цепи имеет по меньшей мере два различных домена, где домены не встречаются естественным образом вместе в белке. Молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую слитый белок, можно сконструировать с использованием ПЦР, рекомбинантно сконструировать или т.п., или такие слитые белки можно получить с
10 использованием способов белкового синтеза. Слитый белок может дополнительно содержать другие компоненты (например, ковалентно связанные), такие как метка или биологически активная молекула. В определенных вариантах осуществления слитый белок, экспрессированный или продуцированный клеткой-хозяином (например, Т-клеткой), располагается на поверхности клетки, где слитый белок прикрепляется к
15 клеточной мембране частью слитого белка, находящейся внеклеточно (например, содержащей связывающий домен), и частью слитого белка, находящейся внутриклеточно (например, содержащей сигнальный домен).

Выражение «гидрофобный компонент», используемое в данном документе, означает любую аминокислотную последовательность, имеющую трехмерную структуру, которая
20 является термодинамически стабильной в клеточной мембране и обычно находится в диапазоне длин от приблизительно 15 аминокислот до приблизительно 30 аминокислот. Структура гидрофобного компонента может включать альфа-спираль, бета-цилиндр, бета-лист, бета-спираль или любую их комбинацию. В определенных вариантах осуществления гидрофобный компонент состоит из «трансмембранного домена» от
25 известного трансмембранного белка, который представляет собой часть трансмембранного белка, способную встраиваться в клеточную мембрану или проникать через нее. В дополнительных вариантах осуществления гидрофобный компонент или трансмембранный домен могут располагаться между и соединять внеклеточные и внутриклеточные части слитого белка. Кроме того, гидрофобный компонент можно
30 модифицировать так, чтобы он содержал заряженные области или гидрофильные остатки для облегчения межмолекулярных взаимодействий.

Используемый в данном документе «внутриклеточный сигнальный домен» представляет собой внутриклеточную часть молекулы, такую как та, которая используется в слитом белке по настоящему раскрытию, которая может непосредственно
35 или опосредованно стимулировать ответ, например, костимулирующий, положительный или активирующий биологический или физиологический ответ в клетке при получении соответствующего сигнала. В определенных вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен является частью белка или белкового комплекса, который принимает сигнал при связывании или сам может непосредственно связываться с молекулой-
40 мишенью для передачи сигнала другим компонентам в клетке. Внутриклеточный сигнальный домен может непосредственно стимулировать клеточный ответ, если он содержит один или более сигнальных доменов или мотивов, таких как иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив immunoreceptor tyrosine-based activation motif (ITAM), киназный домен, костимулирующий домен и т.п. В других
45 вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен будет опосредованно стимулировать клеточный ответ путем ассоциации с одним или более другими белками, которые, в свою очередь, непосредственно стимулируют клеточный ответ. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен или его функциональный

фрагмент может быть из CD3ε, CD3δ, CD3ζ, CD25, CD27, CD28, CD40, CD47, CD79A, CD79B, CD134 (OX40), CD137 (4 1BB), CD150 (SLAMF1), CD278 (ICOS), CD357 (GITR), CARD11, DAP10, DAP12, FcRα, FcRβ, FcRγ, Fyn, Lck, LAT, LRP, NKG2D, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, ROR2, Ryk, Slp76, pTα, TCRα, TCRβ, TRIM, Zap70, PTCH2

5 или любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен или его функциональный фрагмент не содержит CD3ζ.

«Домен мультимеризации», используемый в данном документе, относится к полипептидной молекуле или области, которая преимущественно взаимодействует или ассоциируется с другой полипептидной молекулой или областью непосредственно или

10 опосредованно, где взаимодействие доменов мультимеризации существенно способствует или эффективно стимулирует мультимеризацию (т.е. образование димера, тримера, тетрамера или мультимеров более высоких порядков, которые могут быть гомодимером, гетеродимером, гомотримером, гетеротримером, гомомультимером, гетеромультимером и т.п.). Например, мультимеризация может быть обусловлена одним или более типами

15 молекулярных сил, включая ковалентные связи (например, дисульфидные связи или мостики), ионные связи, металлические связи, электростатические взаимодействия, солевые мостики, диполь-дипольные силы, водородную связь, Ван-дер-Ваальсовы силы, гидрофобные взаимодействия или любую их комбинацию. Мультимер стабилен при соответствующих условиях (например, физиологических условиях, в водном растворе,

20 подходящем для экспрессии, очистки или хранения рекомбинантных или сконструированных белков, или в условиях не денатурирующего или не восстанавливающего электрофореза). Иллюстративные домены мультимеризации могут содержать одну или более дисульфидных связей, мотив цинкового пальца, мотив лейциновой «молнии», спираль-поворот-спираль, спираль-петлю-спираль и т.п.

25 В определенных вариантах осуществления слитый белок может содержать «линкер», который может обеспечивать спейсерную функцию для облегчения взаимодействия двух одноцепочечных слитых белков или располагать один или более связывающих доменов таким образом, что полученная полипептидная структура сохраняет специфическую аффинность связывания с молекулой-мишенью или сохраняет

30 сигнальную активность (например, активность эффекторного домена) или и то, и другое. Иллюстративные линкеры содержат от одного до десяти повторов Gly_xSer_y, где x и y независимо представляют собой целое число от 1 до 5.

«Соединительные аминокислоты» или «соединительные аминокислотные остатки» относятся к одному или более (например, приблизительно 2-20) аминокислотным

35 остаткам между двумя соседними мотивами, областями или доменами слитого белка, например, между связывающим доменом и смежным гидрофобным компонентом или на одном или обоих концах гидрофобного компонента. Соединительные аминокислоты могут быть результатом моделирования конструкции слитого белка (например, аминокислотные остатки, полученные в результате применения участка для

40 рестрикционного фермента при конструировании молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей слитый белок). В определенных вариантах осуществления соединительные аминокислоты образуют линкер, такой как те, которые имеют от одного до приблизительно десяти повторов Gly_xSer_y, где x и y независимо представляют собой

45 целое число от 1 до 5.

Используемое в данном документе выражение «клетка иммунной системы» означает любую клетку иммунной системы, которая происходит из гемопоэтической стволовой клетки в костном мозге, которая является источником двух основных линий, миелоидной клетки-предшественника (которая является источником миелоидных клеток, таких как

моноциты, макрофаги, дендритные клетки, мегакарициты и гранулоциты) и лимфоидной клетки-предшественника (которая является источником лимфоидных клеток, таких как Т-клетки, В-клетки и естественные клетки-киллеры (NK)). Иллюстративные клетки иммунной системы включают $CD4^+$ Т-клетку, $CD8^+$ Т-клетку, $CD4^- CD8^-$ двойную отрицательную Т-клетку, $\gamma\delta$ Т-клетку, регуляторную Т-клетку, естественную клетку-киллера и дендритную клетку. Макрофаги и дендритные клетки можно назвать «антиген-презентирующими клетками» или «АРС», которые являются специализированными клетками, способными активировать Т-клетки, когда рецептор главного комплекса гистосовместимости (МНС) на поверхности АРС, образовавший комплекс с пептидом, взаимодействует с TCR на поверхности Т-клетки.

«Т-клетка» представляет собой клетку иммунной системы, которая созревает в тимусе и продуцирует Т-клеточные рецепторы (TCR). Т-клетки могут быть наивными (не подвергнутыми воздействию антигена; с повышенной экспрессией $CD62L$, $CCR7$, $CD28$, $CD3$, $CD127$ и $CD45RA$ и сниженной экспрессией $CD45RO$ по сравнению с T_{CM}), Т-клетками памяти (T_M) (подвергнутыми воздействию антигена и долгоживущими) и эффекторными клетками (подвергнутыми воздействию антигена, цитотоксическими). T_M можно дополнительно разделить на подмножества центральных Т-клеток памяти (T_{CM} , с повышенной экспрессией $CD62L$, $CCR7$, $CD28$, $CD127$, $CD45RO$ и $CD95$ и сниженной экспрессией $CD54RA$ по сравнению с наивными Т-клетками) и эффекторных Т-клеток памяти (T_{EM} , со сниженной экспрессией $CD62L$, $CCR7$, $CD28$, $CD45RA$ и повышенной экспрессией $CD127$ по сравнению с наивными Т-клетками или T_{CM}).

Эффекторные Т-клетки (T_E) относятся к подвергнутым воздействию антигена $CD8^+$ цитотоксическим Т-лимфоцитам, которые обладают сниженной экспрессией $CD62L$, $CCR7$, $CD28$ и являются положительными на гранзим и перфорин по сравнению с T_{CM} .

Другие иллюстративные Т-клетки включают регуляторные Т-клетки, такие как $CD4^+ CD25^+$ ($Foxp3^+$) регуляторные Т-клетки и $Treg17$ -клетки, а также Т-клетки, рестриктированные по $Tr1$, $Th3$, $CD8^+ CD28^-$ и $Qa-1$.

«Т-клеточный рецептор» (TCR) относится к молекуле, находящейся на поверхности Т-клеток (или Т-лимфоцитов), которая совместно с $CD3$, как правило, отвечает за распознавание антигенов, связанных с молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС). В большинстве Т-клеток TCR представляет собой связанный дисульфидными связями гетеродимер высоковариабельных α - и β -цепей (также известных как $TCR\alpha$ и $TCR\beta$, соответственно). В меньшей субпопуляции Т-клеток TCR представляет собой гетеродимер вариабельных γ - и δ -цепей (также известных как $TCR\gamma$ и $TCR\delta$, соответственно). Каждая цепь TCR является представителем суперсемейства иммуноглобулинов и содержит один N-концевой вариабельный домен иммуноглобулина, один константный домен иммуноглобулина, трансмембранную область и короткий цитоплазматический «хвост» на C-концевой области (см. Janeway et al., Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 3^e изд., Current Biology Publications, p. 4:33, 1997). TCR, как используется в настоящем раскрытии, может быть получен от различных видов животных, в том числе человека, мыши, крысы, кошки, собаки, козы, лошади или других млекопитающих. TCR могут быть связанными с клетками (т.е. иметь трансмембранную область или домен) или могут быть в растворимой форме

Выражение «молекулы главного комплекса гистосовместимости» (молекулы МНС),

которое используется взаимозаменяемо и понимается, так же, как относящееся к человеческому аналогу лейкоцитарного антигена человека (молекулы HLA), относится к гликопротеинам, которые доставляют пептидные антигены на поверхность клетки. Молекулы МНС класса I являются гетеродимерами, состоящими из трансмембранной α -цепи (с тремя α -доменами) и нековалентно связанного β 2-микроглобулина. Молекулы МНС класса II состоят из двух трансмембранных гликопротеинов, α и β , оба из которых проходят через мембрану. Каждая цепь имеет два домена. Молекулы МНС (HLA) класса I доставляют пептиды, образующиеся в цитозоле, на поверхность клетки, где комплекс пептид:МНС (или пептид:HLA у человека) распознается $CD8^+$ Т-клетками. Молекулы МНС (HLA) класса II доставляют пептиды, образующиеся в везикулярной системе, на поверхность клетки, где они распознаются $CD4^+$ Т-клетками. Молекула МНС может быть получена от различных видов животных, в том числе человека, мыши, крысы или других млекопитающих.

«Молекула нуклеиновой кислоты» или полинуклеотид может быть в форме РНК или ДНК, что включает кДНК, геномную ДНК и синтетическую ДНК. Молекула нуклеиновой кислоты может быть двунитевой или одонитевой и в случае одонитевой может представлять собой кодирующую нить или не кодирующую (антисмысловую нить). Кодирующая молекула может иметь кодирующую последовательность, идентичную кодирующей последовательности, известной из уровня техники, или может иметь другую кодирующую последовательность, которая в результате избыточности или вырожденности генетического кода или в результате сплайсинга может кодировать тот же полипептид.

Также рассматриваются варианты молекул нуклеиновых кислот или полинуклеотидов по настоящему раскрытию. Вариантные полинуклеотиды являются по меньшей мере на 90% и предпочтительно 95%, 99% или 99,9% идентичными одному из полинуклеотидов определенной последовательности, описываемой в данном документе, или теми, которые гибридизуются с одним из этих полинуклеотидов определенной последовательности в жестких условиях гибридизации с 0,015 М хлорида натрия, 0,0015 М цитрата натрия при температуре приблизительно 65-68°C или 0,015 М хлорида натрия, 0,0015 М цитрата натрия и 50% формамида при температуре приблизительно 42°C. Варианты полинуклеотидов сохраняют способность кодировать связывающий домен или его слитый белок, имеющий функциональные свойства, описанные в данном документе.

Выражение «жесткий» используется для обозначения условий, которые обычно понимаются в данной области техники как жесткие. Жесткость гибридизации в основном определяется температурой, ионной силой и концентрацией денатурирующих средств, таких как формамид. Примерами жестких условий для гибридизации и промывания являются 0,015 М хлорид натрия, 0,0015 М цитрат натрия при температуре приблизительно 65-68°C или 0,015 М хлорид натрия, 0,0015 М цитрат натрия и 50% формамид при температуре приблизительно 42°C (см. Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2-е изд., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, Нью-Йорк, 1989).

Также могут быть использованы более жесткие условия (такие как более высокая температура, более низкая ионная сила, высший формамид или другое денатурирующее средство); однако это повлияет на скорость гибридизации. В случаях, когда речь идет о гибридизации дезоксиолигонуклеотидов, дополнительные иллюстративные жесткие условия гибридизации включают промывание в 6х SSC, 0,05% пироглутамата натрия при 37°C (для 14-основных олигонуклеотидов), 48°C (для 17-основных олигонуклеотидов), 55°C (для 20-основных олигонуклеотидов) и 60°C (для 23-основных олигонуклеотидов).

«Вектор» представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, способную переносить другую нуклеиновую кислоту. Векторами могут являться, например, плазмиды, космиды, вирусы или фаг. «Вектор экспрессии» представляет собой вектор, способный управлять экспрессией белка, кодируемого одним или более генами, находящимися в векторе, когда он находится в соответствующем окружении.

«Ретровирусы» представляют собой вирусы с РНК-геномом. «Гаммаретровирус» относится к роду семейства Retroviridae. Иллюстративные гаммаретровирусы включают вирус, поражающий стволовые клетки мышей, вирус лейкоза мышей, вирус лейкоза кошачьих, вирус саркомы кошачьих и вирусы ретикулоэндотелиоза птиц.

«Лентивирус» относится к роду ретровирусов, способных инфицировать делящиеся и неделящиеся клетки. Некоторые примеры лентивирусов включают HIV (вирус иммунодефицита человека: в том числе HIV 1 типа и HIV 2 типа); вирус инфекционной анемии лошадей; вирус иммунодефицита кошачьих (FIV); бычий вирус иммунодефицита (BIV) и вирус иммунодефицита обезьян (SIV).

Выражения «идентичный» или «процент идентичности» в контексте двух или более последовательностей молекул полипептида или нуклеиновой кислоты означает две или более последовательности или подпоследовательности, которые являются одинаковыми или имеют определенный процент аминокислотных остатков или нуклеотидов, которые являются одинаковыми в определенной области (например, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности) при сравнении и выравнивании для максимального соответствия в окне сравнения или в обозначенной области, как измерено с использованием способов, известных из уровня техники, таких как алгоритм сравнения последовательностей, путем ручного выравнивания или путем визуального осмотра. Например, предпочтительными алгоритмами, подходящими для определения процента идентичности последовательности и сходства последовательностей, являются алгоритмы BLAST и BLAST 2.0, которые описаны в Altschul et al. (1977) Nucleic Acids Res. 25:3389 и Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403, соответственно.

«Лечить», или «лечение», или «облегчение» относится к медицинскому контролю заболевания, нарушения или состояния у субъекта (например, человека или отличного от человека млекопитающего, такого как примат, лошадь, собака, мышь или крыса). В целом, соответствующую дозу или схему лечения, включающую клетку-хозяина, экспрессирующую слитый белок по настоящему раскрытию, и, необязательно вспомогательное вещество или вспомогательную терапию, вводят в количестве, достаточном, чтобы вызвать терапевтическую или профилактическую пользу. Терапевтическая или профилактическая/предупредительная польза включает в себя улучшение клинического исхода; уменьшение или ослабление симптомов, ассоциированных с заболеванием; снижение степени проявления симптомов; улучшение качества жизни; более длительный период состояния без признаков заболевания; уменьшение степени заболевания, стабилизацию болезненного состояния; задержку прогрессирования заболевания; ремиссию; выживание; длительное выживание или любую их комбинацию.

«Терапевтически эффективное количество» или «эффективное количество» слитого белка или клетки, экспрессирующей слитый белок по настоящему раскрытию (например, CD200R-CD28, SIRP α -CD28, CD200R-41BB, SIRP α -41BB, CD200R-CD28-41BB, SIRP α -CD28-41BB или другие такие слитые белки), в контексте заболевания или состояния, подлежащих лечению, относится к такому количеству слитого белка или количеству клеток, которое достаточно для улучшения одного или более симптомов заболевания,

подлежащего лечению, статистически значимым образом (например, уменьшения инфекции, уменьшения размера опухоли, подавления развития рака или т.п.)

Иммуномодулирующие слитые белки (IFP)

В определенных аспектах настоящее раскрытие предусматривает слитый белок, содержащий внеклеточный компонент, гидрофобный компонент и внутриклеточный компонент. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный компонент включает связывающий домен, такой как тот, который специфически связывается с мишенью. В некоторых вариантах осуществления связывающий домен получают из молекулы, которая обычно, например, в своей естественной обстановке, способна передавать отрицательный или ингибирующий сигнал при связывании со своим партнером по связыванию или лигандом или рецептором, таким как иммуоингибирующий рецептор или молекула контрольной точки, или мишень представляет собой ингибирующий рецептор или лиганд или молекулу контрольной точки или другой ингибирующий лиганд. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный компонент включает сигнальный домен, такой как костимулирующий сигнальный домен или сигнальная область молекулы, в целом способной передавать костимулирующий или положительный сигнал, например, иммунной клетке. Таким образом, в некоторых аспектах слитые белки способны передавать положительный или костимулирующий сигнал в ответ на событие связывания, которое в естественной обстановке приведет к ингибирующему сигналу.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок является таким, с которым достигается конкретное расстояние. Например, в некоторых вариантах осуществления комплекс слитый белок::мишень (такой как состоящий из внеклеточной части комплекса, образованного между слитым белком и мишенью посредством специфического связывания с ней) имеет определенную длину или охватывает определенное расстояние, такое как расстояние вплоть до расстояния между мембранами в иммунологическом синапсе или охваченное внеклеточной частью родственного комплекса между молекулой TCR и МНС, например, после их специфического распознавания с помощью TCR, или расстояние, охваченное внеклеточной частью комплекса, образованного между природной молекулой и ее естественным партнером по связыванию. В некоторых вариантах осуществления расстояние или длина достаточны для содействия колокализации слитого белка с антигенным рецептором или другой сигнальной молекулой при экспрессии в иммунной клетке, такой как Т-клетка, или вхождению в иммунологический синапс.

В качестве пояснения, иммунологический синапс представляет собой поверхность контакта между клетками, которая может образовываться между различными клетками, например, между иммунными клетками (Rossy et al., *Frontiers in Immunol.* 3: 1-12, 2012; Hatherley et al., *Structure* 21:820, 2013). Например, в случае Т-клетки, контактирующей с антиген-презентирующей клеткой (APC), иммунологический синапс может образовываться путем связывания TCR (находящегося на поверхности Т-клетки) с комплексом HLA-пептид (МНС-пептид для отличных от человека хозяев) (находящимся на поверхности, например, APC; молекулы HLA класса I могут находиться на поверхности всех ядерных клеток, тогда как HLA класса II условно могут экспрессироваться на всех типах клеток, но постоянно находятся на APC). Кроме того, иммунологический синапс может быть организован в супрамолекулярные активационные кластеры (SMAC), которые могут влиять на активацию лимфоцитов, управлять презентацией комплекса антиген-HLA (или антиген-МНС) лимфоцитам и управлять секрецией цитокинов или литических гранул между клетками. SMAC может

состоять из трех структур, расположенных в концентрических окружностях: центральной области (cSMAC), содержащей большое количество TCR, а также костимулирующие и ингибирующие молекулы, периферической области (pSMAC), где группируются LFA-1 и талины, и дистальной области (dSMAC), которая обогащена молекулами CD43 и CD45. В определенных вариантах осуществления иммунологический синапс будет охватывать от приблизительно 10 нм до приблизительно 15 нм. Например, белковые взаимодействия, обнаруженные в иммунологическом синапсе, такие как взаимодействие TCR::HLA-пептид или взаимодействие слитый белок-мишень, обычно охватывают приблизительно 14 нм между мембранами. В определенных вариантах осуществления ширина SMAC в иммунологическом синапсе не превышает 15 нм.

В некоторых вариантах осуществления внеклеточная протяженность комплекса слитый белок: мишень такова, что он может локализоваться в конкретном компартменте иммунологического синапса. Некоторые комплексы, которые, как предполагается, локализуются в различных компартментах иммунологического синапса, хорошо охарактеризованы в отношении длины их внеклеточной протяженности. Например, считается, что комплекс MHC-TCR имеет внеклеточную протяженность приблизительно 10-15 нм, и полагают, что более сложные комплексы на основе интегрина имеют внеклеточную протяженность порядка приблизительно 40 нм (Alakoskela et al., *Biophys J* 100:2865, 2011). Дополнительные иллюстративные комплексы включают комплекс CD2-CD48, который, как считается, имеет внеклеточную протяженность приблизительно 12,8 нм (Milstein et al., *J Biol Chem* 283:34414, 2008). Кроме того, иллюстративные лигандсвязывающие молекулы, которые, как считается, локализуются в cSMAC, включают комплексы TCR и MHC, CD2, CD4, CD8, CD28 и их лиганды (Dustin et al., *CSH Perspectives in Biology* 2:a002311, 2010); таким образом, предполагается, что эти молекулы в комплексе с их природными лигандами имеют подходящий размер, чтобы локализоваться в cSMAC.

В некоторых аспектах длина или расстояние или приблизительная длина или расстояние конкретной конструкции или ее сконструированной внеклеточной части, такой как внеклеточная часть слитого белка, или комплекса любого из вышеперечисленного, например, с его партнером по связыванию, могут быть определены или смоделированы с помощью известных способов. В некоторых иллюстративных моделях третичную структуру белка, связывающие домены и другие характеристики можно аппроксимировать с использованием вводимой аминокислотной последовательности или последовательности нуклеиновых кислот. Третичную структуру белка можно использовать для аппроксимации размера внеклеточной части, гибкости и других характеристик, полезных для определения приблизительной длины внеклеточной части белка или его комплекса. В целом, способы моделирования или аппроксимации длины внеклеточной части белка являются известными. Например, molbiol-tools.ca и Swiss-Model содержат несколько инструментов, полезных для прогнозирования структуры белка (см. также Schwede, T., *Structure* 21:1531, 2013).

В определенных вариантах осуществления слитый белок по настоящему раскрытию, находящийся в комплексе, связанный или взаимодействующий с мишенью, способен находиться в иммунологическом синапсе. В некоторых вариантах осуществления внеклеточная часть комплекса слитый белок::мишень охватывает иммунологический синапс. В других вариантах осуществления комплекс слитый белок::мишень локализуется в супрамолекулярном активационном кластере (SMAC), таком как cSMAC. В дополнительных вариантах осуществления внеклеточная часть комплекса слитый белок::мишень охватывает иммунологический синапс, определяемый внеклеточной

частью взаимодействия TCR::HLA-пептид. В еще одном варианте осуществления длина внеклеточной части комплекса слитый белок::мишень составляет от приблизительно 12 нм до приблизительно 15 нм или составляет приблизительно 14 нм.

Расстояние между клеточными мембранами клеток, взаимодействующих в иммунологическом синапсе, можно измерить любым способом, известным из уровня техники. Например, в конкретных вариантах осуществления расстояние можно измерить способом субдифракционного разрешения или электронной микроскопии (James and Vale, Nature 487:64-69, 2012).

В конкретных вариантах осуществления слитый белок, раскрываемый в данном документе, содержит внеклеточную часть, которая тянется менее чем на 40 нм от клеточной мембраны. В некоторых вариантах осуществления слитый белок, раскрываемый в данном документе, содержит внеклеточную часть, которая тянется менее чем на 30 нм от клеточной мембраны. В некоторых вариантах осуществления слитый белок, раскрываемый в данном документе, содержит внеклеточную часть, которая тянется менее чем на 20 нм от клеточной мембраны. В некоторых вариантах осуществления слитый белок, раскрываемый в данном документе, содержит внеклеточную часть, которая тянется менее чем на 15 нм от клеточной мембраны.

В некоторых вариантах осуществления предусмотренные слитые белки обеспечивают преимущество наличия внеклеточной длины или пространственного расстояния по сравнению с расстоянием между клеточной мембраной(-ами), которое позволяет вход в синапс или колокализацию с антигенным рецептором, или которое имитирует расстояние или длину, присутствующую в природных белках. В некоторых вариантах осуществления, где внеклеточная часть слитого белка включает домен(-ы) из дополнительной молекулы, который получают не из той молекулы, из которой получен связывающий домен, длина внеклеточного компонента, содержащего связывающий домен, уменьшена, например усечена, по сравнению с внеклеточной областью природной молекулы для обеспечения такой же длины или расстояния. В некоторых вариантах осуществления слитый белок, описываемый в данном документе, содержит внеклеточный компонент, содержащий внеклеточный домен рецептора клеточной поверхности и второй домен (например, линкер или внеклеточный домен второго рецептора клеточной поверхности). В некоторых таких вариантах осуществления для сохранения внеклеточного компонента, способного находиться в иммунологическом синапсе или охватывать иммунологический синапс при образовании комплекса с молекулой-мишенью, один или более доменов внеклеточного компонента могут быть усечены.

При некоторых заболеваниях (например, раке) амплитуда и качество ответа Т-клетки, возникающего в результате распознавания антигена Т-клеточным рецептором (TCR), могут быть дисрегулированы (например, уменьшены) из-за дисбаланса между костимулирующими и ингибирующими сигналами, что может привести к иммунной резистентности. Одним из преимуществ определенных слитых белков настоящего раскрытия является то, что первый сигнал может быть преобразован в качественно другой второй сигнал. Например, в некоторых вариантах осуществления слитые белки таковы, что отрицательный или ингибирующий сигнал можно эффективно превратить в положительный или костимулирующий сигнал, чтобы тем самым облегчить или минимизировать иммунную резистентность, связанную с заболеванием, таким как рак. Например, при связывании с мишенью, которая, если она связана ее естественным партнером по связыванию, приведет к ингибированию или доставке отрицательного сигнала, слитый белок, предусматриваемый в данном документе, в некоторых вариантах осуществления способен вместо этого доставлять положительный, например,

косимулирующий сигнал, в клетку, в которой он экспрессируется, например, в Т-клетку. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему раскрытию содержит внеклеточный компонент, связанный с отрицательным сигналом, и внутриклеточный компонент, связанный с положительным сигналом. Иллюстративный рецептор, находящийся на поверхности Т-клеток, ассоциированный с цитотоксическим Т-лимфоцитом антиген 4 (CTLA4 или CD152), может получить ингибирующий сигнал при связывании одним из его лигандов, CD80 или CD86, находящимся на APC. CTLA4 регулирует амплитуду ранней стадии активации Т-клеток, противодействуя костимулирующему Т-клеточному рецептору CD28 (см. Rudd et al., Immunol. Rev. 229: 12, 2009). Другой иллюстративный рецептор, обнаруженный на поверхности Т-клеток, белок запрограммированной гибели клеток 1 (PD-1 или CD279), может принимать ингибирующий сигнал при связывании одним из его лигандов, PD-L1 (B7-H1, CD274) или PD-L2 (B7-DC, CD73), находящимся на APC. PD-1 ограничивает активность Т-клеток в периферических тканях во время воспаления и сводит к минимуму аутоиммунность (см. Keir et al., Annu. Rev. Immunol. 26:677, 2008). Типичные слитые белки по настоящему раскрытию, содержащие внеклеточный компонент, связанный с отрицательным сигналом (например, CTLA4 или PD-1), и внутриклеточный компонент, связанный с положительным сигналом (например, CD28, CD137), включают слитый белок CTLA4-CD28, слитый белок CTLA4-CD137, слитый белок CTLA4-CD28-CD137, слитый белок PD1-CD28, слитый белок PD1-CD137 или слитый белок PD1-CD28-CD137.

Слитые белки по настоящему раскрытию могут блокировать или уменьшать количество ингибирующих сигналов, принимаемых иммунной клеткой. Например, в некоторых вариантах осуществления слитый белок, раскрываемый в данном документе, превращает ингибирующий сигнал в положительный сигнал, за счет чего уменьшается общее количество ингибирующих сигналов, принимаемых иммунной клеткой, или превращая обычно отрицательный или ингибирующий сигнал в положительный. В других вариантах осуществления слитый белок, раскрываемый в данном документе, блокирует передачу сигнала рецептора дикого типа. Например, слитые белки с преобладанием отрицательного сигнала включены в объем настоящего раскрытия. В некоторых вариантах осуществления слитый белок, раскрываемый в данном документе, связывается с рецептором дикого типа и блокирует передачу сигнала рецептора дикого типа путем образования олигомера с рецептором дикого типа.

Еще одно преимущество определенных слитых белков по настоящему раскрытию состоит в том, что более чем один такой слитый белок может экспрессироваться клеткой, обеспечивая множественные стимулирующие сигналы. Было замечено, что рекомбинантные TCR, обладающие несколькими костимулирующими доменами, могут не создавать адекватную передачу костимулирующего сигнала. Коэкспрессия нескольких иммуномодулирующих слитых белков, особенно тех, которые могут находиться в иммунологическом синапсе, может обеспечить передачу костимулирующего сигнала, необходимую Т-клеткам, чтобы избежать анергии и пролиферации.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему раскрытию действует *in trans* относительно TCR или химерного антигенного рецептора (CAR) или другого антигенного рецептора. В некоторых вариантах осуществления слитый белок, раскрываемый в данном документе, действует вне иммунологического синапса.

В еще одном аспекте слитый белок по настоящему раскрытию позволяет накапливать трансдуцированные Т-клетки при рестимуляции опухолевыми клетками, экспрессирующими лиганд, который связывается с слитым белком, без необходимости в сортировке.

В одном иллюстративном варианте осуществления предусмотрен слитый белок, содержащий (а) внеклеточную часть CD200R, (b) трансмембранный домен CD28, и (с) внутриклеточный сигнальный домен CD28. В некоторых вариантах осуществления внеклеточная часть дополнительно содержит внеклеточную часть CD28, примыкающую к трансмембранному домену CD28. В дополнительных вариантах осуществления внеклеточная часть CD200R содержит по меньшей мере приблизительно 231 аминокислоту с N-конца CD200R. В еще одном варианте осуществления слитый белок дополнительно содержит внутриклеточный сигнальный домен CD137 (4-1BB).

В другом иллюстративном варианте осуществления настоящее раскрытие предусматривает слитый белок, содержащий (а) внеклеточную часть SIRP α , (b) трансмембранный домен CD28, и (с) внутриклеточный сигнальный домен CD28. В некоторых вариантах осуществления слитый белок дополнительно содержит внеклеточную часть CD28, примыкающую к трансмембранному домену CD28. В дополнительных вариантах осуществления внеклеточная часть SIRP α содержит по меньшей мере приблизительно 361 аминокислоту с N-конца SIRP α . В еще одном варианте осуществления слитый белок дополнительно содержит внутриклеточный сигнальный домен CD137 (4-1BB).

Составные части слитых белков по настоящему раскрытию дополнительно подробно описаны в данном документе.

Внеклеточный компонент

Описываемый в данном документе слитый белок по настоящему раскрытию обычно содержит внеклеточный компонент, содержащий связывающий домен, который специфически связывает мишень. Связывание мишени с помощью связывающего домена слитого белка может (1) блокировать взаимодействие мишени с другой молекулой (например, блокировать или препятствовать взаимодействию рецептор-лиганд), (2) препятствовать, уменьшать или устранять определенные функции мишени (например, ингибирующую сигнальную трансдукцию), (3) индуцировать определенные биологические пути, которые обычно не индуцируются при связывании мишени (например, превращение ингибирующего или отрицательного сигнала в стимулирующий или положительный сигнал), например, в клетке, в которой экспрессируется слитый белок, или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления слитые белки, описываемые в данном документе, содержат внеклеточную часть, где внеклеточная часть содержит внеклеточную часть белка, связанного с отрицательным сигналом.

Иллюстративными связывающими доменами по настоящему раскрытию могут являться эктодомены рецепторов клеточной поверхности или их связывающие части, эктодомены лигандов клеточной поверхности, цитокины (например, IL35), хемокины, связывающие домены на основе антител, связывающие домены на основе TCR, нетрадиционные связывающие домены или любая их комбинация. Например, связывающие домены, содержащие эктодомен CD200R, SIRP α , CD279 (PD-1), CD2, CD95 (Fas), CTLA4 (CD152), CD223 (LAG3), CD272 (BTLA), A2aR, KIR, TIM3, CD300 или LPA5, входят в объем настоящего раскрытия. Используемое в данном документе выражение «эктодомен» из рецептора или лиганда клеточной поверхности включает полный внеклеточный домен или его функциональный (связывающий) фрагмент. В определенных вариантах осуществления эктодомен содержит мутированный внеклеточный домен или его функциональный (связывающий) фрагмент, который имеет более высокую avidность к мишени по сравнению с белком дикого типа или эталонным белком. В определенных вариантах осуществления эктодомен содержит домен, подобный вариабельному, или CDR домена, подобного вариабельному.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит внеклеточный компонент, содержащий CD200-связывающий домен, такой как эктодомен CD200R или его CD200-связывающую часть. В качестве пояснения, CD200R представляет собой рецептор, который связывается с CD200, мембранным белком типа 1 суперсемейства иммуноглобулинов (Tonks et al., Leukemia 21:566-568, 2007). Сообщалось, что CD200 активируется при различных злокачественных новообразованиях, включая лейкоз, множественную миелому и различные солидные опухоли (например, меланому, карциному молочной железы и плоскоклеточную карциному). Фактически, высокие уровни экспрессии CD200 были связаны с плохим прогнозом при остром миелоидном лейкозе (AML), и было показано, что передача сигнала CD200R оказывает ингибирующее действие на Т-клетки (Coles et al., Leukemia 26: 2148-2151, 2012). В определенных вариантах осуществления эктодомен CD200R включает полноразмерную внеклеточную часть белка CD200R, полноразмерную зрелую внеклеточную часть белка CD200R, связывающий фрагмент внеклеточной части белка CD200R или связывающий фрагмент внеклеточной части белка CD200R вместе с частью трансмембранного домена CD200R, или любую их комбинацию.

В дополнительных вариантах осуществления CD200R кодируется молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:2. В определенных других вариантах осуществления эктодомен CD200R содержит по меньшей мере 200 аминокислот с N-конца CD200R. В некоторых других вариантах осуществления CD200R кодируется молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:11. В других вариантах осуществления внеклеточная часть CD200R содержит по меньшей мере 180, 190, 200, 210, 220, 230, 231, 234 или 243 аминокислоты с N-конца CD200R. Например, в определенных вариантах осуществления CD200R кодируется молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:8. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления CD200R, эктодомен CD200R или любой его CD200R-фрагмент, используемый в слитом белке по настоящему раскрытию, представляет собой CD200R человека. В дополнительных вариантах осуществления предусмотрены эктодомены CD200R, имеющие последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или по меньшей мере на 100% идентична эктодомену молекулы, имеющей аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:2.

В некоторых вариантах осуществления CD200R содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 25. В некоторых вариантах осуществления CD200R содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 34. В определенных вариантах осуществления CD200R содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:31. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления CD200R, эктодомен CD200R или любой его CD200R-фрагмент, используемый в слитом белке по настоящему раскрытию, представляет собой CD200R человека. В дополнительных вариантах осуществления предусмотрены эктодомены CD200R, имеющие последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или по меньшей мере

на 100% идентична эктодомену молекулы, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:25.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит внеклеточный компонент, содержащий CD47-связывающий домен, такой как эктодомен SIRP α или его связывающую часть. В качестве пояснения, CD47 представляет собой широко экспрессируемый трансмембранный белок, который играет роль в защите клеток от фагоцитоза (Willingham et al., PNAS 109: 6662-6667, 2012). Связывание CD47 с SIRP α инициирует передачу сигнала SIRP α , который ингибирует фагоцитоз макрофагами. Соответственно, подавление SIRP α приведет к увеличению фагоцитоза макрофагами. SIRP α экспрессируется на множестве типов опухолей человека, включая AML, хронический миелолейкоз (CML), острый лимфобластный лейкоз (ALL), неходжкинскую лимфому (NHL), множественную миелому (MM), солидные опухоли легкого, мочевого пузыря и другие солидные опухоли. В определенных вариантах осуществления эктодомен SIRP α включает полноразмерную внеклеточную часть белка SIRP α , полноразмерную зрелую внеклеточную часть белка SIRP α , связывающий фрагмент внеклеточной части белка SIRP α и связывающий фрагмент внеклеточной части белка SIRP α вместе с частью трансмембранного домена SIRP α , или любую их комбинацию.

В дополнительных вариантах осуществления эктодомен SIRP α или его связывающая часть кодируется молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:17. В определенных вариантах осуществления эктодомен SIRP α содержит по меньшей мере 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 361, 370, 373 или более аминокислоты с N-конца SIRP α . В некоторых других вариантах осуществления SIRP α кодируется молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:21. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления SIRP α , эктодомен SIRP α или любой его SIRP α -фрагмент, используемый в слитом белке по настоящему раскрытию, представляет собой SIRP α человека. В дополнительных вариантах осуществления предусмотрены эктодомены SIRP α , имеющие последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или по меньшей мере на 100% идентична эктодомену молекулы, имеющей аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:17.

В дополнительных вариантах осуществления эктодомен SIRP α содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:40. В некоторых вариантах осуществления SIRP α содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:44. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления SIRP α , эктодомен SIRP α или любой его SIRP α -фрагмент, используемый в слитом белке по настоящему раскрытию, представляет собой SIRP α человека. В дополнительных вариантах осуществления предусмотрены эктодомены SIRP α , имеющие последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или по меньшей мере на 100% идентична эктодомену молекулы, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:40.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит внеклеточный компонент, содержащий связывающий домен, который связывается с PD-L1, PD-L2 или

и с тем, и с другим. В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит внеклеточный компонент, содержащий эктодомен PD-1 или его лиганд-связывающую часть. В определенных вариантах осуществления эктодомен PD-1 включает полноразмерную внеклеточную часть белка PD-1, полноразмерную зрелую

5 внеклеточную часть белка PD-1, связывающий фрагмент внеклеточной части белка PD-1 или связывающий фрагмент внеклеточной части белка PD-1 вместе с частью трансмембранного домена PD-1, или любую их комбинацию. В определенных вариантах осуществления эктодомен PD-1 содержит по меньшей мере 80, 90, 100, 110, 120, 125, 130, 132, 135, 137, 140, 149, 150, 155, 158, 160 или 170 аминокислот с N-конца PD-1.

10 Например, в определенных вариантах осуществления эктодомен PD-1 кодируется молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:91, 93 или 95. В дополнительных вариантах осуществления эктодомен PD-1 содержит по меньшей мере от приблизительно 90 аминокислот до по меньшей мере приблизительно 130 аминокислот из PD-1, как изложено под SEQ ID NO:60. В еще одном варианте

15 осуществления эктодомен PD-1 содержит 170 аминокислот с N-конца эктодомена PD-1, как изложено под SEQ ID NO:90. В некоторых вариантах осуществления PD-1 кодируется молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:89. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления PD-1, эктодомен PD-1 или любой его PD-1-фрагмент, используемый в слитом белке по настоящему раскрытию, представляет

20 собой PD-1 человека. В дополнительных вариантах осуществления предусмотрены эктодомены PD-1, имеющие последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по

25 меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или по меньшей мере на 100% идентична эктодомену молекулы, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:60. В дополнительных вариантах осуществления предусмотрены эктодомены PD-1, имеющие последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на

30 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или по меньшей мере на 100% идентична эктодомену молекулы, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:90. В других вариантах осуществления

35 предусмотрены связывающие домены PD-1, имеющие последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или по

40 меньшей мере на 100% идентична эктодомену молекулы, имеющей аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:89.

В определенных вариантах осуществления эктодомен PD-1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:92, 94 или 96. В дополнительных

45 вариантах осуществления предусмотрены эктодомены PD-1, имеющие последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на

96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или по меньшей мере на 100% идентична эктодомену молекулы, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 92, 94 или 96. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления PD-1, эктодомен PD-1 или любой его PD-1-фрагмент, используемый в слитом белке по настоящему раскрытию, представляет собой PD-1 человека.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит внеклеточный компонент, содержащий эктодомен CD2. В определенных вариантах осуществления эктодомен CD2 кодируется молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:61. В определенных вариантах осуществления эктодомен CD2 включает полноразмерную внеклеточную часть белка CD2, полноразмерную зрелую внеклеточную часть белка CD2, связывающий фрагмент внеклеточной части белка CD2 или связывающий фрагмент внеклеточной части белка CD2 вместе с частью трансмембранного домена CD2, или любую их комбинацию. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления CD2, эктодомен CD2 или любой его CD2-фрагмент, используемый в слитом белке по настоящему раскрытию, представляет собой CD2 человека. В дополнительных вариантах осуществления предусмотрены эктодомены CD2, имеющие последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или по меньшей мере на 100% идентична эктодомену молекулы, имеющей аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной в GenBank под номером доступа NM_001767.3. В дополнительных вариантах осуществления предусмотрены эктодомены CD2, имеющие последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или по меньшей мере на 100% идентична эктодомену молекулы, имеющей аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:61.

В некоторых вариантах осуществления эктодомен CD2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:62. В дополнительных вариантах осуществления предусмотрены эктодомены CD2, имеющие последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или по меньшей мере на 100% идентична эктодомену молекулы, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:62. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления CD2, эктодомен CD2 или любой его CD2-фрагмент, используемый в слитом белке по настоящему раскрытию, представляет собой CD2 человека.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит внеклеточный компонент, содержащий связывающий домен, который связывается с FasL. В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит внеклеточный компонент, содержащий эктодомен Fas (CD95). Fas экспрессируется на опухолиассоциированной сосудистой сети

и предотвращает инфильтрацию CD8 клеток путем индуцирования клеточной гибели. В определенных вариантах осуществления эктодомен Fas включает полноразмерную внеклеточную часть белка Fas, полноразмерную зрелую внеклеточную часть белка Fas, связывающий фрагмент внеклеточной части белка Fas и связывающий фрагмент

5 внеклеточной части белка Fas вместе с частью трансмембранного домена Fas, или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления эктодомен Fas кодируется молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:71. В других вариантах осуществления эктодомен Fas содержит по меньшей мере 150, 160, 161, 166, 170 или 173 аминокислоты с N-конца Fas. Например, в определенных вариантах осуществления Fas

10 кодируется молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:73. В определенных других вариантах осуществления Fas кодируется молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:75. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления Fas, эктодомен Fas или любой его Fas-фрагмент, используемый в слитом белке по настоящему раскрытию, представляет собой Fas человека. В дополнительных

15 вариантах осуществления предусмотрены эктодомены Fas, имеющие последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или

20 по меньшей мере на 100% идентична эктодомену молекулы, имеющей аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной в GenBank под номером доступа NM_000043.4. В других дополнительных вариантах осуществления предусмотрены эктодомены Fas, имеющие последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей

25 мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или по меньшей мере на 100% идентична эктодомену молекулы, имеющей аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под

30 SEQ ID NO:71.

В некоторых вариантах осуществления эктодомен Fas содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:72. В определенных вариантах осуществления эктодомен Fas содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:74. В определенных других вариантах осуществления

35 эктодомен Fas содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:76. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления Fas, эктодомен Fas или любой его Fas-фрагмент, используемый в слитом белке по настоящему раскрытию, представляет собой Fas человека. В дополнительных вариантах осуществления предусмотрены эктодомены Fas, имеющие последовательность, которая по меньшей

40 мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или по меньшей мере на 100% идентична эктодомену молекулы, имеющей аминокислотную

45 последовательность, изложенную под SEQ ID NO:72.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит внеклеточный компонент, содержащий эктодомен LAG3 (CD223). В определенных вариантах осуществления эктодомен LAG3 включает полноразмерную внеклеточную часть белка

LAG3, полноразмерную зрелую внеклеточную часть белка LAG3, связывающий фрагмент внеклеточной части белка LAG3 и связывающий фрагмент внеклеточной части белка LAG3 вместе с частью трансмембранного домена LAG3, или любую их комбинацию. Например, в некоторых вариантах осуществления эктодомен LAG3 содержит приблизительно 420, 416, 415, 413 или 410 аминокислот с N-конца LAG3. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления LAG3, эктодомен LAG3 или любой его LAG3-фрагмент, используемый в слитом белке по настоящему раскрытию, представляет собой LAG3 человека. В дополнительных вариантах осуществления предусмотрены эктодомены LAG3, имеющие последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или по меньшей мере на 100% идентична эктодомену молекулы, имеющей аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной в GenBank под номером доступа NM_002286.5.

В дополнительных вариантах осуществления LAG3 кодируется молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:153. В определенных других вариантах осуществления эктодомен LAG3 содержит по меньшей мере 430, 435, 438, 440, 445 или 450 аминокислот с N-конца LAG3. Например, в определенных вариантах осуществления LAG3 кодируется молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:161. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления LAG3, эктодомен LAG3 или любой его LAG3-фрагмент, используемый в слитом белке по настоящему раскрытию, представляет собой LAG3 человека. В дополнительных вариантах осуществления предусмотрены эктодомены LAG3, имеющие последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или по меньшей мере на 100% идентична эктодомену молекулы, имеющей аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:153.

В некоторых вариантах осуществления LAG3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:154. В некоторых вариантах осуществления LAG3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:162. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления LAG3, эктодомен LAG3 или любой его LAG3-фрагмент, используемый в слитом белке по настоящему раскрытию, представляет собой LAG3 человека. В дополнительных вариантах осуществления предусмотрены эктодомены LAG3, имеющие последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или по меньшей мере на 100% идентична эктодомену молекулы, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:154.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит внеклеточный компонент, содержащий эктодомен TIM3. В определенных вариантах осуществления эктодомен TIM3 включает полноразмерную внеклеточную часть белка TIM3,

полноразмерную зрелую внеклеточную часть белка TIM3, связывающий фрагмент внеклеточной части белка TIM3 и связывающий фрагмент внеклеточной части белка TIM3 вместе с частью трансмембранного домена TIM3, или любую их комбинацию. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления TIM3, эктодомен TIM3 или любой его TIM3-фрагмент, используемый в слитом белке по настоящему раскрытию, представляет собой TIM3 человека. В дополнительных вариантах осуществления предусмотрены эктодомены TIM3, имеющие последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или по меньшей мере на 100% идентична эктодомену молекулы, имеющей аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной в GenBank под номером доступа NM_032782.4.

В дополнительных вариантах осуществления TIM3 кодируется молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:167. В определенных других вариантах осуществления эктодомен TIM3 содержит по меньшей мере 180, 185, 190, 195 или 200 аминокислот с N-конца TIM3. Например, в определенных вариантах осуществления TIM3 кодируется молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:177. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления TIM3, эктодомен TIM3 или любой его TIM3-фрагмент, используемый в слитом белке по настоящему раскрытию, представляет собой TIM3 человека. В дополнительных вариантах осуществления предусмотрены эктодомены TIM3, имеющие последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или по меньшей мере на 100% идентична эктодомену молекулы, имеющей аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:167.

В некоторых вариантах осуществления TIM3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:168. В некоторых вариантах осуществления TIM3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:178. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления TIM3, эктодомен TIM3 или любой его TIM3-фрагмент, используемый в слитом белке по настоящему раскрытию, представляет собой TIM3 человека. В дополнительных вариантах осуществления предусмотрены эктодомены TIM3, имеющие последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или по меньшей мере на 100% идентична эктодомену молекулы, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:168.

Связывающий домен может являться любым пептидом, который специфически связывает представляющую интерес мишень. Источники связывающих доменов включают вариабельные области антител от различных видов (которые могут быть в форме антител, sFvs, scFvs, Fabs, «grababody» на основе scFv или растворимых VH-доменов или доменных антител), в том числе человека, грызуна, птицы или овцы.

Дополнительные источники связывающих доменов включают переменные области антител от других видов, таких как верблюдовые (от верблюдов, дромадеров или лам; Ghahroudi et al., FEBS Lett. 414:521, 1997; Vincke et al., J. Biol. Chem. 284:3273, 2009; Hamers-Casterman et al., Nature 363:446, 1993 и Nguyen et al., J. Mol. Biol. 275:413, 1998), акулы-няньки (Roux et al., Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA) 95:11804, 1998), американский гидролаг (Nguyen et al., Immunogen. 54:39, 2002), или миноговые (Herrin et al., Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA) 105:2040, 2008 и Alder et al. Nat. Immunol. 9:319, 2008). Эти антитела могут образовывать антиген-связывающие области с использованием только переменной области тяжелой цепи, т.е. эти функциональные антитела являются гомодимерами только тяжелых цепей (называемые «антителами, состоящими только из тяжелых цепей») (Jespers et al., Nat. Biotechnol. 22:1161, 2004; Cortez-Retamozo et al., Cancer Res. 64:2853, 2004; Baral et al., Nature Med. 12:580, 2006; и Barthelemy et al., J. Biol. Chem. 283:3639, 2008).

Альтернативные источники нетрадиционных связывающих доменов по настоящему раскрытию включают последовательности, которые кодируют случайные пептидные библиотеки, или последовательности, которые кодируют сконструированное многообразие аминокислот в петлевых областях альтернативных, отличных от антител каркасов, таких как scTCR (см., например, Lake et al., Int. Immunol. 11:745, 1999; Maynard et al., J. Immunol. Methods 306:51, 2005; патент США №8361794), домены фибриногена (см., например, Weisel et al., Science 230:1388, 1985), домены Куница (см., например, патент США №6423498), сконструированные белки анкириновых повторов (DARPin) (Binz et al., J. Mol. Biol. 332:489, 2003 и Binz et al., Nat. Biotechnol. 22:575, 2004), фибронектин-связывающие домены (аднектины или монотела) (Richards et al., J. Mol. Biol. 326:1475, 2003; Parker et al., Protein Eng. Des. Selec. 18:435, 2005 и Hackel et al. (2008) J. Mol. Biol. 381:1238-1252), минибелки с цистеиновыми узлами (Vita et al. (1995) Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA) 92:6404-6408; Martin et al. (2002) Nat. Biotechnol. 21:71, 2002 и Huang et al. (2005) Structure 13:755, 2005), домены тетратрикопептидных повторов (Main et al., Structure 11:497, 2003 и Cortajarena et al., ACS Chem. Biol. 3:161, 2008), домены богатых лейцином повторов (Stumpp et al., J. Mol. Biol. 332:471, 2003), липокалиновые домены (см., например, WO 2006/095164, Beste et al., Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA) 96:1898, 1999 и Schönfeld et al., Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA) 106:8198, 2009), V-подобные домены (см., например, публикацию заявки на патент США №2007/0065431), лектиновые домены C-типа (Zelensky and Gready, FEBS J. 272:6179, 2005; Beavil et al., Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA) 89:753, 1992 и Sato et al., Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA) 100:7779, 2003), mAb² или FcabTM (см., например, публикации заявок на выдачу патента PCT №№ WO 2007/098934; WO 2006/072620), белки с повторами армадилло (см., например, Madhurantakam et al., Protein Sci. 21: 1015, 2012; публикация заявки на выдачу патента PCT № WO 2009/040338), аффилин (Ebersbach et al., J. Mol. Biol. 372: 172, 2007), аффибоды, авимеры, ноттины (пептиды с цистиновыми узлами) финомеры, атримеры, ассоциированный с цитотоксическим Т-лимфоцитом белок-4 (Weidle et al., Cancer Gen. Proteo. 10:155, 2013) или подобные (Nord et al., Protein Eng. 8:601, 1995; Nord et al., Nat. Biotechnol. 15:772, 1997; Nord et al., Euro. J. Biochem. 268:4269, 2001; Binz et al., Nat. Biotechnol. 23:1257, 2005; Boersma and Plückthun, Curr. Opin. Biotechnol. 22:849, 2011).

В некоторых вариантах осуществления связывающий домен представляет собой одноцепочечный Т-клеточный рецептор (scTCR), содержащий цепи V_αβ и C_αβ (например, V_α-C_α, V_β-C_β, V_α-V_β) или содержащий пару V_α-C_α, V_β-C_β, V_α-V_β, специфичную для представляющей интерес мишени (например, комплекса пептид-MHC или комплекса

пептид-HLA).

В определенных вариантах осуществления связывающий домен содержит или представляет собой последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, по меньшей мере на 99,5% или на 100% идентична эктодомену, молекулы, имеющей аминокислотную последовательность V_α , V_β , C_α или C_β TCR, где каждый CDR содержит ноль изменений или не более одного, двух или трех изменений из TCR или его фрагмента или производного, которое специфически связывается с представляющей интерес мишенью.

В определенных вариантах осуществления область V_α , V_β , C_α или C_β связывающего домена по настоящему раскрытию может быть получена из или на основе V_α , V_β , C_α или C_β известного TCR (например, высокоаффинного TCR) и содержать одну или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) вставок, одну или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) делеций или одну или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) аминокислотных замен (например, консервативных аминокислотных замен или неконсервативных аминокислотных замен), или комбинацию вышеуказанных изменений по сравнению с V_α , V_β , C_α или C_β известного TCR. Вставка, делеция или замена может находиться в любом месте в области V_α , V_β , C_α или C_β , в том числе на амино- или карбокси-конце или на обоих концах данной области, при условии, что каждый CDR содержит ноль изменений или не более одного, двух или трех изменений, и при условии, что связывающий домен, содержащий модифицированную область V_α , V_β , C_α или C_β , по-прежнему может специфически связывать свою мишень с аффинностью, подобной аффинности дикого типа. В определенных вариантах осуществления TCR имеет аффинность к комплексу пептид-HLA в диапазоне от приблизительно 10 мкМ до приблизительно 500 мкМ. В дополнительных вариантах осуществления TCR имеет высокую аффинность к комплексу пептид-HLA в диапазоне от приблизительно 10 нМ до приблизительно 200 пМ.

В определенных аспектах слитый белок по настоящему раскрытию имеет внеклеточный компонент, состоящий из связывающего домена, который специфически связывает мишень (например, лиганд или рецептор), где внеклеточный компонент необязательно включает один или более другие функциональные подкомпоненты или домены, такие как домен мультимеризации, линкер, соединительные аминокислоты или любая их комбинация.

В определенных вариантах осуществления слитый белок, раскрытый в данном документе, также содержит дополнительную внеклеточную область в дополнение к связывающему домену или в дополнение к части, полученной из молекулы, из которой получен связывающий домен, такую как спейсер или домен мультимеризации. Например, в некоторых аспектах домен мультимеризации содержится в или является частью внеклеточного компонента слитого белка. Например, домен мультимеризации может быть создан путем изменения (например, мутации) внеклеточного компонента, или домен мультимеризации может быть создан путем добавления от 1 до приблизительно 50 аминокислотных остатков к внеклеточному компоненту. Домен мультимеризации может располагаться между связывающим доменом внеклеточного компонента и гидрофобным компонентом слитого белка по настоящему раскрытию. В определенных вариантах осуществления слитый белок, экспрессируемый на поверхности клетки,

содержит домен мультимеризации во внеклеточном компоненте, который расположен близко к клеточной мембране на расстоянии от одной до 50 аминокислот от гидрофобного компонента. Например, домен мультимеризации слитого белка может содержать один или более остатков цистеина, расположенных на расстоянии 30, 25, 20, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 или 0 аминокислот от гидрофобного компонента слитого белка, где такой один или более остатков цистеина из одного слитого белка могут образовывать один или более дисульфидных мостиков с одним или более другими слитыми белками. В некоторых вариантах осуществления дополнительную внеклеточную часть получают из той же молекулы, из которой получают трансмембранную или стимулирующую область слитого белка.

В дополнительных вариантах осуществления взаимодействие(-я) между доменами мультимеризации двух или более слитых белков по существу способствуют или эффективно стимулируют сигнальную трансдукцию (например, стимуляцию или активацию иммунных клеток) по сравнению с мономером слитого белка. В определенных вариантах осуществления мультимеризация слитых белков стимулирует сигнальную трансдукцию в клетке-хозяине статистически значимым образом относительно мономеров слитого белка. В дополнительных вариантах осуществления мультимеризация слитых белков, которая стимулирует или усиливает сигнальную трансдукцию в клетке-хозяине, осуществляется через дисульфидный мостик.

Иллюстративный мультимер - это «димер», который относится к биологическому объекту, содержащему две молекулы, такие как два слитых белка, связанные друг с другом. Такой димер считается «гомодимером», когда два связанных слитых белка имеют по существу сходные или идентичные аминокислотные последовательности. Аналогичным образом, мультимеризация трех существенно или полностью идентичных слитых белков упоминается как «гомотример». В некоторых вариантах осуществления домен мультимеризации содержит по меньшей мере один остаток цистеина, где остаток цистеина домена мультимеризации из первого слитого белка может образовывать дисульфидный мостик с остатком цистеина домена мультимеризации из второго слитого белка. В определенных вариантах осуществления димер слитого белка образуется с помощью дисульфидного мостика. В других вариантах осуществления тример слитого белка образуется с помощью двух или более дисульфидных мостиков. В качестве альтернативы, димер, гомодимер, тример или гомотример могут мультимеризоваться с помощью мотива цинкового пальца или мотива лейциновой «молнии». В другом дополнительном варианте осуществления слитый белок содержит несколько доменов мультимеризации, которые могут быть расположены внеклеточно, внутриклеточно или и то, и другое.

В некоторых вариантах осуществления домен мультимеризации, содержащийся во внеклеточном компоненте слитого белка, содержит внеклеточную часть, примыкающую к гидрофобному компоненту. Например, в некоторых вариантах осуществления домен мультимеризации, содержащийся во внеклеточном компоненте слитого белка, содержит внеклеточную часть CD28, примыкающую к трансмембранному домену CD28. В некоторых вариантах осуществления внеклеточная часть CD28 содержит приблизительно 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или до приблизительно 25 аминокислот, смежных с трансмембранным доменом. В некоторых вариантах осуществления внеклеточная часть CD28 содержит 9 аминокислот или 12 аминокислот, смежных с трансмембранным доменом. В некоторых вариантах осуществления внеклеточная часть CD28 содержит аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:9. В некоторых вариантах осуществления внеклеточная

часть CD28 содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:32. В еще одном иллюстративном варианте осуществления домен мультимеризации, содержащийся во внеклеточном компоненте слитого белка, содержит внеклеточную часть CD137 (4-1BB) (например, в диапазоне от одной до приблизительно 50 аминокислот), примыкающую к трансмембранному домену CD137 (4-1BB). В определенных вариантах осуществления домен мультимеризации и гидрофобный компонент получают из разных белков. Например, домен мультимеризации, содержащийся во внеклеточном компоненте слитого белка, содержит внеклеточную часть CD28, тянущуюся от трансмембранного домена CD137, или содержит внеклеточную часть CD137, примыкающую к трансмембранному домену CD28. В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления домен мультимеризации может дополнительно содержать участок гликозилирования.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок может содержать линкерные или соединительные аминокислоты, соединяющие, например, внеклеточный компонент с доменом мультимеризации, или соединяющие внеклеточный компонент с гидрофобным компонентом, или соединяющие гидрофобный компонент с внутриклеточным компонентом. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой Gly_xSer_y , где x и y независимо представляют собой целое число от 1 до 5.

Молекула-мишень, которая специфически связывается связывающим доменом, содержащимся в слитом белке по настоящему раскрытию, может находиться на представляющей интерес клетке («клетке-мишени») или в ассоциации с ней. Иллюстративные клетки-мишени включают иммунную клетку, раковую клетку, клетку, связанную с аутоиммунным заболеванием или нарушением или с воспалительным заболеванием или нарушением, и инфекционный организм или клетку (например, бактерию, вирус, инфицированную вирусом клетку), или любую клетку, презентирующую антиген в комплексе с МНС или лейкоцитарным антигеном человека (HLA). Клетка инфекционного организма, такого как паразит млекопитающего, также предусматривается в качестве клетки-мишени. В некоторых вариантах осуществления мишень представляет собой иммуносупрессорный лиганд. В некоторых вариантах осуществления мишень выбрана из CD47, CD58, CD80, CD86, CD95L (FasL), CD200, CD270 (HVEM), CD274 (PD-L1) или GAL9.

Внутриклеточный компонент

Внутриклеточный компонент, содержащийся в слитом белке по настоящему раскрытию, будет иметь внутриклеточный сигнальный домен, такой как активирующий домен или костимулирующий домен, способный передавать функциональные сигналы в клетку. В определенных вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен будет опосредованно стимулировать клеточный ответ путем ассоциации с одним или более другими белками, которые непосредственно стимулируют клеточный ответ. Внутриклеточный сигнальный домен может включать один, два, три или более рецепторных сигнальных домена, костимулирующих домена или их комбинации. Любой внутриклеточный компонент, содержащий активирующий домен, костимулирующий домен или и то, и другое из любой из множества сигнальных молекул (например, рецепторов сигнальной трансдукции), можно использовать в слитых белках по настоящему раскрытию.

Используемое в данном документе выражение «внутриклеточный сигнальный домен» из рецептора или лиганда клеточной поверхности включает полный внутриклеточный домен, часть, содержащую внутриклеточный сигнальный домен, или его функциональный (сигнальный) фрагмент. В определенных вариантах осуществления

внутриклеточный сигнальный домен содержит мутированный внутриклеточный домен или его функциональный (сигнальный) фрагмент, который имеет повышенную сигнальную активность по сравнению с внутриклеточным сигнальным доменом дикого типа или эталонным внутриклеточным сигнальным доменом.

5 Используемое в данном документе выражение «костимулирующая молекула» относится к рецептору или молекуле клеточной поверхности, которая может трансдуцировать сигналы в Т-клетки для положительной модуляции активации Т-клеток (Chen and Flies, Nat. Rev. Immunol. 13: 227-242, 2013). В качестве пояснения, активация и пролиферация Т-клеток требует двух сигналов, опосредованных вовлечением Т-клеточного антигенспецифического рецептора (TCR) и костимулирующего сигнала, наиболее типично, связывания CD28 с CD80 и CD86 (Ledbetter et al., Blood 75:1531, 1990).

Внутриклеточный сигнальный домен или его функциональный фрагмент, пригодный в слитых белках по настоящему раскрытию, может быть получен из CD3ε, CD3δ, CD3ζ, CD25, CD27, CD28, CD40, CD47, CD79A, CD79B, CD134 (OX40), CD137 (4-1BB), CD150 (SLAMF1), CD278 (ICOS), CD357 (GITR), CARD11, DAP10, DAP12, FcRα, FcRβ, FcRγ, Fyn, Lck, LAT, LRP, NKG2D, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, ROR2, Ryk, Slp76, pTα, TCRα, TCRβ, TRIM, Zap70, PTCH2 или любой их комбинации. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен или его функциональный фрагмент не содержит первичный сигнал. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен не содержит CD3ζ.

В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен слитого белка по настоящему раскрытию содержит CD28. Передача сигнала CD28 способствует пролиферации Т-клеток, стимулированных через TCR (Chen and Flies, Nat. Rev. Immunol. 13: 227-242, 2013). CD28 образует связанные дисульфидами гомодимеры за счет остатков цистеина, ближайших к трансмембранному домену (Lazar-Molnar et al., Cell Immunol. 244: 125-129, 2006). В определенных вариантах осуществления сигнальный домен CD28 включает полноразмерную внутриклеточную часть белка CD28, полноразмерную зрелую внутриклеточную часть белка CD28, сигнальный фрагмент внутриклеточной части белка CD28 и сигнальный фрагмент внутриклеточной части белка CD28 вместе с трансмембранным доменом или его фрагментом из CD28, или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен слитого белка содержит внутриклеточный сигнальный домен CD137 (4-1BB). CD137 представляет собой костимулирующую молекулу, где связывание CD137 с его лигандом (4-1BBL или CD137L) ассоциировано с активацией и пролиферацией Т-клеток (Cheuk et al., Cancer Gene Therapy 11: 215-226, 2004). В определенных вариантах осуществления сигнальный домен CD137 включает полноразмерную внутриклеточную часть белка CD137, полноразмерную зрелую внутриклеточную часть белка CD137, сигнальный фрагмент внутриклеточной части белка CD137 и сигнальный фрагмент внутриклеточной части белка CD137 вместе с трансмембранным доменом или его фрагментом из CD137, или любую их комбинацию.

В определенных вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен содержит сигнальный домен рецептора лимфоцитов или содержит аминокислотные последовательности с одним или множеством иммунорецепторных тирозиновых активирующих мотивов immunoreceptor tyrosine-based activation motif (ITAM). В других дополнительных вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен содержит цитоплазматическую часть, которая ассоциирована с цитоплазматическим сигнальным белком, где цитоплазматический сигнальный белок представляет собой рецептор лимфоцитов или его сигнальный домен, белок, содержащий множество ITAM,

костимулирующий фактор или любую их комбинацию.

В некоторых иллюстративных вариантах осуществления настоящее раскрытие предусматривает слитый белок, имеющий внеклеточный компонент, содержащий внеклеточную часть CD200R, которая специфически связывает CD200, внутриклеточный компонент, содержащий внутриклеточную часть CD28, и гидрофобный компонент, соединяющий внеклеточный и внутриклеточный компоненты, при условии, что комплекс слитый белок::мишень охватывает расстояние, аналогичное расстоянию между мембранами в иммунологическом синапсе.

В конкретных вариантах осуществления внутриклеточный компонент слитого белка по настоящему раскрытию содержит CD28, CD137 (4-1BB) или и то, и другое. Например, в некоторых вариантах осуществления внутриклеточный компонент содержит аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:5. В некоторых других вариантах осуществления внутриклеточный компонент содержит аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:13. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный компонент содержит два внутриклеточных сигнальных домена, например, CD28 и CD137 (4-1BB). В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный компонент содержит аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:5 и аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:13.

Гидрофобный компонент

Гидрофобная часть, содержащаяся в одноцепочечном слитом белке по настоящему раскрытию, позволит слитому белку по данному раскрытию ассоциировать с клеточной мембраной таким образом, что часть слитого белка будет располагаться внеклеточно, а часть будет располагаться внутриклеточно (например, внутриклеточный сигнальный домен). Гидрофобный компонент, как правило, будет располагаться в пределах фосфолипидного бислоя клеточной мембраны. В определенных вариантах осуществления одна или более соединительных аминокислот могут располагаться между и соединять гидрофобную часть с внутриклеточным сигнальным доменом.

В определенных вариантах осуществления гидрофобный домен представляет собой трансмембранный домен, как, например, полученный из интегрального мембранного белка (например, рецептор, молекула кластера дифференцировки (CD), фермент, переносчик, молекула клеточной адгезии и т.п.). В некоторых вариантах осуществления гидрофобный домен содержит трансмембранный домен, находящийся или полученный из интегрального мембранного белка, где трансмембранный домен был модифицирован путем добавления, удаления или замены одной или более аминокислот по меньшей мере одной отличающейся аминокислотой, или любой их комбинацией, такой как заряженные или гидрофильные остатки, которые облегчают межмолекулярные взаимодействия. Таким образом, выражение «гидрофобный домен» включает трансмембранные домены, имеющие, например, модификации, которые могут снижать гидрофобность.

В некоторых вариантах осуществления гидрофобный компонент содержит трансмембранный домен CD2, CD3ε, CD3δ, CD3ζ, CD25, CD27, CD28, CD40, CD47, CD79A, CD79B, CD80, CD86, CD95 (Fas), CD134 (OX40), CD137 (4-1BB), CD150 (SLAMF1), CD152 (CTLA4), CD200R, CD223 (LAG3), CD270 (HVEM), CD272 (BTLA), CD273 (PD-L2), CD274 (PD-L1), CD278 (ICOS), CD279 (PD-1), TIM3, CD300, CD357 (GITR), A2aR, DAP10, FcRα, FcRβ, FcRγ, Fyn, GAL9, KIR, Lck, LAT, LPA5, LRP, NKG2D, NOTCH1, NOTCH2,

NOTCH3, NOTCH4, PTCH2, ROR2, Ryk, Slp76, SIRP α , pT α , TCR α , TCR β , TIM3, TRIM или Zap70. В конкретных вариантах осуществления гидрофобная часть представляет собой трансмембранный домен CD28, CD4, CD8, CD27 или CD137 (4-1BB). В определенных вариантах осуществления трансмембранный домен представляет собой

- 5 трансмембранный домен CD28 с аминокислотной последовательностью, кодируемой молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:4. В определенных других вариантах осуществления трансмембранный домен представляет собой трансмембранный домен CD200R с аминокислотной последовательностью, кодируемой молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:3. В других вариантах
- 10 осуществления трансмембранный домен представляет собой трансмембранный домен SIRP α с аминокислотной последовательностью, кодируемой молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:18. В дополнительных вариантах осуществления трансмембранный домен представляет собой трансмембранный домен CD2 с аминокислотной последовательностью, кодируемой молекулой нуклеиновой кислоты,
- 15 изложенной под SEQ ID NO:63. В других дополнительных вариантах осуществления трансмембранный домен представляет собой трансмембранный домен Fas с аминокислотной последовательностью, кодируемой молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:77. В других дополнительных вариантах осуществления трансмембранный домен представляет собой трансмембранный домен TIM3. В других
- 20 дополнительных вариантах осуществления трансмембранный домен представляет собой трансмембранный домен TIM3 с аминокислотной последовательностью, кодируемой молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:169. В других дополнительных вариантах осуществления трансмембранный домен представляет собой трансмембранный домен LAG3. В некоторых вариантах осуществления
- 25 трансмембранный домен представляет собой трансмембранный домен LAG3 с аминокислотной последовательностью, кодируемой молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:155.

Нуклеиновые кислоты и клетки-хозяева

- В определенных аспектах настоящее раскрытие предусматривает молекулы
- 30 нуклеиновых кислот, которые кодируют любой один или более из слитых белков, описанных в данном документе, которые могут быть иммуномодулирующими слитыми белками (IFP). Такие молекулы нуклеиновых кислот могут быть вставлены в соответствующий вектор (например, вирусный вектор или невирусный плазмидный вектор) для введения в клетку-хозяина, представляющую интерес (например,
- 35 гемопоэтическую клетку-предшественника, Т-клетку).

- Используемый в данном документе выражение «рекомбинантный» или «отличный от природного» относится к организму, микроорганизму, клетке, молекуле нуклеиновой кислоты или вектору, которые включают по меньшей мере одно генетическое изменение или были модифицированы путем введения экзогенной молекулы нуклеиновой кислоты,
- 40 где такие изменения или модификации вводят с помощью способов генной инженерии. Генетические изменения включают, например, модификации с введением экспрессируемых молекул нуклеиновых кислот, кодирующих белки, слитые белки или ферменты, или другие добавления молекул нуклеиновых кислот, делеции, замены или другие функциональные нарушения генетического материала клетки. Дополнительные
- 45 модификации включают, например, не кодирующие регуляторные области, в которых модификации изменяют экспрессию гена или оперона. В определенных вариантах осуществления клетка, такая как Т-клетка, полученная от субъекта, может быть превращена в отличную от природной или рекомбинантную клетку (например, отличную

от природной или рекомбинантную Т-клетку) путем введения нуклеиновой кислоты, которая кодирует слитый белок, описываемый в данном документе, и в результате чего клетка экспрессирует слитый белок.

В определенных вариантах осуществления молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие слитые белки, могут быть кодон-оптимизированы для повышения или увеличения до максимума экспрессии в определенных типах клеток, таких как Т-клетки (Scholten et al., Clin. Immunol. 119: 135-145, 2006).

В одном иллюстративном варианте осуществления настоящее раскрытие предусматривает молекулу нуклеиновой кислоты, которая кодирует конструкцию CD200R-CD28 (huCD200Rtm-CD28), где внеклеточный компонент содержит эктодомен CD200R, гидрофобный компонент содержит трансмембранный домен CD200R и внутриклеточный компонент содержит внутриклеточный сигнальный домен CD28. Например, в одном варианте осуществления предусмотрена молекула нуклеиновой кислоты, изложенная под SEQ ID NO:1.

В другом иллюстративном варианте осуществления настоящее раскрытие предусматривает молекулу нуклеиновой кислоты, которая кодирует конструкцию CD200R-CD28 (huCD200R-CD28tm), где гидрофобный компонент содержит трансмембранный домен CD28. Например, в одном варианте осуществления настоящее раскрытие предусматривает молекулу нуклеиновой кислоты, изложенную под SEQ ID NO:6.

В других иллюстративных вариантах осуществления настоящее раскрытие предусматривает молекулу нуклеиновой кислоты, которая кодирует конструкцию CD200R-CD28, где внеклеточный компонент содержит усеченный внеклеточный домен CD200R и внеклеточную часть CD28. Например, внеклеточный домен CD200R может быть усечен на 9 аминокислот (например, huCD200R-9aas-CD28Cys, SEQ ID NO:7) или на 12 аминокислот (например, huCD200R-12aas-CD28Cys, SEQ ID NO:10).

В одном иллюстративном варианте осуществления настоящее раскрытие предусматривает молекулу нуклеиновой кислоты, которая кодирует конструкцию CD200R-CD28-4-1BB (huCD200R-9aas-CD28Cystm-41BBic или huCD200R-12aas-CD28Cystm-41BBic), где внутриклеточный компонент содержит внутриклеточный сигнальный домен CD137 (4-1BB). Например, в одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты имеет нуклеотидную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:12 или SEQ ID NO:14.

В другом иллюстративном варианте осуществления настоящее раскрытие предусматривает молекулу нуклеиновой кислоты, которая кодирует конструкцию CD200R-CD28-4-1BB (huCD200R-9aas-CD28Cys tm ic 41BBic или huCD200R-12aas-CD28Cys tm ic-41BBic), где внутриклеточный компонент содержит внутриклеточный сигнальный домен CD28 и CD137 (4-1BB). В одном варианте осуществления, например, нуклеиновая кислота по настоящему раскрытию имеет нуклеотидную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:9 или SEQ ID NO:15.

В других иллюстративных вариантах осуществления настоящее раскрытие предусматривает молекулу нуклеиновой кислоты, которая кодирует конструкцию SIRP α -CD28. Например, настоящее раскрытие включает молекулу нуклеиновой кислоты, изложенную под SEQ ID NO:16 (huSIRPatm-CD28) или SEQ ID NO:19 (huSIRP α -CD28tm).

В других иллюстративных вариантах осуществления настоящее раскрытие предусматривает молекулу нуклеиновой кислоты, которая кодирует конструкцию SIRP α -CD28, где внеклеточный компонент содержит усеченный внеклеточный домен SIRP α и внеклеточную часть CD28. Например, внеклеточный домен SIRP α может быть

усечен на 12 аминокислот (например, huSIRP α -12aas-CD28Cys, SEQ ID NO:20).

В одном иллюстративном варианте осуществления настоящее раскрытие предусматривает молекулу нуклеиновой кислоты, которая кодирует конструкцию SIRP α -CD28-4-1BB (huSIRP α -12aas-CD28Cys_{tm}ic-41BBic), где внутриклеточный компонент
5 содержит внутриклеточный сигнальный домен CD137 (4-1BB). Например, в одном варианте осуществления нуклеиновая кислота по настоящему раскрытию имеет нуклеотидную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:22.

В другом иллюстративном варианте осуществления настоящее раскрытие предусматривает молекулу нуклеиновой кислоты, которая кодирует конструкцию
10 SIRP α -CD28-4-1BB (huSIRP α -12aas-CD28Cys_{tm}ic-41BBic), где внутриклеточный компонент содержит внутриклеточный сигнальный домен CD28 и CD137 (4-1BB). В одном варианте осуществления, например, нуклеиновая кислота по настоящему раскрытию имеет нуклеотидную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:23.

В других иллюстративных вариантах осуществления настоящее раскрытие
15 предусматривает молекулу нуклеиновой кислоты, которая кодирует конструкцию PD-1-CD28. Например, настоящее раскрытие включает молекулу нуклеиновой кислоты, изложенную под SEQ ID NO:97 (huPD1-CD28Cys).

В других иллюстративных вариантах осуществления настоящее раскрытие предусматривает молекулу нуклеиновой кислоты, которая кодирует конструкцию PD-
20 1-CD28, где внеклеточный компонент содержит усеченный внеклеточный домен PD-1 и внеклеточную часть CD28. Например, внеклеточный домен PD-1 может быть усечен на 12 аминокислот (например, huPD1-12aas-CD28Cys, SEQ ID NO:99), 15 аминокислот (например, huPD1-15aas-CD28Cys, SEQ ID NO:101), или 21 аминокислоту (например, huPD1-21aas-CD28Cys, SEQ ID NO:103).

В других иллюстративных вариантах осуществления настоящее раскрытие
25 предусматривает молекулу нуклеиновой кислоты, которая кодирует конструкцию CD2-CD28. Например, настоящее раскрытие включает молекулу нуклеиновой кислоты, изложенную под SEQ ID NO:69 (huCD2-CD28Cys).

В других иллюстративных вариантах осуществления настоящее раскрытие
30 предусматривает молекулу нуклеиновой кислоты, которая кодирует конструкцию Fas-CD28. Например, настоящее раскрытие включает молекулу нуклеиновой кислоты, изложенную под SEQ ID NO:83 (huFas-CD28Cys).

В других иллюстративных вариантах осуществления настоящее раскрытие предусматривает молекулу нуклеиновой кислоты, которая кодирует конструкцию Fas-
35 CD28, где внеклеточный компонент содержит усеченный внеклеточный домен Fas и внеклеточную часть CD28. Например, внеклеточный домен Fas может быть усечен на 7 аминокислот (например, huFas-7aas-CD28Cys, SEQ ID NO:85) или 12 аминокислот (например, huFas-12aas-CD28Cys, SEQ ID NO:87).

В других иллюстративных вариантах осуществления настоящее раскрытие
40 предусматривает молекулу нуклеиновой кислоты, которая кодирует конструкцию TIM3-CD28. Например, настоящее раскрытие включает молекулу нуклеиновой кислоты, изложенную под SEQ ID NO:173 (huTIM3-CD28Cys). Также в объем настоящего раскрытия включен слитый белок TIM3-CD28, где внеклеточный компонент содержит усеченный внеклеточный домен TIM3 и внеклеточную часть CD28. Например,
45 внеклеточный домен TIM3 может быть усечен на 12 аминокислот (например, huTIM3-12aas-CD28Cys, SEQ ID NO:175).

В других иллюстративных вариантах осуществления настоящее раскрытие предусматривает молекулу нуклеиновой кислоты, которая кодирует конструкцию

LAG3-CD28. Например, настоящее раскрытие включает молекулу нуклеиновой кислоты, изложенную под SEQ ID NO:163 (huLAG3-CD28Cys). Также в объем настоящего раскрытия включен слитый белок LAG3-CD28, где внеклеточный компонент содержит усеченный внеклеточный домен LAG3 и внеклеточную часть CD28. Например, 5 внеклеточный домен LAG3 может быть усечен на 12 аминокислот (например, huLAG3-12aas-CD28Cys, SEQ ID NO:159).

Вектор, который кодирует нуклеокапсид вируса, называют в данном документе «вирусным вектором». Существует большое количество доступных вирусных векторов, пригодных для применения с композициями по настоящему раскрытию, в том числе 10 те, которые идентифицированы для применений в генной терапии человека (см. Pfeifer and Verma, Ann. Rev. Genomics Hum. Genet. 2:177, 2001). Подходящие вирусные векторы включают векторы на основе РНК-вирусов, такие как векторы, полученные на основе ретровируса, например, векторы, полученные на основе вируса мышинного лейкоза Молони (MLV), и включают более сложные векторы, полученные на основе ретровируса, 15 например, векторы, полученные на основе лентивируса. Векторы, полученные на основе HIV-1, относятся к этой категории. Другие примеры включают лентивирусные векторы, полученные из HIV-2, FIV, вируса инфекционной анемии лошадей, SIV и вируса Меди-Висна (лентивируса овец). Способы использования ретровирусных и лентивирусных вирусных векторов и упаковывающих клеток для трансдукции клеток млекопитающих- 20 хозяев вирусными частицами, содержащими трансгены химерных антигенных рецепторов, известны из уровня техники и были ранее описаны, например, в патенте США №8119772; Walchli et al., PLoS One 6:327930, 2011; Zhao et al., J. Immunol. 174:4415, 2005; Engels et al., Hum. Gene Ther. 14:1155, 2003; Frecha et al., Mol. Ther. 18:1748, 2010; Verhoeven et al., Methods Mol. Biol. 506:97, 2009. Ретровирусные и лентивирусные 25 векторные конструкции и системы экспрессии также коммерчески доступны.

В определенных вариантах осуществления вирусный вектор применяют для введения неэндогенной последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей слитый белок, или неэндогенной последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей слитый 30 белок, специфичный к мишени. Вирусный вектор может представлять собой ретровирусный вектор или лентивирусный вектор. Вирусный вектор может также включать последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие маркер трансдукции. Маркеры трансдукции для вирусных векторов известны из уровня техники и включают маркеры отбора, которые могут придавать устойчивость к лекарственным средствам, или детектируемые маркеры, такие как флуоресцентные маркеры, или белки клеточной 35 поверхности, которые могут быть выявлены с помощью таких способов, как проточная цитометрия. В конкретных вариантах осуществления вирусный вектор дополнительно содержит ген-маркер для трансдукции, включающий зеленый флуоресцентный белок (GFP), внеклеточный домен CD2 человека или усеченный EGFR человека (huEGFRt; см. Wang et al., Blood 118:1255, 2011). Если геном вирусного вектора содержит множество 40 последовательностей нуклеиновых кислот, которые необходимо экспрессировать в клетке-хозяине в виде отдельных транскриптов, то вирусный вектор может также содержать дополнительные последовательности между двумя (или более) транскриптами, что обеспечивает возможность бицистронной или мультицистронной экспрессии. Примеры таких последовательностей, применяемых в вирусных векторах, 45 включают участки внутренней посадки рибосомы (IRES), участки расщепления фурином, вирусный пептид 2A или любую их комбинацию.

Другие векторы также можно применять для доставки полинуклеотидов, в том числе векторы на основе вирусной ДНК, включая, например, векторы на основе аденовируса

и векторы на основе адено-ассоциированного вируса (AAV); векторы, полученные из вирусов простого герпеса (HSV), в том числе ампликон-векторы, HSV с недостаточной репликацией и аттенуированный HSV (Krisky et al., Gene Ther. 5: 1517, 1998).

Другие векторы, недавно разработанные для применений в генной терапии, также можно применять с композициями и способами по настоящему раскрытию. Такие векторы включают векторы, полученные из бакуловирусов и α -вирусов (Jolly, D. J. 1999. Emerging Viral Vectors. pp. 209-40, под ред. Friedmann T. The Development of Human Gene Therapy. Нью-Йорк: Cold Spring Harbor Lab) или плазмидные векторы (такие как «спящая красавица» и другие транспозонные векторы). В некоторых вариантах осуществления вирусный или плазмидный вектор дополнительно содержит генный маркер трансдукции (например, зеленый флуоресцентный белок, huEGFRt).

В некоторых вариантах осуществления вектор, кодирующий слитый белок, раскрываемый в данном документе, может кодировать более чем один слитый белок. Например, вектор может кодировать два разных слитых белка (например, первый слитый белок, содержащий эктодомен PD-1, и второй слитый белок, содержащий эктодомен TIM3).

В некоторых вариантах осуществления вектор, кодирующий слитый белок, раскрываемый в данном документе, может дополнительно содержать антигенспецифический TCR. В некоторых вариантах осуществления антигенспецифический TCR является экзогенным. В некоторых вариантах осуществления антигенспецифический TCR специфичен в отношении антигена, рестриктированного по HLA (MHC) класса I. В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой рак-специфический антиген. Варианты осуществления, в которых рак-специфический антиген включает WT-1, мезотелин или циклин-A1, также входят в объем настоящего раскрытия. В других вариантах осуществления вектор, который кодирует слитый белок, раскрываемый в данном документе, дополнительно кодирует лиганд, который может представлять собой CD200, CD47, PD-L1 или CD58. В других вариантах осуществления вектор, который кодирует слитый белок, раскрываемый в данном документе, дополнительно кодирует siRNA для уменьшения экспрессии эндогенного рецептора. В некоторых конкретных вариантах осуществления эндогенный рецептор представляет собой CD200R, SIRP α , CD279 (PD-1), CD95 (Fas) или CD2.

В некоторых вариантах осуществления клетки-хозяева, способные экспрессировать слитый белок по настоящему раскрытию на поверхности клетки, являются иммунными клетками. В некоторых вариантах осуществления клетками-хозяевами, способными экспрессировать слитый белок по настоящему раскрытию на клеточной поверхности, являются Т-клетки, в том числе первичные клетки или клеточные линии, полученные от человека, мыши, крысы или других млекопитающих. При получении от млекопитающего Т-клетка может быть получена из различных источников, включая кровь, костный мозг, лимфатический узел, тимус или другие ткани или жидкости. Т-клетка может быть накоплена или очищена. Т-клеточные линии хорошо известны из уровня техники, некоторые из них описаны в Sandberg et al., Leukemia 21:230, 2000. В определенных вариантах осуществления применяют Т-клетки, лишенные эндогенной экспрессии цепей TCR α и β . Такие Т-клетки могут естественным образом не иметь эндогенной экспрессии цепей TCR α и β или могут быть модифицированы с блокированием экспрессии (например, Т-клетки от трансгенных мышей, которые не экспрессируют цепи TCR α и β , или клетки, которых подвергли манипуляции для ингибирования экспрессии цепей TCR α и β) или с нокаутом TCR α -цепи, TCR β -цепи или обоих генов. В некоторых вариантах осуществления Т-клетки могут быть

сконструированы для экспрессии TCR, специфичного для конкретного антигена.

В определенных вариантах осуществления клетка-хозяин, трансфицированная для экспрессии слитого белка по настоящему раскрытию, является функциональной Т-клеткой, такой как вирус-специфичная Т-клетка, специфичная к опухолевому антигену цитотоксичная Т-клетка, наивная Т-клетка, стволовая Т-клетка памяти, центральная или эффекторная Т-клетка памяти, $\gamma\delta$ Т-клетки или регуляторная $CD4^+ CD25^+$ Т-клетка.

В дополнительных вариантах осуществления молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую слитый белок по настоящему раскрытию, вводят в совокупность $CD8^+$ Т-клеток, наивных $CD8^+$ Т-клеток, $CD8^+$ T_{CM} -клеток, $CD8^+$ T_{EM} -клеток или любую их комбинацию. В других вариантах осуществления молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую слитый белок по настоящему раскрытию, вводят в совокупность $CD4^+$ Т-клеток, наивных $CD4^+$ Т-клеток, $CD4^+$ T_{CM} -клеток, $CD4^+$ T_{EM} -клеток или любую их комбинацию. В других вариантах осуществления молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую слитый белок по настоящему раскрытию, вводят в популяцию Т-клеток, обогащенную наивными $CD8^+$ Т-клетками и $CD8^+$ T_{CM} -клетками. В других вариантах осуществления молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую слитый белок по настоящему раскрытию, вводят в популяцию Т-клеток, обогащенную наивными $CD4^+$ Т-клетками и $CD4^+$ T_{CM} -клетками. В любом из вышеупомянутых вариантов

осуществления Т-клетки дополнительно содержат молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую сконструированный антигенспецифический Т-клеточный рецептор (TCR), сконструированный антигенспецифический высокоаффинный TCR, экзогенную костимулирующую молекулу, химерный антигенный рецептор (CAR) или любую их комбинацию.

В определенных вариантах осуществления клетка-хозяин, трансфицированная для экспрессии слитого белка по настоящему раскрытию, является функциональной естественной клеткой-киллером.

В культуру, используемую для размножения Т-клеток, можно добавлять один или более факторов роста-цитокинов, которые стимулируют пролиферацию Т-клеток, экспрессирующих слитый белок по настоящему раскрытию. Цитокины могут быть человеческими или отличными от человеческих. Иллюстративные факторы роста-цитокины, которые можно применить для стимуляции пролиферации Т-клеток, включают IL2, IL15 или подобные.

В некоторых вариантах осуществления Т-клетка-хозяин, трансфицированная для экспрессии слитого белка по настоящему раскрытию, представляет собой $CD4^+$ Т-клетку, которая также экспрессирует антигенспецифический высокоаффинный TCR, специфичный в отношении антигена, рестриктированного по HLA (MHC) класса I (см. Soto et al., Cancer Immunol Immunother. 62: 359-369, 2013).

В определенных вариантах осуществления Т-клетка-хозяин, трансфицированная для экспрессии слитого белка по настоящему раскрытию, также экспрессирует рекомбинантный TCR, специфичный к раковому антигену. В некоторых вариантах осуществления раковый антиген представляет собой WT1. «WT1» означает опухоль Вильма 1, фактор транскрипции, который содержит четыре мотива «цинковые пальцы» на С-конце и богатый пролином/глутамином ДНК-связывающий домен на N-конце. WT1 играет важную роль в нормальном развитии мочеполовой системы и является мутировавшим у небольшой субпопуляции пациентов с опухолями Вильма. Высокий уровень экспрессии WT1 наблюдается при различных формах рака, включая рак молочной железы, рак яичников, формы острого лейкоза, сосудистые новообразования,

формы меланомы, рак толстой кишки, рак легких, рак щитовидной железы, саркому кости и мягких тканей и рак пищевода. Альтернативный сплайсинг был описан для WT1.

В определенных вариантах осуществления Т-клетка-хозяин, трансфицированная для экспрессии слитого белка по настоящему раскрытию, также экспрессирует рекомбинантный TCR, специфичный к мезотелину. «Мезотелин» (MSLN) относится к гену, который кодирует белок-предшественник, который расщепляется на два продукта: фактор стимуляции мегакариоцитов и мезотелин. Фактор стимуляции мегакариоцитов действует как цитокин, который может стимулировать колониеобразование мегакариоцитов в костном мозге. Мезотелин представляет собой закрепленный с помощью гликозилфосфатидилинозита белок клеточной поверхности, который может функционировать как белок клеточной адгезии. Этот белок сверхэкспрессируется в эпителиальных мезотелиомах, формах рака яичников и в отдельных формах плоскоклеточных карцином. Альтернативный сплайсинг дает в результате множество вариантов транскриптов.

В определенных вариантах осуществления Т-клетка-хозяин, трансфицированная для экспрессии слитого белка по настоящему раскрытию, также экспрессирует рекомбинантный TCR, специфичный к циклину-A1.

В определенных вариантах осуществления Т-клетка-хозяин, трансфицированная для экспрессии слитого белка по настоящему раскрытию, также экспрессирует CAR.

В других вариантах осуществления клетка-хозяин, которая экспрессирует слитый белок, раскрываемый в данном документе, дополнительно содержит лиганд, который может представлять собой CD200, CD47, PD-L1 или CD58. В других вариантах осуществления клетка-хозяин, которая экспрессирует слитый белок, раскрываемый в данном документе, дополнительно экспрессирует siRNA для уменьшения экспрессии эндогенного рецептора. В некоторых конкретных вариантах осуществления эндогенный рецептор представляет собой CD200R, SIRP α , CD279 (PD-1), CD95 (Fas) или CD2.

В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин, которая экспрессирует слитый белок, раскрываемый в данном документе, может экспрессировать более чем один слитый белок. Например, клетка-хозяин может экспрессировать два разных слитых белка (например, первый слитый белок, содержащий эктодомен PD-1, и второй слитый белок, содержащий эктодомен TIM3).

Применения

Заболевания, которые можно лечить с использованием клеток, экспрессирующих слитые белки, описываемые в настоящем раскрытии, включают рак, инфекционные заболевания (вирусные, бактериальные, протозойные инфекции), иммунные заболевания (например, аутоиммунные) или заболевания, связанные со старением (например, физиологическим старением). Адоптивная иммунная и генная терапия представляют собой перспективные способы лечения различных типов рака (Morgan et al., Science 314: 126, 2006; Schmitt et al., Hum. Gene Ther. 20:1240, 2009; June, J. Clin. Invest. 117:1466, 2007) и инфекционных заболеваний (Kitchen et al., PLoS One 4:38208, 2009; Rossi et al., Nat. Biotechnol. 25:1444, 2007; Zhang et al., PLoS Pathog. 6:e1001018, 2010; Luo et al., J. Mol. Med. 89:903, 2011).

Разнообразные формы рака, включая солидные опухоли и формы лейкоза, восприимчивы к композициям и способам, раскрытым в данном документе. Иллюстративные типы рака, которые можно лечить, включают аденокарциному молочной железы, предстательной железы и толстой кишки; все формы бронхогенной карциномы легкого; миелоидный лейкоз; меланому; гепатому; нейробластому;

папиллому; апудому; хористому; бранхиому; злокачественный карциноидный синдром; карциноидную болезнь сердца и карциному (например, крациносаркому Уокера, базально-клеточную карциному, базальную плоскоклеточную карциному, карциному Брауна-Пирса, внутрипротоковую карциному, опухоль Эрлиха, карциному Кребса 2, карциному из клеток Меркеля, слизеобразующий рак, немелкоклеточный рак легкого, овсяноклеточный рак, папиллярную карциному, фиброзный рак, рак бронха, бронхогенный рак, плоскоклеточный рак и переходноклеточный рак). Другие типы рака, которые можно лечить, включают гистиоцитарные нарушения; злокачественный гистиоцитоз; лейкоз; болезнь Ходжкина; средиземноморскую лимфому; неходжкинскую лимфому; плазмоцитому; ретикулоэндотелиоз; меланому; хондробластому; хондрому; хондросаркому; фиброму; фибросаркому; гигантоклеточные опухоли; гистиоцитому; липому; липосаркому; мезотелиому; миксому; миксосаркому; остеому; остеосаркому; хордому; краниофарингиому; дисгерминому; гамартому; мезенхимому; мезонефрому; миосаркому; амелобластому; цементому; одонтому; тератому; тимому; трофобластическую опухоль. Кроме того, следующие типы рака также рассматриваются как поддающиеся лечению: аденома; холангиома; холестеатома; циклиндрома; цистаденокарцинома; цистаденома; гранулезоклеточная опухоль; арренобластома; гепатома; гидраденома; инсулома; опухоль из клеток Лейдига; папиллома; опухоль из клеток Сертоли; текаклеточная опухоль; лейомиома; лейомиосаркома; зернисто-клеточная миобластома; миома; миосаркома; рабдомиома; рабдомиосаркома; эпендимома; ганглионеврома; глиома; медуллобластома; менингиома; невринома; нейробластома; эпендимома; нейрофиброма; неврома; параганглиома; нехромаффинная параганглиома. Типы рака, которые можно лечить, также включают ангиокератому; ангиолимфоидную гиперплазию с эозинофилией; склерозирующую ангиому; ангиоматоз; гломангиому; гемангиоэндотелиому; гемангиому; гемангиоперицитому; гемангиосаркому; лимфангиому; лимфангиомиому; лимфангиосаркому; пинеалому; карциносаркому; хондросаркому; листовидную цистосаркому; фибросаркому; гемангиосаркому; леймиосаркому; лейкосаркому; липосаркому; лимфангиосаркому; миосаркому; миксосаркому; карциному яичников; рабдомиосаркому; саркому; новообразования; нейрофиброматоз и дисплазию шейки матки.

Иллюстрацией различных гиперпролиферативных нарушений, восприимчивых к терапии с помощью Т-клеток со слитым белком, являются формы В-клеточного рака, в том числе В-клеточные лимфомы (такие как различные формы болезни Ходжкина, неходжкинская лимфома (NHL) или лимфомы центральной нервной системы), лейкозы (такие как острый лимфобластный лейкоз (ALL), хронический лимфолейкоз (CLL), злокачественный ретикулоэндотелиоз, бластная трансформация В-клеток при хроническом миелоидном лейкозе) и миеломы (такие как множественная миелома). Дополнительные формы В-клеточного рака включают мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому, В-клеточный пролимфоцитарный лейкоз, лимфоплазмоцитарную лимфому, лимфому маргинальной зоны селезенки, плазматическую миелому, солитарную плазмоцитому кости, экстраоссальную плазмоцитому, экстранодальную В-клеточную лимфому маргинальной зоны лимфоидной ткани слизистых оболочек (MALT), нодальную В-клеточную лимфому маргинальной зоны, фолликулярную лимфому, лимфому из клеток мантийной зоны, диффузную В-крупноклеточную лимфому, В-крупноклеточную лимфому средостения (из тимуса), внутрисосудистую В-крупноклеточную лимфому, первичную выпотную лимфому, лимфому/лейкоз Беркитта, формы В-клеточной пролиферации с неопределенным потенциалом злокачественности, лимфогранулематоз и посттрансплантационное лимфопролиферативное нарушение.

Воспалительные и аутоиммунные заболевания включают артрит, ревматоидный артрит, ювенильный ревматоидный артрит, остеоартрит, полихондрит, псориаз, дерматит, полимиозит/дерматомиозит, миозит с включенными тельцами, воспалительный миозит, токсический эпидермальный некролиз, системную склеродермию и склероз, CREST-синдром, воспалительное заболевание кишечника, болезнь Крона, неспецифический язвенный колит, респираторный дистресс-синдром, респираторный дистресс-синдром взрослых (ARDS), менингит, энцефалит, увеит, колит, гломерулонефрит, аллергические состояния, экзему, астму, состояния, включающие инфильтрацию Т-клеток и хронические воспалительные реакции, атеросклероз, аутоиммунный миокардит, нарушение адгезии лейкоцитов, системную красную волчанку (SLE), подострую кожную красную волчанку, дискоидную волчанку, миелит при системной красной волчанке, энцефалит при системной красной волчанке, ювенильный диабет, рассеянный склероз, аллергический энцефаломиелит, нейромиелит зрительного нерва, острый ревматизм, хорею Сиденгама, иммунные реакции, ассоциированные с острой гиперчувствительностью и гиперчувствительностью замедленного типа, опосредованными цитокинами и Т-лимфоцитами, туберкулез, саркоидоз, гранулематоз, в том числе гранулематоз Вегенера и болезнь Чарга-Стросса, агранулоцитоз, васкулит (в том числе аллергический васкулит/ангиит, ANCA и ревматоидный васкулит), апластическую анемию, анемию Даймонда-Блекфана, иммунную гемолитическую анемию, в том числе аутоиммунную гемолитическую анемию (AIHA), пернициозную анемию, истинную эритроцитарную аплазию (PRCA), дефицит фактора VIII, гемофилию А, аутоиммунную нейтропению, панцитопению, лейкопению, заболевания, связанные с диapedезом лейкоцитов, воспалительные заболевания центральной нервной системы (CNS), синдром полиорганной недостаточности, миастению гравис, заболевания, опосредованные комплексом антиген-антитело, легочный гемосидероз с гломерулонефритом, антифосфолипидный синдром, аллергический неврит, болезнь Бехчета, синдром Каслмана, синдром Гудпасчера, миастенический синдром Ламберта-Итона, синдром Рейно, синдром Шегрена, синдром Стивенса-Джонсона, отторжение трансплантата паренхиматозных органов, болезнь «трансплантат против хозяина» (GVHD), буллезный пемфигоид, пемфигус, формы аутоиммунной полиэндокринопатии, формы серонегативной спондилоартропатии, болезнь Рейтера, синдром скованного человека, гигантоклеточный артериит, нефрит, ассоциированный с нарушенным выведением иммунных комплексов, IgA-нефропатию, формы IgM-полиневропатии или опосредованную IgM невропатию, идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру (ITP), тромбоцитопенический акроангиотромбоз (ТАТР), пурпуру Шенлейна-Геноха, аутоиммунную тромбоцитопению, аутоиммунное заболевание яичек и яичников, в том числе аутоиммунные орхит и оофорит, первичный гипотиреоз, аутоиммунные эндокринные заболевания, в том числе аутоиммунный тиреоидит, хронический тиреоидит (тиреоидит Хашимото), подострый тиреоидит, идиопатический гипотиреоз, болезнь Аддисона, болезнь Грейвса, аутоиммунные полигландулярные синдромы (или синдромы полигландулярной эндокринопатии), диабет I типа, также известный как инсулин-зависимый сахарный диабет (IDDM) и синдром Шихана, аутоиммунный гепатит, лимфоидный интерстициальный пневмонит (HIV), облитерирующий бронхиолит (без пересадки), неспецифическую интерстициальную пневмонию (NSIP), синдром Гийена-Барре, васкулит крупных сосудов (в том числе ревматическую полимиалгию и гигантоклеточный артериит (синдром Такаясу), васкулит средних сосудов (в том числе болезнь Кавасаки и узелковый полиартериит), узелковый полиартериит (PAN), анкилозирующий спондилоартрит, болезнь Бергера (IgA-нефропатию), быстро

прогрессирующий гломерулонефрит, первичный билиарный цирроз печени, целиакию-спру (глутеновую энтеропатию), криоглобулинемию, криоглобулинемию, ассоциированную с гепатитом, латеральный амиотрофический склероз (ALS), ишемическую болезнь сердца, семейную средиземноморскую лихорадку, микроскопический полиангиит, синдром Когана, синдром Вискотта-Олдрича и облитерирующий тромбангиит.

В конкретных вариантах осуществления способ лечения субъекта с использованием слитого белка, раскрываемого в данном документе, включает лечение острого миелоцитарного лейкоза, острого лимфобластного лейкоза и хронического миелоцитарного лейкоза.

Инфекционные заболевания включают заболевания, связанные с возбудителями инфекции, которые включают любое из множества бактерий (например, патогенных *E. coli*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa*, *B. anthracis*, *C. botulinum*, *C. difficile*, *C. perfringens*, *H. pylori*, *V. cholerae*, *Listeria* spp., *Rickettsia* spp., *Chlamydia* spp. и т.п.), микобактерий и паразитов (в том числе любого из известных паразитарных представителей Protozoa). Инфекционные вирусы включают вирусы эукариотических клеток, такие как аденовирус, буньявирус, герпесвирус, паповавирус, папилломавирус (например, HPV), парамиксовирус, пикорнавирус, рабдовирус (например, вирус бешенства), ортомиксовирус (например, вирус гриппа), поксвирус (например, вирус коровьей оспы), реовирус, ретровирус, лентивирус (например, HIV), флавивирус (например, HCV, HBV) или т.п. В определенных вариантах осуществления инфекцию, вызванную цитозольными патогенами, антигены которых обрабатываются и презентуются молекулами HLA (МНС) класса I, лечат с использованием слитых белков по настоящему раскрытию.

Слитый белок по настоящему раскрытию можно вводить субъекту в связанной с клеткой форме (например, генная терапия популяции клеток-мишеней (зрелых Т-клеток (например, CD8⁺ или CD4⁺ Т-клеток) или других клеток Т-клеточной линии дифференцировки)). В конкретном варианте осуществления клетки Т-клеточной линии дифференцировки, экспрессирующие слитые белки, вводимые субъекту, являются сингенными, аллогенными или аутологичными клетками.

Фармацевтические композиции, содержащие слитые белки по настоящему раскрытию, можно вводить способом, подходящим для заболевания или состояния, подлежащих лечению (или предупреждению), определяемым специалистами в области медицины. Соответствующая доза, подходящая длительность и частота введения композиций будут определяться такими факторами, как состояние пациента, габариты, тип и тяжесть заболевания, конкретная форма активного ингредиента и способ введения. Настоящее раскрытие предусматривает фармацевтические композиции, содержащие клетки, экспрессирующие слитый белок, раскрываемый в данном документе, и фармацевтически приемлемые носитель, растворители или наполнитель. Подходящие наполнители включают воду, физиологический раствор, декстрозу, глицерин или подобное и их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления раскрытие относится к способу увеличения активности иммунной клетки, увеличения или продления иммунного ответа, стимулирования антигенспецифического ответа Т-клеток, ингибирования иммуносупрессорного сигнального пути, лечения рака или опухоли, подавления иммунной резистентности раковых клеток или лечения инфекции, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества клетки-хозяина, экспрессирующей слитый белок, описываемый в данном документе. В дополнительных вариантах осуществления клетка-хозяин для применения в любом из вышеупомянутых

способов дополнительно экспрессирует сконструированный антигенспецифический TCR, сконструированный антигенспецифический высокоаффинный TCR, CAR, костимулирующую молекулу или любую их комбинацию. В конкретных вариантах осуществления предусмотрены способы лечения лейкоза, включающие коэкспрессию

5 слитого белка, раскрываемого в данном документе, и рекомбинантного антигенспецифического TCR.

В некоторых вариантах осуществления предусмотрены способы индуцирования или усиления ответа HLA класса I с помощью CD4+ Т-клетки, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества CD4+ Т-клетки,

10 экспрессирующей слитый белок, описываемый в данном документе. В дополнительных вариантах осуществления клетка-хозяин для применения в индуцировании или усилении ответа HLA класса I с помощью CD4+ Т-клетки дополнительно экспрессирует сконструированный антигенспецифический TCR, сконструированный антигенспецифический высокоаффинный TCR, CAR, костимулирующую молекулу или

15 любую их комбинацию.

В любом из вышеупомянутых вариантов осуществления способы эффективны в отсутствие введения экзогенного IL-2.

В других вариантах осуществления субъект в любом из вышеупомянутых способов дополнительно получает лечение с помощью вспомогательной терапии, такой как

20 химиотерапия. Иллюстративные химиотерапевтические средства включают, например, алкилирующие средства, такие как тиотепа и циклофосфамид; алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодоба, карбоквон, метуредоба и уредоба; этиленимины и метиламеламины, включая альтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилентиофосфорамид и

25 триметилломеламин; хлорэтиламины, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, холофосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлорэтамин, гидрохлорид мехлорэтамин оксида, мелфалан, новэмбихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид, урамустин; нитрозомочевины, такие как кармустин, хлорозотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин, ранимустин; антибиотики, такие как аклациномизины, актиномицин, аутрамицин,

30 азасерин, блеомицины, кактиномицин, калихеамицин, карабицин, каминомицин, карзинофиллин, хромомицины, дактиномицин, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубицин, эпирубицин, эзорубицин, идарубицин, марцелломицин, митомицины, микофенольная кислота, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, потфирамицин, пуромицин, келамицин, родорубицин, стрептоницин, стрептозоцин,

35 туберцидин, убенимекс, циностаин, зорубицин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметотрексат; пуриновые аналоги, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; пиримидиновые аналоги, такие как анцитабин, азациитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин,

40 эноцитабин, флоксуридин, 5-FU; андрогены, такие как калустерон, пропионат дромонастанолола, эпителиостанол, мепителиостан, тестостерон; средства для угнетения функции надпочечников, такие как аминоглутетимид, митотан, трилостан; заменитель фолиевой кислоты, такой как фролиновая кислота; ацеглатон; альдофосфамида гликозид; аминолевулиновая кислота; амсакрин; бестрабуцил; бизантрин; эдатраксат;

45 дефофамин; демеколцин; диазиквон; эльформитин; эллиптиний ацетат; этоглугид; нитрат галлия; гидроксимочевина; лентинан; лонидамин; митогуазон; митоксантрон; мопидамол; нитракрин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; подофиллиновая кислота; 2-этилгидразид; прокарбазин; PSKTM; разоксан; сизофиран; спирогерманий;

тenuазоновая кислота; триазиквон; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид («Ara-C»); циклофосфамид; тиотепа; таксаны, например, паклитаксел (Taxol™, Bristol-Myers Squibb Oncology, Принстон, Нью-Джерси) и доцетаксел (Taxotere™, Rhone-Poulenc Rorer, Энтони, Франция); хлорамбуцил; гемцитабин; 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; аналоги платины, такие как цисплатин и карбоплатин; винбластин; платина; этопозид (VP-16); ифосфамид; митомицин C; митоксантрон; винкристин; винорелбин; навелбин; новантрон; тенипозид; дауномицин; аминоптерин; кселода; ибандронат; CPT-11; ингибитор топоизомеразы RFS 2000; дифформетилорнитин (DMFO); ретиноевая кислота; эсперамицины, капецитабин и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеуказанных.

В некоторых вариантах осуществления вспомогательная терапия представляет собой вакцину, ингибитор сигнала иммуносупрессии, ингибитор B-Raf, ингибитор MEK, ингибитор тирозинкиназы, цитотоксическое средство, химиотерапевтическое средство или любую их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления ингибитор сигнала иммуносупрессии представляет собой антитело или siRNA. В некоторых вариантах осуществления антитело или siRNA специфичны для PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, LAG3, KIR, CD244, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, GAL9, TIM3, A2aR или любой их комбинации.

ПРИМЕРЫ

Пример 1

Конструкции слитого белка CD200R-CD28

Иллюстративные слитые белки, описываемые в данном документе, проиллюстрированы с использованием схематических изображений на фигуре 1А. Иллюстративные слитые белки включают иммуномодулирующие слитые белки (IFP), состоящие из внеклеточного домена CD200R или его части, и внутриклеточного сигнального домена CD28 или его части (фигура 1А, конструкции I-V). Гидрофобный компонент может состоять из трансмембранного домена либо CD200R (фигура 1А, конструкция I), либо CD28 (фигура 1А, конструкции II-V), или их частей. В некоторых иллюстративных слитых белках CD200R-CD28 гидрофобный компонент содержит трансмембранный домен CD28, а внеклеточный компонент дополнительно содержит внеклеточную часть CD28, в частности внеклеточный остаток цистеина, смежный с гидрофобным компонентом (например, фигура 1А конструкция III, CD200R-CD28Cys, конструкция IV, CD200R-3aas-CD28Cys и конструкция V, CD200R-9aas-CD28Cys). Внеклеточный компонент может содержать всю или часть внеклеточного домена CD200R. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный компонент содержит целый внеклеточный домен CD200R (фигура 1А, конструкции I-III). В других примерах внеклеточный компонент содержит первые 235 аминокислот (с сохранением N-связанного участка гликозилирования) (например, фигура 1А, конструкция IV, CD200R-3aas-CD28Cys) или первые 229 аминокислот (например, фигура 1А, конструкция V, CD200R-9aas-CD28Cys) с N-конца CD200R. Размер внеклеточного компонента, на который можно воздействовать путем корректировки конструкции слитого белка, может влиять на способность слитого белка проникать в иммунологический синапс и колокализоваться с TCR в cSMAC для обеспечения сильного костимулирующего сигнала. Кроме того, конструкция CD200R-CD28 имеет возможность превращать то, что обычно является ингибирующим сигналом при связывании CD200R с его мишенью, в положительный сигнал, генерируемый внутриклеточным сигнальным доменом CD28.

Иллюстративная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая слитый белок CD200R-CD28, содержит следующие элементы (от 5' к 3'): Внеклеточный компонент (CD200R)-

домен мультимеризации (CD28-цистеин)-гидрофобный компонент (трансмембранный CD28)-внутриклеточный компонент (внутриклеточный CD28). В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая слитый белок CD200R-CD28, содержит молекулу нуклеиновой кислоты, изложенную под любым из SEQ ID NO:47-51 или 1, 6, 7, 10, 12, 14 или 15.

Нуклеиновые кислоты, кодирующие конструкции, заказывали в Invitrogen или создавали на месте с помощью ПЦР, затем направленно ТОРО-клонировали в вектор pENTR™/D-ТОРО® (Invitrogen) и переносили в ретровирусный вектор pMP71-attR с использованием технологии Gateway® (Invitrogen). В определенных вариантах осуществления молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие IFP по настоящему раскрытию, кодон-оптимизировали перед клонированием в ретровирусный вектор pMP71-attR.

Пример 2

Трансгенная экспрессия конструкций CD200R-CD28

Доклиническую мышиную модель диссеминированного лейкоза на основе индуцированного у мышей C57BL/6 вирусом Френда эритролейкоза (FBL) и трансгенных мышей TCR_{gag} использовали для определения того, могут ли химерные рецепторы CD200R-CD28 улучшить функцию Т-клеток.

Трансгенных по TCR мышей получали для получения CD8⁺ Т-клеток, специфичных к эпитопу gag (TCR_{gag}). Мышей C57BL/6 (B6) приобретали в Jackson Laboratory.

Трансгенные мыши TCR_{gag} экспрессируют трансген TCR, специфичный для эпитопа gag вируса Френда в CD8⁺ Т-клетке (Öhlén et al., J. Immunol. 166: 2863-2870, 2001). Все проведенные исследования на животных были одобрены в соответствии с протоколом Институционального комитета по уходу за животными и их использованию университета штата Вашингтон (протокол № 2013-01). Индуцированный вирусом B6 Френда мыши эритролейкоз (FBL) экспрессирует кодируемый F-MuLV эпитоп gag (пептид CCLCLTVFL).

Химерные конструкции CD200R-CD28 на основе генов мыши вставляли в ретровирусный вектор pMP71 и использовали для трансдукции первичных спленоцитов мыши, стимулированных антителами к CD3 и антителами к CD28. Конструкции конструировали, как описано в примере 1, и заказывались в Invitrogen или создавали на месте с помощью ПЦР. Затем конструкции направленно ТОРО-клонировали в вектор pENTR™/D-ТОРО® (Invitrogen) и переносили в ретровирусный вектор pMP71-attR с использованием технологии Gateway® (Invitrogen). Ретровирусную упаковывающую клеточную линию Plat-E (Morita et al., 2000, Gene Therapy 7: 1063-1066, 2000; Cell Biolabs, Inc.) трансдуцировали ретровирусным вектором с использованием реагента для трансдукции Effectene (Qiagen). Вирусный супернатант собирали на 2-й и 3-й день, а затем использовали для трансдуцирования Т-клеток TCR_{gag}.

За один день до трансфекции Т-клетки TCR_{gag} стимулировали антителами к CD3/CD28 и 100 ед./мл rhIL-2. Трансдукцию Т-клеток TCR_{gag} проводили на 12-луночных планшетах в присутствии IL-2 и полибрена путем центрифугирования в течение 90 минут при 1000 g. Клетки FBL трансдуцировали с помощью CD200 при центрифугировании с полибреном аналогично трансдукции Т-клеток и затем сортировали с получением гомогенной популяции.

Через пять дней после трансдукции CD8⁺ Т-клетки анализировали в отношении экспрессии конструкции с помощью окрашивания антителом к CD200R и проточной

цитометрии (фигура 1B). Вектор, кодирующий зеленый флуоресцентный белок (GFP), использовали в качестве контроля. Эффективность трансдукции варьировалась от 4 до 36%, а средняя интенсивность флуоресценции (MFI) трансдуцированных клеток была сходной между конструкциями.

5 Пример 3

Конструкции CD200R-CD28 стимулируют пролиферацию, накопление и эффекторную функцию трансдуцированных Т-клеток *in vitro*

Конструкции CD200R-CD28, описанные в примерах 1 и 2, оценивали в отношении их способности стимулировать пролиферацию, накопление и эффекторную функцию Т-клеток TCR_{gag}.

Размножение эффекторных клеток *in vitro*

Эффекторные клетки TCR_{gag} получали *in vitro* как описано ранее (Stromnes et al., J. Clin. Invest. 120: 3722-34, 2010). Облученные антиген-презентирующие спленоциты (5×10⁶), облученные FBL (3×10⁶) и клетки TCR_{gag} tg (10⁶) культивировали вместе с IL-2 (50 ед./мл) в 10 мл культуральной среды (IMDM, дополненная незаменимыми аминокислотами, 2 мкМ глутамина, 100 ед./мл смеси пенициллина/стрептомицина, 10% FBS и 50 мкМ 2-меркаптоэтанола). Т-клетки рестимулировали еженедельно и оценивали с помощью проточной цитометрии через 5-7 дней после последней стимуляции.

20 Анализ пролиферации Т-клеток *in vitro*

Т-клетки TCR_{gag} трансдуцировали, как в примере 2. Для оценки пролиферации Т-клеток *in vitro* Т-клетки TCR_{gag} окрашивали с использованием CellTrace Violet (CTV, Life Technologies) в соответствии с протоколом производителя. CTV-меченые Т-клетки Tg (10⁵) и контрольные Т-клетки GFP стимулировали титруемым количеством клеток CD200⁻ FBL или CD200⁺ FBL. Через 3 дня CTV-разведение Т-клеток TCR_{gag} оценивали с помощью проточной цитометрии.

Результаты проточной цитометрии, указывающие количество Т-клеток TCR_{gag} после стимуляции титруемым количеством клеток CD200-FBL (введху) или CD200⁺ FBL (внизу) показаны на фигуре 2A. Четыре из пяти испытываемых конструкций CD200R-CD28 значительно улучшали пролиферацию Т-клеток TCR_{gag} в ответ на CD200⁺ FBL (синие линии) по сравнению с трансдуцированными GFP-контролем Т-клетками (красные линии).

35 Анализ накопления Т-клеток *in vitro*

Для определения того, приводит ли усиленная пролиферация также к повышенному накоплению трансдуцированных клеток, измеряли долю трансдуцированных клеток в общей популяции TCR_{gag} в течение нескольких циклов стимуляции облученными

40 CD200⁺ FBL.

Некоторые из конструкций способствовали накоплению трансдуцированных Т-клеток, включая CD200R-CD28tm, CD200R-CD28Cys, CD200R-3aas-CD28Cys и CD200R-9aas-CD28Cys (фигура 2B). Из этих конструкций CD200R-9aas-CD28Cys проявляла наибольший прирост трансдуцированных Т-клеток при множественных стимуляциях, что приводило к более чем 3-кратному росту за 3 стимуляции.

45 Анализ обогащения Т-клеток *in vitro*

Смешанную популяцию трансдуцированных и нетрансдуцированных CD8⁺ Т-клеток рестимулировали с помощью облученных с помощью CD200⁺ или CD200⁻ клеток FBL,

чтобы определить, будет ли рестимуляция обогащать популяцию трансдуцированными CD200R-9aas-CD28Cys IFP⁺ Т-клетками. Повторная рестимуляция облученными опухолевыми CD200⁺ клетками обогащала клетками, трансдуцированными с помощью IFP, по сравнению с Т-клетками дикого типа, демонстрируя, что распознавание мишени, экспрессирующей лиганд для IRP CD200R-9aas-CD28Cys, усиливает ответ (фигура 2С).

Анализ колокализации in vitro

Трансдуцированные Т-клетки визуализировали с помощью микроскопии, чтобы определить, был ли IFP CD200R-9aas-CD28Cys колокализован с когнатным лигандом в иммунологическом синапсе (IS) во время активации Т-клеток. СТxB использовали для окрашивания липидов в клеточной мембране, которые накапливаются в синапсе (фигура 2D, секция I). Для визуализации местоположения молекул относительно IS использовали меченые антитела, нацеленные на CD200, экспрессируемый клеткой FBL (фигура 2D, секция II) или CD200R, экспрессируемый Т-клеткой (фигура 2D, секция III). Лиганд CD200 и CD200R колокализированы в пределах IS (фигура 2D, секция IV), демонстрируя, что конструкция имеет размер, подходящий для размещения в иммунологическом синапсе.

Анализ цитотоксичности на основе CFSE

Увеличенная передача сигнала CD28 также способствует эффекторной функции (Chen and Flies, Nat. Rev. Immunol. 13: 227-242, 2013). Трансдуцированные слитым белком CD200R-CD28 Т-клетки испытывали в отношении повышенного уничтожения опухолевых клеток-мишеней. Опухоли FBL и контрольные EL4 инкубировали в течение 10 минут при комнатной температуре с 2,5 мкМ (CFSE_{hi}) или 0,25 мкМ (CFSE^l) CFSE в PBS, соответственно. Избыток красителя удаляли путем промывания опухолевых клеток в содержащей сыворотку среде. Смесь 1:1 опухолевых клеток EL4 и FBL инкубировали с титруемым количеством трансдуцированных вектором CD200R-CD28 или GFP размноженных in vitro эффекторных Т-клеток TCR_{gag} в течение 4 часов в 96-луночных круглодонных планшетах при 37°C и 5% CO₂. Специфический лизис FBL определяли с помощью проточного цитометрического анализа % CFSE_{hi} (FBL) от общего числа CFSE-положительных клеток (FBL+ EL4), оставшихся в лунке.

Т-клетки TCR_{gag}, трансдуцированные конструкциями CD200R-CD28, демонстрировали повышенную способность лизировать опухоль FBL in vitro по сравнению с Т-клетками TCR_{gag}, трансдуцированными пустым вектором (фигуры 2Е, 2G). Опухолевые клетки-мишени метили с использованием различных разведений флуоресцентных красителей CellTrace Violet (CTV) или CFSE с получением смеси 1:1:1 клеток EL4 (CTV⁺), CD200⁺ FBL (CFSE^{hi}) и неспецифических контрольных мишеней EL4 (CFSE^l) (фигура 2F). Кроме того, контрольные GFP-трансдуцированные Т-клетки TCR_{gag} лизировали CD200⁻ FBL и CD200⁺ FBL с равной эффективностью (фигура 2G). В противоположность этому, Т-клетки TCR_{gag}, трансдуцированные с помощью CD200R-9aas-CD28Cys, демонстрировали усиленное уничтожение клеток CD200⁺ FBL по сравнению с контрольными Т-клетками, лизируя более 40% CD200⁺ FBL при самом низком испытанном соотношении Е:Т (фигура 2G).

В совокупности эти данные показывают, что конструкции CD200R-CD28 способствуют увеличению накопления и литической активности трансдуцированных

Т-клеток в ответ на стимуляцию опухолевыми клетками.

Пример 4

Т-клетки, трансдуцированные с помощью CD200R-9aas-CD28Cys, демонстрируют повышенное накопление *in vivo* в ответ на распознавание FBL

- 5 Мышам B6 внутрибрюшинно (i.p.) вводили 4×10^6 живых клеток лейкоза FBL, как описано ранее (Stromnes et al., J. Clin. Invest. 120: 3722-34, 2010). После обеспечения распространения FBL в течение 5 дней мыши получали 180 мг/кг циклофосфида (Су, «цитоксан») i.p. по меньшей мере за 6 часов до переноса эффекторных Т-клеток. Для исследований выживаемости 10^5 Т-клеток TCR_{gag}, которых ранее подвергали 1-3
- 10 стимуляциям *in vitro*, пересаживали мышам, имеющим опухоль. Для оценки кратковременной пролиферации и накопления 2×10^6 каждой из трансдуцированных слитым белком и трансдуцированных GFP-контролем Т-клеток совместно вводили мышам, имеющим опухоль, и через 8 дней мышей подвергали эвтаназии для анализа.
- 15 У мышей регулярно контролировали опухолевую нагрузку и подвергали эвтаназии, если ожидалась прогнозируемая по прогрессированию опухоли летальность в течение 24-48 часов.

- Для оценки того, демонстрируют ли трансдуцированные слитым белком CD200R-9aas-CD28Cys Т-клетки большую пролиферацию и накопление *in vivo* в ответ на
- 20 распознавание FBL, смешанную популяцию клеток, трансдуцированных слитым белком и контролем, пересаживали мышам, имеющим опухоль, и сравнивали соотношение клеток с помощью анализа *ex vivo* через 8 дней после переноса (фигура 3A). С применением конгенных маркеров трансдуцированные Т-клетки обнаруживали при в 1,2-1,4 раза большем соотношении с контрольными клетками как в селезенке, так и в
- 25 лимфатических узлах, по сравнению с соотношением, которое вводили (фигура 3B).

- Трансдуцированные Т-клетки CD200R-9aas-CD28Cys⁺ TCR_{gag} демонстрировали сниженную экспрессию CD62L через 3 дня после переноса мышам, имеющим опухоль, что свидетельствует об эффекторном фенотипе Т-клеток (фигура 3C). К 15-му дню
- 30 трансдуцированные и контрольные Т-клетки демонстрировали сходные фенотипы, в том числе отсутствие маркеров истощения (фигура 3D). Подобно результатам *in vitro*, Т-клетки, которые экспрессировали CD200R-9aas-CD28Cys, проявляли повышенное накопление в ответ на стимуляцию опухолями *in vivo*. Кроме того, они демонстрировали характер экспрессии белка, согласующийся с эффекторным фенотипом Т-клеток, в
- 35 течение по меньшей мере 3 дней после переноса мышам, имеющим опухоль.

Пример 5

Адоптивная иммунотерапия с помощью CD200R-CD28⁺ Т-клеток демонстрирует большую активность при лечении диссеминированного лейкоза

- Адоптивная иммунотерапия с помощью Т-клеток, трансдуцированных с помощью
- 40 CD200R-CD28, опосредовала повышенную терапевтическую активность на доклинической мышинной модели диссеминированного лейкоза.

- Мышам вводили летальную дозу клеток лейкоза CD200⁺ FBL и через пять дней когорты Су-обработанных мышей получали дополнительную терапию с помощью 10^5
- 45 Т-клеток (фигура 4A). Вклад цистеиновой связи CD28 в эффективность, опосредованную конструкцией CD200R-CD28, оценивали путем сравнения Т-клеток, трансдуцированных с помощью CD200R-CD28tm, CD200R-9aas-CD28Cys и контрольных конструкций GFP, как показано на фигуре 1A. IL-2 вводили в течение 10 дней в качестве дополнительного

терапевтического средства когорте мышей для стимуляции активности Т-клеток (Stromnes et al., J. Clin. Invest. 120: 3722-34, 2010). Перед введением Т-клетки оценивали в отношении различных поверхностных белков посредством проточной цитометрии. Трансдуцированные и контрольные Т-клетки TCR_{gag} проявляли сходные фенотипы, указывая, что трансдукция не меняет фенотип клеток до введения (фигура 4B).

В небольшой когорте мышей, которые получали инъекции IL-2, Т-клетки улучшали выживаемость, но значительная разница в выживаемости мышей, которые получали другие группы Т-клеток, не могла быть обнаружена (фигура 4C). Однако в когорте мышей, которые не получали инъекции IL-2, наблюдалось значительное улучшение выживаемости мышей, которые получали Т-клетки, трансдуцированные конструкциями CD200R-CD28 с размерами, подходящими для соответствия иммунологическому синапсу (фигура 4D). Большинство мышей, не получавшие Т-клетки, получавшие Т-клетки, трансдуцированные с помощью контрольного вектора GFP, или Т-клетки, трансдуцированные самым крупным эктодоменом (IFP CD200R-CD28Cys), не выживали дольше 30 дней (фигуры 4C и 4D, черная сплошная, пунктирная и оранжевая линии, соответственно). В отличие от этого, 71% мышей, которые получали CD200R-CD28tm⁺ Т-клетки, и 83% мышей, которые получали CD200R-9aas-CD28Cys⁺ Т-клетки, выживали более чем 100 дней после терапии (фигуры 4C и 4D, зеленая и красная линии, соответственно). Эти данные показывают, что трансдукция Т-клеток конструкциями CD200R-CD28, которые охватывают расстояние, подобное расстоянию между мембранами в иммунологическом синапсе, обеспечивает достаточную костимуляцию для преодоления зависимости Т-клеточной иммунотерапии от инъекции экзогенного IL-2. Кроме того, хотя были обнаружены различия в пролиферации и накоплении между конструкциями CD200Rtm-CD28 и CD200R-9aas-CD28Cys, испытанными на мышах, которые не получали инъекций экзогенного IL-2, оба IFP эффективно повышали Т-клеточную иммунотерапию со значительным улучшением клинического результата в остальных случаях прогрессирующего лейкоза.

Пример 6

CD200R-9aas-CD28Cys⁺ Т-клетки не вызывают аутореактивность в отношении эндогенных тканей и не демонстрируют инфильтрацию нормальных тканей *in vivo*. Для определения того, снижала ли трансдукция Т-клеток TCR_{gag} порог активации в достаточной степени, чтобы приводить к аутореактивности в отношении эндогенных тканей, оценивали аутоиммунную токсичность у трансгенных мышей, сконструированных для экспрессии опухолевого антигена FBL gag в виде аутоантигена в гепатоцитах под контролем альбуминового промотора (фигура 5A). Эффекторы TCR_{gag} получали *in vitro* и 10⁶ переносили обработанным цитоксаном мышам Alb:Gag с диссеминированным лейкозом. Через 3 и 7 дней после переноса оценивали повреждение печени путем количественного определения уровней ферментов печени в сыворотке: аспартатаминотрансферазы (AST) и аланинаминотрансферазы (ALT). Адоптивная терапия контрольными или CD200R-9aas-CD28Cys⁺ TCR_{gag} клетками у мышей не влияла на уровни AST или ALT в сыворотке через 3 или 7 дней после переноса, указывая, что CD200R-9aas-CD28Cys не вызывает обнаруживаемого аутоиммунного повреждения печени у мышей Alb:Gag (фигура 5B).

Т-клетки, трансдуцированные с помощью IFP, не демонстрируют повышенной инфильтрации нормальных тканей по сравнению с контрольными Т-клетками. Мышей подвергали эвтаназии через 7 дней после переноса, и срезы печени окрашивали

антителом к Т-клеточному маркеру CD3 для количественного определения инфильтрации Т-клеток. Наблюдалось ограниченное присутствие Т-клеток в тканях печени без существенной разницы между реципиентами CD200R-9aas-CD28Cys⁺ или контрольных TCR_{gag}, что указывает на отсутствие повышенной лимфоцитарной клеточной инфильтрации в результате экспрессии IFP (фигура 5C).

Пример 7

Костимулирующий сигнальный домен 4-1BB стимулирует накопление трансдуцированных Т-клеток *in vitro*

Костимулирующий рецептор 4-1BB активируется на активированных Т-клетках, что способствует выживанию Т-клеток и продуцированию цитокинов (Chen and Flies, Nat. Rev. Immunol. 13: 227-242, 2013). Для оценки того, может ли внутриклеточный сигнальный домен 4-1BB с внутриклеточным сигнальным доменом CD28 или без него индуцировать повышенную пролиферацию и накопление Т-клеток, получали IFP с использованием 4-1BB (CD200R-9aas-4-1BB) или комбинации 4-1BB с CD28 (CD200R-9aas-CD28-4-1BB) (фигура 6A) с помощью способов, описанных в примере 2. Т-клетки TCR_{gag} трансдуцировали, как в примере 2, и *in vitro* получали эффекторные клетки TCR_{gag}, как в примере 3.

Как наблюдалось с CD200R-9aas-CD28Cys, Т-клетки, трансдуцированные конструкциями 4-1BB, накапливались в течение нескольких циклов стимуляции *in vitro* (фигура 6B). Эти данные показывают, что IFP 4-1BB также способствуют пролиферации и выживаемости Т-клеток.

Т-клетки TCR_{gag}, трансдуцированные CD200R-4-1BB, демонстрировали повышенную способность к лизису опухоли FBL *in vitro* с использованием анализа цитотоксичности на основе CFSE, описанного в примере 3 (фигура 6C). CD200R-4-1BB-трансдуцированные Т-клетки также способствуют выживанию (фигура 6D).

Пример 8

Коэкспрессия CD200Rtm-CD28 улучшает функцию первичных Т-клеток с WT1-специфичным TCR

Человеческую конструкцию CD200Rtm-CD28 (SEQ ID NO:1) получали для определения того, улучшает ли экспрессия IFP Т-клеточную функцию первичных Т-клеток человека. Конструкцию объединяли с бета- и альфа-цепями рестриктированного по HLA-A2 WT1₁₂₆-специфичного TCR «C4» путем связывания генов с элементами P2A (фигура 7A). Первую последовательность P2A кодон-оптимизировали для предотвращения генетической рекомбинации со второй последовательностью P2A. Для получения лентивирусов клетки 293 T/17 (3×10⁶ клеток/планшет) трансдуцировали человеческими конструкциями в pRRLSIN и упаковочными векторами pMDLg/pRRE, pMD2-G и pRSV-REV с использованием Effectene (Qiagen). Культуральные среды меняли в 1-й день после трансфекции, а содержащий вирус супернатант собирали на 2-й и 3-й дни и замораживали аликвоты для будущего применения.

Сублинию Jurkat Т-клеток человека, которые лишены эндогенного TCR, использовали для испытания экспрессии IFP и TCR. Эти Т-клетки Jurkat трансдуцировали путем центрифугирования 2×10⁶ клеток с 2 мл ретровирусного супернатанта при 1000 g в течение 90 мин. при 32°C. Трансдукция линии Jurkat Т-клеток человека трехгенной конструкцией приводила к высокой экспрессии IFP и экспрессии TCR с аналогичной MFI, как и в Т-клетках, трансдуцированных только TCR (фигура 7A).

Для трансдукции первичных Т-клеток человека собирали моноклеарные клетки

периферической крови (PBMC) у HLA-A2+ доноров. CD8⁺ Т-клетки очищали с помощью магнитных гранул Miltenyi и стимулировали с использованием парамагнитных микрочастиц Dynabeads Human T cell Expander CD3/CD28 (Life Technologies) и 50 МЕ/мл IL-2. Через четыре часа после стимуляции Т-клетки трансдуцировали, как описано выше для Т-клеток Jurkat. Т-клетки рестимулировали каждые 10-14 дней с использованием протокола быстрого размножения (REP), как было описано ранее (Ho et al., J Immunol Methods 310:40-52, 2006).

Линию клеток Т2 человека использовали в качестве APC, поскольку она является дефицитной по TAP и, следовательно, не способна презентовать эндогенные пептиды, тогда как низкоуровневая экспрессия MHC I обеспечивает презентацию экзогенно загруженных пептидов. Экспрессию CD200 клетками Т2 оценивали с помощью проточной цитометрии (фигура 7B). Клетки Т2 проявляли низкий уровень эндогенной экспрессии CD200 (фигура 7B).

Трансдуцированные Т-клетки стимулировали с помощью WT1₁₂₆-сенсibilизированных клеток Т2. Несмотря на низкий уровень экспрессии CD200 на клетках-мишенях, CD200Rtm-CD28-трансдуцированные Т-клетки демонстрировали повышенную пролиферацию по сравнению с Т-клетками, трансдуцированными только TCR C4 (фигура 7C). Кроме того, стимулированные CD200Rtm-CD28-трансдуцированные Т-клетки (т.е. IFN⁺ Т-клетки) продуцировали повышенные уровни IFN γ и IL-2 по сравнению с контрольными Т-клетками под воздействием опухолевых CD200dim клеток (фигура 7D).

В целом, эти результаты показали, что первичные Т-клетки, трансдуцированные для экспрессии человеческой конструкции CD200Rtm-CD28 и бета- и альфа-цепей WT1₁₂₆-специфичного TCR, демонстрировали повышенную пролиферацию и увеличенное продуцирование цитокинов по сравнению с Т-клетками, трансдуцированными только конструкцией TCR.

Пример 9

Конструкции слитого белка SIRP α -CD28 стимулируют накопление трансдуцированных Т-клеток in vitro

Иллюстративные слитые белки, описываемые в данном документе, также включают IFP, состоящие из внеклеточного домена SIRP α или его части, и внутриклеточного сигнального домена CD28 (фигура 8A). Гидрофобный компонент может состоять из трансмембранного домена либо SIRP α , либо CD28, или их частей. В некоторых иллюстративных слитых белках SIRP α -CD28 гидрофобный компонент содержит трансмембранный домен CD28, а внеклеточный компонент дополнительно содержит внеклеточную часть CD28, в частности внеклеточный остаток цистеина, смежный с гидрофобным компонентом (например, SIRP α -CD28Cys, SIRP α -6aas-CD28Cys, SIRP α -9aas-CD28Cys и SIRP α -9aas-CD28Cys). Внеклеточный компонент может содержать всю или часть внеклеточного домена SIRP α . В некоторых вариантах осуществления внеклеточный компонент содержит целый внеклеточный домен SIRP α . В других примерах внеклеточный компонент содержит первые 367 аминокислот (например, SIRP α -6aas-CD28Cys), первые 364 аминокислоты (например, SIRP α -9aas-CD28Cys) или первые 350 аминокислот (SIRP α -23aas-CD28Cys) с N-конца SIRP α . Размер внеклеточного компонента может влиять на способность слитого белка проникать в иммунологический синапс и колокализироваться с TCR в cSMAC для обеспечения сильного костимулирующего сигнала. В некоторых примерах внеклеточный компонент содержит усеченный SIRP α , который может изменять размер внеклеточного компонента. Например, для обеспечения

дополнительных внеклеточных аминокислот внеклеточного домена слитого белка (например, дополнительных 9 или 12 аминокислот), SIRP α -6aas-CD28 имеет усеченную часть SIRP α , которая сохраняет природный N-связанный участок гликозилирования. В другом примере SIRP α -23aas-CD28 имеет усеченную часть SIRP α , которая лишена
 5 целой области стебля внеклеточного домена SIRP α . Кроме того, конструкция SIRP α -CD28 имеет возможность превращать сигнал, инициированный связыванием SIRP α с его мишенью, в положительный (например, костимулирующий) сигнал, генерируемый внутриклеточным сигнальным доменом CD28.

IFP с использованием внеклеточных компонентов SIRP α (фигура 8A) получали с
 10 помощью способов, описанных в примере 2. Т-клетки TCR_{gag} трансдуцировали, как в примере 2, и *in vitro* получали эффекторные клетки TCR_{gag}, как в примере 3. Клетки FBL трансдуцировали с помощью CD47 или mCherry при центрифугировании с полибренном аналогично трансдукции Т-клеток и затем сортировали с получением гомогенной популяции.

15 Как наблюдалось с CD200R-9aas-CD28Cys, Т-клетки, трансдуцированные конструкциями SIRP α , накапливались в течение нескольких циклов стимуляции *in vitro* (фигура 8B). Эти данные показывают, что IFP SIRP α -CD28 также способствуют пролиферации и выживаемости Т-клеток.

20 Для оценки пролиферации Т-клеток *in vitro* проводили анализ пролиферации с разведениями CTV, как описано в примере 2. Как наблюдалось с CD200R-9aas-CD28Cys, Т-клетки, трансдуцированные конструкциями SIRP α , сконструированными для поддержания расстояния в синапсе Т-клетка-опухолевая клетка, демонстрировали повышенную пролиферацию по сравнению с контрольными Т-клетками (фигура 8C).

25 Кроме того, опухолевые CD47⁺ клетки эффективно уничтожались через 3 дня совместного культивирования с SIRP α -CD28⁺ Т-клетками, но не с контрольными Т-клетками или Т-клетками, трансдуцированными конструкцией SIRP α , которая лишена внутриклеточного сигнального домена (фигура 8D). Чтобы дополнительно оценить
 30 литическую способность SIRP α -CD28⁺ Т-клеток, использовали анализ IncuCyte для количественной оценки уничтожения CD47⁺ FBL. В общей сложности 10⁵ mCherry⁺ CD47⁺ FBL совместно культивировали в 24-луночных планшетах с титрованием Т-клеток человека, трансдуцированных конструкциями SIRP α -CD28. Планшет инкубировали в IncuCyte (Essen BioScience) внутри инкубатора для клеточных культур
 35 в течение 70 часов. Изображения фиксировали каждый час для контроля уничтожения опухолевых клеток, как определялось по потере красного сигнала. SIRP α -CD28⁺ Т-клетки уничтожали опухолевые CD47⁺ клетки даже при самом низком испытываемом соотношении эффектора и мишени (0,4:1; фигура 8E).

40 Пример 10

Конструкции слитого белка PD-1-CD28 стимулируют продуцирование цитокинов в трансдуцированных Т-клетках *in vitro*

Иллюстративные слитые белки, описываемые в данном документе, также включают IFP, состоящие из внеклеточного домена PD-1 или его части, и внутриклеточного
 45 сигнального домена CD28 (фигура 9A). Трансмембранный компонент может состоять из трансмембранного домена либо PD-1, либо CD28, или их частей. В некоторых иллюстративных слитых белках PD1-CD28 трансмембранный компонент содержит трансмембранный домен CD28, а внеклеточный компонент дополнительно содержит

внечклеточную часть CD28, в частности внечклеточный остаток цистеина, смежный с трансмембранным компонентом (например, PD1-CD28Cys, PD1-9aas-CD28Cys и PD1-21aas-CD28Cys) для содействия межклеточной димеризации. Внечклеточный компонент может содержать весь или часть внечклеточного домена PD-1 или может быть усечен (например, -9aas в мышиной конструкции, -12aas или -15aas в человеческих конструкциях; не имеет области стебля PD-1, -21aas) для поддержания короткого пространственного расстояния между клетками, чтобы облегчить доступ рецептора с лигандом в иммунологический синапс. Кроме того, конструкция PD1-CD28 имеет возможность превращать то, что обычно является ингибирующим сигналом при связывании PD1 с его мишенью, в положительный (например, костимулирующий) сигнал, генерируемый внутриклеточным сигнальным доменом CD28.

IFP, содержащие внечклеточные компоненты PD-1 (фигура 9A), получали с помощью способов, описанных в примере 2. Т-клетки TCR_{gag} трансдуцировали, как в примере 2, и *in vitro* получали эффекторные клетки TCR_{gag}, как в примере 3.

Мышиные IFP PD1-CD28 получали с использованием конструкций I-IV и VII (фиг. 9A). PD1-CD28⁺ Т-клетки рестимулировали в присутствии Brefeldin A (для сохранения продуцируемых цитокинов) с клетками FBL, эндогенно экспрессирующими лиганды PD-1, PD-L1 и PD-L2. Через 5 часов клетки фиксировали и обрабатывали с использованием набора BD Cytofix/Cytoperm, чтобы обеспечить внутриклеточное окрашивание эффекторных цитокинов, IFN γ и TNF α . Трансдукция с помощью каждой из пяти конструкций PD1-CD28 усиливала продуцирование внутриклеточных цитокинов по сравнению с контрольными Т-клетками (фигура 9B).

Человеческие IFP PD1-CD28 получали с использованием конструкций I-III и V-VII (фигура 9A). Векторы, содержащие IFP PD1-CD28 и TCR C4, получали, как описано выше. Т-клетки Jurkat трансдуцировали, как описано выше. Т-клетки, трансдуцированные с помощью TCR и PD1-12aas-CD28Cys или PD1-15aas-CD28Cys, демонстрировали высокую эффективность трансдукции и экспрессию обоих белков (фигура 10).

Пример 11

Конструкции слитого белка Fas-CD28 стимулируют накопление и усиливают функцию трансдуцированных Т-клеток *in vitro*

Иллюстративные слитые белки, описываемые в данном документе, также включают IFP, состоящие из внечклеточного домена Fas или его части, и внутриклеточного сигнального домена CD28 (фигура 11A). Трансмембранный компонент может состоять из домена либо Fas, либо CD28, или их частей. В некоторых иллюстративных слитых белках Fas-CD28 трансмембранный компонент содержит трансмембранный домен CD28, а внечклеточный компонент дополнительно содержит внечклеточную часть CD28, в частности внечклеточный остаток цистеина, смежный с трансмембранным компонентом (например, Fas-CD28Cys и Fas-9aas-CD28Cys). Внечклеточный компонент может содержать весь или часть внечклеточного домена Fas или может быть усечен, чтобы сохранить поддержание короткого пространственного расстояния между клетками (-9aas) при взаимодействии рецептор-лиганд. Кроме того, конструкция Fas-CD28 имеет возможность превращать сигнал, инициированный связыванием Fas с его мишенью, в положительный (например, костимулирующий) сигнал, генерируемый внутриклеточным сигнальным доменом CD28.

IFP, содержащие внечклеточные компоненты Fas (фигура 11A), получали с помощью способов, описанных в примере 2. Т-клетки TCR_{gag} трансдуцировали, как в примере 2, и *in vitro* получали эффекторные клетки TCR_{gag}, как в примере 3.

Для определения того, приводит ли экспрессия IFP Fas-CD28 к повышенному накоплению трансдуцированных клеток, измеряли долю трансдуцированных клеток из смешанной популяции в общей популяции TCR_{gag} в течение нескольких циклов стимуляции облученными FBL, как описано в примере 3. Все конструкции способствовали накоплению трансдуцированных Т-клеток по сравнению с контрольными Т-клетками (фигура 11В). Кроме того, экспрессия конструкций Fas-CD28, но не полноразмерного (FL) Fas, способствовала выживанию или размножению Т-клеток при множественных стимуляциях *in vitro* (фигура 11С).

Пример 12

Конструкции слитого белка LAG3-CD28

Иллюстративные слитые белки, описываемые в данном документе, также включают IFP, состоящие из внеклеточного домена LAG3 или его части, и внутриклеточного сигнального домена CD28 (фигура 12А). Трансмембранный компонент может состоять из домена либо LAG3, либо CD28, или их частей. В некоторых иллюстративных слитых белках LAG3-CD28 трансмембранный компонент содержит трансмембранный домен CD28, а внеклеточный компонент дополнительно содержит внеклеточную часть CD28, в частности внеклеточный остаток цистеина, смежный с трансмембранным компонентом (например, LAG3-CD28Cys и LAG3-9aas-CD28Cys). Внеклеточный компонент может содержать весь или часть внеклеточного домена LAG3 или может быть усечен, чтобы поддержать короткое пространственное расстояние между клетками (например, -9aas) при взаимодействии рецептор-лиганд. Кроме того, конструкция LAG3-CD28 имеет возможность превращать то, что обычно является ингибирующим сигналом при связывании LAG3 с его мишенью, в положительный (например, костимулирующий) сигнал, генерируемый внутриклеточным сигнальным доменом CD28.

IFP с использованием внеклеточных компонентов LAG3 (фигура 12А) получали с помощью способов, описанных в примере 2. Т-клетки трансдуцировали конструкциями LAG3-eGFP, как описано. Через пять дней после трансдукции CD8⁺ Т-клетки анализировали в отношении экспрессии конструкции с помощью окрашивания антителом к LAG3 и проточной цитометрии (фигура 12В). Вектор, кодирующий только зеленый флуоресцентный белок (GFP), использовали в качестве контроля. Все конструкции демонстрировали экспрессию LAG3 (фигура 12В).

Пример 13

Конструкции слитого белка TIM3-CD28

Иллюстративные слитые белки, описываемые в данном документе, также включают IFP, состоящие из внеклеточного домена TIM3 или его части, и внутриклеточного сигнального домена CD28 (фигура 13А). Трансмембранный компонент может состоять из домена либо TIM3, либо CD28, или их частей. В некоторых иллюстративных слитых белках TIM3-CD28 трансмембранный компонент содержит трансмембранный домен CD28, а внеклеточный компонент дополнительно содержит внеклеточную часть CD28, в частности внеклеточный остаток цистеина, смежный с трансмембранным компонентом (например, TIM3-CD28Cys и TIM3-9aas-CD28Cys). Внеклеточный компонент может содержать весь или часть внеклеточного домена TIM3 или может быть усечен, чтобы поддерживать короткое пространственное расстояние между клетками (например, -9aas). Кроме того, конструкция TIM3-CD28 имеет возможность превращать то, что обычно является ингибирующим сигналом при связывании TIM3 с его мишенью, в положительный сигнал, генерируемый внутриклеточным сигнальным доменом CD28.

Новые IFP с использованием внеклеточных компонентов TIM3 (фигура 13А) получали с помощью способов, описанных в примере 2. Т-клетки трансдуцировали конструкциями

GFP-TIM3, как описано. Через пять дней после трансдукции CD8⁺ Т-клетки анализировали в отношении экспрессии конструкции с помощью окрашивания антителом к TIM3 и проточной цитометрии (фигура 13В). Вектор, кодирующий только зеленый флуоресцентный белок (GFP), использовали в качестве контроля. Большинство конструкций демонстрировали сходную экспрессию TIM3 (фигура 13В).

Хотя конкретные варианты осуществления настоящего изобретения проиллюстрированы и описаны, будет понятно, что различные варианты осуществления, описанные выше, могут быть объединены для обеспечения дополнительных вариантов осуществления и что в них могут быть внесены различные изменения без отступления от сущности и объема настоящего изобретения.

Все патенты США, публикации заявок на патент США, заявки на патент США, иностранные патенты, заявки на иностранный патент и непатентные публикации, упомянутые в настоящем описании и/или перечисленные в информационном листке заявки, включая без ограничения предварительную заявку на патент США №62/128979, включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме. Аспекты вариантов осуществления могут быть модифицированы, если необходимо использовать концепции различных патентов, заявок и публикаций, для получения дополнительных вариантов осуществления.

Эти и другие изменения могут быть сделаны в вариантах осуществления с учетом приведенного выше подробного описания. В целом, в нижеследующей формуле изобретения используемые термины не должны толковаться как ограничивающие формулу изобретения конкретными вариантами осуществления, раскрытыми в настоящем описании и формуле изобретения, но должны быть истолкованы с включением всех возможных вариантов наряду с полным объемом эквивалентов, на которые эта формула изобретения имеет право. Соответственно, формула изобретения не ограничивается настоящим раскрытием.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

<110> ФРЕД ХАТЧИНСОН КАНСЭР РИСЕЧ СЕНТЕР

Ода, Шеннон К.

Гринберг, Филипп Д.

<120> ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СЛИТЫЕ БЕЛКИ И ПУТИ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

<130> 360056.433WO

<140> РСТ

<141> 2016-03-04

<150> US 62/128,979

<151> 2015-03-05

<160> 178

<170> FastSEQ для Windows версии 4.0

<210> 1

<211> 915

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> конструкция huCD200Rtm-CD28

<400> 1

atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggctgtctgc tgatcctgac catcttcctg	60
gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcaccagaa ctacagcaag	120
gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc	180

	tgccctccta	tcgccctgcg	gaacctgatc	atcatcacct	gggagatcat	cctgcggggc	240
	cagcccagct	gtaccaaggc	ctaccgga	gagacaaacg	agacaaaaga	aacaaactgc	300
	accgacgagc	ggatcacatg	ggtgtccaga	cccgaccaga	acagcgacct	gcagatcaga	360
	cccggtggcca	tcacccacga	cggctactac	cgggtgcatca	tggtcacccc	cgatggcaac	420
5	ttccaccggg	gataccatct	gcagggtgctc	gtgacccccg	aagtgaccct	gttccagaac	480
	cggaacagaa	ccgccgtgtg	caaggccgtg	gccggaaaac	ctgccgcca	gatctcttgg	540
	atccccgagg	gcgattgcgc	caccaagcag	gaatactggt	ccaacggcac	cgtgaccgtg	600
	aagtccacct	gtcactggga	ggtgcacaac	gtgtccaccg	tgacatgcca	cgtgtcccac	660
	ctgaccggca	acaagagcct	gtacatcgag	ctgctgcctg	tgcttgccgc	caagaagtcc	720
10	gccaaagtgt	acatcccccta	catcatcctg	acaatcatca	ttctgaccat	cgtgggcttc	780
	atctggctgc	tgcgagcga	gcggagcaga	ggcgccaca	gcgactacat	gaacatgacc	840
	cctagacggc	ctggccccac	cagaaagcac	taccagccct	acgcccctcc	ccgggacttt	900
	gccgcctaca	gaagc					915
	<210> 2						
15	<211> 728						
	<212> ДНК						
	<213> Искусственная последовательность						
	<220>						
	<223> целый внеклеточный домен huCD200R						
20	<400> 2						
	tgctgtgccc	ttggagaacc	gccaacctgg	gcctgtgtgt	gatcctgacc	atcttctctgg	60
	tgggccgccc	cagcagcctg	tgcattggacg	agaagcagat	caccagaac	tacagcaagg	120
	tgctggccga	agtgaacacc	agctggcccc	tgaagatggc	caccaacgcc	gtgtgtgtgt	180
	gccctcctat	cgccctgctg	aacctgatca	tcattcacctg	ggagatcatc	ctgcggggcc	240
25	agcccagctg	taccaaggcc	taccggaaa	agacaaacga	gacaaaagaa	acaaactgca	300
	ccgacgagcg	gatcacatgg	gtgtccagac	ccgaccagaa	cagcgacctg	cagatcagac	360
	ccgtggccat	caccacgac	ggctactacc	ggtgcatcat	ggtcaccccc	gatggcaact	420
	tccaccgggg	ataccatctg	cagggtgtctg	tgacccccga	agtgaccctg	ttccagaacc	480
	ggaacagaa	cgccgtgtgc	aaggccgtgg	ccggaaaacc	tgccgcccag	atctcttgga	540
30	ttcccagagg	cgattgcgcc	accaagcagg	aatactggtc	caacggcacc	gtgaccgtga	600
	agtccacctg	tactgggag	gtgcacaacg	tgtccaccgt	gacatgccac	gtgtcccacc	660
	tgaccggcaa	caagagcctg	tacatcgagc	tgctgcctgt	gcctggcgcc	aagaagtccg	720
	ccaagctg						728
	<210> 3						
35	<211> 63						
	<212> ДНК						
	<213> Искусственная последовательность						
	<220>						
	<223> трансмембранный домен huCD200R						
40	<400> 3						
	tacatccctt	acatcatcct	gacaatcatc	attctgacca	tcgtgggctt	catctggctg	60
	ctg						63
	<210> 4						
	<211> 81						
45	<212> ДНК						
	<213> Искусственная последовательность						
	<220>						
	<223> трансмембранный домен CD28						

	<400> 4	
	ttctgggtgc tgggtgggtggt cggagggcgtg ctggcctgct acagcctgct ggtcacccgtg	60
	gccttcatca tcttttgggt c	81
	<210> 5	
5	<211> 123	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> внутриклеточный домен CD28	
10	<400> 5	
	cgagcсаагс ggagcаgаgg cggccacаgс gactacatga acatgacccc tagacggcct	60
	ggcccccaccа gaaagcactа ccagccctac gcccctcccc gggactttgc cgcctacаgа	120
	аgс	123
	<210> 6	
15	<211> 933	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> конструкция huCD200R-CD28tm	
20	<400> 6	
	atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggcctgctgc tgatcctgac catcttcctg	60
	gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcаgа tcaccаgаа ctacagcaag	120
	gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc	180
	tgccctccta tcgccctgcg gaacctgatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc	240
25	cagcccagct gtaccaaggc ctaccggaaa gagacaaacg agacaaaаgа aacaaactgc	300
	accgacgagc ggatcacatg ggtgtccаgа cccgaccаgа acagcgacct gcagatcаgа	360
	cccgtggcca tcaccacаgа cggctactac cggtgcatca tggtcacccc cgatggcaac	420
	ttccaccggg gataccatct gcagggtgctc gtgacccccg aagtgaccct gttccagaac	480
	cggaacаgаа ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgccgcca gatctcttgg	540
30	atccccgagg gcgattgсgс caccaagcag gaatactggт ccaacggcac cgtgaccgtg	600
	aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtccac	660
	ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgctgcctg tgcctggcgc caagaagtcc	720
	gccaaгctgt tctgggtgct ggtggtggtc ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg	780
	gtcaccgtgg ccttcatcat cttttgggtc cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc	840
35	gactacatga acatgacccc tagacggcct ggccccacca gaaagcacta ccagccctac	900
	gcccctcccc gggactttgc cgcctacаgа agс	933
	<210> 7	
	<211> 942	
	<212> ДНК	
40	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> конструкция huCD200R-9aas-CD28Cys	
	<400> 7	
	atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggcctgctgc tgatcctgac catcttcctg	60
45	gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcаgа tcaccаgаа ctacagcaag	120
	gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc	180
	tgccctccta tcgccctgcg gaacctgatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc	240
	cagcccagct gtaccaaggc ctaccggaaa gagacaaacg agacaaaаgа aacaaactgc	300

	accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga	360
	cccggtggcca tcacccacga cggctactac cgggtgcatca tggtcacccc cgatggcaac	420
	ttccaccggg gataccatct gcagggtgctc gtgacccccg aagtgacct gttccagaac	480
	cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgccgcca gatctcttgg	540
5	atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg	600
	aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtccac	660
	ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgtgcctg tgtgtcccag ccctctgttt	720
	cccgcccta gcaagccttt ctgggtgctg gtgggtgctg gaggcgtgct ggctgctac	780
	agcctgctgg tcaccgtggc cttcatcatc ttttgggtcc gcagcaagcg gagcagaggc	840
10	ggccacagcg actacatgaa catgacccct agacggcctg gccccaccag aaagcactac	900
	cagccctacg cccctccccg ggactttgcc gcctacagaa gc	942
	<210> 8	
	<211> 702	
	<212> ДНК	
15	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> huCD200R-9aas часть внеклеточного домена	
	<400> 8	
	atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggctgtgtgc tgatcctgac catcttcctg	60
20	gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcaccagaa ctacagcaag	120
	gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc	180
	tgcctccta tcgccctgcg gaacctgatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc	240
	cagcccagct gtaccaaggc ctaccggaaa gagacaaaag agacaaaaga aacaaactgc	300
	accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga	360
25	cccggtggcca tcacccacga cggctactac cgggtgcatca tggtcacccc cgatggcaac	420
	ttccaccggg gataccatct gcagggtgctc gtgacccccg aagtgacct gttccagaac	480
	cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgccgcca gatctcttgg	540
	atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg	600
	aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtccac	660
30	ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgtgcctg tg	702
	<210> 9	
	<211> 36	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
35	<220>	
	<223> CD28Cys домен мультимеризации	
	<400> 9	
	tgtcccagcc ctctgtttcc cggccctagc aagcct	36
	<210> 10	
40	<211> 933	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> конструкция huCD200R-12aas-CD28Cys	
45	<400> 10	
	atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggctgtgtgc tgatcctgac catcttcctg	60
	gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcaccagaa ctacagcaag	120
	gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc	180

	tgccctccta	tcgccctgcg	gaacctgatc	atcatcacct	gggagatcat	cctgcggggc	240
	cagcccagct	gtaccaaggc	ctaccgga	gagacaaacg	agacaaaaga	aacaaactgc	300
	accgacgagc	ggatcacatg	ggtgtccaga	cccgaccaga	acagcgacct	gcagatcaga	360
	cccggtggcca	tcacccacga	cggctactac	cgggtgcatca	tggtcacccc	cgatggcaac	420
5	ttccaccggg	gataccatct	gcagggtgctc	gtgacccccg	aagtgaccct	gttccagaac	480
	cggaacagaa	ccgccgtgtg	caaggccgtg	gccggaaaac	ctgccgcca	gatctcttgg	540
	atccccgagg	gcgattgcgc	caccaagcag	gaatactggt	ccaacggcac	cgtgaccgtg	600
	aagtccacct	gtcactggga	ggtgcacaac	gtgtccaccg	tgacatgcca	cgtgtccac	660
	ctgaccggca	acaagagcct	gtacatcgag	ctgtgtccca	gccctctgtt	ttccggccct	720
10	agcaagcctt	tctgggtgct	ggtggtggtc	ggaggcgtgc	tggcctgcta	cagcctgctg	780
	gtcaccgtgg	ccttcatcat	cttttgggtc	cgcagcaagc	ggagcagagg	cggccacagc	840
	gactacatga	acatgacccc	tagacggcct	ggccccacca	gaaagcacta	ccagccctac	900
	gccccctccc	gggactttgc	cgcctacaga	agc			933
	<210> 11						
15	<211> 693						
	<212> ДНК						
	<213> Искусственная последовательность						
	<220>						
	<223> huCD200R-12aas часть внеклеточного домена						
20	<400> 11						
	atgctgtgcc	cttgagagaac	cgccaacctg	ggcctgctgc	tgatcctgac	catcttcctg	60
	gtggccgcca	gcagcagcct	gtgcatggac	gagaagcaga	tcaccagaa	ctacagcaag	120
	gtgctggccg	aagtgaacac	cagctggccc	gtgaagatgg	ccaccaacgc	cgtgctgtgc	180
	tgccctccta	tcgccctgcg	gaacctgatc	atcatcacct	gggagatcat	cctgcggggc	240
25	cagcccagct	gtaccaaggc	ctaccgga	gagacaaacg	agacaaaaga	aacaaactgc	300
	accgacgagc	ggatcacatg	ggtgtccaga	cccgaccaga	acagcgacct	gcagatcaga	360
	cccggtggcca	tcacccacga	cggctactac	cgggtgcatca	tggtcacccc	cgatggcaac	420
	ttccaccggg	gataccatct	gcagggtgctc	gtgacccccg	aagtgaccct	gttccagaac	480
	cggaacagaa	ccgccgtgtg	caaggccgtg	gccggaaaac	ctgccgcca	gatctcttgg	540
30	atccccgagg	gcgattgcgc	caccaagcag	gaatactggt	ccaacggcac	cgtgaccgtg	600
	aagtccacct	gtcactggga	ggtgcacaac	gtgtccaccg	tgacatgcca	cgtgtccac	660
	ctgaccggca	acaagagcct	gtacatcgag	ctg			693
	<210> 12						
	<211> 945						
35	<212> ДНК						
	<213> Искусственная последовательность						
	<220>						
	<223> конструкция huCD200R-9aas-CD28Cys tm-41BBic						
	<400> 12						
40	atgctgtgcc	cttgagagaac	cgccaacctg	ggcctgctgc	tgatcctgac	catcttcctg	60
	gtggccgcca	gcagcagcct	gtgcatggac	gagaagcaga	tcaccagaa	ctacagcaag	120
	gtgctggccg	aagtgaacac	cagctggccc	gtgaagatgg	ccaccaacgc	cgtgctgtgc	180
	tgccctccta	tcgccctgcg	gaacctgatc	atcatcacct	gggagatcat	cctgcggggc	240
	cagcccagct	gtaccaaggc	ctaccgga	gagacaaacg	agacaaaaga	aacaaactgc	300
45	accgacgagc	ggatcacatg	ggtgtccaga	cccgaccaga	acagcgacct	gcagatcaga	360
	cccggtggcca	tcacccacga	cggctactac	cgggtgcatca	tggtcacccc	cgatggcaac	420
	ttccaccggg	gataccatct	gcagggtgctc	gtgacccccg	aagtgaccct	gttccagaac	480
	cggaacagaa	ccgccgtgtg	caaggccgtg	gccggaaaac	ctgccgcca	gatctcttgg	540

	atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg	600
	aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtcccac	660
	ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgtgcctg tgtgtcccag ccctctgttt	720
	cccgcccta gcaagccttt ctgggtgctg gtgggtgctg gaggcgtgct ggctgtctac	780
5	agcctgctgg tcaccgtggc cttcatcatc ttttgggtca agcggggcag aaagaagctg	840
	ctgtacatct tcaagcagcc tttcatgcg cccgtgcaga ccaccagga agaggacggc	900
	tgctcctgca gattccccga ggaagaaga ggcggtgctg agctg	945
	<210> 13	
	<211> 126	
10	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> внутриклеточный компонент 4-1BB	
	<400> 13	
15	aagcggggca gaaagaagct gctgtacatc ttcaagcagc ctttcatgcg gcccggtgcag	60
	accaccsagg aagaggacgg ctgctcctgc agattccccg aggaagaaga aggcggctgc	120
	gagctg	126
	<210> 14	
	<211> 936	
20	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> конструкция huCD200R-12aas-CD28Cys tm-41BBic	
	<400> 14	
25	atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggctgtgtgc tgatcctgac catcttctctg	60
	gtggccggca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga taccagaa ctacagcaag	120
	gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc	180
	tgccctccta tcgccctgcg gaacctgatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc	240
	cagcccagct gtaccaaggc ctaccgaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc	300
30	accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga	360
	cccgtggcca tcaccacga cggctactac cgggtgcatca tggtcacccc cgatggcaac	420
	ttccaccggg gataccatct gcaggtgctc gtgacccccg aagtgacct gttccagaac	480
	cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaanaac ctgccgcca gatctcttgg	540
	atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg	600
35	aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtcccac	660
	ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgtgtccca gccctctgtt tcccggccct	720
	agcaagcctt tctgggtgct ggtggtggtc ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg	780
	gtcaccgtgg cttcatcatc cttttgggtc aagcggggca gaaagaagct gctgtacatc	840
	ttcaagcagc ctttcatgcg gcccggtgcag accaccagga aagaggacgg ctgctcctgc	900
40	agattccccg aggaagaaga aggcggctgc gagctg	936
	<210> 15	
	<211> 1059	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
45	<220>	
	<223> конструкция huCD200R-12aas-CD28Cys tm ic-41BBic	
	<400> 15	
	atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggctgtgtgc tgatcctgac catcttctctg	60

	gtggccgcca	gcagcagcct	gtgcatggac	gagaagcaga	tcacccagaa	ctacagcaag	120
	gtgctggccg	aagtgaacac	cagctggccc	gtgaagatgg	ccaccaacgc	cgtgctgtgc	180
	tgccctccta	tgcacctgcg	gaacctgatc	atcatcacct	gggagatcat	cctgcggggc	240
	cagcccagct	gtaccaaggc	ctaccggaaa	gagacaaaacg	agacaaaaga	aacaaactgc	300
5	accgacgagc	ggtatcacatg	ggtgtccaga	cccgaccaga	acagcgacct	gcagatcaga	360
	cccgtggcca	tcacccacga	cggctactac	cgggtgcatca	tggtcacccc	cgatggcaac	420
	ttccaccggg	gataccatct	gcagggtgctc	gtgacccccg	aagtgaccct	gttccagaac	480
	cggaaacagaa	ccgccgtgtg	caaggccgtg	gccggaaaac	ctgccgccc	gatctcttgg	540
	atccccgagg	gcgattgcgc	caccaagcag	gaatactggt	ccaacggcac	cgtgaccgtg	600
10	aagtccacct	gtcactggga	ggtgcacaac	gtgtccaccg	tgacatgcca	cgtgtcccac	660
	ctgaccggca	acaagagcct	gtacatcgag	ctgtgtccca	gccctctgtt	ttccggccct	720
	agcaagcctt	tctgggtgct	ggtgggtggtc	ggaggcgtgc	tggcctgcta	cagcctgctg	780
	gtcaccgtgg	ccttcatcat	cttttgggtc	cgagcaagc	ggagcagagg	cggccacagc	840
	gactacatga	acatgacccc	tagacggcct	ggccccacca	gaaagcacta	ccagccctac	900
15	gccccctccc	gggactttgc	cgcctacaga	agcaagcggg	gcagaaaagaa	gctgctgtac	960
	atcttcaagc	agcctttcat	gcggcccgtg	cagaccaccc	aggaagagga	cggctgtctc	1020
	tgcagattcc	ccgaggaaga	agaaggcggc	tgcgagctg			1059
	<210> 16						
	<211> 1305						
20	<212> ДНК						
	<213> Искусственная последовательность						
	<220>						
	<223> конструкция huSIRP альфа tm-CD28						
	<400> 16						
25	atggaacctg	ccggacctgc	tcttggcaga	ctgggacctc	tgctgtgtct	gctgctggcc	60
	gcctcttgtg	cttggagcgg	agtggctggc	gaagaggaac	tgcaagtgat	ccagcccagc	120
	aagagcgtgc	tgggtggccg	tggcgaaacc	gccaccctga	gatgtacagc	caccagcctg	180
	atccccgtgg	gccccatcca	gtggtttaga	ggcgtggcc	ctggcagaga	gctgatctac	240
	aaccagaaag	agggccactt	ccccagagtg	accaccgtgt	ccgacctgac	caagcggaac	300
30	aacatggact	tcagcatccg	gatcggcaac	atcacccctg	ccgatgccgg	cacctactac	360
	tgcgtgaagt	tccggaaggg	cagccccgac	gacgtggaat	tcaaaagcgg	agccggcacc	420
	gagctgagcg	tgcgggctaa	accttctgcc	cctgtgggtg	ctggacctgc	cgccagagct	480
	acacctcagc	acaccgtgtc	ttttacctgc	gagagccacg	gcttcagccc	cagagacatc	540
	accctgaagt	ggttcaagaa	cggcaacgag	ctgtccgact	tccagaccaa	cgtggaccct	600
35	gtgggcgaga	gcgtgtccta	cagcatccac	agcaccgcca	aggtggtgct	gacccgcgaa	660
	gatgtgcaca	gccaagtgat	ctgcgaggtg	gcccacgtga	cactgcaggg	cgatcctctg	720
	agaggaaccg	ccaacctgtc	cgagacaatc	agagtgcacc	ccaccctgga	agtgaccag	780
	cagcctgtgc	gggcccagaa	ccaagtgaac	gtgacctgcc	aagtgcggaa	gttctacccc	840
	cagcggctgc	agctgacctg	gctggaaaac	ggcaatgtgt	cccggaccga	gacagccagc	900
40	accgtgaccg	agaacaagga	tggcacctac	aattggatga	gctggctgct	cgtgaacgtg	960
	tccgcccacc	gggacgatgt	gaagctgaca	tgccaggtgg	aacacgacgg	ccagcctgcc	1020
	gtgtccaaga	gccacgatct	gaagggtgtc	gcccattcca	aagagcaggg	ctccaacaca	1080
	gccgcccaga	acaccggcag	caacgagcgg	aacatctaca	tcgtcgtggg	cgtcgtgtgc	1140
	accctgctgg	tggcactgct	gatggccgct	ctgtacctcg	tgcgagcaa	gcggagcaga	1200
45	ggcggccaca	gcgactacat	gaacatgacc	cctagacggc	ctggcccccac	cagaaagcac	1260
	taccagccct	acgcccctcc	ccgggacttt	gccgcctaca	gaagc		1305
	<210> 17						
	<211> 1119						

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> целый внеклеточный домен huSIRP-альфа

5 <400> 17

atggaacctg	ccggacctgc	tcctggcaga	ctgggacctc	tgctgtgtct	gctgctggcc	60
gcctcttggtg	cttggagcgg	agtggctggc	gaagaggaac	tgcaagtgat	ccagcccgcac	120
aagagcgtgc	tgggtggccgc	tggcgaaacc	gccaccctga	gatgtacagc	caccagcctg	180
atccccgtgg	gccccatcca	gtggttttaga	ggcgctggcc	ctggcagaga	gctgatctac	240
10 aaccagaaag	agggccactt	ccccagagtg	accaccgtgt	ccgacctgac	caagcggaac	300
aacatggact	tcagcatccg	gatcggcaac	atcacccctg	ccgatgccgg	cacctactac	360
tgctggaagt	tccggaaggg	cagccccgac	gacgtggaat	tcaaaagcgg	agccggcacc	420
gagctgagcg	tgcggggctaa	accttctgcc	cctgtgggtgt	ctggacctgc	cgccagagct	480
acacctcagc	acaccgtgtc	ttttacctgc	gagagccacg	gcttcagccc	cagagacatc	540
15 accctgaagt	ggttcaagaa	cggcaacgag	ctgtccgact	tccagaccaa	cgtggaccct	600
gtgggcgaga	gcgtgtccta	cagcatccac	agcaccgcca	aggtgggtgt	gacccgcgaa	660
gatgtgcaca	gccaagtgat	ctgcgaggtg	gccacagtga	cactgcaggg	cgatcctctg	720
agaggaaccg	ccaacctgtc	cgagacaatc	agagtgtccc	ccaccctgga	agtgaccag	780
cagcctgtgc	gggcccagaa	ccaagtgaac	gtgacctgcc	aagtgcggaa	gttctacccc	840
20 cagcggctgc	agctgacctg	gctggaaaac	ggcaatgtgt	cccggaccga	gacagccagc	900
accgtgaccg	agaacaagga	tggcacctac	aattggatga	gctggctgct	cgtgaacgtg	960
tccgcccacc	gggacgatgt	gaagctgaca	tgccagggtg	aacacgacgg	ccagcctgcc	1020
gtgtccaaga	gccacgatct	gaaggtgtca	gcccattcca	aagagcaggg	ctccaacaca	1080
gccgcccaga	acaccggcag	caacgagcgg	aacatctac			1119

25 <210> 18

<211> 63

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

30 <223> трансмембранный домен huSIRP-альфа

<400> 18

atcgctcgtgg	gcgtcgtgtg	caccctgctg	gtggcactgc	tgatggccgc	tctgtacctc	60
gtg						63

<210> 19

35 <211> 1323

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> конструкция huSIRP альфа-CD28tm

40 <400> 19

atggaacctg	ccggacctgc	tcctggcaga	ctgggacctc	tgctgtgtct	gctgctggcc	60
gcctcttggtg	cttggagcgg	agtggctggc	gaagaggaac	tgcaagtgat	ccagcccgcac	120
aagagcgtgc	tgggtggccgc	tggcgaaacc	gccaccctga	gatgtacagc	caccagcctg	180
atccccgtgg	gccccatcca	gtggttttaga	ggcgctggcc	ctggcagaga	gctgatctac	240
45 aaccagaaag	agggccactt	ccccagagtg	accaccgtgt	ccgacctgac	caagcggaac	300
aacatggact	tcagcatccg	gatcggcaac	atcacccctg	ccgatgccgg	cacctactac	360
tgctggaagt	tccggaaggg	cagccccgac	gacgtggaat	tcaaaagcgg	agccggcacc	420
gagctgagcg	tgcggggctaa	accttctgcc	cctgtgggtgt	ctggacctgc	cgccagagct	480

	acacctcagc	acaccgtgtc	ttttacctgc	gagagccacg	gcttcagccc	cagagacatc	540
	accctgaagt	ggttcaagaa	cggcaacgag	ctgtccgact	tccagaccaa	cgtggaccct	600
	gtgggcgaga	gcgtgtccta	cagcatccac	agcaccgcca	aggtggtgct	gacccgcgaa	660
	gatgtgcaca	gccaagtgat	ctgcgagggtg	gcccacgtga	cactgcaggg	cgatcctctg	720
5	agaggaaccg	ccaacctgtc	cgagacaatc	agagtgtccc	ccaccctgga	agtgaccag	780
	cagcctgtgc	gggcccagaa	ccaagtgaac	gtgacctgcc	aagtgcgga	gttctacccc	840
	cagcggctgc	agctgacctg	gctggaaaac	ggcaatgtgt	cccggaccga	gacagccagc	900
	accgtgaccg	agaacaagga	tggcacctac	aattggatga	gctggctgct	cgtgaacgtg	960
	tccgcccacc	gggacgatgt	gaagctgaca	tgccagggtg	aacacgacgg	ccagcctgcc	1020
10	gtgtccaaga	gccacgatct	gaagggtgtca	gcccattccc	aagagcaggg	ctccaacaca	1080
	gccgcccaga	acaccggcag	caacgagcgg	aacatctact	tctgggtgct	ggtggtggtc	1140
	ggaggcgtgc	tggcctgcta	cagcctgctg	gtcaccgtgg	ccttcatcat	cttttgggtc	1200
	cgcagcaagc	ggagcagagg	cggccacagc	gactacatga	acatgacccc	tagacggcct	1260
	ggccccacca	gaaagcacta	ccagccctac	gcccctcccc	gggactttgc	cgcctacaga	1320
15	agc						1323
	<210>	20					
	<211>	1323					
	<212>	ДНК					
	<213>	Искусственная последовательность					
20	<220>						
	<223>	конструкция huSIRP альфа 12aas-CD28Cys					
	<400>	20					
	atggaacctg	ccggacctgc	tcctggcaga	ctgggacctc	tgctgtgtct	gctgctggcc	60
	gcctcttgtg	cttgagagcg	agtggctggc	gaagaggaac	tgcaagtgat	ccagcccgcac	120
25	aagagcgtgc	tgggtggccg	tggcgaaacc	gccaccctga	gatgtacagc	caccagcctg	180
	atccccgtgg	gccccatcca	gtggtttaga	ggcgtggcc	ctggcagaga	gctgatctac	240
	aaccagaaag	agggccactt	cccagagtg	accaccgtgt	ccgacctgac	caagcggaac	300
	aacatggact	tcagcatccg	gatcggcaac	atcacccctg	ccgatgccgg	cacctactac	360
	tgcgtgaagt	tccggaaggg	cagccccgac	gacgtggaat	tcaaaagcgg	agccggcacc	420
30	gagctgagcg	tgcgggctaa	accttctgcc	cctgtgggtg	ctggacctgc	cgccagagct	480
	acacctcagc	acaccgtgtc	ttttacctgc	gagagccacg	gcttcagccc	cagagacatc	540
	accctgaagt	ggttcaagaa	cggcaacgag	ctgtccgact	tccagaccaa	cgtggaccct	600
	gtgggcgaga	gcgtgtccta	cagcatccac	agcaccgcca	aggtggtgct	gacccgcgaa	660
	gatgtgcaca	gccaagtgat	ctgcgagggtg	gcccacgtga	cactgcaggg	cgatcctctg	720
35	agaggaaccg	ccaacctgtc	cgagacaatc	agagtgtccc	ccaccctgga	agtgaccag	780
	cagcctgtgc	gggcccagaa	ccaagtgaac	gtgacctgcc	aagtgcgga	gttctacccc	840
	cagcggctgc	agctgacctg	gctggaaaac	ggcaatgtgt	cccggaccga	gacagccagc	900
	accgtgaccg	agaacaagga	tggcacctac	aattggatga	gctggctgct	cgtgaacgtg	960
	tccgcccacc	gggacgatgt	gaagctgaca	tgccagggtg	aacacgacgg	ccagcctgcc	1020
40	gtgtccaaga	gccacgatct	gaagggtgtca	gcccattccc	aagagcaggg	ctccaacaca	1080
	gcctgtccca	gccctctgtt	tcccggccct	agcaagcctt	tctgggtgct	ggtggtggtc	1140
	ggaggcgtgc	tggcctgcta	cagcctgctg	gtcaccgtgg	ccttcatcat	cttttgggtc	1200
	cgcagcaagc	ggagcagagg	cggccacagc	gactacatga	acatgacccc	tagacggcct	1260
	ggccccacca	gaaagcacta	ccagccctac	gcccctcccc	gggactttgc	cgcctacaga	1320
45	agc						1323
	<210>	21					
	<211>	1083					
	<212>	ДНК					

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> часть внеклеточного домена huSIRP альфа 12aas

<400> 21

5	atggaacctg ccggacctgc tcctggcaga ctgggacctc tgctgtgtct gctgctggcc	60
	gcctcttggtg cttggagcgg agtggctggc gaagaggaac tgcaagtgat ccagcccgcac	120
	aagagcgtgc tgggtggccgc tggcgaaacc gccaccctga gatgtacagc caccagcctg	180
	atccccgtgg gccccatcca gtggtttaga ggcgctggcc ctggcagaga gctgatctac	240
	aaccagaaag agggccactt cccagagtgc accaccgtgt ccgacctgac caagcggaac	300
10	aacatggact tcagcatccg gatcggcaac atcacccctg ccgatgccgg cacctactac	360
	tgcgtgaagt tccggaaggg cagccccgac gacgtggaat tcaaaagcgg agccggcacc	420
	gagctgagcg tgcgggctaa accttctgcc cctgtggtgt ctggacctgc cgccagagct	480
	acacctcagc acaccgtgtc ttttacctgc gagagccacg gcttcagccc cagagacatc	540
	accctgaagt ggttcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggaccct	600
15	gtgggcgaga gcgtgtccta cagcatccac agcaccgcca aggtggtgct gaccgcgaa	660
	gatgtgcaca gccaagtgat ctgcgagggtg gccacgtga cactgcaggg cgatcctctg	720
	agaggaaccg ccaacctgtc cgagacaatc agagtgcccc ccaccctgga agtgaccag	780
	cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacctgcc aagtgcgga gttctacccc	840
	cagcggctgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc	900
20	accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtgaacgtg	960
	tccgcccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccagggtg aacacgacgg ccagcctgcc	1020
	gtgtccaaga gccacgatct gaaggtgtca gcccatccca aagagcaggg ctccaacaca	1080
	gcc	1083

<210> 22

25 <211> 1326

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> конструкция huSIRP альфа-12aas-CD28Cys tm-41BBic

30 <400> 22

	atggaacctg ccggacctgc tcctggcaga ctgggacctc tgctgtgtct gctgctggcc	60
	gcctcttggtg cttggagcgg agtggctggc gaagaggaac tgcaagtgat ccagcccgcac	120
	aagagcgtgc tgggtggccgc tggcgaaacc gccaccctga gatgtacagc caccagcctg	180
	atccccgtgg gccccatcca gtggtttaga ggcgctggcc ctggcagaga gctgatctac	240
35	aaccagaaag agggccactt cccagagtgc accaccgtgt ccgacctgac caagcggaac	300
	aacatggact tcagcatccg gatcggcaac atcacccctg ccgatgccgg cacctactac	360
	tgcgtgaagt tccggaaggg cagccccgac gacgtggaat tcaaaagcgg agccggcacc	420
	gagctgagcg tgcgggctaa accttctgcc cctgtggtgt ctggacctgc cgccagagct	480
	acacctcagc acaccgtgtc ttttacctgc gagagccacg gcttcagccc cagagacatc	540
40	accctgaagt ggttcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggaccct	600
	gtgggcgaga gcgtgtccta cagcatccac agcaccgcca aggtggtgct gaccgcgaa	660
	gatgtgcaca gccaagtgat ctgcgagggtg gccacgtga cactgcaggg cgatcctctg	720
	agaggaaccg ccaacctgtc cgagacaatc agagtgcccc ccaccctgga agtgaccag	780
	cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacctgcc aagtgcgga gttctacccc	840
45	cagcggctgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc	900
	accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtgaacgtg	960
	tccgcccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccagggtg aacacgacgg ccagcctgcc	1020
	gtgtccaaga gccacgatct gaaggtgtca gcccatccca aagagcaggg ctccaacaca	1080

	gcctgtccca gccctctgtt tcccggccct agcaagcctt tctgggtgct ggtggtggtc	1140
	ggagggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg gtcaccgtgg ccttcatcat cttttgggtc	1200
	aagcggggca gaaagaagct gctgtacatc ttcaagcagc ctttcatgcg gcccggtgcag	1260
	accacccagg aagaggacgg ctgctcctgc agattccccg aggaagaaga aggcggctgc	1320
5	gagctg	1326
	<210> 23	
	<211> 1449	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
10	<220>	
	<223> конструкция huSIRP альфа-12aas-CD28Cys tm ic-41BBic	
	<400> 23	
	atggaacctg ccggacctgc tcctggcaga ctgggacctc tgctgtgtct gctgctggcc	60
	gcctcttgtg cttggagcgg agtggctggc gaagaggaac tgcaagtgat ccagcccgac	120
15	aagagcgtgc tgggtggccgc tggcgaaacc gccaccctga gatgtacagc caccagcctg	180
	atccccgtgg gccccatcca gtggtttaga ggcgctggcc ctggcagaga gctgatctac	240
	aaccagaaag agggccactt cccagagtg accaccgtgt ccgacctgac caagcggaac	300
	aacatggact tcagcatccg gatcggcaac atcaccctg ccgatgccgg cacctactac	360
	tgctggaagt tccggaaggg cagccccgac gacgtggaat tcaaaagcgg agccggcacc	420
20	gagctgagcg tgcgggctaa accttctgcc cctgtggtgt ctggacctgc cgccagagct	480
	acacctcagc acaccgtgtc ttttacctgc gagagccacg gcttcagccc cagagacatc	540
	accctgaagt ggttcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggaccct	600
	gtgggcgaga gcgtgtccta cagcatccac agcaccgcca aggtggtgct gaccgcgaa	660
	gatgtgcaca gccaaagtgat ctgcgaggtg gccacagtga cactgcaggg cgatcctctg	720
25	agaggaaccg ccaacctgtc cgagacaatc agagtgcccc ccaccctgga agtgaccag	780
	cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacctgcc aagtgcgga gttctacccc	840
	cagcggctgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc	900
	accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtgaacgtg	960
	tccgcccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccaggtgg aacacgacgg ccagcctgcc	1020
30	gtgtccaaga gccacgatct gaaggtgtca gcccatccca aagagcaggg ctccaacaca	1080
	gcctgtccca gccctctgtt tcccggccct agcaagcctt tctgggtgct ggtggtggtc	1140
	ggagggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg gtcaccgtgg ccttcatcat cttttgggtc	1200
	cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc gactacatga acatgacccc tagacggcct	1260
	ggccccacca gaaagcacta ccagccctac gcccctcccc gggactttgc cgcctacaga	1320
35	agcaagcggg gcagaaagaa gctgctgtac atcttcaagc agcctttcat gcggcccgtg	1380
	cagaccaccc aggaagagga cggctgtctc tgcagattcc ccgaggaaga agaaggcggc	1440
	tgcgagctg	1449
	<210> 24	
	<211> 305	
40	<212> PRT	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> белок huCD200Rtm-CD28	
	<400> 24	
45	Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu	
	1 5 10 15	
	Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys	
	20 25 30	

RU 2755 227 C2

	Gln	Ile	Thr	Gln	Asn	Tyr	Ser	Lys	Val	Leu	Ala	Glu	Val	Asn	Thr	Ser
	35						40						45			
	Trp	Pro	Val	Lys	Met	Ala	Thr	Asn	Ala	Val	Leu	Cys	Cys	Pro	Pro	Ile
	50						55						60			
5	Ala	Leu	Arg	Asn	Leu	Ile	Ile	Thr	Trp	Glu	Ile	Ile	Leu	Arg	Gly	
	65			70						75			80			
	Gln	Pro	Ser	Cys	Thr	Lys	Ala	Tyr	Arg	Lys	Glu	Thr	Asn	Glu	Thr	Lys
				85						90			95			
	Glu	Thr	Asn	Cys	Thr	Asp	Glu	Arg	Ile	Thr	Trp	Val	Ser	Arg	Pro	Asp
10				100						105			110			
	Gln	Asn	Ser	Asp	Leu	Gln	Ile	Arg	Pro	Val	Ala	Ile	Thr	His	Asp	Gly
	115						120						125			
	Tyr	Tyr	Arg	Cys	Ile	Met	Val	Thr	Pro	Asp	Gly	Asn	Phe	His	Arg	Gly
	130						135						140			
15	Tyr	His	Leu	Gln	Val	Leu	Val	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Leu	Phe	Gln	Asn
	145			150						155			160			
	Arg	Asn	Arg	Thr	Ala	Val	Cys	Lys	Ala	Val	Ala	Gly	Lys	Pro	Ala	Ala
				165						170			175			
	Gln	Ile	Ser	Trp	Ile	Pro	Glu	Gly	Asp	Cys	Ala	Thr	Lys	Gln	Glu	Tyr
20				180						185			190			
	Trp	Ser	Asn	Gly	Thr	Val	Thr	Val	Lys	Ser	Thr	Cys	His	Trp	Glu	Val
	195						200						205			
	His	Asn	Val	Ser	Thr	Val	Thr	Cys	His	Val	Ser	His	Leu	Thr	Gly	Asn
	210						215						220			
25	Lys	Ser	Leu	Tyr	Ile	Glu	Leu	Leu	Pro	Val	Pro	Gly	Ala	Lys	Lys	Ser
	225			230						235			240			
	Ala	Lys	Leu	Tyr	Ile	Pro	Tyr	Ile	Ile	Leu	Thr	Ile	Ile	Ile	Leu	Thr
				245						250			255			
	Ile	Val	Gly	Phe	Ile	Trp	Leu	Leu	Arg	Ser	Lys	Arg	Ser	Arg	Gly	Gly
30				260						265			270			
	His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly	Pro	Thr	Arg
	275						280						285			
	Lys	His	Tyr	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro	Pro	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg
	290						295						300			
35	Ser															
	305															
	<210> 25															
	<211> 243															
	<212> PRT															
40	<213> Искусственная последовательность															
	<220>															
	<223> целый внеклеточный домен huCD200R															
	<400> 25															
	Met	Leu	Cys	Pro	Trp	Arg	Thr	Ala	Asn	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Ile	Leu
45	1			5						10			15			
	Thr	Ile	Phe	Leu	Val	Ala	Ala	Ser	Ser	Ser	Leu	Cys	Met	Asp	Glu	Lys
				20						25			30			
	Gln	Ile	Thr	Gln	Asn	Tyr	Ser	Lys	Val	Leu	Ala	Glu	Val	Asn	Thr	Ser

RU 2755 227 C2

	35		40		45	
	Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile					
	50		55		60	
	Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly					
5	65		70		75	80
	Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys					
		85		90		95
	Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp					
		100		105		110
10	Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly					
		115		120		125
	Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly					
		130		135		140
	Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn					
15	145		150		155	160
	Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala					
		165		170		175
	Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr					
		180		185		190
20	Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val					
		195		200		205
	His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn					
		210		215		220
	Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Pro Gly Ala Lys Lys Ser					
25	225		230		235	240
	Ala Lys Leu					
	<210> 26					
	<211> 21					
	<212> PRT					
30	<213> Искусственная последовательность					
	<220>					
	<223> трансмембранный домен huCD200R					
	<400> 26					
	Tyr Ile Pro Tyr Ile Ile Leu Thr Ile Ile Ile Leu Thr Ile Val Gly					
35	1		5		10	15
	Phe Ile Trp Leu Leu					
		20				
	<210> 27					
	<211> 27					
40	<212> PRT					
	<213> Искусственная последовательность					
	<220>					
	<223> CD28 трансмембранный домен белок					
	<400> 27					
45	Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu					
	1		5		10	15
	Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val					
		20		25		

<210> 28
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 5 <220>
 <223> CD28 внутриклеточный домен белок
 <400> 28
 Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr
 1 5 10 15
 10 Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro
 20 25 30
 Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
 35 40
 <210> 29
 15 <211> 311
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> белок huCD200R-CD28tm
 20 <400> 29
 Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu
 1 5 10 15
 Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys
 20 25 30
 25 Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser
 35 40 45
 Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile
 50 55 60
 Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly
 30 65 70 75 80
 Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys
 85 90 95
 Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp
 100 105 110
 35 Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly
 115 120 125
 Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly
 130 135 140
 Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn
 40 145 150 155 160
 Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala
 165 170 175
 Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr
 180 185 190
 45 Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val
 195 200 205
 His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn
 210 215 220

RU 2755 227 C2

Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Pro Gly Ala Lys Lys Ser
 225 230 235 240
 Ala Lys Leu Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys
 245 250 255
 5 Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser
 260 265 270
 Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
 275 280 285
 Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
 10 290 295 300
 Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
 305 310
 <210> 30
 <211> 314
 15 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> белок huCD200R-9aas-CD28Cys
 <400> 30
 20 Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu
 1 5 10 15
 Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys
 20 25 30
 Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser
 25 35 40 45
 Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile
 50 55 60
 Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly
 65 70 75 80
 30 Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys
 85 90 95
 Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp
 100 105 110
 Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly
 35 115 120 125
 Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly
 130 135 140
 Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn
 145 150 155 160
 40 Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala
 165 170 175
 Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr
 180 185 190
 Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val
 45 195 200 205
 His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn
 210 215 220
 Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Cys Pro Ser Pro Leu Phe

RU 2755 227 C2

	225					230						235				240
	Pro	Gly	Pro	Ser	Lys	Pro	Phe	Trp	Val	Leu	Val	Val	Val	Gly	Gly	Val
					245					250					255	
	Leu	Ala	Cys	Tyr	Ser	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Ala	Phe	Ile	Ile	Phe	Trp
5				260					265					270		
	Val	Arg	Ser	Lys	Arg	Ser	Arg	Gly	Gly	His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met
				275				280					285			
	Thr	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly	Pro	Thr	Arg	Lys	His	Tyr	Gln	Pro	Tyr	Ala
				290				295					300			
10	Pro	Pro	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	Ser						
	305					310										
	<210>	31														
	<211>	234														
	<212>	PRT														
15	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
	<223>	белок huCD200R-9aas														
	<400>	31														
	Met	Leu	Cys	Pro	Trp	Arg	Thr	Ala	Asn	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Ile	Leu
20	1				5					10					15	
	Thr	Ile	Phe	Leu	Val	Ala	Ala	Ser	Ser	Ser	Leu	Cys	Met	Asp	Glu	Lys
				20					25					30		
	Gln	Ile	Thr	Gln	Asn	Tyr	Ser	Lys	Val	Leu	Ala	Glu	Val	Asn	Thr	Ser
				35				40					45			
25	Trp	Pro	Val	Lys	Met	Ala	Thr	Asn	Ala	Val	Leu	Cys	Cys	Pro	Pro	Ile
				50				55					60			
	Ala	Leu	Arg	Asn	Leu	Ile	Ile	Ile	Thr	Trp	Glu	Ile	Ile	Leu	Arg	Gly
	65					70					75				80	
	Gln	Pro	Ser	Cys	Thr	Lys	Ala	Tyr	Arg	Lys	Glu	Thr	Asn	Glu	Thr	Lys
30					85					90					95	
	Glu	Thr	Asn	Cys	Thr	Asp	Glu	Arg	Ile	Thr	Trp	Val	Ser	Arg	Pro	Asp
				100					105					110		
	Gln	Asn	Ser	Asp	Leu	Gln	Ile	Arg	Pro	Val	Ala	Ile	Thr	His	Asp	Gly
				115				120						125		
35	Tyr	Tyr	Arg	Cys	Ile	Met	Val	Thr	Pro	Asp	Gly	Asn	Phe	His	Arg	Gly
							135					140				
	Tyr	His	Leu	Gln	Val	Leu	Val	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Leu	Phe	Gln	Asn
	145					150					155				160	
	Arg	Asn	Arg	Thr	Ala	Val	Cys	Lys	Ala	Val	Ala	Gly	Lys	Pro	Ala	Ala
40					165					170					175	
	Gln	Ile	Ser	Trp	Ile	Pro	Glu	Gly	Asp	Cys	Ala	Thr	Lys	Gln	Glu	Tyr
				180					185					190		
	Trp	Ser	Asn	Gly	Thr	Val	Thr	Val	Lys	Ser	Thr	Cys	His	Trp	Glu	Val
				195					200					205		
45	His	Asn	Val	Ser	Thr	Val	Thr	Cys	His	Val	Ser	His	Leu	Thr	Gly	Asn
				210				215					220			
	Lys	Ser	Leu	Tyr	Ile	Glu	Leu	Leu	Pro	Val						
	225					230										

<210> 32
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 5 <220>
 <223> белок (внеклеточная часть) CD28Cys
 <400> 32
 Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro
 1 5 10
 10 <210> 33
 <211> 311
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 15 <223> белок huCD200R-12aas-CD28Cys
 <400> 33
 Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu
 1 5 10 15
 Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys
 20 20 25 30
 Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser
 35 40 45
 Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile
 50 55 60
 25 Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly
 65 70 75 80
 Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys
 85 90 95
 Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp
 30 100 105 110
 Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly
 115 120 125
 Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly
 130 135 140
 35 Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn
 145 150 155 160
 Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala
 165 170 175
 Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr
 40 180 185 190
 Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val
 195 200 205
 His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn
 210 215 220
 45 Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro
 225 230 235 240
 Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys
 245 250 255

Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser
 260 265 270
 Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
 275 280 285
 5 Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
 290 295 300
 Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
 305 310
 <210> 34
 10 <211> 231
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> белок huCD200R-12aas
 15 <400> 34
 Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu
 1 5 10 15
 Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys
 20 20 25 30
 Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser
 35 40 45
 Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile
 50 55 60
 Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly
 25 65 70 75 80
 Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys
 85 90 95
 Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp
 100 105 110
 30 Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly
 115 120 125
 Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly
 130 135 140
 Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn
 35 145 150 155 160
 Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala
 165 170 175
 Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr
 180 185 190
 40 Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val
 195 200 205
 His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn
 210 215 220
 Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu
 45 225 230
 <210> 35
 <211> 315
 <212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> белок huCD200R-9aas-CD28Cys tm-41BBic

<400> 35

```

5 Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu
  1           5           10           15
  Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys
    20           25           30
10 Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser
    35           40           45
  Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile
    50           55           60
  Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly
  65           70           75           80
15 Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys
    85           90           95
  Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp
    100          105          110
  Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly
20           115          120          125
  Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly
    130          135          140
  Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn
  145          150          155          160
25 Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala
    165          170          175
  Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr
    180          185          190
  Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val
30           195          200          205
  His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn
    210          215          220
  Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Cys Pro Ser Pro Leu Phe
  225          230          235          240
35 Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val
    245          250          255
  Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp
    260          265          270
  Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe
40           275          280          285
  Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg
    290          295          300
  Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
  305          310          315
45 <210> 36
    <211> 42
    <212> PRT
    <213> Искусственная последовательность

```

<220>

<223> белок 4-1BB внутриклеточный компонент

<400> 36

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

10 <210> 37

<211> 312

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

15 <223> белок huCD200R-12aas-CD28Cys tm-41BBic

<400> 37

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu
1 5 10 15
Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys
20 25 30
Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser
35 40 45
Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile
50 55 60
25 Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly
65 70 75 80
Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys
85 90 95
Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp
30 100 105 110
Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly
115 120 125
Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly
130 135 140
35 Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn
145 150 155 160
Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala
165 170 175
Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr
40 180 185 190
Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val
195 200 205
His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn
210 215 220
45 Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro
225 230 235 240
Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys
245 250 255

Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Lys Arg
 260 265 270
 Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro
 275 280 285
 5 Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu
 290 295 300
 Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
 305 310
 <210> 38
 10 <211> 353
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> белок huCD200R-12aas-CD28Cys tm ic-41BBic
 15 <400> 38
 Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu
 1 5 10 15
 Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys
 20 20 25 30
 Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser
 35 40 45
 Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile
 50 55 60
 Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly
 25 65 70 75 80
 Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys
 85 90 95
 Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp
 100 105 110
 30 Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly
 115 120 125
 Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly
 130 135 140
 Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn
 35 145 150 155 160
 Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala
 165 170 175
 Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr
 180 185 190
 40 Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val
 195 200 205
 His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn
 210 215 220
 Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro
 45 225 230 235 240
 Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys
 245 250 255
 Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser

RU 2755227 C2

		260		265		270											
		Lys	Arg	Ser	Arg	Gly	Gly	His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg
		275							280				285				
		Arg	Pro	Gly	Pro	Thr	Arg	Lys	His	Tyr	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro	Pro	Arg
5		290						295					300				
		Asp	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	Ser	Lys	Arg	Gly	Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr
		305					310				315					320	
		Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg	Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu
					325						330					335	
10		Asp	Gly	Cys	Ser	Cys	Arg	Phe	Pro	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	Glu
				340						345					350		
		Leu															
		<210>	39														
		<211>	435														
15		<212>	PRT														
		<213>	Искусственная последовательность														
		<220>															
		<223>	Белок huSIRP альфа tm-CD28														
		<400>	39														
20		Met	Glu	Pro	Ala	Gly	Pro	Ala	Pro	Gly	Arg	Leu	Gly	Pro	Leu	Leu	Cys
		1				5				10					15		
		Leu	Leu	Leu	Ala	Ala	Ser	Cys	Ala	Trp	Ser	Gly	Val	Ala	Gly	Glu	Glu
				20						25					30		
		Glu	Leu	Gln	Val	Ile	Gln	Pro	Asp	Lys	Ser	Val	Leu	Val	Ala	Ala	Gly
25				35					40						45		
		Glu	Thr	Ala	Thr	Leu	Arg	Cys	Thr	Ala	Thr	Ser	Leu	Ile	Pro	Val	Gly
			50					55					60				
		Pro	Ile	Gln	Trp	Phe	Arg	Gly	Ala	Gly	Pro	Gly	Arg	Glu	Leu	Ile	Tyr
		65				70					75					80	
30		Asn	Gln	Lys	Glu	Gly	His	Phe	Pro	Arg	Val	Thr	Thr	Val	Ser	Asp	Leu
					85						90				95		
		Thr	Lys	Arg	Asn	Asn	Met	Asp	Phe	Ser	Ile	Arg	Ile	Gly	Asn	Ile	Thr
				100						105					110		
		Pro	Ala	Asp	Ala	Gly	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Val	Lys	Phe	Arg	Lys	Gly	Ser
35				115						120					125		
		Pro	Asp	Asp	Val	Glu	Phe	Lys	Ser	Gly	Ala	Gly	Thr	Glu	Leu	Ser	Val
			130					135					140				
		Arg	Ala	Lys	Pro	Ser	Ala	Pro	Val	Val	Ser	Gly	Pro	Ala	Ala	Arg	Ala
		145				150					155					160	
40		Thr	Pro	Gln	His	Thr	Val	Ser	Phe	Thr	Cys	Glu	Ser	His	Gly	Phe	Ser
					165						170					175	
		Pro	Arg	Asp	Ile	Thr	Leu	Lys	Trp	Phe	Lys	Asn	Gly	Asn	Glu	Leu	Ser
				180						185				190			
		Asp	Phe	Gln	Thr	Asn	Val	Asp	Pro	Val	Gly	Glu	Ser	Val	Ser	Tyr	Ser
45				195					200					205			
		Ile	His	Ser	Thr	Ala	Lys	Val	Val	Leu	Thr	Arg	Glu	Asp	Val	His	Ser
			210					215					220				
		Gln	Val	Ile	Cys	Glu	Val	Ala	His	Val	Thr	Leu	Gln	Gly	Asp	Pro	Leu

RU 2755 227 C2

	225		230		235		240									
	Arg	Gly	Thr	Ala	Asn	Leu	Ser	Glu	Thr	Ile	Arg	Val	Pro	Pro	Thr	Leu
					245					250					255	
	Glu	Val	Thr	Gln	Gln	Pro	Val	Arg	Ala	Glu	Asn	Gln	Val	Asn	Val	Thr
5					260					265					270	
	Cys	Gln	Val	Arg	Lys	Phe	Tyr	Pro	Gln	Arg	Leu	Gln	Leu	Thr	Trp	Leu
					275					280					285	
	Glu	Asn	Gly	Asn	Val	Ser	Arg	Thr	Glu	Thr	Ala	Ser	Thr	Val	Thr	Glu
					290					295					300	
10	Asn	Lys	Asp	Gly	Thr	Tyr	Asn	Trp	Met	Ser	Trp	Leu	Leu	Val	Asn	Val
	305															320
	Ser	Ala	His	Arg	Asp	Asp	Val	Lys	Leu	Thr	Cys	Gln	Val	Glu	His	Asp
					325						330					335
	Gly	Gln	Pro	Ala	Val	Ser	Lys	Ser	His	Asp	Leu	Lys	Val	Ser	Ala	His
15					340						345					350
	Pro	Lys	Glu	Gln	Gly	Ser	Asn	Thr	Ala	Ala	Glu	Asn	Thr	Gly	Ser	Asn
					355						360					365
	Glu	Arg	Asn	Ile	Tyr	Ile	Val	Val	Gly	Val	Val	Cys	Thr	Leu	Leu	Val
					370						375					380
20	Ala	Leu	Leu	Met	Ala	Ala	Leu	Tyr	Leu	Val	Arg	Ser	Lys	Arg	Ser	Arg
	385										395					400
	Gly	Gly	His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly	Pro
					405						410					415
	Thr	Arg	Lys	His	Tyr	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro	Pro	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala
25					420					425						430
	Tyr	Arg	Ser													
					435											
	<210>	40														
	<211>	373														
30	<212>	PRT														
	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
	<223>	белок huSIRP-альфа целый внеклеточный домен														
	<400>	40														
35	Met	Glu	Pro	Ala	Gly	Pro	Ala	Pro	Gly	Arg	Leu	Gly	Pro	Leu	Leu	Cys
	1					5					10				15	
	Leu	Leu	Leu	Ala	Ala	Ser	Cys	Ala	Trp	Ser	Gly	Val	Ala	Gly	Glu	Glu
					20					25				30		
	Glu	Leu	Gln	Val	Ile	Gln	Pro	Asp	Lys	Ser	Val	Leu	Val	Ala	Ala	Gly
40					35				40					45		
	Glu	Thr	Ala	Thr	Leu	Arg	Cys	Thr	Ala	Thr	Ser	Leu	Ile	Pro	Val	Gly
					50				55					60		
	Pro	Ile	Gln	Trp	Phe	Arg	Gly	Ala	Gly	Pro	Gly	Arg	Glu	Leu	Ile	Tyr
	65					70					75					80
45	Asn	Gln	Lys	Glu	Gly	His	Phe	Pro	Arg	Val	Thr	Thr	Val	Ser	Asp	Leu
					85					90					95	
	Thr	Lys	Arg	Asn	Asn	Met	Asp	Phe	Ser	Ile	Arg	Ile	Gly	Asn	Ile	Thr
					100					105					110	

RU 2755 227 C2

Pro Ala Asp Ala Gly Thr Tyr Tyr Cys Val Lys Phe Arg Lys Gly Ser
115 120 125

Pro Asp Asp Val Glu Phe Lys Ser Gly Ala Gly Thr Glu Leu Ser Val
130 135 140

5 Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg Ala
145 150 155 160

Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser
165 170 175

Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Ser
10 180 185 190

Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser Tyr Ser
195 200 205

Ile His Ser Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val His Ser
210 215 220

15 Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp Pro Leu
225 230 235 240

Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro Thr Leu
245 250 255

Glu Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn Val Thr
20 260 265 270

Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr Trp Leu
275 280 285

Glu Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val Thr Glu
290 295 300

25 Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val Asn Val
305 310 315 320

Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu His Asp
325 330 335

Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser Ala His
30 340 345 350

Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala Ala Glu Asn Thr Gly Ser Asn
355 360 365

Glu Arg Asn Ile Tyr
370

35 <210> 41
<211> 21
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>

40 <223> белок huSIRP-альфа трансмембранный домен
<400> 41

Ile Val Val Gly Val Val Cys Thr Leu Leu Val Ala Leu Leu Met Ala
1 5 10 15

Ala Leu Tyr Leu Val
45 20

<210> 42
<211> 441
<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> белок huSIRP альфа-CD28tm

<400> 42

5	Met	Glu	Pro	Ala	Gly	Pro	Ala	Pro	Gly	Arg	Leu	Gly	Pro	Leu	Leu	Cys
	1				5					10					15	
	Leu	Leu	Leu	Ala	Ala	Ser	Cys	Ala	Trp	Ser	Gly	Val	Ala	Gly	Glu	Glu
				20					25					30		
	Glu	Leu	Gln	Val	Ile	Gln	Pro	Asp	Lys	Ser	Val	Leu	Val	Ala	Ala	Gly
10			35					40					45			
	Glu	Thr	Ala	Thr	Leu	Arg	Cys	Thr	Ala	Thr	Ser	Leu	Ile	Pro	Val	Gly
		50					55					60				
	Pro	Ile	Gln	Trp	Phe	Arg	Gly	Ala	Gly	Pro	Gly	Arg	Glu	Leu	Ile	Tyr
	65					70					75				80	
15	Asn	Gln	Lys	Glu	Gly	His	Phe	Pro	Arg	Val	Thr	Thr	Val	Ser	Asp	Leu
				85						90					95	
	Thr	Lys	Arg	Asn	Asn	Met	Asp	Phe	Ser	Ile	Arg	Ile	Gly	Asn	Ile	Thr
				100					105					110		
	Pro	Ala	Asp	Ala	Gly	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Val	Lys	Phe	Arg	Lys	Gly	Ser
20			115					120					125			
	Pro	Asp	Asp	Val	Glu	Phe	Lys	Ser	Gly	Ala	Gly	Thr	Glu	Leu	Ser	Val
		130					135					140				
	Arg	Ala	Lys	Pro	Ser	Ala	Pro	Val	Val	Ser	Gly	Pro	Ala	Ala	Arg	Ala
	145					150					155				160	
25	Thr	Pro	Gln	His	Thr	Val	Ser	Phe	Thr	Cys	Glu	Ser	His	Gly	Phe	Ser
				165						170					175	
	Pro	Arg	Asp	Ile	Thr	Leu	Lys	Trp	Phe	Lys	Asn	Gly	Asn	Glu	Leu	Ser
			180						185					190		
	Asp	Phe	Gln	Thr	Asn	Val	Asp	Pro	Val	Gly	Glu	Ser	Val	Ser	Tyr	Ser
30			195					200					205			
	Ile	His	Ser	Thr	Ala	Lys	Val	Val	Leu	Thr	Arg	Glu	Asp	Val	His	Ser
		210					215					220				
	Gln	Val	Ile	Cys	Glu	Val	Ala	His	Val	Thr	Leu	Gln	Gly	Asp	Pro	Leu
	225					230					235				240	
35	Arg	Gly	Thr	Ala	Asn	Leu	Ser	Glu	Thr	Ile	Arg	Val	Pro	Pro	Thr	Leu
				245						250					255	
	Glu	Val	Thr	Gln	Gln	Pro	Val	Arg	Ala	Glu	Asn	Gln	Val	Asn	Val	Thr
			260					265					270			
	Cys	Gln	Val	Arg	Lys	Phe	Tyr	Pro	Gln	Arg	Leu	Gln	Leu	Thr	Trp	Leu
40			275					280					285			
	Glu	Asn	Gly	Asn	Val	Ser	Arg	Thr	Glu	Thr	Ala	Ser	Thr	Val	Thr	Glu
		290					295					300				
	Asn	Lys	Asp	Gly	Thr	Tyr	Asn	Trp	Met	Ser	Trp	Leu	Leu	Val	Asn	Val
	305					310					315				320	
45	Ser	Ala	His	Arg	Asp	Asp	Val	Lys	Leu	Thr	Cys	Gln	Val	Glu	His	Asp
				325					330					335		
	Gly	Gln	Pro	Ala	Val	Ser	Lys	Ser	His	Asp	Leu	Lys	Val	Ser	Ala	His
			340						345					350		

Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala Ala Glu Asn Thr Gly Ser Asn
355 360 365
Glu Arg Asn Ile Tyr Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu
370 375 380
5 Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val
385 390 395 400
Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr
405 410 415
Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro
10 420 425 430
Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
435 440
<210> 43
<211> 441
15 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> белок huSIRP альфа-12aas-CD28Cys
<400> 43
20 Met Glu Pro Ala Gly Pro Ala Pro Gly Arg Leu Gly Pro Leu Leu Cys
1 5 10 15
Leu Leu Leu Ala Ala Ser Cys Ala Trp Ser Gly Val Ala Gly Glu Glu
20 25 30
Glu Leu Gln Val Ile Gln Pro Asp Lys Ser Val Leu Val Ala Ala Gly
25 35 40 45
Glu Thr Ala Thr Leu Arg Cys Thr Ala Thr Ser Leu Ile Pro Val Gly
50 55 60
Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu Ile Tyr
65 70 75 80
30 Asn Gln Lys Glu Gly His Phe Pro Arg Val Thr Thr Val Ser Asp Leu
85 90 95
Thr Lys Arg Asn Asn Met Asp Phe Ser Ile Arg Ile Gly Asn Ile Thr
100 105 110
Pro Ala Asp Ala Gly Thr Tyr Tyr Cys Val Lys Phe Arg Lys Gly Ser
35 115 120 125
Pro Asp Asp Val Glu Phe Lys Ser Gly Ala Gly Thr Glu Leu Ser Val
130 135 140
Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg Ala
145 150 155 160
40 Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser
165 170 175
Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Ser
180 185 190
Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser Tyr Ser
45 195 200 205
Ile His Ser Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val His Ser
210 215 220
Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp Pro Leu

RU 2755 227 C2

	225		230		235		240									
	Arg	Gly	Thr	Ala	Asn	Leu	Ser	Glu	Thr	Ile	Arg	Val	Pro	Pro	Thr	Leu
					245					250					255	
	Glu	Val	Thr	Gln	Gln	Pro	Val	Arg	Ala	Glu	Asn	Gln	Val	Asn	Val	Thr
5					260					265					270	
	Cys	Gln	Val	Arg	Lys	Phe	Tyr	Pro	Gln	Arg	Leu	Gln	Leu	Thr	Trp	Leu
					275					280					285	
	Glu	Asn	Gly	Asn	Val	Ser	Arg	Thr	Glu	Thr	Ala	Ser	Thr	Val	Thr	Glu
					290					295					300	
10	Asn	Lys	Asp	Gly	Thr	Tyr	Asn	Trp	Met	Ser	Trp	Leu	Leu	Val	Asn	Val
	305															320
	Ser	Ala	His	Arg	Asp	Asp	Val	Lys	Leu	Thr	Cys	Gln	Val	Glu	His	Asp
					325						330					335
	Gly	Gln	Pro	Ala	Val	Ser	Lys	Ser	His	Asp	Leu	Lys	Val	Ser	Ala	His
15					340						345					350
	Pro	Lys	Glu	Gln	Gly	Ser	Asn	Thr	Ala	Cys	Pro	Ser	Pro	Leu	Phe	Pro
					355											
	Gly	Pro	Ser	Lys	Pro	Phe	Trp	Val	Leu	Val	Val	Val	Gly	Gly	Val	Leu
					370											
									375							380
20	Ala	Cys	Tyr	Ser	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Ala	Phe	Ile	Ile	Phe	Trp	Val
	385															400
	Arg	Ser	Lys	Arg	Ser	Arg	Gly	Gly	His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr
					405						410					415
	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly	Pro	Thr	Arg	Lys	His	Tyr	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro
25					420											430
	Pro	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	Ser							
					435				440							
	<210>	44														
	<211>	361														
30	<212>	PRT														
	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
	<223>	белок huSIRP альфа-12aas														
	<400>	44														
35	Met	Glu	Pro	Ala	Gly	Pro	Ala	Pro	Gly	Arg	Leu	Gly	Pro	Leu	Leu	Cys
	1					5				10					15	
	Leu	Leu	Leu	Ala	Ala	Ser	Cys	Ala	Trp	Ser	Gly	Val	Ala	Gly	Glu	Glu
					20					25					30	
	Glu	Leu	Gln	Val	Ile	Gln	Pro	Asp	Lys	Ser	Val	Leu	Val	Ala	Ala	Gly
40					35					40					45	
	Glu	Thr	Ala	Thr	Leu	Arg	Cys	Thr	Ala	Thr	Ser	Leu	Ile	Pro	Val	Gly
					50					55					60	
	Pro	Ile	Gln	Trp	Phe	Arg	Gly	Ala	Gly	Pro	Gly	Arg	Glu	Leu	Ile	Tyr
					65					70					75	80
45	Asn	Gln	Lys	Glu	Gly	His	Phe	Pro	Arg	Val	Thr	Thr	Val	Ser	Asp	Leu
					85					90					95	
	Thr	Lys	Arg	Asn	Asn	Met	Asp	Phe	Ser	Ile	Arg	Ile	Gly	Asn	Ile	Thr
					100					105					110	

RU 2755 227 C2

Pro Ala Asp Ala Gly Thr Tyr Tyr Cys Val Lys Phe Arg Lys Gly Ser
115 120 125

Pro Asp Asp Val Glu Phe Lys Ser Gly Ala Gly Thr Glu Leu Ser Val
130 135 140

5 Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg Ala
145 150 155 160

Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser
165 170 175

Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Ser
10 180 185 190

Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser Tyr Ser
195 200 205

Ile His Ser Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val His Ser
210 215 220

15 Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp Pro Leu
225 230 235 240

Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro Thr Leu
245 250 255

Glu Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn Val Thr
20 260 265 270

Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr Trp Leu
275 280 285

Glu Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val Thr Glu
290 295 300

25 Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val Asn Val
305 310 315 320

Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu His Asp
325 330 335

Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser Ala His
30 340 345 350

Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala
355 360

<210> 45
<211> 442
35 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> белок huSIRP альфа-12aas-CD28Cys tm-41BBic
<400> 45

40 Met Glu Pro Ala Gly Pro Ala Pro Gly Arg Leu Gly Pro Leu Leu Cys
1 5 10 15

Leu Leu Leu Ala Ala Ser Cys Ala Trp Ser Gly Val Ala Gly Glu Glu
20 25 30

Glu Leu Gln Val Ile Gln Pro Asp Lys Ser Val Leu Val Ala Ala Gly
45 35 40 45

Glu Thr Ala Thr Leu Arg Cys Thr Ala Thr Ser Leu Ile Pro Val Gly
50 55 60

Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu Ile Tyr

RU 2755 227 C2

	65				70					75				80		
	Asn	Gln	Lys	Glu	Gly	His	Phe	Pro	Arg	Val	Thr	Thr	Val	Ser	Asp	Leu
					85					90				95		
	Thr	Lys	Arg	Asn	Asn	Met	Asp	Phe	Ser	Ile	Arg	Ile	Gly	Asn	Ile	Thr
5				100					105					110		
	Pro	Ala	Asp	Ala	Gly	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Val	Lys	Phe	Arg	Lys	Gly	Ser
				115					120				125			
	Pro	Asp	Asp	Val	Glu	Phe	Lys	Ser	Gly	Ala	Gly	Thr	Glu	Leu	Ser	Val
				130					135				140			
10	Arg	Ala	Lys	Pro	Ser	Ala	Pro	Val	Val	Ser	Gly	Pro	Ala	Ala	Arg	Ala
	145					150					155				160	
	Thr	Pro	Gln	His	Thr	Val	Ser	Phe	Thr	Cys	Glu	Ser	His	Gly	Phe	Ser
					165					170					175	
	Pro	Arg	Asp	Ile	Thr	Leu	Lys	Trp	Phe	Lys	Asn	Gly	Asn	Glu	Leu	Ser
15				180					185					190		
	Asp	Phe	Gln	Thr	Asn	Val	Asp	Pro	Val	Gly	Glu	Ser	Val	Ser	Tyr	Ser
				195					200				205			
	Ile	His	Ser	Thr	Ala	Lys	Val	Val	Leu	Thr	Arg	Glu	Asp	Val	His	Ser
				210					215				220			
20	Gln	Val	Ile	Cys	Glu	Val	Ala	His	Val	Thr	Leu	Gln	Gly	Asp	Pro	Leu
	225					230					235				240	
	Arg	Gly	Thr	Ala	Asn	Leu	Ser	Glu	Thr	Ile	Arg	Val	Pro	Pro	Thr	Leu
					245					250					255	
	Glu	Val	Thr	Gln	Gln	Pro	Val	Arg	Ala	Glu	Asn	Gln	Val	Asn	Val	Thr
25				260					265					270		
	Cys	Gln	Val	Arg	Lys	Phe	Tyr	Pro	Gln	Arg	Leu	Gln	Leu	Thr	Trp	Leu
				275					280					285		
	Glu	Asn	Gly	Asn	Val	Ser	Arg	Thr	Glu	Thr	Ala	Ser	Thr	Val	Thr	Glu
				290					295				300			
30	Asn	Lys	Asp	Gly	Thr	Tyr	Asn	Trp	Met	Ser	Trp	Leu	Leu	Val	Asn	Val
	305					310					315				320	
	Ser	Ala	His	Arg	Asp	Asp	Val	Lys	Leu	Thr	Cys	Gln	Val	Glu	His	Asp
				325						330				335		
	Gly	Gln	Pro	Ala	Val	Ser	Lys	Ser	His	Asp	Leu	Lys	Val	Ser	Ala	His
35				340					345					350		
	Pro	Lys	Glu	Gln	Gly	Ser	Asn	Thr	Ala	Cys	Pro	Ser	Pro	Leu	Phe	Pro
				355					360				365			
	Gly	Pro	Ser	Lys	Pro	Phe	Trp	Val	Leu	Val	Val	Val	Gly	Gly	Val	Leu
				370					375				380			
40	Ala	Cys	Tyr	Ser	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Ala	Phe	Ile	Ile	Phe	Trp	Val
	385					390					395				400	
	Lys	Arg	Gly	Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe	Met
					405					410					415	
	Arg	Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys	Arg	Phe
45				420					425					430		
	Pro	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	Glu	Leu						
				435					440							
	<210>	46														

<211> 483

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

5 <223> белок huSIRP альфа-12aas-CD28Cys tm ic-41BBic

<400> 46

	Met	Glu	Pro	Ala	Gly	Pro	Ala	Pro	Gly	Arg	Leu	Gly	Pro	Leu	Leu	Cys
	1				5				10					15		
	Leu	Leu	Leu	Ala	Ala	Ser	Cys	Ala	Trp	Ser	Gly	Val	Ala	Gly	Glu	Glu
10				20					25					30		
	Glu	Leu	Gln	Val	Ile	Gln	Pro	Asp	Lys	Ser	Val	Leu	Val	Ala	Ala	Gly
			35					40					45			
	Glu	Thr	Ala	Thr	Leu	Arg	Cys	Thr	Ala	Thr	Ser	Leu	Ile	Pro	Val	Gly
		50					55					60				
15	Pro	Ile	Gln	Trp	Phe	Arg	Gly	Ala	Gly	Pro	Gly	Arg	Glu	Leu	Ile	Tyr
	65					70				75					80	
	Asn	Gln	Lys	Glu	Gly	His	Phe	Pro	Arg	Val	Thr	Thr	Val	Ser	Asp	Leu
					85					90					95	
	Thr	Lys	Arg	Asn	Asn	Met	Asp	Phe	Ser	Ile	Arg	Ile	Gly	Asn	Ile	Thr
20				100					105					110		
	Pro	Ala	Asp	Ala	Gly	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Val	Lys	Phe	Arg	Lys	Gly	Ser
			115						120				125			
	Pro	Asp	Asp	Val	Glu	Phe	Lys	Ser	Gly	Ala	Gly	Thr	Glu	Leu	Ser	Val
		130						135				140				
25	Arg	Ala	Lys	Pro	Ser	Ala	Pro	Val	Val	Ser	Gly	Pro	Ala	Ala	Arg	Ala
	145					150					155					160
	Thr	Pro	Gln	His	Thr	Val	Ser	Phe	Thr	Cys	Glu	Ser	His	Gly	Phe	Ser
				165						170				175		
	Pro	Arg	Asp	Ile	Thr	Leu	Lys	Trp	Phe	Lys	Asn	Gly	Asn	Glu	Leu	Ser
30				180					185					190		
	Asp	Phe	Gln	Thr	Asn	Val	Asp	Pro	Val	Gly	Glu	Ser	Val	Ser	Tyr	Ser
		195						200					205			
	Ile	His	Ser	Thr	Ala	Lys	Val	Val	Leu	Thr	Arg	Glu	Asp	Val	His	Ser
		210					215					220				
35	Gln	Val	Ile	Cys	Glu	Val	Ala	His	Val	Thr	Leu	Gln	Gly	Asp	Pro	Leu
	225					230					235					240
	Arg	Gly	Thr	Ala	Asn	Leu	Ser	Glu	Thr	Ile	Arg	Val	Pro	Pro	Thr	Leu
				245					250					255		
	Glu	Val	Thr	Gln	Gln	Pro	Val	Arg	Ala	Glu	Asn	Gln	Val	Asn	Val	Thr
40				260					265					270		
	Cys	Gln	Val	Arg	Lys	Phe	Tyr	Pro	Gln	Arg	Leu	Gln	Leu	Thr	Trp	Leu
		275						280					285			
	Glu	Asn	Gly	Asn	Val	Ser	Arg	Thr	Glu	Thr	Ala	Ser	Thr	Val	Thr	Glu
		290					295				300					
45	Asn	Lys	Asp	Gly	Thr	Tyr	Asn	Trp	Met	Ser	Trp	Leu	Leu	Val	Asn	Val
	305					310				315					320	
	Ser	Ala	His	Arg	Asp	Asp	Val	Lys	Leu	Thr	Cys	Gln	Val	Glu	His	Asp
				325					330					335		

RU 2 755 227 C2

	Gly	Gln	Pro	Ala	Val	Ser	Lys	Ser	His	Asp	Leu	Lys	Val	Ser	Ala	His		
	340							345						350				
	Pro	Lys	Glu	Gln	Gly	Ser	Asn	Thr	Ala	Cys	Pro	Ser	Pro	Leu	Phe	Pro		
	355							360						365				
5	Gly	Pro	Ser	Lys	Pro	Phe	Trp	Val	Leu	Val	Val	Val	Gly	Gly	Val	Leu		
	370							375						380				
	Ala	Cys	Tyr	Ser	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Ala	Phe	Ile	Ile	Phe	Trp	Val		
	385							390						395				400
	Arg	Ser	Lys	Arg	Ser	Arg	Gly	Gly	His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr		
10	405							410						415				
	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly	Pro	Thr	Arg	Lys	His	Tyr	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro		
	420							425						430				
	Pro	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	Ser	Lys	Arg	Gly	Arg	Lys	Lys	Leu		
	435							440						445				
15	Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg	Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Gln		
	450							455						460				
	Glu	Glu	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys	Arg	Phe	Pro	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly		
	465							470						475				480
	Cys Glu Leu																	
20	<210> 47																	
	<211> 900																	
	<212> ДНК																	
	<213> Искусственная последовательность																	
	<220>																	
25	<223> muCD200Rtm-CD28																	
	<400> 47																	
	atgtttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg 60																	
	gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accaccaggaca acaacagcac cagccccctg 120																	
	acccaagtga acaccacctg gtccgtgcag atcggcacca aggcccgtgt gtgctgttttc 180																	
30	agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgatc acctgggatca tcaagcttag aggccctgcc 240																	
	agctgcacaa tcgcctataa ggtggacacc aagaccaacy agacaagctg cctggggcaga 300																	
	aacatcacct gggccagcac ccagaccac agccctgagc tgcagatcac cgccgtgaca 360																	
	ctgcagcacg agggcaccta cacatgchgag acagtgaccc ccgagggcaa ctctgagaag 420																	
	aactacgatc tgcaggtgct ggtgcccccc gaagtgacct acttccccga gaagaataga 480																	
35	agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac 540																	
	ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgacctg gcggagcacc 600																	
	tgtcactggg agcagaaaaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc 660																	
	aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggcggaaacc agtcccttag gccctacatc 720																	
	ccttacatca tccccagcat catcatcctg atcatcatcg gctgcatctg cctgctgaac 780																	
40	agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgac tacatgaaca tgacccccag aaggcctggc 840																	
	ctgaccagaa agccctacca gccttacgcc cctgccagag acttcgccgc ctacagacct 900																	
	<210> 48																	
	<211> 918																	
	<212> ДНК																	
45	<213> Искусственная последовательность																	
	<220>																	
	<223> muCD200R-CD28tm																	
	<400> 48																	

	atgtttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg	60
	gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accaccaga acaacagcag cagccccctg	120
	acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggccctgct gtgctgtttc	180
	agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgata acctggatca tcaagctgag aggcctgccc	240
5	agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga	300
	aacatcacct gggccagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca	360
	ctgcagcacg agggcaccta cacatgagag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag	420
	aactacgata tgcaggtgct ggtgcccccc gaagtgacct acttccccga gaagaataga	480
	agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac	540
10	ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgacctg gcggagcacc	600
	tgtaactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tctgtgtcca cctgaccggc	660
	aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggcggaaacc agtccctgag gcccttcttg	720
	gccctggttg tgggtggccg cgtgctgttt tgttacggcc tgctcgtgac cgtggccctg	780
	tgcgtgatct ggaccaacag cagaagaaac agaggcggcc agagcgacta catgaacatg	840
15	acccccagaa ggcctggcct gaccagaaaag ccctaccagc cttacgcccc tgccagagac	900
	ttcgccgcct acagacct	918
	<210> 49	
	<211> 945	
	<212> ДНК	
20	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> muCD200R-CD28Cys	
	<400> 49	
	atgtttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg	60
25	gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accaccaga acaacagcag cagccccctg	120
	acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggccctgct gtgctgtttc	180
	agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgata acctggatca tcaagctgag aggcctgccc	240
	agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga	300
	aacatcacct gggccagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca	360
30	ctgcagcacg agggcaccta cacatgagag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag	420
	aactacgata tgcaggtgct ggtgcccccc gaagtgacct acttccccga gaagaataga	480
	agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac	540
	ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgacctg gcggagcacc	600
	tgtaactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tctgtgtcca cctgaccggc	660
35	aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggcggaaacc agtccctgag gccctgccac	720
	acccagagca gcccgaagct gttctgggccc ctggtggttg tggccggcgt gctgttttgt	780
	tacggcctgc tctgtagcctg ggccctgtgc gtgatctgga ccaacagcag aagaaacaga	840
	ggcggccaga gcgactacat gaacatgacc ccgagaaggc ctggcctgac cagaaagccc	900
	taccagcctt acgcccctgc cagagacttc gccgcctaca gacct	945
40	<210> 50	
	<211> 936	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
45	<223> muCD200R-3aas-CD28Cys	
	<400> 50	
	atgtttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg	60
	gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accaccaga acaacagcag cagccccctg	120

	acccaagtga	acaccaccgt	gtccgtgcag	atcggcacca	aggccctgct	gtgctgtttc	180
	agcatccctc	tgaccaaggc	tgtgctgata	acctggatca	tcaagctgag	aggcctgccc	240
	agctgcacaa	tcgcctacaa	ggtggacacc	aagaccaacg	agacaagctg	cctgggcaga	300
	aacatcacct	gggccagcac	cccagaccac	agccctgagc	tgcatatcag	cgccgtgaca	360
5	ctgcagcacg	agggcaccta	cacatgagag	acagtgaccc	ccgagggcaa	cttcgagaag	420
	aactacgata	tgaggtgct	ggtgcccccc	gaagtgacct	acttccccga	gaagaataga	480
	agcgccgtgt	gcgaggccat	ggctggcaaa	cctgccgccc	agatctcttg	gagccctgac	540
	ggcgactgtg	tgaccaccag	cgagagccac	agcaacggca	cagtgaccgt	gcggagcacc	600
	tgtcactggg	agcagaacaa	cgtgtccgac	gtgtcctgca	tcgtgtccca	cctgaccggc	660
10	aaccagagcc	tgagcatcga	gctgagcaga	ggcggaacc	agtcttgcca	caccagagc	720
	agccccaagc	tgttctgggc	cctggtgggtg	gtggccggcg	tgctgttttg	ttacggcctg	780
	ctcgtgaccg	tggccctgtg	cgtgatctgg	accaacagca	gaagaaacag	aggcgccag	840
	agcgactaca	tgaacatgac	ccccagaagg	cctggcctga	ccagaaagcc	ctaccagcct	900
	tacgcccctg	ccagagactt	cgccgcctac	agacct			936
15	<210>	51					
	<211>	918					
	<212>	ДНК					
	<213>	Искусственная последовательность					
	<220>						
20	<223>	muCD200R-9aas-CD28Cys					
	<400>	51					
	atgttctgct	tctggcggac	aagcgccctg	gccgtgctgc	tgatctgggg	agtgtttgtg	60
	gccggcagca	gctgcaccga	caagaaccag	accacccaga	acaacagcag	cagccccctg	120
	acccaagtga	acaccaccgt	gtccgtgcag	atcggcacca	aggccctgct	gtgctgtttc	180
25	agcatccctc	tgaccaaggc	tgtgctgata	acctggatca	tcaagctgag	aggcctgccc	240
	agctgcacaa	tcgcctacaa	ggtggacacc	aagaccaacg	agacaagctg	cctgggcaga	300
	aacatcacct	gggccagcac	cccagaccac	agccctgagc	tgcatatcag	cgccgtgaca	360
	ctgcagcacg	agggcaccta	cacatgagag	acagtgaccc	ccgagggcaa	cttcgagaag	420
	aactacgata	tgaggtgct	ggtgcccccc	gaagtgacct	acttccccga	gaagaataga	480
30	agcgccgtgt	gcgaggccat	ggctggcaaa	cctgccgccc	agatctcttg	gagccctgac	540
	ggcgactgtg	tgaccaccag	cgagagccac	agcaacggca	cagtgaccgt	gcggagcacc	600
	tgtcactggg	agcagaacaa	cgtgtccgac	gtgtcctgca	tcgtgtccca	cctgaccggc	660
	aaccagagcc	tgagcatcga	gctgagctgc	cacacccaga	gcagcccaa	gctgttctgg	720
	gccctggtgg	tgggtggccg	cgtgctgttt	tgttacggcc	tgctcgtgac	cgtggccctg	780
35	tgctgtgatc	ggaccaacag	cagaagaaac	agaggcggcc	agagcgacta	catgaacatg	840
	acccccagaa	ggcctggcct	gaccagaaag	ccctaccagc	cttacgcccc	tgccagagac	900
	ttcgccgcct	acagacct					918
	<210>	52					
	<211>	939					
40	<212>	ДНК					
	<213>	Искусственная последовательность					
	<220>						
	<223>	muCD200R-9aas-CD28Cys tm-41BBic					
	<400>	52					
45	atgttctgct	tctggcggac	aagcgccctg	gccgtgctgc	tgatctgggg	agtgtttgtg	60
	gccggcagca	gctgcaccga	caagaaccag	accacccaga	acaacagcag	cagccccctg	120
	acccaagtga	acaccaccgt	gtccgtgcag	atcggcacca	aggccctgct	gtgctgtttc	180
	agcatccctc	tgaccaaggc	tgtgctgata	acctggatca	tcaagctgag	aggcctgccc	240

	agctgcacaa	tcgcctacaa	ggtggacacc	aagaccaacg	agacaagctg	cctgggcaga	300
	aacatcacct	gggccagcac	cccagaccac	agccctgagc	tgcatatcag	cgccgtgaca	360
	ctgcagcacg	agggcaccta	cacatgcgag	acagtgaccc	ccgagggcaa	cttcgagaag	420
	aactacgata	tgcatgtgct	ggtgcccccc	gaagtgacct	acttccccga	gaagaataga	480
5	agcgccgtgt	gcgaggccat	ggctggcaaa	cctgccgccc	agatctcttg	gagccctgac	540
	ggcgactgtg	tgaccaccag	cgagagccac	agcaacggca	cagtgaccgt	gcggagcacc	600
	tgctactggg	agcagaacaa	cgtgtccgac	gtgtcctgca	tcgtgtccca	cctgaccggc	660
	aaccagagcc	tgagcatcga	gctgagctgc	cacaccacga	gcagcccca	gctgttcttg	720
	gccctggtgg	tgggtggccg	cgtgctgttt	tggtacggcc	tgctcgtgac	cgtggccctg	780
10	tgctgtgatc	ggaccagcgt	gctgaagtgg	atcagaaaaga	agttccccca	catcttcaag	840
	cagcccttca	agaaaaccac	cgccgctgcc	caggaagagg	acgcctgcag	ctgtagatgc	900
	cctcaggaag	aagaaggcgg	cgagggcggc	tacgagctg			939
	<210>	53					
	<211>	1062					
15	<212>	ДНК					
	<213>	Искусственная последовательность					
	<220>						
	<223>	muCD200R-9aas-CD28Cys tm ic-41BBic					
	<400>	53					
20	atgttctgct	tctggcggac	aagcgccctg	gccgtgctgc	tgatctgggg	agtgtttgtg	60
	ggcggcagca	gctgcaccga	caagaaccag	accacccaga	acaacagcag	cagccccctg	120
	acccaagtga	acaccaccgt	gtccgtgcag	atcggcacca	aggccctgct	gtgctgtttc	180
	agcatccctc	tgaccaaggc	tgtgctgata	acctggatca	tcaagctgag	aggcctgccc	240
	agctgcacaa	tcgcctacaa	ggtggacacc	aagaccaacg	agacaagctg	cctgggcaga	300
25	aacatcacct	gggccagcac	cccagaccac	agccctgagc	tgcatatcag	cgccgtgaca	360
	ctgcagcacg	agggcaccta	cacatgcgag	acagtgaccc	ccgagggcaa	cttcgagaag	420
	aactacgata	tgcatgtgct	ggtgcccccc	gaagtgacct	acttccccga	gaagaataga	480
	agcgccgtgt	gcgaggccat	ggctggcaaa	cctgccgccc	agatctcttg	gagccctgac	540
	ggcgactgtg	tgaccaccag	cgagagccac	agcaacggca	cagtgaccgt	gcggagcacc	600
30	tgctactggg	agcagaacaa	cgtgtccgac	gtgtcctgca	tcgtgtccca	cctgaccggc	660
	aaccagagcc	tgagcatcga	gctgagctgc	cacaccacga	gcagcccca	gctgttcttg	720
	gccctggtgg	tgggtggccg	cgtgctgttt	tggtacggcc	tgctcgtgac	cgtggccctg	780
	tgctgtgatc	ggaccaaacg	cagaagaaac	agaggcggcc	agagcgacta	catgaacatg	840
	acccccagaa	ggcctggcct	gaccagaaaag	ccctaccagc	cttacgcccc	tgccagagac	900
35	ttcgccgcct	acagacctag	cgtgctgaag	tggatcagaa	agaagttccc	ccacatcttc	960
	aagcagccct	tcaagaaaac	caccggcgct	gcccaggaag	aggacgcctg	cagctgtaga	1020
	tgccctcagg	aagaagaagg	cgccggaggc	ggctacgagc	tg		1062
	<210>	54					
	<211>	1305					
40	<212>	ДНК					
	<213>	Искусственная последовательность					
	<220>						
	<223>	muSIRP альфа tm-CD28					
	<400>	54					
45	atggaacctg	ctggacctgc	ccctggcaga	ctgggacctc	tgctgctgtg	cctgctgctg	60
	agcgccagct	gtttctgtac	cgccgccacc	ggcaaaagaac	tgaagtgac	ccagcccagag	120
	aagtccgtgt	ctgtggccgc	tggcgacagc	accgtgctga	actgtaccct	gaccagcctg	180
	ctgcccgtgg	gccccatcag	atggtataga	ggcgtggggc	ctagcagact	gctgatctac	240

	agcttcgctg gcgagtagct gcccagaatc agaaacgtgt ccgacaccac caagcggaac	300
	aacatggact tcagcatcag gatcagcaac gtgaccctg ccgacgccg catctactac	360
	tgcgtgaagt tccagaagg cagcagcgag cccgacaccg agattcagtc tggcggcgga	420
	accgaggtgt acgtgctggc taagcccagc cctcctgagg tgtccggccc tgctgataga	480
5	ggcatccccg accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcag cccagaaaac	540
	atcaccttga agtggttcaa ggacggccag gaactgcacc ccctggaaac caccgtgaac	600
	cccagcgga agaactgtgc ctacaacatc agctccaccg tgcgggtggg gctgaacagc	660
	atggacgtga acagcaaagt gatctgcgag gtggcccaca tcacactgga cagaagcccc	720
	ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt cccaaccgt gaaagtgaca	780
10	cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagtg aacctgacct gcagagccga gagattctac	840
	cccgaggacc tgcagctgat ctggctggaa aacggcaacg tgtccagaaa cgacaccccc	900
	aagaacctga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctccctgtt tctcgtgaac	960
	tcctccgccc accgcgagga cgtggtgttc acgtgccaa gtaagcacga ccagcagccc	1020
	gccatcacca gaaaccacac agtgctgggc ttcgcccaca gcagcgacca gggcagcatg	1080
15	cagaccttcc ccgacaacaa cgccaccac aactggaacg tgttcacggt cgtgggcgtg	1140
	gcctgtgctc tgctggtggg gctgctgatg gccgccctgt ataacagcag aagaaacaga	1200
	ggcgcccgga gcgactacat gaacatgacc cccagaaggc ctggcctgac cagaaagccc	1260
	taccagcctt acgcccctgc cagagacttc gccgcctaca gacct	1305
	<210> 55	
20	<211> 1323	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> muSIRP альфа-CD28tm	
25	<400> 55	
	atggaacctg ctggacctgc ccctggcaga ctgggacctc tgctgctgtg cctgctgctg	60
	agcgccagct gtttctgtac cggcgccacc ggcaaagaac tgaaagtgaac ccagcccag	120
	aagtccgtgt ctgtggccgc tggcgacagc accgtgctga actgtaccct gaccagcctg	180
	ctgcccgtgg gcccacatcag atggtataga ggctgtggcc ctagcagact gctgatctac	240
30	agcttcgctg gcgagtagct gcccagaatc agaaacgtgt ccgacaccac caagcggaac	300
	aacatggact tcagcatcag gatcagcaac gtgaccctg ccgacgccg catctactac	360
	tgcgtgaagt tccagaagg cagcagcgag cccgacaccg agattcagtc tggcggcgga	420
	accgaggtgt acgtgctggc taagcccagc cctcctgagg tgtccggccc tgctgataga	480
	ggcatccccg accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcag cccagaaaac	540
35	atcaccttga agtggttcaa ggacggccag gaactgcacc ccctggaaac caccgtgaac	600
	cccagcgga agaactgtgc ctacaacatc agctccaccg tgcgggtggg gctgaacagc	660
	atggacgtga acagcaaagt gatctgcgag gtggcccaca tcacactgga cagaagcccc	720
	ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt cccaaccgt gaaagtgaca	780
	cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagtg aacctgacct gcagagccga gagattctac	840
40	cccgaggacc tgcagctgat ctggctggaa aacggcaacg tgtccagaaa cgacaccccc	900
	aagaacctga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctccctgtt tctcgtgaac	960
	tcctccgccc accgcgagga cgtggtgttc acgtgccaa gtaagcacga ccagcagccc	1020
	gccatcacca gaaaccacac agtgctgggc ttcgcccaca gcagcgacca gggcagcatg	1080
	cagaccttcc ccgacaacaa cgccaccac aactggaact tctgggccct ggtggtggtg	1140
45	gccggcgtgc tgttttgtta cggcctgctc gtgaccgtgg ccctgtgctg gatctggacc	1200
	aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc gactacatga acatgacccc cagaaggcct	1260
	ggcctgacca gaaagcccta ccagccttac gccccctgcca gagacttcgc cgcctacaga	1320
	cct	1323

<210> 56
 <211> 1350
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

5 <220>

<223> muSIRP альфа-CD28cys

<400> 56

	atggaacctg ctggacctgc ccctggcaga ctgggacctc tgctgctgtg cctgctgctg	60
	agcgccagct gtttctgtac cggcgccacc ggcaaagaac tgaaagtgtg ccagcccagag	120
10	aagtccgtgt ctgtggccgc tggcgacagc accgtgctga actgtaccct gaccagcctg	180
	ctgcccgtgg gccccatcag atggtataga ggcgtggggc ctagcagact gctgatctac	240
	agcttcgctg gcgagtacgt gcccagaatc agaaacgtgt ccgacaccac caagcggaac	300
	aacatggact tcagcatcag gatcagcaac gtgacctcctg ccgacgccgg catctactac	360
	tgcgtgaagt tccagaaggg cagcagcgag cccgacaccg agattcagtc tggcggcgga	420
15	accgaggtgt acgtgctggc taagcccagc cctcctgagg tgtccggccc tgctgataga	480
	ggcatccccg accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcag cccagaaaac	540
	atcacccctga agtgggttcaa ggacggccag gaactgcacc ccttgaaaac caccgtgaac	600
	cccagcggca agaacgtgtc ctacaacatc agctccaccg tgcgggtggg gctgaacagc	660
	atggacgtga acagcaaagt gatctgctgag gtggcccaca tcacactgga cagaagcccc	720
20	ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt cccaaccgtg gaaagtgtgaca	780
	cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagtg aacctgacct gcagagccga gagattctac	840
	cccgaggacc tgcagctgat ctggctggaa aacggcaacg tgtccagaaa cgacaccccc	900
	aagaacctga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctccctgtt tctcgtgaac	960
	tcctccgccc accgcgagga cgtggtgttc acgtgccaaag tgaagcacga ccagcagccc	1020
25	gccatcacca gaaaccacac agtgcctggg ttcgccccaca gcagcgacca gggcagcatg	1080
	cagaccttcc ccgacaacaa cgccacccac aactggaaact gccacacca gagcagcccc	1140
	aagctgttct gggctctggg ggtgggtggc ggcgtgctgt tttgttacgg cctgctcgtg	1200
	accgtggccc tgtgcgtgat ctggaccaac agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgac	1260
	tacatgaaca tgacccccag aaggcctggc ctgaccggga agccttacca gccttacgcc	1320
30	cctgccagag acttcgcccgc ctacagacct	1350

<210> 57
 <211> 1332
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

35 <220>

<223> muSIRP альфа-6aas-CD28cys

<400> 57

	atggaacctg ctggacctgc ccctggcaga ctgggacctc tgctgctgtg cctgctgctg	60
	agcgccagct gtttctgtac cggcgccacc ggcaaagaac tgaaagtgtg ccagcccagag	120
40	aagtccgtgt ctgtggccgc tggcgacagc accgtgctga actgtaccct gaccagcctg	180
	ctgcccgtgg gccccatcag atggtataga ggcgtggggc ctagcagact gctgatctac	240
	agcttcgctg gcgagtacgt gcccagaatc agaaacgtgt ccgacaccac caagcggaac	300
	aacatggact tcagcatcag gatcagcaac gtgacctcctg ccgacgccgg catctactac	360
	tgcgtgaagt tccagaaggg cagcagcgag cccgacaccg agattcagtc tggcggcgga	420
45	accgaggtgt acgtgctggc taagcccagc cctcctgagg tgtccggccc tgctgataga	480
	ggcatccccg accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcag cccagaaaac	540
	atcacccctga agtgggttcaa ggacggccag gaactgcacc ccttgaaaac caccgtgaac	600
	cccagcggca agaacgtgtc ctacaacatc agctccaccg tgcgggtggg gctgaacagc	660

	atggacgtga acagcaaagt gatctgcgag gtggcccaca tcacactgga cagaagcccc	720
	ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt cccaaccgt gaaagtgaca	780
	cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagtg aacctgacct gcagagccga gagattctac	840
	cccaggacc tgcagctgat ctggctggaa aacggcaacg tgtccagaaa cgacaccccc	900
5	aagaacctga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctccctgtt tctcgtgaac	960
	tcctccgccc accgcgagga cgtggtgttc acgtgccaaag tgaagcacga ccagcagccc	1020
	gccatcacca gaaaccacac agtgctgggc ttcgccaca gcagcgacca gggcagcatg	1080
	cagaccttcc ccgacaacaa ctgccacacc cagagcagcc ccaagctgtt ctgggctctg	1140
	gtggtggtgg ccggcgtgct gttttgttac ggctgctcg tgaccgtggc cctgtgctg	1200
10	atctggacca acagcagaag aaacagaggc ggccagagcg actacatgaa catgaccccc	1260
	agaaggcctg gcctgacccg gaagccttac cagccttacg cccctgccag agacttcgcc	1320
	gcctacagac ct	1332
	<210> 58	
	<211> 1323	
15	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> muSIRP альфа-9aas-CD28cys	
	<400> 58	
20	atggaacctg ctggacctgc ccctggcaga ctgggacctc tgctgctgtg cctgctgctg	60
	agcgccagct gtttctgtac cggcgccacc ggcaaagaac tgaaagtgac ccagcccag	120
	aagtccgtgt ctgtggccgc tggcgacagc accgtgctga actgtaccct gaccagcctg	180
	ctgcccgtgg gccccatcag atggtataga ggctggggc ctagcagact gctgatctac	240
	agcttcgctg gcgagtacgt gcccagaatc agaaacgtgt ccgacaccac caagcggaac	300
25	aacatggact tcagcatcag gatcagcaac gtgaccctg ccgacgccg catctactac	360
	tgcgtgaagt tccagaaggc cagcagcgag cccgacaccg agattcagtc tggcggcgga	420
	accgaggtgt acgtgctggc taagcccagc cctcctgagg tgtccggccc tgctgataga	480
	ggcatccccg accagaaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcag cccagaaac	540
	atcacctga agtggttcaa ggacggccag gaactgcacc ccctggaaac caccgtgaac	600
30	cccagcgga agaacgtgtc ctacaacatc agctccaccg tgcgggtggt gctgaacagc	660
	atggacgtga acagcaaagt gatctgcgag gtggcccaca tcacactgga cagaagcccc	720
	ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt cccaaccgt gaaagtgaca	780
	cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagtg aacctgacct gcagagccga gagattctac	840
	cccaggacc tgcagctgat ctggctggaa aacggcaacg tgtccagaaa cgacaccccc	900
35	aagaacctga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctccctgtt tctcgtgaac	960
	tcctccgccc accgcgagga cgtggtgttc acgtgccaaag tgaagcacga ccagcagccc	1020
	gccatcacca gaaaccacac agtgctgggc ttcgccaca gcagcgacca gggcagcatg	1080
	cagaccttcc cctgccacac ccagagcagc cccaagctgt tctgggctct ggtggtggtg	1140
	gccggcgtgc tgttttgtta cggcctgctc gtgaccgtgg ccctgtgctg gatctggacc	1200
40	aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc gactacatga acatgacccc cagaaggcct	1260
	ggcctgaccc ggaagcctta ccagccttac gcccctgcc gagacttcgc cgctacaga	1320
	cct	1323
	<210> 59	
	<211> 1281	
45	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> muSIRP альфа-23aas-CD28cys	

<400> 59

	atggaacctg ctggacctgc ccctggcaga ctgggacctc tgctgctgtg cctgctgctg	60
	agcgccagct gtttctgtac cggcgccacc ggcaaagaac tgaaagtgtg ccagcccagag	120
	aagtccgtgt ctgtggccgc tggcgacagc accgtgctga actgtaccct gaccagcctg	180
5	ctgcccgtgg gccccatcag atggtataga ggcgtgggcc ctagcagact gctgatctac	240
	agcttcgctg gcgagtacgt gcccagaatc agaaacgtgt ccgacaccac caagcggaac	300
	aacatggact tcagcatcag gatcagcaac gtgaccctg ccgacgccg catctactac	360
	tgctggaagt tccagaaggg cagcagcgag cccgacaccg agattcagtc tggcggcgga	420
	accgaggtgt acgtgctggc taagcccagc cctcctgagg tgtccggccc tgctgataga	480
10	ggcatccccg accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcag cccagaaac	540
	atcacctga agtggttcaa ggacggccag gaactgcacc ccctggaaac caccgtgaac	600
	cccagcgga agaactgtgc ctacaacatc agctccaccg tgcgggtggt gctgaacagc	660
	atggacgtga acagcaaagt gatctgcgag gtggcccaca tcacactgga cagaagcccc	720
	ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt cccaaccgt gaaagtgaca	780
15	cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagtg aacctgacct gcagagccga gagattctac	840
	cccgaggacc tgcagctgat ctggctggaa aacggcaacg tgtccagaaa cgacaccccc	900
	aagaacctga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctccctgtt tctcgtgaac	960
	tcctccgccc accgcgagga cgtggtgttc acgtgccaag tgaagcacga ccagcagccc	1020
	gccatcacca gaaaccacac agtgctgggc tgccacaccc agagcagccc caagctgttc	1080
20	tggtgctctg tggtggtggc cggcgtgctg ttttgttacg gcctgctcgt gaccgtggcc	1140
	ctgtgcgtga tctggaccaa cagcagaaga aacagaggcg gccagagcga ctacatgaac	1200
	atgaccccca gaaggcctgg cctgaccggg aagccttacc agccttacgc ccctgccaga	1260
	gacttcgccc cctacagacc t	1281

<210> 60

25 <211> 137

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> эктодомен huPD-1

30 <400> 60

	Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp Asn	
	1 5 10 15	
	Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val Leu	
	20 25 30	
35	Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala	
	35 40 45	
	Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Val	
	50 55 60	
	Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala	
40	65 70 75 80	
	Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala	
	85 90 95	
	Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr	
	100 105 110	
45	Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg	
	115 120 125	
	Ser Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val	
	130 135	

<210> 61
 <211> 627
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 5 <220>
 <223> целый внеклеточный домен huCD2
 <400> 61
 atgagctttc catgtaaatt tgtagccagc ttccttctga ttttcaatgt ttcttccaaa 60
 ggtgcagtct ccaaagagat tacgaatgcc ttggaaacct ggggtgcctt gggtcaggac 120
 10 atcaacttgg acattcctag ttttcaaatg agtgatgata ttgacgatat aaaatgggaa 180
 aaaacttcag acaagaaaaa gattgcacaa ttcagaaaag agaaagagac tttcaaggaa 240
 aaagatacat ataagctatt taaaaatgga actctgaaaa ttaagcatct gaagaccgat 300
 gatcaggata tctacaaggt atcaatatat gatacaaaag gaaaaaatgt gttggaaaaa 360
 atatttgatt tgaagattca agagaggggtc tcaaaaccaa agatctcctg gacttgatc 420
 15 aacacaaccc tgacctgtga ggtaatgaat ggaactgacc ccgaattaaa cctgtatcaa 480
 gatgggaaac atctaaaact ttctcagagg gtcacacac acaagtggac caccagcctg 540
 agtgcaaaat tcaagtgcac agcaggggaa aaagtcagca aggaatccag tgtcgagcct 600
 gtcagctgtc cagagaaagg tctggac 627
 <210> 62
 20 <211> 209
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> целый внеклеточный домен huCD2
 25 <400> 62
 Met Ser Phe Pro Cys Lys Phe Val Ala Ser Phe Leu Leu Ile Phe Asn
 1 5 10 15
 Val Ser Ser Lys Gly Ala Val Ser Lys Glu Ile Thr Asn Ala Leu Glu
 20 25 30
 30 Thr Trp Gly Ala Leu Gly Gln Asp Ile Asn Leu Asp Ile Pro Ser Phe
 35 40 45
 Gln Met Ser Asp Asp Ile Asp Asp Ile Lys Trp Glu Lys Thr Ser Asp
 50 55 60
 Lys Lys Lys Ile Ala Gln Phe Arg Lys Glu Lys Glu Thr Phe Lys Glu
 35 65 70 75 80
 Lys Asp Thr Tyr Lys Leu Phe Lys Asn Gly Thr Leu Lys Ile Lys His
 85 90 95
 Leu Lys Thr Asp Asp Gln Asp Ile Tyr Lys Val Ser Ile Tyr Asp Thr
 100 105 110
 40 Lys Gly Lys Asn Val Leu Glu Lys Ile Phe Asp Leu Lys Ile Gln Glu
 115 120 125
 Arg Val Ser Lys Pro Lys Ile Ser Trp Thr Cys Ile Asn Thr Thr Leu
 130 135 140
 Thr Cys Glu Val Met Asn Gly Thr Asp Pro Glu Leu Asn Leu Tyr Gln
 45 145 150 155 160
 Asp Gly Lys His Leu Lys Leu Ser Gln Arg Val Ile Thr His Lys Trp
 165 170 175
 Thr Thr Ser Leu Ser Ala Lys Phe Lys Cys Thr Ala Gly Asn Lys Val

		180		185		190	
	Ser	Lys	Glu	Ser	Ser	Val	Glu
				Pro	Val	Ser	Cys
					Pro	Glu	Lys
						Gly	Leu
		195		200		205	

Asp

5 <210> 63
 <211> 78
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>

10 <223> трансмембранный домен huCD2
 <400> 63
 atctatctca tcattggcat atgtggagga ggcagcctct tgatggtctt tgtggcactg 60
 ctcgttttct atatcacc 78
 <210> 64

15 <211> 26
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> трансмембранный домен huCD2

20 <400> 64
 Ile Tyr Leu Ile Ile Gly Ile Cys Gly Gly Gly Ser Leu Leu Met Val
 1 5 10 15
 Phe Val Ala Leu Leu Val Phe Tyr Ile Thr
 20 25

25 <210> 65
 <211> 828
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>

30 <223> ДНК huCD2tm-CD28
 <400> 65
 atgagctttc catgtaaatt tgtagccagc ttccttctga ttttcaatgt ttcttcctaaa 60
 ggtgcagctc ccaaagagat tacgaatgcc ttggaaacct ggggtgcctt gggtcaggac 120
 atcaacttgg acattcctag ttttcaaagt agtgatgata ttgacgatat aaaatgggaa 180
 35 aaaacttcag acaagaaaaa gattgcacaa ttcagaaaag agaaagagac tttcaaggaa 240
 aaagatacat ataagctatt taaaaatgga actctgaaaa ttaagcatct gaagaccgat 300
 gatcaggata tctacaaggt atcaatagat gatacaaaaag gaaaaaatgt gttggaaaaa 360
 atatttgatt tgaagattca agagaggggtc tcaaaaacaa agatctcctg gacttgtatc 420
 aacacaaccc tgacctgtga ggtaatgaat ggaactgacc ccgaattaaa cctgtatcaa 480
 40 gatgggaaac atctaaaact ttctcagagg gtcatcacac acaagtggac caccagcctg 540
 agtgcaaaat tcaagtgcac agcagggaac aaagtcagca aggaatccag tgtcgagcct 600
 gtcagctgtc cagagaaagg tctggacatc tatctcatca ttggcatatg tggaggaggc 660
 agcctcttga tgggtcttgt ggcaactgctc gttttctata tcacccgcag caagcggagc 720
 agaggcggcc acagcgacta catgaacatg acccctagac ggcttgcccc caccagaaag 780
 45 cactaccagc cctacgcccc tccccgggac tttgccgcct acagaagc 828
 <210> 66
 <211> 276
 <212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> huCD2tm-CD28

<400> 66

```

5 Met Ser Phe Pro Cys Lys Phe Val Ala Ser Phe Leu Leu Ile Phe Asn
  1           5           10           15
Val Ser Ser Lys Gly Ala Val Ser Lys Glu Ile Thr Asn Ala Leu Glu
  20           25           30
Thr Trp Gly Ala Leu Gly Gln Asp Ile Asn Leu Asp Ile Pro Ser Phe
10           35           40           45
Gln Met Ser Asp Asp Ile Asp Asp Ile Lys Trp Glu Lys Thr Ser Asp
  50           55           60
Lys Lys Lys Ile Ala Gln Phe Arg Lys Glu Lys Glu Thr Phe Lys Glu
65           70           75           80
15 Lys Asp Thr Tyr Lys Leu Phe Lys Asn Gly Thr Leu Lys Ile Lys His
  85           90           95
Leu Lys Thr Asp Asp Gln Asp Ile Tyr Lys Val Ser Ile Tyr Asp Thr
  100          105          110
Lys Gly Lys Asn Val Leu Glu Lys Ile Phe Asp Leu Lys Ile Gln Glu
20           115          120          125
Arg Val Ser Lys Pro Lys Ile Ser Trp Thr Cys Ile Asn Thr Thr Leu
  130          135          140
Thr Cys Glu Val Met Asn Gly Thr Asp Pro Glu Leu Asn Leu Tyr Gln
145          150          155          160
25 Asp Gly Lys His Leu Lys Leu Ser Gln Arg Val Ile Thr His Lys Trp
  165          170          175
Thr Thr Ser Leu Ser Ala Lys Phe Lys Cys Thr Ala Gly Asn Lys Val
  180          185          190
Ser Lys Glu Ser Ser Val Glu Pro Val Ser Cys Pro Glu Lys Gly Leu
30           195          200          205
Asp Ile Tyr Leu Ile Ile Gly Ile Cys Gly Gly Gly Ser Leu Leu Met
  210          215          220
Val Phe Val Ala Leu Leu Val Phe Tyr Ile Thr Arg Ser Lys Arg Ser
225          230          235          240
35 Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly
  245          250          255
Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala
  260          265          270
Ala Tyr Arg Ser
40           275

```

<210> 67

<211> 831

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

45 <220>

<223> huCD2-CD28tm

<400> 67

atgagctttc catgtaaatt tgtagccagc ttccttctga ttttcaatgt ttcttccaaa

60

```

ggtgcagtct ccaaagagat tacgaatgcc ttggaaacct ggggtgcctt gggtcaggac 120
atcaacttgg acattcctag ttttcaaagt agtgatgata ttgacgatat aaaatgggaa 180
aaaacttcag acaagaaaaa gattgcacaa ttcagaaaag agaaagagac tttcaaggaa 240
aaagatacat ataagctatt taaaaatgga actctgaaaa ttaagcatct gaagaccgat 300
5 gatcaggata tctacaaggt atcaatatat gatacaaaaag gaaaaaatgt gttggaaaaa 360
atatttgatt tgaagattca agagaggggtc tcaaaaaccaa agatctcctg gacttgtatc 420
aacacaaccc tgacctgtga ggtaatgaat ggaactgacc ccgaattaaa cctgtatcaa 480
gatgggaaac atctaaaact ttctcagagg gtcatcacac acaagtggac caccagcctg 540
agtgcaaaaat tcaagtgcac agcagggaac aaagtcagca aggaatccag tgtcgagcct 600
10 gtcagctgtc cagagaaaag tctggacttc tgggtgctgg tgggtgctcg aggcgtgctg 660
gcctgctaca gcctgctggt caccgtggcc ttcatcatct tttgggtccg cagcaagcgg 720
agcagaggcg gccacagcga ctacatgaac atgacccccta gacggcctgg cccaccaga 780
aagcactacc agccctacgc ccctccccgg gactttgccg cctacagaag c 831
<210> 68
15 <211> 277
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> huCD2-CD28tm
20 <400> 68
Met Ser Phe Pro Cys Lys Phe Val Ala Ser Phe Leu Leu Ile Phe Asn
1 5 10 15
Val Ser Ser Lys Gly Ala Val Ser Lys Glu Ile Thr Asn Ala Leu Glu
20 25 30
25 Thr Trp Gly Ala Leu Gly Gln Asp Ile Asn Leu Asp Ile Pro Ser Phe
35 40 45
Gln Met Ser Asp Asp Ile Asp Asp Ile Lys Trp Glu Lys Thr Ser Asp
50 55 60
Lys Lys Lys Ile Ala Gln Phe Arg Lys Glu Lys Glu Thr Phe Lys Glu
30 65 70 75 80
Lys Asp Thr Tyr Lys Leu Phe Lys Asn Gly Thr Leu Lys Ile Lys His
85 90 95
Leu Lys Thr Asp Asp Gln Asp Ile Tyr Lys Val Ser Ile Tyr Asp Thr
100 105 110
35 Lys Gly Lys Asn Val Leu Glu Lys Ile Phe Asp Leu Lys Ile Gln Glu
115 120 125
Arg Val Ser Lys Pro Lys Ile Ser Trp Thr Cys Ile Asn Thr Thr Leu
130 135 140
Thr Cys Glu Val Met Asn Gly Thr Asp Pro Glu Leu Asn Leu Tyr Gln
40 145 150 155 160
Asp Gly Lys His Leu Lys Leu Ser Gln Arg Val Ile Thr His Lys Trp
165 170 175
Thr Thr Ser Leu Ser Ala Lys Phe Lys Cys Thr Ala Gly Asn Lys Val
180 185 190
45 Ser Lys Glu Ser Ser Val Glu Pro Val Ser Cys Pro Glu Lys Gly Leu
195 200 205
Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser
210 215 220

```

Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg
 225 230 235 240
 Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro
 245 250 255
 5 Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe
 260 265 270
 Ala Ala Tyr Arg Ser
 275
 <210> 69
 10 <211> 969
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> huCD200R-CD28Cys
 15 <400> 69
 atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggcctgctgc tgatcctgac catcttcctg 60
 gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcaccagaa ctacagcaag 120
 gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc 180
 tgccctccta tcgccctgcg gaacctgatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc 240
 20 cagcccagct gtaccaaggc ctaccggaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc 300
 accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga 360
 cccgtggcca tcaccacga cggctactac cgggtgcatca tggtcacccc cgatggcaac 420
 ttccaccggg gataccatct gcaggtgctc gtgacccccg aagtgacct gttccagaac 480
 cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgccgcca gatctcttgg 540
 25 atccccgagg gcgattgctg caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg 600
 aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtccac 660
 ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgctgcctg tgcctggcgc caagaagtcc 720
 gccaaactgt gtcccagccc tctgtttccc ggccctagca agcctttctg ggtgctgggtg 780
 gtggctcgag gcgctgctggc ctgctacagc ctgctggtca ccgtggcctt catcatcttt 840
 30 tgggtccgca gcaagcggag cagaggcggc cacagcgact acatgaacat gacccttaga 900
 cggcctggcc ccaccagaaa gcactaccag ccctacgccc ctccccggga ctttgccgcc 960
 tacagaagc 969
 <210> 70
 <211> 323
 35 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> huCD200R-CD28Cys
 <400> 70
 40 Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu
 1 5 10 15
 Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys
 20 25 30
 Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser
 35 40 45
 45 Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile
 50 55 60
 Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly

RU 2 755 227 C2

	65					70					75					80
	Gln	Pro	Ser	Cys	Thr	Lys	Ala	Tyr	Arg	Lys	Glu	Thr	Asn	Glu	Thr	Lys
					85					90						95
	Glu	Thr	Asn	Cys	Thr	Asp	Glu	Arg	Ile	Thr	Trp	Val	Ser	Arg	Pro	Asp
5				100					105					110		
	Gln	Asn	Ser	Asp	Leu	Gln	Ile	Arg	Pro	Val	Ala	Ile	Thr	His	Asp	Gly
				115					120					125		
	Tyr	Tyr	Arg	Cys	Ile	Met	Val	Thr	Pro	Asp	Gly	Asn	Phe	His	Arg	Gly
				130					135					140		
10	Tyr	His	Leu	Gln	Val	Leu	Val	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Leu	Phe	Gln	Asn
	145					150					155					160
	Arg	Asn	Arg	Thr	Ala	Val	Cys	Lys	Ala	Val	Ala	Gly	Lys	Pro	Ala	Ala
					165						170					175
	Gln	Ile	Ser	Trp	Ile	Pro	Glu	Gly	Asp	Cys	Ala	Thr	Lys	Gln	Glu	Tyr
15				180					185					190		
	Trp	Ser	Asn	Gly	Thr	Val	Thr	Val	Lys	Ser	Thr	Cys	His	Trp	Glu	Val
				195					200					205		
	His	Asn	Val	Ser	Thr	Val	Thr	Cys	His	Val	Ser	His	Leu	Thr	Gly	Asn
				210					215					220		
20	Lys	Ser	Leu	Tyr	Ile	Glu	Leu	Leu	Pro	Val	Pro	Gly	Ala	Lys	Lys	Ser
	225					230					235					240
	Ala	Lys	Leu	Cys	Pro	Ser	Pro	Leu	Phe	Pro	Gly	Pro	Ser	Lys	Pro	Phe
					245						250					255
	Trp	Val	Leu	Val	Val	Val	Gly	Gly	Val	Leu	Ala	Cys	Tyr	Ser	Leu	Leu
25				260					265					270		
	Val	Thr	Val	Ala	Phe	Ile	Ile	Phe	Trp	Val	Arg	Ser	Lys	Arg	Ser	Arg
				275					280					285		
	Gly	Gly	His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly	Pro
				290					295					300		
30	Thr	Arg	Lys	His	Tyr	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro	Pro	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala
	305					310						315				320
	Tyr	Arg	Ser													
	<210>	71														
	<211>	519														
35	<212>	ДНК														
	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
	<223>	целый внеклеточный домен huFas														
	<400>	71														
40	atgctgggca	tctggaccct	gctgcctctg	gtgctgacaa	gcgtggccag	actgagcagc										60
	aagagcggtga	acgcccaagt	gaccgcacatc	aacagcaagg	gcctggaact	gagaaagacc										120
	gtgaccaccg	tggaaaccca	gaacctggaa	ggcctgcacc	acgacggcca	gttctgccac										180
	aagccttgtc	cccctggcga	gcggaaggcc	agagactgta	ctgtgaacgg	cgacgagccc										2

<210> 72

<211> 173

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

5 <220>

<223> целый внеклеточный домен huFas

<400> 72

Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala
 1 5 10 15

10 Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser
 20 25 30

Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Thr Val Glu Thr Gln Asn
 35 40 45

15 Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro
 50 55 60

Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro
 65 70 75 80

Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His
 85 90 95

20 Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly
 100 105 110

Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg
 115 120 125

25 Cys Lys Pro Asn Phe Phe Cys Asn Ser Thr Val Cys Glu His Cys Asp
 130 135 140

Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr
 145 150 155 160

Ser Asn Thr Lys Cys Lys Glu Glu Gly Ser Arg Ser Asn
 165 170

30 <210> 73

<211> 498

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

35 <223> huFas внеклеточный домен -7aas

<400> 73

atgctgggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc 60

aagagcgtga acgcccaggt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc 120

gtgaccaccg tggaaaccca gaacctggaa ggcctgcacc acgacggcca gttctgccac 180

40 aagccttgct cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc 240

gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag 300

tgccggcggt gcagactgtg tgatgagggc cacggcctgg aagtggaaat caactgcacc 360

cggaccacga acaccaagtg cagatgcaag cccaacttct tctgcaacag caccgtgtgc 420

gagcactgcg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc 480

45 tccaacacaa agtgcaaa 498

<210> 74

<211> 166

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> huFas внеклеточный домен -7aas

<400> 74

5 Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala
1 5 10 15
Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser
20 25 30
10 Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Thr Val Glu Thr Gln Asn
35 40 45
Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro
50 55 60
Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro
65 70 75 80
15 Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His
85 90 95
Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly
100 105 110
Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg
20 115 120 125
Cys Lys Pro Asn Phe Phe Cys Asn Ser Thr Val Cys Glu His Cys Asp
130 135 140
Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr
145 150 155 160
25 Ser Asn Thr Lys Cys Lys
165

<210> 75

<211> 483

<212> ДНК

30 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> huFas внеклеточный домен -12aas

<400> 75

atgctgggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc 60
35 aagagcgtga acgccccagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc 120
gtgaccaccg tggaaaccca gaacctggaa ggcctgcacc acgacggcca gttctgccac 180
aagccttgctc cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc 240
gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggccactt cagcagcaag 300
tgccggcggt gcagactgtg tgatgagggc cacggcctgg aagtggaaat caactgcacc 360
40 cggacccaga acaccaagtg cagatgcaag cccaacttct tctgcaacag caccgtgtgc 420
gagcactgcg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagt caccctgacc 480
tcc 483

<210> 76

<211> 161

45 <212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> huFas внеклеточный домен -12aas

<400> 76

Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala
 1 5 10 15
 Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser
 20 25 30
 Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Thr Val Glu Thr Gln Asn
 35 40 45
 Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro
 50 55 60
 Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro
 65 70 75 80
 Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His
 85 90 95
 Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly
 100 105 110
 Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg
 115 120 125
 Cys Lys Pro Asn Phe Phe Cys Asn Ser Thr Val Cys Glu His Cys Asp
 130 135 140
 Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr
 145 150 155 160
 Ser

<210> 77

<211> 51

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> трансмембранный домен huFas

<400> 77

ctgggctggc tgtgcctcct gctgctgccc atccctctga tcgtgtgggt c

51

<210> 78

<211> 17

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> трансмембранный домен huFas

<400> 78

Leu Gly Trp Leu Cys Leu Leu Leu Leu Pro Ile Pro Leu Ile Val Trp
 1 5 10 15

Val

<210> 79

<211> 693

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> huFAStm-CD28

<400> 79

atgctgggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc

60

aagagcgtga acgcccgaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc 120
 gtgaccaccg tggaaaccca gaacctggaa ggctgacacc acgacggcca gttctgccac 180
 aagccttgct cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc 240
 gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag 300
 5 tgccggcggt gcagactgtg tgatgagggc cacggcctgg aagtggaaat caactgcacc 360
 cggacccaga acaccaagtg cagatgcaag cccaacttct tctgcaacag caccgtgtgc 420
 gagcactgcg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc 480
 tccaacacaa agtgcaaaga ggaaggcagc agaagcaacc tgggctggct gtgcctcctg 540
 ctgctgcccc tccctctgat cgtgtgggtc cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc 600
 10 gactacatga acatgacccc tagacggcct ggccccacca gaaagcacta ccagccctac 660
 gccctcccc gggactttgc cgcctacaga agc 693
 <210> 80
 <211> 231
 <212> PRT
 15 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> huFASTm-CD28
 <400> 80
 Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala
 20 1 5 10 15
 Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser
 20 25 30
 Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Thr Val Glu Thr Gln Asn
 35 40 45
 25 Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro
 50 55 60
 Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro
 65 70 75 80
 Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His
 30 85 90 95
 Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly
 100 105 110
 Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg
 115 120 125
 35 Cys Lys Pro Asn Phe Phe Cys Asn Ser Thr Val Cys Glu His Cys Asp
 130 135 140
 Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr
 145 150 155 160
 Ser Asn Thr Lys Cys Lys Glu Glu Gly Ser Arg Ser Asn Leu Gly Trp
 40 165 170 175
 Leu Cys Leu Leu Leu Leu Pro Ile Pro Leu Ile Val Trp Val Arg Ser
 180 185 190
 Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
 195 200 205
 45 Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
 210 215 220
 Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
 225 230

<210> 81
 <211> 723
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 5 <220>
 <223> huFAS-CD28tm
 <400> 81
 atgctgggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc 60
 aagagcgtga acgcccagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc 120
 10 gtgaccaccg tggaaaccca gaacctggaa ggcctgcacc acgacggcca gttctgccac 180
 aagccttgctc cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc 240
 gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag 300
 tgccggcggt gcagactgtg tgatgagggc cacggcctgg aagtggaaat caactgcacc 360
 cggaccacaga acaccaagtg cagatgcaag cccaacttct tctgcaacag caccgtgtgc 420
 15 gagcactgctg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc 480
 tccaacacaa agtgcaaaga ggaaggcagc agaagcaact tctgggtgct ggtgggtggtc 540
 ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg gtcaccgtgg ccttcatcat cttttgggtc 600
 cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc gactacatga acatgacccc tagacggcct 660
 ggccccacca gaaagcacta ccagccctac gccctcccc gggactttgc cgcctacaga 720
 20 agc 723
 <210> 82
 <211> 241
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 25 <220>
 <223> huFAS-CD28tm
 <400> 82
 Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala
 1 5 10 15
 30 Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser
 20 25 30
 Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Thr Val Glu Thr Gln Asn
 35 40 45
 Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro
 50 55 60
 35 Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro
 65 70 75 80
 Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His
 85 90 95
 40 Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly
 100 105 110
 Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg
 115 120 125
 Cys Lys Pro Asn Phe Phe Cys Asn Ser Thr Val Cys Glu His Cys Asp
 45 130 135 140
 Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr
 145 150 155 160
 Ser Asn Thr Lys Cys Lys Glu Glu Gly Ser Arg Ser Asn Phe Trp Val

RU 2 755 227 C2

					165					170						175			
	Leu	Val	Val	Val	Gly	Gly	Val	Leu	Ala	Cys	Tyr	Ser	Leu	Leu	Val	Thr			
					180				185					190					
	Val	Ala	Phe	Ile	Ile	Phe	Trp	Val	Arg	Ser	Lys	Arg	Ser	Arg	Gly	Gly			
5				195				200					205						
	His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly	Pro	Thr	Arg			
		210					215					220							
	Lys	His	Tyr	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro	Pro	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg			
	225					230					235					240			
10	Ser																		
	<210>	83																	
	<211>	759																	
	<212>	ДНК																	
	<213>	Искусственная последовательность																	
15	<220>																		
	<223>	huFAS-CD28Cys																	
	<400>	83																	
	atgctggggca	tctggaccct	gctgcctctg	gtgctgacaa	gcgtggccag	actgagcagc												60	
	aagagcgtga	acgcccgaagt	gaccgacatc	aacagcaagg	gcctggaact	gagaaagacc												120	
20	gtgaccaccg	tggaaaccca	gaacctggaa	ggcctgcacc	acgacggcca	gttctgccac												180	
	aagccttgtc	cccctggcga	gcggaaggcc	agagactgta	ctgtgaacgg	cgacgagccc												240	
	gactgcgtgc	cctgtcagga	aggcaaagag	tacaccgaca	aggccactt	cagcagcaag												300	
	tgccggcggt	gcagactgtg	tgatgagggc	cacggcctgg	aagtggaaat	caactgcacc												360	
	cggacccaga	acaccaagtg	cagatgcaag	cccaacttct	tctgcaacag	caccgtgtgc												420	
25	gagcactgcg	accctgttac	caagtgcgaa	cacggcatca	tcaaagagt	caccctgacc												480	
	tccaacacaa	agtgcaaaga	ggaaggcagc	agaagcaact	gtcccagccc	tctgtttccc												540	
	ggccctagca	agcctttctg	ggtgctggtg	gtggtcggag	gcgtgctggc	ctgctacagc												600	
	ctgctggtca	ccgtggcctt	catcatcttt	tgggtccgca	gcaagcggag	cagaggcggc												660	
	cacagcgact	acatgaacat	gacccctaga	cggcctggcc	ccaccagaaa	gcactaccag												720	
30	ccctacgccc	ctccccggga	ctttgccgcc	tacagaagc														759	
	<210>	84																	
	<211>	253																	
	<212>	PRT																	
	<213>	Искусственная последовательность																	
35	<220>																		
	<223>	huFAS-CD28Cys																	
	<400>	84																	
	Met	Leu	Gly	Ile	Trp	Thr	Leu	Leu	Pro	Leu	Val	Leu	Thr	Ser	Val	Ala</			

		85		90		95	
		Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly					
		100		105		110	
5		Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg					
		115		120		125	
		Cys Lys Pro Asn Phe Phe Cys Asn Ser Thr Val Cys Glu His Cys Asp					
		130		135		140	
		Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr					
		145		150		155	
10		Ser Asn Thr Lys Cys Lys Glu Glu Gly Ser Arg Ser Asn Cys Pro Ser					
		165		170		175	
		Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val					
		180		185		190	
15		Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile					
		195		200		205	
		Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr					
		210		215		220	
		Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln					
		225		230		235	
20		Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser					
		245		250			
		<210> 85					
		<211> 738					
		<212> ДНК					
25		<213> Искусственная последовательность					
		<220>					
		<223> huFAS-7aas-CD28Cys					
		<400> 85					
30		atgctgggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc	60				
		aagagcgtga acgccaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc	120				
		gtgaccaccg tggaaaccca gaacctggaa ggcctgcacc acgacggcca gttctgccac	180				
		aagccttgctc cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc	240				
		gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggccactt cagcagcaag	300				
		tgccggcggt gcagactgtg tgatgagggc cacggcctgg aagtggaaat caactgcacc	360				
35		cggacccaga acaccaagtg cagatgcaag cccaacttct tctgcaacag caccgtgtgc	420				
		gagcactgcg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc	480				
		tccaacacaa agtgcaaatg tcccagccct ctgtttcccg gccctagcaa gcctttctgg	540				
		gtgctggtgg tggtcggagg cgtgctggcc tgctacagcc tgctggtcac cgtggccttc	600				
		atcatctttt ggggtccgcag caagcggagc agaggcggcc acagcgacta catgaacatg	660				
40		acccttagac ggcctggccc caccagaaag cactaccagc cctacgcccc tccccgggac	720				
		tttgccgcct acagaagc	738				
		<210> 86					
		<211> 246					
		<212> PRT					
45		<213> Искусственная последовательность					
		<220>					
		<223> huFAS-7aas-CD28Cys					
		<400> 86					

RU 2755 227 C2

	Met	Leu	Gly	Ile	Trp	Thr	Leu	Leu	Pro	Leu	Val	Leu	Thr	Ser	Val	Ala	
	1				5					10					15		
	Arg	Leu	Ser	Ser	Lys	Ser	Val	Asn	Ala	Gln	Val	Thr	Asp	Ile	Asn	Ser	
					20				25					30			
5	Lys	Gly	Leu	Glu	Leu	Arg	Lys	Thr	Val	Thr	Thr	Val	Glu	Thr	Gln	Asn	
					35				40					45			
	Leu	Glu	Gly	Leu	His	His	Asp	Gly	Gln	Phe	Cys	His	Lys	Pro	Cys	Pro	
					50				55					60			
	Pro	Gly	Glu	Arg	Lys	Ala	Arg	Asp	Cys	Thr	Val	Asn	Gly	Asp	Glu	Pro	
10	65					70					75				80		
	Asp	Cys	Val	Pro	Cys	Gln	Glu	Gly	Lys	Glu	Tyr	Thr	Asp	Lys	Ala	His	
					85					90					95		
	Phe	Ser	Ser	Lys	Cys	Arg	Arg	Cys	Arg	Leu	Cys	Asp	Glu	Gly	His	Gly	
					100				105					110			
15	Leu	Glu	Val	Glu	Ile	Asn	Cys	Thr	Arg	Thr	Gln	Asn	Thr	Lys	Cys	Arg	
					115				120					125			
	Cys	Lys	Pro	Asn	Phe	Phe	Cys	Asn	Ser	Thr	Val	Cys	Glu	His	Cys	Asp	
					130				135					140			
	Pro	Cys	Thr	Lys	Cys	Glu	His	Gly	Ile	Ile	Lys	Glu	Cys	Thr	Leu	Thr	
20	145					150					155				160		
	Ser	Asn	Thr	Lys	Cys	Lys	Cys	Pro	Ser	Pro	Leu	Phe	Pro	Gly	Pro	Ser	
					165					170					175		
	Lys	Pro	Phe	Trp	Val	Leu	Val	Val	Val	Gly	Gly	Val	Leu	Ala	Cys	Tyr	
					180				185					190			
25	Ser	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Ala	Phe	Ile	Ile	Phe	Trp	Val	Arg	Ser	Lys	
					195				200					205			
	Arg	Ser	Arg	Gly	Gly	His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg	
					210				215					220			
	Pro	Gly	Pro	Thr	Arg	Lys	His	Tyr	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro	Pro	Arg	Asp	
30	225					230					235				240		
	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	Ser											
					245												
	<210> 87																
	<211> 723																
35	<212> ДНК																
	<213> Искусственная последовательность																
	<220>																
	<223> FAS-12aas-CD28Cys																
	<400> 87																
40	atgctgggca	tctggaccct	gctgcctctg	gtgctgacaa	gcgtggccag	actgagcagc										60	
	aagagcgtga	acgcccaagt	gaccgacatc	aacagcaagg	gcctggaact	gagaaagacc										120	
	gtgaccaccg	tggaaaccca	gaacctggaa	ggcctgcacc	acgacggcca	gttctgccac										180	
	aagccttgtc	cccctggcga	gcggaaggcc	agagactgta	ctgtgaacgg	cgacgagccc										240	
	gactgcgtgc	cctgtcagga	aggcaaagag	tacaccgaca	aggccactt	cagcagcaag										300	
45	tgccggcggt	gcagactgtg	tgatgagggc	cacggcctgg	aagtggaaat	caactgcacc										360	
	cggacccaga	acaccaagtg	cagatgcaag	cccaacttct	tctgcaacag	caccgtgtgc										420	
	gagcactgcg	accctgttac	caagtgcgaa	cacggcatca	tcaaagagt	caccctgacc										480	
	tcctgtccca	gccctctgtt	tcccggccct	agcaagcctt	tctgggtgct	ggtgggtgct										540	

```

ggagggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg gtcaccgtgg ccttcacatcat cttttgggtc 600
cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc gactacatga acatgacccc tagacggcct 660
ggccccacca gaaagcacta ccagccctac gcccctcccc gggactttgc cgcctacaga 720
agc 723
5 <210> 88
  <211> 241
  <212> PRT
  <213> Искусственная последовательность
  <220>
10 <223> FAS-12aas-CD28Cys
  <400> 88
Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala
  1 5 10 15
Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser
15 20 25 30
Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Thr Val Glu Thr Gln Asn
  35 40 45
Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro
  50 55 60
20 Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro
  65 70 75 80
Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His
  85 90 95
Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly
25 100 105 110
Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg
  115 120 125
Cys Lys Pro Asn Phe Phe Cys Asn Ser Thr Val Cys Glu His Cys Asp
  130 135 140
30 Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr
  145 150 155 160
Ser Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val
  165 170 175
Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr
35 180 185 190
Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly
  195 200 205
His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg
  210 215 220
40 Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg
  225 230 235 240
Ser
  <210> 89
  <211> 510
45 <212> ДНК
  <213> Искусственная последовательность
  <220>
  <223> huPD1 целый внеклеточный домен 2

```

<400> 89
atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60
cctggctggg ttctggacag ccccgacaga ccctggaacc cccctacatt ttcccctgcc 120
ctgctgggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180
5 gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240
gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc gggttcagagt gaccagctg 300
cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca 360
tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420
gagctgagag tgaccgagag aagggccgaa gtgcctaccg cccaccctag cccatctcca 480
10 agacctgccg gccagttcca gacactgggtc 510
<210> 90
<211> 170
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
15 <220>
<223> huPD1 целый внеклеточный домен 2
<400> 90
Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln
1 5 10 15
20 Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp
20 25 30
Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp
35 40 45
Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val
25 50 55 60
Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
65 70 75 80
Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg
85 90 95
30 Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg
100 105 110
Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
115 120 125
Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val
35 130 135 140
Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro
145 150 155 160
Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val
165 170
40 <210> 91
<211> 474
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
<220>
45 <223> huPD1 2 -12aas
<400> 91
atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60
cctggctggg ttctggacag ccccgacaga ccctggaacc cccctacatt ttcccctgcc 120

ctgctggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180
gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240
gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc gggttcagagt gaccagctg 300
cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcggggcca gacggaacga cagcggcaca 360
5 tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420
gagctgagag tgaccgagag aagggccgaa gtgcctaccg cccaccctag ccca 474
<210> 92
<211> 158
<212> PRT
10 <213> Искусственная последовательность
<220>
<223> huPD1 2 -12aas
<400> 92
Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln
15 1 5 10 15
Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp
20 20 25 30
Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp
35 40 45
20 Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val
50 55 60
Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
65 70 75 80
Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg
25 85 90 95
Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg
100 105 110
Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
115 120 125
30 Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val
130 135 140
Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro
145 150 155
<210> 93
35 <211> 465
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> huPD1 2 -15aas
40 <400> 93
atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60
cctggctggt ttctggacag ccccgacaga ccctggaacc cccctacatt ttcccctgcc 120
ctgctggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180
gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240
45 gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc gggttcagagt gaccagctg 300
cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcggggcca gacggaacga cagcggcaca 360
tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420
gagctgagag tgaccgagag aagggccgaa gtgcctaccg cccac 465

<210> 94
 <211> 155
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 5 <220>
 <223> huPD1 2 -15aas
 <400> 94
 Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln
 1 5 10 15
 10 Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp
 20 25 30
 Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp
 35 40 45
 Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val
 15 50 55 60
 Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
 65 70 75 80
 Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg
 85 90 95
 20 Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg
 100 105 110
 Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
 115 120 125
 Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val
 25 130 135 140
 Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His
 145 150 155
 <210> 95
 <211> 447
 30 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> huPD1 2 -21aas
 <400> 95
 35 atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60
 cctggctggg ttctggacag ccccgacaga ccctggaacc cccctacatt ttcccctgcc 120
 ctgctgggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180
 gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240
 gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc ggttcagagt gaccagctg 300
 40 cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca 360
 tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420
 gagctgagag tgaccgagag aagggcc 447
 <210> 96
 <211> 149
 45 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> huPD1 2 -21aas

<400> 96

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln
 1 5 10 15
 Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp
 20 25 30
 Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp
 35 40 45
 Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val
 50 55 60
 Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
 65 70 75 80
 Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg
 85 90 95
 Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg
 100 105 110
 Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
 115 120 125
 Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val
 130 135 140

Thr Glu Arg Arg Ala
 145

<210> 97

<211> 750

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> huPD1-CD28Cys

<400> 97

atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60
 cctggctggt ttctggacag ccccgacaga ccctggaacc cccctacatt ttcccctgcc 120
 ctgctggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180
 gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240
 gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc gggtcagagt gaccagctg 300
 cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca 360
 tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420
 gagctgagag tgaccgagag aagggccgaa gtgcctaccg cccaccctag cccatctcca 480
 agacctgccg gccagttcca gacactggtc tgtcccagcc ctctgtttcc cggccctagc 540
 aagcctttct ggggtgctggt ggtggtcgga ggcgtgctgg cctgctacag cctgctggtc 600
 accgtggcct tcatcatctt ttgggtccgc agcaagcgga gcagaggcgg ccacagcgac 660
 tacatgaaca tgacccttag acggcctggc cccaccagaa agcactacca gccctacgcc 720
 cctccccggg actttgccgc ctacagaagc 750

<210> 98

<211> 250

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> huPD1-CD28Cys

<400> 98

RU 2755 227 C2

	Met	Gln	Ile	Pro	Gln	Ala	Pro	Trp	Pro	Val	Val	Trp	Ala	Val	Leu	Gln
	1				5					10					15	
	Leu	Gly	Trp	Arg	Pro	Gly	Trp	Phe	Leu	Asp	Ser	Pro	Asp	Arg	Pro	Trp
				20					25					30		
5	Asn	Pro	Pro	Thr	Phe	Ser	Pro	Ala	Leu	Leu	Val	Val	Thr	Glu	Gly	Asp
		35						40					45			
	Asn	Ala	Thr	Phe	Thr	Cys	Ser	Phe	Ser	Asn	Thr	Ser	Glu	Ser	Phe	Val
		50					55					60				
	Leu	Asn	Trp	Tyr	Arg	Met	Ser	Pro	Ser	Asn	Gln	Thr	Asp	Lys	Leu	Ala
10	65				70					75					80	
	Ala	Phe	Pro	Glu	Asp	Arg	Ser	Gln	Pro	Gly	Gln	Asp	Cys	Arg	Phe	Arg
				85					90					95		
	Val	Thr	Gln	Leu	Pro	Asn	Gly	Arg	Asp	Phe	His	Met	Ser	Val	Val	Arg
		100						105						110		
15	Ala	Arg	Arg	Asn	Asp	Ser	Gly	Thr	Tyr	Leu	Cys	Gly	Ala	Ile	Ser	Leu
		115					120						125			
	Ala	Pro	Lys	Ala	Gln	Ile	Lys	Glu	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Leu	Arg	Val
		130					135						140			
	Thr	Glu	Arg	Arg	Ala	Glu	Val	Pro	Thr	Ala	His	Pro	Ser	Pro	Ser	Pro
20	145				150					155					160	
	Arg	Pro	Ala	Gly	Gln	Phe	Gln	Thr	Leu	Val	Cys	Pro	Ser	Pro	Leu	Phe
				165					170						175	
	Pro	Gly	Pro	Ser	Lys	Pro	Phe	Trp	Val	Leu	Val	Val	Val	Gly	Gly	Val
		180						185						190		
25	Leu	Ala	Cys	Tyr	Ser	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Ala	Phe	Ile	Ile	Phe	Trp
		195					200					205				
	Val	Arg	Ser	Lys	Arg	Ser	Arg	Gly	Gly	His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met
		210				215					220					
	Thr	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly	Pro	Thr	Arg	Lys	His	Tyr	Gln	Pro	Tyr	Ala
30	225				230					235					240	
	Pro	Pro	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	Ser						
				245					250							
	<210> 99															
	<211> 714															
35	<212> ДНК															
	<213> Искусственная последовательность															
	<220>															
	<223> huPD1-12aas-CD28Cys															
	<400> 99															
40	atgcagatcc	ctcaggcccc	ttggcctgtc	gtgtgggctg	tgctgcagct	gggatggcgg										60
	cctggctggg	ttctggacag	ccccgacaga	ccctggaacc	cccctacatt	ttccctgccc										120
	ctgctgggtc	tgaccgaggg	cgacaatgcc	accttcacct	gtagcttcag	caacaccagc										180
	gagagcttcg	tgctgaactg	gtacagaatg	agccccagca	accagaccga	caagctggcc										240
	gccttccccg	aggatagatc	tcagcccggc	caggactgcc	ggttcagagt	gaccagctg										300
45	cccaacggcc	gggacttcca	catgtctgtc	gtgcgggcca	gacggaacga	cagcggcaca										360
	tatctgtgcg	gcgccatcag	cctggccccc	aaggcccaga	tcaaagagag	cctgagagcc										420
	gagctgagag	tgaccgagag	aagggccgaa	gtgcctaccg	cccaccctag	cccatgtccc										480
	agccctctgt	ttcccggccc	tagcaagcct	ttctgggtgc	tggtgggtgg	cggaggcgtg										540

ctggcctgct acagcctgct ggtcaccgtg gccttcatca tcttttgggt ccgcagcaag 600
 cggagcagag gcggccacag cgactacatg aacatgaccc ctagacggcc tggccccacc 660
 agaaagcact accagcccta cgcccctccc cgggactttg ccgcctacag aagc 714
 <210> 100
 5 <211> 238
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> huPD1-12aas-CD28Cys
 10 <400> 100
 Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln
 1 5 10 15
 Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp
 20 25 30
 15 Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp
 35 40 45
 Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val
 50 55 60
 Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
 20 65 70 75 80
 Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg
 85 90 95
 Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg
 100 105 110
 25 Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
 115 120 125
 Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val
 130 135 140
 Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Cys Pro
 30 145 150 155 160
 Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val
 165 170 175
 Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe
 180 185 190
 35 Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp
 195 200 205
 Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr
 210 215 220
 Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
 40 225 230 235
 <210> 101
 <211> 705
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 45 <220>
 <223> huPD1-15aas-CD28Cys
 <400> 101
 atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60

cctggctggt ttctggacag ccccgacaga ccctggaacc cccctacatt ttcccctgcc 120
ctgctggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180
gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240
gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc gggtcagagt gaccagctg 300
5 cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca 360
tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420
gagctgagag tgaccgagag aagggccgaa gtgcctaccg cccactgtcc cagccctctg 480
tttcccggcc ctagcaagcc tttctgggtg ctggtggtgg tcggaggcgt gctggcctgc 540
tacagcctgc tggtcaccgt ggccttcac atcttttggg tccgcagcaa gcggagcaga 600
10 ggcggccaca gcgactacat gaacatgacc cctagacggc ctggccccac cagaaagcac 660
taccagccct acgcccctcc ccgggacttt gccgcctaca gaagc 705
<210> 102
<211> 235
<212> PRT
15 <213> Искусственная последовательность
<220>
<223> huPD1-15aas-CD28Cys
<400> 102
Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln
20 1 5 10 15
Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp
20 25 30
Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp
35 40 45
25 Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val
50 55 60
Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
65 70 75 80
Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg
30 85 90 95
Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg
100 105 110
Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
115 120 125
35 Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val
130 135 140
Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Cys Pro Ser Pro Leu
145 150 155 160
Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly
40 165 170 175
Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe
180 185 190
Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn
195 200 205
45 Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr
210 215 220
Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
225 230 235

<210> 103
 <211> 687
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 5 <220>
 <223> huPD1-21aas-CD28Cys
 <400> 103
 atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60
 cctggctggt ttctggacag ccccgacaga ccctggaacc cccctacatt ttcccctgcc 120
 10 ctgctggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180
 gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240
 gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc gggttcagagt gaccagctg 300
 cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcggggcca gacggaacga cagcggcaca 360
 tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccgaga tcaaagagag cctgagagcc 420
 15 gagctgagag tgaccgagag aagggcctgt cccagccctc tgtttcccg ccctagcaag 480
 cctttctggg tgctggtggt ggtcggaggc gtgctggcct gctacagcct gctggtcacc 540
 gtggccttca tcatcttttg ggtccgcagc aagcggagca gagcgggcca cagcgactac 600
 atgaacatga cccctagacg gcctggcccc accagaaagc actaccagcc ctacgccctt 660
 ccccgaggact ttgccgccta cagaagc 687
 20 <210> 104
 <211> 229
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 25 <223> huPD1-21aas-CD28Cys
 <400> 104
 Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln
 1 5 10 15
 Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp
 20 25 30
 30 Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp
 35 40 45
 Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val
 50 55 60
 35 Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
 65 70 75 80
 Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg
 85 90 95
 Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg
 100 105 110
 40 Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
 115 120 125
 Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val
 130 135 140
 45 Thr Glu Arg Arg Ala Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys
 145 150 155 160
 Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser
 165 170 175

Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg
180 185 190
Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro
195 200 205
5 Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe
210 215 220
Ala Ala Tyr Arg Ser
225
<210> 105
10 <211> 810
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> muCD2tm-CD28
15 <400> 105
atgaagtgca agttcctggg ctcatctctt ctgctgttca gcctgagcgg caagggcgcc 60
gactgcagag acaacgagac aatctggggc gtgctgggac acggcatcac cctgaacatc 120
cccaacttcc agatgaccga cgacatcgac gaagtgcgct ggggtgcgaag aggcacactg 180
gtggccgagt tcaagagaaa gaagccccca ttcctgatca gcgagacata cgaggtgctg 240
20 gccaacggca gcctgaagat caagaaaccc atgatgagaa acgacagcgg cacctacaac 300
gtgatggtgt acggcaccaa cggcattgacc agactggaaa aggacctgga cgtgcggatc 360
ctggaaagggt tgtccaagcc catgatccac tgggagtggc ccaacaccac cctgacctgt 420
gctgtgctgc agggcaccga ctctgagctg aagctgtacc agggcgagac actgctgaac 480
tccctgcccc agaaaaacat gagctaccag tggaccaacc tgaacgcccc cttcaagtgc 540
25 gaggccatca acccctgtgc caaagaaagc aagatggaag tcgtgaactg ccccgagaag 600
ggcctgagct tctacgtgac agtgggctgt ggagctggcg gactgctgct ggtgctgctg 660
gtggccctgt tcatcttctg catctgcaac agcagacgga acagaggcgg ccagagcgac 720
tacatgaaca tgacccccag aaggcctggc ctgaccagaa agccctacca gccttacgcc 780
cctgccagag acttcgccgc ctacagacct 810
30 <210> 106
<211> 270
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
35 <223> muCD2tm-CD28
<400> 106
Met Lys Cys Lys Phe Leu Gly Ser Phe Phe Leu Leu Phe Ser Leu Ser
1 5 10 15
Gly Lys Gly Ala Asp Cys Arg Asp Asn Glu Thr Ile Trp Gly Val Leu
40 20 25 30
Gly His Gly Ile Thr Leu Asn Ile Pro Asn Phe Gln Met Thr Asp Asp
35 40 45
Ile Asp Glu Val Arg Trp Val Arg Arg Gly Thr Leu Val Ala Glu Phe
50 55 60
45 Lys Arg Lys Lys Pro Pro Phe Leu Ile Ser Glu Thr Tyr Glu Val Leu
65 70 75 80
Ala Asn Gly Ser Leu Lys Ile Lys Lys Pro Met Met Arg Asn Asp Ser
85 90 95

RU 2755 227 C2

	Gly Thr Tyr Asn Val Met Val Tyr Gly Thr Asn Gly Met Thr Arg Leu	
	100	105 110
	Glu Lys Asp Leu Asp Val Arg Ile Leu Glu Arg Val Ser Lys Pro Met	
	115	120 125
5	Ile His Trp Glu Cys Pro Asn Thr Thr Leu Thr Cys Ala Val Leu Gln	
	130	135 140
	Gly Thr Asp Phe Glu Leu Lys Leu Tyr Gln Gly Glu Thr Leu Leu Asn	
	145	150 155 160
	Ser Leu Pro Gln Lys Asn Met Ser Tyr Gln Trp Thr Asn Leu Asn Ala	
10		165 170 175
	Pro Phe Lys Cys Glu Ala Ile Asn Pro Val Ser Lys Glu Ser Lys Met	
	180	185 190
	Glu Val Val Asn Cys Pro Glu Lys Gly Leu Ser Phe Tyr Val Thr Val	
	195	200 205
15	Gly Val Gly Ala Gly Gly Leu Leu Leu Val Leu Leu Val Ala Leu Phe	
	210	215 220
	Ile Phe Cys Ile Cys Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp	
	225	230 235 240
	Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr	
20		245 250 255
	Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro	
	260	265 270
	<210> 107	
	<211> 813	
25	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> muCD2-CD28tm	
	<400> 107	
30	atgaagtgca agttcctggg ctcatctcttc ctgctgttca gcctgagcgg caagggcgcc	60
	gactgcagag acaacgagac aatctggggc gtgctgggac acggcatcac cctgaacatc	120
	cccaacttcc agatgaccga cgacatcgac gaagtgcgct gggcgcaag aggcacactg	180
	gtggccgagt tcaagagaaa gaagccccca ttctgatca gcgagacata cgaggtgctg	240
	gccaacggca gcctgaagat caagaaaccc atgatgagaa acgacagcgg cacctacaac	300
35	gtgatggtgt acggcaccaa cggcattgacc agactggaaa aggacctgga cgtgcggatc	360
	ctggaaaggg tgtccaagcc catgatccac tgggagtgcc ccaacaccac cctgacctgt	420
	gctgtgctgc agggcaccga cttcgagctg aagctgtacc agggcgagac actgctgaac	480
	tccctgcccc agaaaaacat gagctaccag tggaccaacc tgaacgcccc cttcaagtgc	540
	gaggccatca accccgtgtc caaagaaaagc aagatggaag tcgtgaactg ccccgagaag	600
40	ggcctgagct tctgggcccct ggtggtggtg gccggcgtgc tgttttgtta cggcctgctc	660
	gtgaccgtgg ccctgtgcgt gatctggacc aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc	720
	gactacatga acatgacccc cagaaggcct ggctgacca gaaagcccta ccagccttac	780
	gccctgcca gagacttcgc cgcctacaga ccc	813
	<210> 108	
45	<211> 271	
	<212> PRT	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	

<223> muCD2-CD28tm

<400> 108

	Met	Lys	Cys	Lys	Phe	Leu	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Leu	Phe	Ser	Leu	Ser
	1				5					10					15	
5	Gly	Lys	Gly	Ala	Asp	Cys	Arg	Asp	Asn	Glu	Thr	Ile	Trp	Gly	Val	Leu
				20				25						30		
	Gly	His	Gly	Ile	Thr	Leu	Asn	Ile	Pro	Asn	Phe	Gln	Met	Thr	Asp	Asp
				35				40					45			
	Ile	Asp	Glu	Val	Arg	Trp	Val	Arg	Arg	Gly	Thr	Leu	Val	Ala	Glu	Phe
10		50					55					60				
	Lys	Arg	Lys	Lys	Pro	Pro	Phe	Leu	Ile	Ser	Glu	Thr	Tyr	Glu	Val	Leu
	65				70					75					80	
	Ala	Asn	Gly	Ser	Leu	Lys	Ile	Lys	Lys	Pro	Met	Met	Arg	Asn	Asp	Ser
				85						90				95		
15	Gly	Thr	Tyr	Asn	Val	Met	Val	Tyr	Gly	Thr	Asn	Gly	Met	Thr	Arg	Leu
				100					105					110		
	Glu	Lys	Asp	Leu	Asp	Val	Arg	Ile	Leu	Glu	Arg	Val	Ser	Lys	Pro	Met
				115				120					125			
	Ile	His	Trp	Glu	Cys	Pro	Asn	Thr	Thr	Leu	Thr	Cys	Ala	Val	Leu	Gln
20		130					135					140				
	Gly	Thr	Asp	Phe	Glu	Leu	Lys	Leu	Tyr	Gln	Gly	Glu	Thr	Leu	Leu	Asn
	145				150					155					160	
	Ser	Leu	Pro	Gln	Lys	Asn	Met	Ser	Tyr	Gln	Trp	Thr	Asn	Leu	Asn	Ala
				165					170				175			
25	Pro	Phe	Lys	Cys	Glu	Ala	Ile	Asn	Pro	Val	Ser	Lys	Glu	Ser	Lys	Met
				180					185				190			
	Glu	Val	Val	Asn	Cys	Pro	Glu	Lys	Gly	Leu	Ser	Phe	Trp	Ala	Leu	Val
				195				200					205			
	Val	Val	Ala	Gly	Val	Leu	Phe	Cys	Tyr	Gly	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Ala
30		210					215					220				
	Leu	Cys	Val	Ile	Trp	Thr	Asn	Ser	Arg	Arg	Asn	Arg	Gly	Gly	Gln	Ser
	225				230					235					240	
	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly	Leu	Thr	Arg	Lys	Pro
				245					250					255		
35	Tyr	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro	Ala	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	Pro	
				260					265					270		

<210> 109

<211> 840

<212> ДНК

40 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> muCD2-CD28Cys

<400> 109

	atgaagtgc	agttcctggg	ctcattcttc	ctgctgttca	gcctgagcgg	caagggcgcc	60
45	gactgcagag	acaacgagac	aatctggggc	gtgctgggcc	acggcatcac	cctgaacatc	120
	cccaacttcc	agatgaccga	cgacatcgac	gaagtgcgct	gggtgcgaag	aggcacactg	180
	gtggccgagt	tcaagagaaa	gaagcccca	ttcctgatca	gcgagacata	cgaggtgctg	240
	gccaacggca	gcctgaagat	caagaaaccc	atgatgagaa	acgacagcgg	cacctacaac	300

gtgatggtgt acggcaccaa cggcatgacc agactggaaa aggacctgga cgtgcggatc 360
ctggaaagggt tgtccaagcc catgatccac tgggagtgcc ccaacaccac cctgacctgt 420
gctgtgctgc agggcaccga cttcgagctg aagctgtacc agggcgagac actgctgaac 480
tccttgcccc agaaaaacat gagctaccag tggaccaacc tgaacgcccc cttcaagtgc 540
5 gaggccatca accccgtgtc caaagaaagc aagatggaag tctggaactg ccccgagaag 600
ggcctgagct gccacaccca gagcagcccc aagctgttct gggccctggt ggtggtggcc 660
ggcgtgctgt tttgttacgg cctgctcgtg accgtggccc tgtgcgtgat ctggaccaac 720
agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgac tacatgaaca tgacccccag aaggcctggc 780
ctgaccagaa agccctacca gccttacgcc cctgccagag acttcgccgc ctacagacct 840
10 <210> 110
<211> 280
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
15 <223> muCD2-CD28Cys
<400> 110
Met Lys Cys Lys Phe Leu Gly Ser Phe Phe Leu Leu Phe Ser Leu Ser
1 5 10 15
Gly Lys Gly Ala Asp Cys Arg Asp Asn Glu Thr Ile Trp Gly Val Leu
20 20 25 30
Gly His Gly Ile Thr Leu Asn Ile Pro Asn Phe Gln Met Thr Asp Asp
35 40 45
Ile Asp Glu Val Arg Trp Val Arg Arg Gly Thr Leu Val Ala Glu Phe
50 55 60
25 Lys Arg Lys Lys Pro Pro Phe Leu Ile Ser Glu Thr Tyr Glu Val Leu
65 70 75 80
Ala Asn Gly Ser Leu Lys Ile Lys Lys Pro Met Met Arg Asn Asp Ser
85 90 95
Gly Thr Tyr Asn Val Met Val Tyr Gly Thr Asn Gly Met Thr Arg Leu
30 100 105 110
Glu Lys Asp Leu Asp Val Arg Ile Leu Glu Arg Val Ser Lys Pro Met
115 120 125
Ile His Trp Glu Cys Pro Asn Thr Thr Leu Thr Cys Ala Val Leu Gln
130 135 140
35 Gly Thr Asp Phe Glu Leu Lys Leu Tyr Gln Gly Glu Thr Leu Leu Asn
145 150 155 160
Ser Leu Pro Gln Lys Asn Met Ser Tyr Gln Trp Thr Asn Leu Asn Ala
165 170 175
Pro Phe Lys Cys Glu Ala Ile Asn Pro Val Ser Lys Glu Ser Lys Met
40 180 185 190
Glu Val Val Asn Cys Pro Glu Lys Gly Leu Ser Cys His Thr Gln Ser
195 200 205
Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe
210 215 220
45 Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn
225 230 235 240
Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro
245 250 255

Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala
 260 265 270
 Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro
 275 280

5 <210> 111
 <211> 861
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 10 <223> muCD2-CD28Cys-41BBic
 <400> 111
 atgaagtgca agttcctggg ctcatctcttc ctgctgtttca gcctgagcgg caagggcgcc 60
 gactgcagag acaacgagac aatctggggc gtgctggggc acggcatcac cctgaacatc 120
 cccaacttcc agatgaccga cgacatcgac gaagtgcgct gggtgccaag aggcacactg 180
 15 gtggccgagt tcaagagaaa gaagccccc ttcctgatca gcgagacata cgagggtgctg 240
 gccaacggca gcctgaagat caagaaaccc atgatgagaa acgacagcgg cacctacaac 300
 gtgatggtgt acggcaccaa cggcattgacc agactggaaa aggacctgga cgtgcggatc 360
 ctggaaaggg tgtccaagcc catgatccac tgggagtggc ccaacaccac cctgacctgt 420
 gctgtgctgc agggcaccca ctctgagctg aagctgtacc agggcgagac actgctgaac 480
 20 tccctgcccc agaaaaacat gagctaccag tggaccaacc tgaacgcccc cttcaagtgc 540
 gaggccatca accccgtgtc caaagaaaagc aagatggaag tctgtgaactg ccccgagaag 600
 ggcctgagct gccacaccca gagcagcccc aagctgttct gggccctggg ggtggtggcc 660
 ggcgtgctgt tttgttacgg cctgctcgtg accgtggccc tgtgcgtgat ctggaccagc 720
 gtgctgaagt ggatcagaaa gaagtcccc cacatcttca agcagccctt caagaaaacc 780
 25 accggcgctg cccaggaaga ggacgcctgc agctgtagat gccctcagga agaagaaggc 840
 ggcgaggaggc gctacgagct g 861
 <210> 112
 <211> 287
 <212> PRT
 30 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> muCD2-CD28Cys-41BBic
 <400> 112
 Met Lys Cys Lys Phe Leu Gly Ser Phe Phe Leu Leu Phe Ser Leu Ser
 35 1 5 10 15
 Gly Lys Gly Ala Asp Cys Arg Asp Asn Glu Thr Ile Trp Gly Val Leu
 20 25 30
 Gly His Gly Ile Thr Leu Asn Ile Pro Asn Phe Gln Met Thr Asp Asp
 35 40 45
 40 Ile Asp Glu Val Arg Trp Val Arg Arg Gly Thr Leu Val Ala Glu Phe
 50 55 60
 Lys Arg Lys Lys Pro Pro Phe Leu Ile Ser Glu Thr Tyr Glu Val Leu
 65 70 75 80
 Ala Asn Gly Ser Leu Lys Ile Lys Lys Pro Met Met Arg Asn Asp Ser
 45 85 90 95
 Gly Thr Tyr Asn Val Met Val Tyr Gly Thr Asn Gly Met Thr Arg Leu
 100 105 110
 Glu Lys Asp Leu Asp Val Arg Ile Leu Glu Arg Val Ser Lys Pro Met

	115		120		125	
	Ile His Trp Glu Cys Pro Asn Thr Thr Leu Thr Cys Ala Val Leu Gln					
	130		135		140	
	Gly Thr Asp Phe Glu Leu Lys Leu Tyr Gln Gly Glu Thr Leu Leu Asn					
5	145		150		155	160
	Ser Leu Pro Gln Lys Asn Met Ser Tyr Gln Trp Thr Asn Leu Asn Ala					
		165		170		175
	Pro Phe Lys Cys Glu Ala Ile Asn Pro Val Ser Lys Glu Ser Lys Met					
		180		185		190
10	Glu Val Val Asn Cys Pro Glu Lys Gly Leu Ser Cys His Thr Gln Ser					
		195		200		205
	Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe					
		210		215		220
	Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Ser					
15	225		230		235	240
	Val Leu Lys Trp Ile Arg Lys Lys Phe Pro His Ile Phe Lys Gln Pro					
		245		250		255
	Phe Lys Lys Thr Thr Gly Ala Ala Gln Glu Glu Asp Ala Cys Ser Cys					
		260		265		270
20	Arg Cys Pro Gln Glu Glu Glu Gly Gly Gly Gly Gly Tyr Glu Leu					
		275		280		285
	<210> 113					
	<211> 1080					
	<212> ДНК					
25	<213> Искусственная последовательность					
	<220>					
	<223> muCD200R-3aas-CD28Cys tm ic-41BB					
	<400> 113					
	atgttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg	60				
30	gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accacccaga acaacagcag cagccccctg	120				
	acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggccttgct gtgctgtttc	180				
	agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgac acctggatca tcaagctgag aggcctgccc	240				
	agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga	300				
	aacatcacct gggccagcac ccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca	360				
35	ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag	420				
	aactacgac tgcaggtgct ggtgcccccc gaagtgacct acttccccga gaagaataga	480				
	agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac	540				
	ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgaccgt gcggagcacc	600				
	tgctactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc	660				
40	aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggcggaacc agtcctgcca caccagagc	720				
	agccccaaagc tgttctgggc cctggtggtg gtggccggcg tgctgttttg ttacggcctg	780				
	ctcgtgaccg tggccctgtg cgtgatctgg accaacagca gaagaaacag aggcggccag	840				
	agcgactaca tgaacatgac cccagaagg cctggcctga ccagaaagcc ctaccagcct	900				
	tacgccccctg ccagagactt cgccgcctac agacctagcg tgctgaagtg gatcagaaag	960				
45	aagttccccc acatcttcaa gcagcccttc aagaaaacca ccggcgctgc ccaggaagag	1020				
	gacgcctgca gctgtagatg ccctcaggaa gaagaaggcg gcggaggcgg ctacgagctg	1080				
	<210> 114					
	<211> 360					

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> muCD200R-3aas-CD28Cys tm ic-41BB

5 <400> 114

Met Phe Cys Phe Trp Arg Thr Ser Ala Leu Ala Val Leu Leu Ile Trp
1 5 10 15

Gly Val Phe Val Ala Gly Ser Ser Cys Thr Asp Lys Asn Gln Thr Thr
20 25 30

10 Gln Asn Asn Ser Ser Ser Pro Leu Thr Gln Val Asn Thr Thr Val Ser
35 40 45

Val Gln Ile Gly Thr Lys Ala Leu Leu Cys Cys Phe Ser Ile Pro Leu
50 55 60

Thr Lys Ala Val Leu Ile Thr Trp Ile Ile Lys Leu Arg Gly Leu Pro
15 65 70 75 80

Ser Cys Thr Ile Ala Tyr Lys Val Asp Thr Lys Thr Asn Glu Thr Ser
85 90 95

Cys Leu Gly Arg Asn Ile Thr Trp Ala Ser Thr Pro Asp His Ser Pro
100 105 110

20 Glu Leu Gln Ile Ser Ala Val Thr Leu Gln His Glu Gly Thr Tyr Thr
115 120 125

Cys Glu Thr Val Thr Pro Glu Gly Asn Phe Glu Lys Asn Tyr Asp Leu
130 135 140

Gln Val Leu Val Pro Pro Glu Val Thr Tyr Phe Pro Glu Lys Asn Arg
25 145 150 155 160

Ser Ala Val Cys Glu Ala Met Ala Gly Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser
165 170 175

Trp Ser Pro Asp Gly Asp Cys Val Thr Thr Ser Glu Ser His Ser Asn
180 185 190

30 Gly Thr Val Thr Val Arg Ser Thr Cys His Trp Glu Gln Asn Asn Val
195 200 205

Ser Asp Val Ser Cys Ile Val Ser His Leu Thr Gly Asn Gln Ser Leu
210 215 220

Ser Ile Glu Leu Ser Arg Gly Gly Asn Gln Ser Cys His Thr Gln Ser
35 225 230 235 240

Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe
245 250 255

Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn
260 265 270

40 Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro
275 280 285

Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala
290 295 300

Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro Ser Val Leu Lys Trp Ile Arg Lys
45 305 310 315 320

Lys Phe Pro His Ile Phe Lys Gln Pro Phe Lys Lys Thr Thr Gly Ala
325 330 335

Ala Gln Glu Glu Asp Ala Cys Ser Cys Arg Cys Pro Gln Glu Glu Glu

340 345 350
 Gly Gly Gly Gly Gly Tyr Glu Leu
 355 360
 <210> 115
 5 <211> 966
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> muCD200R-CD28Cys tm ic-41BB
 10 <400> 115
 atgtttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg 60
 gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accacccaga acaacagcag cagccccctg 120
 acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggccctgct gtgctgtttc 180
 agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgata acctggatca tcaagctgag aggcctgccc 240
 15 agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga 300
 aacatcacct gggccagcac ccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca 360
 ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag 420
 aactacgata tgcaggtgct ggtgcccccc gaagtgacct acttccccga gaagaataga 480
 agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac 540
 20 ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgaccgt gcggagcacc 600
 tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc 660
 aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggcgaaacc agtccctgag gccctgccac 720
 acccagagca gcccgaagct gttctgggcc ctggtggtgg tggccggcgt gctgttttgt 780
 tacggcctgc tcgtgaccgt ggccctgtgc gtgatctgga ccagcgtgct gaagtggatc 840
 25 agaaagaagt tccccacat cttcaagcag cccttcaaga aaaccaccgg cgctgccag 900
 gaagaggacg cctgcagctg tagatgccct caggaagaag aaggcggcgg aggcggctac 960
 gagctg 966
 <210> 116
 <211> 322
 30 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> muCD200R-CD28Cys tm ic-41BB
 <400> 116
 35 Met Phe Cys Phe Trp Arg Thr Ser Ala Leu Ala Val Leu Leu Ile Trp
 1 5 10 15
 Gly Val Phe Val Ala Gly Ser Ser Cys Thr Asp Lys Asn Gln Thr Thr
 20 25 30
 Gln Asn Asn Ser Ser Ser Pro Leu Thr Gln Val Asn Thr Thr Val Ser
 40 35 40 45
 Val Gln Ile Gly Thr Lys Ala Leu Leu Cys Cys Phe Ser Ile Pro Leu
 50 55 60
 Thr Lys Ala Val Leu Ile Thr Trp Ile Ile Lys Leu Arg Gly Leu Pro
 65 70 75 80
 45 Ser Cys Thr Ile Ala Tyr Lys Val Asp Thr Lys Thr Asn Glu Thr Ser
 85 90 95
 Cys Leu Gly Arg Asn Ile Thr Trp Ala Ser Thr Pro Asp His Ser Pro
 100 105 110

RU 2 755 227 C2

	Glu	Leu	Gln	Ile	Ser	Ala	Val	Thr	Leu	Gln	His	Glu	Gly	Thr	Tyr	Thr	
	Cys	Glu	Thr	Val	Thr	Pro	Glu	Gly	Asn	Phe	Glu	Lys	Asn	Tyr	Asp	Leu	
5	Gln	Val	Leu	Val	Pro	Pro	Glu	Val	Thr	Tyr	Phe	Pro	Glu	Lys	Asn	Arg	
	Ser	Ala	Val	Cys	Glu	Ala	Met	Ala	Gly	Lys	Pro	Ala	Ala	Gln	Ile	Ser	
	Trp	Ser	Pro	Asp	Gly	Asp	Cys	Val	Thr	Thr	Ser	Glu	Ser	His	Ser	Asn	
10																	
	Gly	Thr	Val	Thr	Val	Arg	Ser	Thr	Cys	His	Trp	Glu	Gln	Asn	Asn	Val	
	Ser	Asp	Val	Ser	Cys	Ile	Val	Ser	His	Leu	Thr	Gly	Asn	Gln	Ser	Leu	
15	Ser	Ile	Glu	Leu	Ser	Arg	Gly	Gly	Asn	Gln	Ser	Leu	Arg	Pro	Cys	His	
	Thr	Gln	Ser	Ser	Pro	Lys	Leu	Phe	Trp	Ala	Leu	Val	Val	Val	Ala	Gly	
	Val	Leu	Phe	Cys	Tyr	Gly	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Ala	Leu	Cys	Val	Ile	
20																	
	Trp	Thr	Ser	Val	Leu	Lys	Trp	Ile	Arg	Lys	Lys	Phe	Pro	His	Ile	Phe	
	Lys	Gln	Pro	Phe	Lys	Lys	Thr	Thr	Gly	Ala	Ala	Gln	Glu	Glu	Asp	Ala	
25	Cys	Ser	Cys	Arg	Cys	Pro	Gln	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Tyr	
	<210>	117															
	<211>	681															
30	<212>	ДНК															
	<213>	Искусственная последовательность															
	<220>																
	<223>	muFas tm-CD28															
	<400>	117															
35	atgctgtgga	tctgggccgt	gctgcctctg	gtgctggctg	gatcacagct	gagagtgcac											60
	acccagggca	ccaacagcat	cagcgagagc	ctgaagctga	gaagaagagt	gcgcgagaca											120
	gacaagaact	gcagcgaggg	cctgtaccag	ggcggaccct	tctgctgtca	gccttgccag											180
	cccggcaaga	aaaaggtgga	agattgcaag	atgaacggcg	gcaccacctac	ctgcgccctt											240
	tgtacagagg	gcaaagagta	catggacaag	aaccactacg	ccgacaagtg	cagacgggtgc											300
40	accctgtgcg	acgaggaaca	cggcctggaa	gtggaaacaa	actgcaccct	gaccagaac											360
	accaagtgca	agtgcaaacc	cgacttctac	tgcgacagcc	ccggctgcga	gactgcgtc											420
	agatgtgcct	cttgcgagca	cggcaccctg	gaaccttgta	ccgccaccag	caacaccaac											480
	tgccggaagc	agagccccag	aaacagactg</														

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> muFas tm-CD28

5 <400> 118

```

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

```

35 225

<210> 119

<211> 711

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

40 <220>

<223> muFas-CD28tm

<400> 119

```

atgctgtgga tctgggccgt gctgcctctg gtgctggctg gatcacagct gagagtgcac      60
accagaggca ccaacagcat cagcgagagc ctgaagctga gaagaagagt gcgcgagaca      120
gacaagaact gcagcgaggg cctgtaccag ggcgaccct tctgctgtca gccttgccag      180
cccggaaga aaaaggtgga agattgcaag atgaacggcg gcaccctac ctgcgccct      240
tgtacagagg gcaaagagta catggacaag aaccactacg ccgacaagtg cagacggtgc      300
accctgtgcg acgaggaaca cggcctggaa gtggaaacaa actgcaccct gaccagaac      360

```

accaagtgcg agtgcaaacc cgacttctac tgcgacagcc ccggctgcga gcactgcgtc 420
 agatgtgcct cttgcgagca cggcaccctg gaaccttgta ccgccaccag caacaccaac 480
 tgccggaagc agagccccag aaacagattc tgggccctgg tgggtggtggc cggcgtgctg 540
 ttttgttacg gcctgctcgt gaccgtggcc ctgtgctgta tctggaccaa cagcagaaga 600
 5 aacagaggcg gccagagcga ctacatgaac atgaccccca gaaggcctgg cctgaccaga 660
 aagccctacc agccttacgc ccctgccaga gacttcgccg cctacagacc t 711
 <210> 120
 <211> 237
 <212> PRT
 10 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> muFas-CD28tm
 <400> 120
 Met Leu Trp Ile Trp Ala Val Leu Pro Leu Val Leu Ala Gly Ser Gln
 15 1 5 10 15
 Leu Arg Val His Thr Gln Gly Thr Asn Ser Ile Ser Glu Ser Leu Lys
 20 20 25 30
 Leu Arg Arg Arg Val Arg Glu Thr Asp Lys Asn Cys Ser Glu Gly Leu
 35 40 45
 20 Tyr Gln Gly Gly Pro Phe Cys Cys Gln Pro Cys Gln Pro Gly Lys Lys
 50 55 60
 Lys Val Glu Asp Cys Lys Met Asn Gly Gly Thr Pro Thr Cys Ala Pro
 65 70 75 80
 Cys Thr Glu Gly Lys Glu Tyr Met Asp Lys Asn His Tyr Ala Asp Lys
 25 85 90 95
 Cys Arg Arg Cys Thr Leu Cys Asp Glu Glu His Gly Leu Glu Val Glu
 100 105 110
 Thr Asn Cys Thr Leu Thr Gln Asn Thr Lys Cys Lys Cys Lys Pro Asp
 115 120 125
 30 Phe Tyr Cys Asp Ser Pro Gly Cys Glu His Cys Val Arg Cys Ala Ser
 130 135 140
 Cys Glu His Gly Thr Leu Glu Pro Cys Thr Ala Thr Ser Asn Thr Asn
 145 150 155 160
 Cys Arg Lys Gln Ser Pro Arg Asn Arg Phe Trp Ala Leu Val Val Val
 35 165 170 175
 Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys
 180 185 190
 Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr
 195 200 205
 40 Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln
 210 215 220
 Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro
 225 230 235
 <210> 121
 45 <211> 738
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность
 <220>

<223> muFas-CD28Cys

<400> 121

	atgctgtgga tctggggccgt gctgcctctg gtgctggctg gatcacagct gagagtgcac	60
	accagaggca ccaacagcat cagcgagagc ctgaagctga gaagaagagt gcgagagaca	120
5	gacaagaact gcagcgaggg cctgtaccag ggcgaccct tctgctgtca gccttgccag	180
	cccggaaga aaaaggtgga agattgcaag atgaacggcg gcacccctac ctgcgccct	240
	tgtacagagg gcaaagagta catggacaag aaccactacg ccgacaagtg cagacggtgc	300
	accctgtgcg acgaggaaca cggcctggaa gtggaaacaa actgcaccct gaccagaac	360
	accaagtgc aagtcaaacc cgacttctac tgcgacagcc ccggctgcga gactgcgtc	420
10	agatgtgcct cttgcgagca cggcaccctg gaaccttgta ccgccaccag caacaccaac	480
	tgccggaagc agagccccag aaacagatgc cacaccaga gcagcccaa gctgttctgg	540
	gccctggtgg tgggtggccg cgtgctgttt tgttacggcc tgctcgtgac cgtggccctg	600
	tgcgtgatct ggaccaacag cagaagaaac agaggcggcc agagcgacta catgaacatg	660
	acccccagaa ggctggcct gaccagaaag ccctaccagc cttacgcccc tgccagagac	720
15	ttcgccgcct acagacct	738

<210> 122

<211> 246

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

20 <220>

<223> muFas-CD28Cys

<400> 122

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

Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg
210 215 220
Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp
225 230 235 240
5 Phe Ala Ala Tyr Arg Pro
245
<210> 123
<211> 711
<212> ДНК
10 <213> Искусственная последовательность
<220>
<223> muFas-9aas-CD28Cys
<400> 123
atgctgtgga tctggggccgt gctgcctctg gtgctggctg gatcacagct gagagtgcac 60
15 acccaggggca ccaacagcat cagcgagagc ctgaagctga gaagaagagt gcgcgagaca 120
gacaagaact gcagcgaggg cctgtaccag ggcggaccct tctgctgtca gccttgccag 180
cccggcaaga aaaagggtgga agattgcaag atgaacggcg gcacccctac ctgcgcccct 240
tgtacagagg gcaaagagta catggacaag aaccactacg ccgacaagtg cagacggtgc 300
accctgtgcg acgaggaaca cggcctggaa gtggaaacaa actgcaccct gaccagaac 360
20 accaagtgca agtgcaaac cgacttctac tgcgacagcc ccggctgcca gactgctgc 420
agatgtgcct cttgagagca cggcaccctg gaaccttgta ccgccaccag caacaccaac 480
tgccacaccc agagcagccc caagctgttc tgggcccctg tgggtggtggc cggcgtgctg 540
ttttgttacg gcctgctcgt gaccgtggcc ctgtgcgtga tctggaccaa cagcagaaga 600
aacagaggcg gccagagcga ctacatgaac atgaccccca gaaggcctgg cctgaccaga 660
25 aagccctacc agccttacgc ccctgccaga gacttcgccg cctacagacc t 711
<210> 124
<211> 237
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
30 <220>
<223> muFas-9aas-CD28Cys
<400> 124
Met Leu Trp Ile Trp Ala Val Leu Pro Leu Val Leu Ala Gly Ser Gln
1 5 10 15
35 Leu Arg Val His Thr Gln Gly Thr Asn Ser Ile Ser Glu Ser Leu Lys
20 25 30
Leu Arg Arg Arg Val Arg Glu Thr Asp Lys Asn Cys Ser Glu Gly Leu
35 40 45
Tyr Gln Gly Gly Pro Phe Cys Cys Gln Pro Cys Gln Pro Gly Lys Lys
40 50 55 60
Lys Val Glu Asp Cys Lys Met Asn Gly Gly Thr Pro Thr Cys Ala Pro
65 70 75 80
Cys Thr Glu Gly Lys Glu Tyr Met Asp Lys Asn His Tyr Ala Asp Lys
85 90 95
45 Cys Arg Arg Cys Thr Leu Cys Asp Glu Glu His Gly Leu Glu Val Glu
100 105 110
Thr Asn Cys Thr Leu Thr Gln Asn Thr Lys Cys Lys Cys Lys Pro Asp
115 120 125

Phe Tyr Cys Asp Ser Pro Gly Cys Glu His Cys Val Arg Cys Ala Ser
130 135 140

Cys Glu His Gly Thr Leu Glu Pro Cys Thr Ala Thr Ser Asn Thr Asn
145 150 155 160

5 Cys His Thr Gln Ser Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val
165 170 175

Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys
180 185 190

10 Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr
195 200 205

Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln
210 215 220

Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro
225 230 235

15 <210> 125
<211> 693
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
<220>

20 <223> muPD1tm-CD28
<400> 125

atgtgggtgc gacaggtgcc ctggtctttc acctgggctg tgctgcagct gagctggcag 60
tctggctggc tgctggaagt gcctaacggc ccttgagagaa gcctgacctt ctaccccgtc 120
tggtgtagccg tgtctgaggg cgccaacgcc accttcacct gtagcctgag caattggagc 180
25 gaggacctga tgctgaactg gaacagactg agccccagca accagaccga gaagcaggcc 240
gccttctgca acggcctgtc tcagcctgtg caggacgcca gattccagat catccagctg 300
cccaacagac acgacttcca catgaacatc ctggacacca gaagaaacga cagcggcatc 360
tacctgtgcg gcgccatcag cctgcacccc aaggccaaga tcgaggaatc tcctggcgcc 420
gagctggctc tgaccgagag aatcctggaa acctccacca gataccccag cccagccct 480
30 aagcccgagg gcagatttca gggcatggtc atcggcatca tgagcgccct cgtgggcatc 540
ccagtgttgc tgctgctggc ctggggccctg aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc 600
gactacatga acatgacccc cagaaggcct ggcctgacca gaaagcccta ccagccttac 660
gcccctgcca gagacttcgc cgcctacaga cct 693

<210> 126

35 <211> 231
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>

<223> muPD1tm-CD28

40 <400> 126

Met Trp Val Arg Gln Val Pro Trp Ser Phe Thr Trp Ala Val Leu Gln
1 5 10 15

Leu Ser Trp Gln Ser Gly Trp Leu Leu Glu Val Pro Asn Gly Pro Trp
20 25 30

45 Arg Ser Leu Thr Phe Tyr Pro Ala Trp Leu Thr Val Ser Glu Gly Ala
35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Leu Ser Asn Trp Ser Glu Asp Leu Met
50 55 60

	Leu Asn Trp Asn Arg Leu Ser Pro Ser Asn Gln Thr Glu Lys Gln Ala	
	65	70 75 80
	Ala Phe Cys Asn Gly Leu Ser Gln Pro Val Gln Asp Ala Arg Phe Gln	
		85 90 95
5	Ile Ile Gln Leu Pro Asn Arg His Asp Phe His Met Asn Ile Leu Asp	
		100 105 110
	Thr Arg Arg Asn Asp Ser Gly Ile Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu	
		115 120 125
	His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu Ser Pro Gly Ala Glu Leu Val Val	
10		130 135 140
	Thr Glu Arg Ile Leu Glu Thr Ser Thr Arg Tyr Pro Ser Pro Ser Pro	
	145	150 155 160
	Lys Pro Glu Gly Arg Phe Gln Gly Met Val Ile Gly Ile Met Ser Ala	
		165 170 175
15	Leu Val Gly Ile Pro Val Leu Leu Leu Leu Ala Trp Ala Leu Asn Ser	
		180 185 190
	Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg	
		195 200 205
	Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg	
20		210 215 220
	Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro	
	225	230
	<210> 127	
	<211> 711	
25	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> muPD1-CD28tm	
	<400> 127	
30	atgtgggtgc gacaggtgcc ctggtctttc acctgggctg tgctgcagct gagctggcag	60
	tctggctggc tgctggaagt gcctaacggc ccttgagaaa gcctgacctt ctaccccgt	120
	tggtgaccg tgtctgaggg cgccaacgcc accttcacct gtagcctgag caattggagc	180
	gaggacctga tgctgaactg gaacagactg agccccagca accagaccga gaagcaggcc	240
	gccttctgca acggcctgtc tcagcctgtg caggacgcca gattccagat catccagctg	300
35	cccaacagac acgacttcca catgaacatc ctggacacca gaagaaacga cagcggcatc	360
	tacctgtgcg gcgccatcag cctgcacccc aaggccaaga tcgaggaatc tcctggcgcc	420
	gagctgggtcg tgaccgagag aatcctggaa acctccacca gataccccag cccagccct	480
	aagcccgagg gcagatttca gggcatgttc tgggacctg tggtggtggc cggcgtgctg	540
	ttttgttacg gcctgctcgt gaccgtggcc ctgtgcgtga tctggaccaa cagcagaaga	600
40	aacagaggcg gccagagcga ctacatgaac atgaccccca gaaggcctgg cctgaccaga	660
	aagccctacc agccttacgc ccctgccaga gacttcgccg cctacagacc t	711
	<210> 128	
	<211> 237	
	<212> PRT	
45	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> muPD1-CD28tm	
	<400> 128	

	Met	Trp	Val	Arg	Gln	Val	Pro	Trp	Ser	Phe	Thr	Trp	Ala	Val	Leu	Gln
	1				5					10					15	
	Leu	Ser	Trp	Gln	Ser	Gly	Trp	Leu	Leu	Glu	Val	Pro	Asn	Gly	Pro	Trp
				20					25					30		
5	Arg	Ser	Leu	Thr	Phe	Tyr	Pro	Ala	Trp	Leu	Thr	Val	Ser	Glu	Gly	Ala
			35					40					45			
	Asn	Ala	Thr	Phe	Thr	Cys	Ser	Leu	Ser	Asn	Trp	Ser	Glu	Asp	Leu	Met
		50					55					60				
	Leu	Asn	Trp	Asn	Arg	Leu	Ser	Pro	Ser	Asn	Gln	Thr	Glu	Lys	Gln	Ala
10	65					70					75					80
	Ala	Phe	Cys	Asn	Gly	Leu	Ser	Gln	Pro	Val	Gln	Asp	Ala	Arg	Phe	Gln
				85						90					95	
	Ile	Ile	Gln	Leu	Pro	Asn	Arg	His	Asp	Phe	His	Met	Asn	Ile	Leu	Asp
				100					105					110		
15	Thr	Arg	Arg	Asn	Asp	Ser	Gly	Ile	Tyr	Leu	Cys	Gly	Ala	Ile	Ser	Leu
			115				120						125			
	His	Pro	Lys	Ala	Lys	Ile	Glu	Glu	Ser	Pro	Gly	Ala	Glu	Leu	Val	Val
		130					135					140				
	Thr	Glu	Arg	Ile	Leu	Glu	Thr	Ser	Thr	Arg	Tyr	Pro	Ser	Pro	Ser	Pro
20	145					150					155					160
	Lys	Pro	Glu	Gly	Arg	Phe	Gln	Gly	Met	Phe	Trp	Ala	Leu	Val	Val	Val
				165						170					175	
	Ala	Gly	Val	Leu	Phe	Cys	Tyr	Gly	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Ala	Leu	Cys
			180						185				190			
25	Val	Ile	Trp	Thr	Asn	Ser	Arg	Arg	Asn	Arg	Gly	Gly	Gln	Ser	Asp	Tyr
		195					200						205			
	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly	Leu	Thr	Arg	Lys	Pro	Tyr	Gln
		210					215					220				
	Pro	Tyr	Ala	Pro	Ala	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	Pro			
30	225					230					235					
	<210>	129														
	<211>	738														
	<212>	ДНК														
	<213>	Искусственная последовательность														
35	<220>															
	<223>	muPD1-CD28Cys														
	<400>	129														
	atgtgggtgc	gacaggtgcc	ctgggtctttc	acctgggctg	tgctgcagct	gagctggcag										60
	tctggctggc	tgctggaagt	gcctaacggc	ccttgagagaa	gcctgacctt	ctaccccgt										120
40	tggtgaccg	tgtctgaggg	cgccaacgcc	accttcacct	gtagcctgag	caattggagc										180
	gaggacctga	tgctgaactg	gaacagactg	agccccagca	accagaccga	gaagcaggcc										240
	gccttctgca	acggcctgtc	tcagcctgtg	caggacgcc	gattccagat	catccagctg										300
	cccaacagac	acgacttcca	catgaacatc	ctggacacca	gaagaaacga	cagcggcatc										360
	tacctgtgcg	gcgccatcag	cctgcacccc	aaggccaaga	tcgaggaatc	tcttggcgcc										420
45	gagctggtcg	tgaccgagag	aatcctggaa	acctccacca	gataccccag	ccccagccct										480
	aagcccagag	gcagatttca	gggcatgtgc	cacaccacga	gcagccccaa	gctgttctgg										540
	gctctggtgg	tggtggccgg	cgtgctgttt	tgttacggcc	tgctcgtgac	cgtggccctg										600
	tgcgatgatct	ggaccaacag	cagacggaac	agaggcggcc	agagcgacta	catgaatatg										660

```

acccccagaa ggccctggcct gaccagaaaag ccctaccagc cttacgcccc tgccagagac 720
ttcgccgcct acagacct 738
<210> 130
<211> 246
5 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> muPD1-CD28Cys
<400> 130
10 Met Trp Val Arg Gln Val Pro Trp Ser Phe Thr Trp Ala Val Leu Gln
1 5 10 15
Leu Ser Trp Gln Ser Gly Trp Leu Leu Glu Val Pro Asn Gly Pro Trp
20 25 30
Arg Ser Leu Thr Phe Tyr Pro Ala Trp Leu Thr Val Ser Glu Gly Ala
15 35 40 45
Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Leu Ser Asn Trp Ser Glu Asp Leu Met
50 55 60
Leu Asn Trp Asn Arg Leu Ser Pro Ser Asn Gln Thr Glu Lys Gln Ala
65 70 75 80
20 Ala Phe Cys Asn Gly Leu Ser Gln Pro Val Gln Asp Ala Arg Phe Gln
85 90 95
Ile Ile Gln Leu Pro Asn Arg His Asp Phe His Met Asn Ile Leu Asp
100 105 110
Thr Arg Arg Asn Asp Ser Gly Ile Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
25 115 120 125
His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu Ser Pro Gly Ala Glu Leu Val Val
130 135 140
Thr Glu Arg Ile Leu Glu Thr Ser Thr Arg Tyr Pro Ser Pro Ser Pro
145 150 155 160
30 Lys Pro Glu Gly Arg Phe Gln Gly Met Cys His Thr Gln Ser Ser Pro
165 170 175
Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr
180 185 190
Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg
35 195 200 205
Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg
210 215 220
Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp
225 230 235 240
40 Phe Ala Ala Tyr Arg Pro
245
<210> 131
<211> 711
<212> ДНК
45 <213> Искусственная последовательность
<220>
<223> muPD1-9aas-CD28Cys
<400> 131

```

atgtgggtgc gacaggtgcc ctggtctttc acctgggctg tgctgcagct gagctggcag 60
tctggctggc tgctggaagt gcctaacggc ccttgagaa gcctgacctt ctaccccgct 120
tggtgaccg tgtctgaggg cgccaacgcc accttcacct gtagcctgag caattggagc 180
gaggacctga tgctgaactg gaacagactg agccccagca accagaccga gaagcaggcc 240
5 gccttctgca acggcctgtc tcagcctgtg caggacgcca gattccagat catccagctg 300
cccaacagac acgacttcca catgaacatc ctggacacca gaagaaacga cagcggcatc 360
tacctgtgcg gcgccatcag cctgcacccc aaggccaaga tcgaggaatc tcctggcgcc 420
gagctggtcg tgaccgagag aatcctggaa acctccacca gataccccag cccagccct 480
tgccacaccc agagcagccc caagctgttc tgggctctgg tgggtggtggc cggcgtgctg 540
10 ttttgttacg gcctgctcgt gaccgtggcc ctgtgcgtga tctggacca cagcagacgg 600
aacagaggcg gccagagcga ctacatgaat atgacccca gaaggcctgg cctgaccaga 660
aagccctacc agccttacgc ccctgccaga gacttcgccg cctacagacc t 711
<210> 132
<211> 237
15 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> muPD1-9aas-CD28Cys
<400> 132
20 Met Trp Val Arg Gln Val Pro Trp Ser Phe Thr Trp Ala Val Leu Gln
1 5 10 15
Leu Ser Trp Gln Ser Gly Trp Leu Leu Glu Val Pro Asn Gly Pro Trp
20 25 30
Arg Ser Leu Thr Phe Tyr Pro Ala Trp Leu Thr Val Ser Glu Gly Ala
25 35 40 45
Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Leu Ser Asn Trp Ser Glu Asp Leu Met
50 55 60
Leu Asn Trp Asn Arg Leu Ser Pro Ser Asn Gln Thr Glu Lys Gln Ala
65 70 75 80
30 Ala Phe Cys Asn Gly Leu Ser Gln Pro Val Gln Asp Ala Arg Phe Gln
85 90 95
Ile Ile Gln Leu Pro Asn Arg His Asp Phe His Met Asn Ile Leu Asp
100 105 110
Thr Arg Arg Asn Asp Ser Gly Ile Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
35 115 120 125
His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu Ser Pro Gly Ala Glu Leu Val Val
130 135 140
Thr Glu Arg Ile Leu Glu Thr Ser Thr Arg Tyr Pro Ser Pro Ser Pro
145 150 155 160
40 Cys His Thr Gln Ser Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val
165 170 175
Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys
180 185 190
Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr
45 195 200 205
Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln
210 215 220
Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

225 230 235

<210> 133

<211> 675

<212> ДНК

5 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> muPD1-21aas-CD28Cys

<400> 133

atgtgggtgc gacaggtgcc ctggtctttc acctgggctg tgctgcagct gagctggcag 60

10 tctggctggc tgctggaagt gcctaacggc ccttgagaa gcctgacctt ctaccccgct 120

tggtgaccg tgtctgaggg cgccaacgcc accttcacct gtagcctgag caattggagc 180

gaggacctga tgctgaactg gaacagactg agccccagca accagaccga gaagcaggcc 240

gccttctgca acggcctgtc tcagcctgtg caggacgcca gattccagat catccagctg 300

cccaacagac acgacttcca catgaacatc ctggacacca gaagaaacga cagcggcatc 360

15 tacctgtgcg gcgccatcag cctgcacccc aaggccaaga tcgaggaatc tcctggcgcc 420

gagctggtcg tgaccgagag aatctgccac acccagagca gcccgaagct gttctgggct 480

ctggtggtgg tggccggcgt gctgttttgt tacggcctgc tcgtgaccgt ggccctgtgc 540

gtgatctgga ccaacagcag acggaacaga ggcgccaga gcgactacat gaatatgacc 600

cccagaaggc ctggcctgac cagaaaagccc taccagcctt acgcccctgc cagagacttc 660

20 gccgcctaca gacct 675

<210> 134

<211> 225

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

25 <220>

<223> muPD1-21aas-CD28Cys

<400> 134

Met Trp Val Arg Gln Val Pro Trp Ser Phe Thr Trp Ala Val Leu Gln

1 5 10 15

30 Leu Ser Trp Gln Ser Gly Trp Leu Leu Glu Val Pro Asn Gly Pro Trp

20 25 30

Arg Ser Leu Thr Phe Tyr Pro Ala Trp Leu Thr Val Ser Glu Gly Ala

35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Leu Ser Asn Trp Ser Glu Asp Leu Met

35 50 55 60

Leu Asn Trp Asn Arg Leu Ser Pro Ser Asn Gln Thr Glu Lys Gln Ala

65 70 75 80

Ala Phe Cys Asn Gly Leu Ser Gln Pro Val Gln Asp Ala Arg Phe Gln

85 90 95

40 Ile Ile Gln Leu Pro Asn Arg His Asp Phe His Met Asn Ile Leu Asp

100 105 110

Thr Arg Arg Asn Asp Ser Gly Ile Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu

115 120 125

His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu Ser Pro Gly Ala Glu Leu Val Val

45 130 135 140

Thr Glu Arg Ile Cys His Thr Gln Ser Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala

145 150 155 160

Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr

				165					170					175			
	Val	Ala	Leu	Cys	Val	Ile	Trp	Thr	Asn	Ser	Arg	Arg	Asn	Arg	Gly	Gly	
				180					185					190			
	Gln	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly	Leu	Thr	Arg	
5			195					200					205				
	Lys	Pro	Tyr	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro	Ala	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	
		210					215					220					
	Pro																
	225																
10	<210>	135															
	<211>	1512															
	<212>	ДНК															
	<213>	Искусственная последовательность															
	<220>																
15	<223>	muLag3tm-CD28															
	<400>	135															
	atgagagagg	acctgctgct	gggctttctg	ctgctgggac	tgctgtggga	ggccccctgtg											60
	gtgtcatctg	gccctggcaa	agaactgccc	gtcgtgtggg	ctcaggaagg	cgctcctgtg											120
	catctgccct	gcagcctgaa	gtcccccaac	ctggacccca	acttcctgag	aagaggcggc											180
20	gtgatctggc	agcaccagcc	tgattctggc	cagcccacac	ctatccctgc	cctggatctg											240
	caccagggca	tgccctagccc	tagacagcct	ggccctggca	gatacacctg	gctgtctgtg											300
	gctcctggcg	gcctgagaag	tggcagacag	cctctgcacc	ctcacgtgca	gctggaagag											360
	aggggactgc	agaggggcca	cttcagcctg	tggctgaggg	ctgccctgag	aacagatgcc											420
	ggcgagtacc	acgctaccgt	gcggctgcct	aacagagccc	tgagctgctc	cctgagactg											480
25	agagtgggcc	agggcagcat	gatcgccctc	ccatctggcg	tgctgaagct	gagcgactgg											540
	gtgctgctga	actgcagctt	ctccagaccc	gacagacccg	tgtccgtgca	ctgggtccag											600
	ggacagaaca	gagtggccgt	gtacaacagc	cccagacact	tcctggccga	gacattcctg											660
	ctgctgcccc	aggtgtcccc	tctggactct	ggcacatggg	gctgctgtgt	gacatacagg											720
	gacggcttca	acgtgtccat	cacctacaac	ctgaagggtg	tgggcctgga	accctgggct											780
30	cctctgacag	tgtacgccgc	cgagggcagc	agagtgggaac	tgccctgtca	tctgccaccc											840
	ggcgtgggca	caccttctct	gctgatcgcc	aagtggaccc	ctccaggcgg	aggacctgaa											900
	ctgccagtgg	ctggcaagag	cggaacttcc	accctgcacc	tggaagcagt	gggcctggct											960
	caggccggca	cctacacctg	tagcatccat	ctgcaggggc	agcagctgaa	cgccacctgt											1020
	acactggccg	tgatcacctg	gacccccaa	agctttggcc	tgccctggctc	cagaggcaag											1080
35	ctgctgtgtg	aagtgacccc	cgccagcggc	aaagaaagat	tcgtgtggcg	gcctctgaac											1140
	aacctgagca	gacccctgcc	aggccccgtg	ctggaaatcc	aggaagccag	actgctggcc											1200
	gagcgggtgg	agtgccagct	gtatgaggga	cagcgactgc	tgggcgccac	tgtgtacgct											1260
	gctgagtcta	gctctggcgc	ccacagcgcc	agaagaatca	gcggcgatct	gaagggcggc											1320
	cacctgggtg	tggtgctgat	cctgggcgct	ctgagcctgt	tcctgctggg	ggctggcgct											1380
40	ttcggcttta	acagcagaag	aaacagaggc	ggccagagcg	actacatgaa	catgaccccc											1440
	agaaggcctg	gcctgaccag	aaagccctac	cagccttacg	cccctgccag	agacttcgcc											1500
	gcctacagac	ct															1512
	<210>	136															
	<211>	504															
45	<212>	PRT															
	<213>	Искусственная последовательность															
	<220>																
	<223>	muLag3tm-CD28															

<400> 136

	Met	Arg	Glu	Asp	Leu	Leu	Leu	Gly	Phe	Leu	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Trp
	1				5				10					15		
	Glu	Ala	Pro	Val	Val	Ser	Ser	Gly	Pro	Gly	Lys	Glu	Leu	Pro	Val	Val
5				20				25					30			
	Trp	Ala	Gln	Glu	Gly	Ala	Pro	Val	His	Leu	Pro	Cys	Ser	Leu	Lys	Ser
				35				40					45			
	Pro	Asn	Leu	Asp	Pro	Asn	Phe	Leu	Arg	Arg	Gly	Gly	Val	Ile	Trp	Gln
				50			55					60				
10	His	Gln	Pro	Asp	Ser	Gly	Gln	Pro	Thr	Pro	Ile	Pro	Ala	Leu	Asp	Leu
	65					70					75				80	
	His	Gln	Gly	Met	Pro	Ser	Pro	Arg	Gln	Pro	Ala	Pro	Gly	Arg	Tyr	Thr
				85				90						95		
	Val	Leu	Ser	Val	Ala	Pro	Gly	Gly	Leu	Arg	Ser	Gly	Arg	Gln	Pro	Leu
15				100				105					110			
	His	Pro	His	Val	Gln	Leu	Glu	Glu	Arg	Gly	Leu	Gln	Arg	Gly	Asp	Phe
				115				120					125			
	Ser	Leu	Trp	Leu	Arg	Pro	Ala	Leu	Arg	Thr	Asp	Ala	Gly	Glu	Tyr	His
				130			135					140				
20	Ala	Thr	Val	Arg	Leu	Pro	Asn	Arg	Ala	Leu	Ser	Cys	Ser	Leu	Arg	Leu
	145					150					155				160	
	Arg	Val	Gly	Gln	Ala	Ser	Met	Ile	Ala	Ser	Pro	Ser	Gly	Val	Leu	Lys
				165				170						175		
	Leu	Ser	Asp	Trp	Val	Leu	Leu	Asn	Cys	Ser	Phe	Ser	Arg	Pro	Asp	Arg
25				180				185					190			
	Pro	Val	Ser	Val	His	Trp	Phe	Gln	Gly	Gln	Asn	Arg	Val	Pro	Val	Tyr
				195				200					205			
	Asn	Ser	Pro	Arg	His	Phe	Leu	Ala	Glu	Thr	Phe	Leu	Leu	Leu	Pro	Gln
				210			215					220				
30	Val	Ser	Pro	Leu	Asp	Ser	Gly	Thr	Trp	Gly	Cys	Val	Leu	Thr	Tyr	Arg
	225					230					235				240	
	Asp	Gly	Phe	Asn	Val	Ser	Ile	Thr	Tyr	Asn	Leu	Lys	Val	Leu	Gly	Leu
				245						250				255		
	Glu	Pro	Val	Ala	Pro	Leu	Thr	Val	Tyr	Ala	Ala	Glu	Gly	Ser	Arg	Val
35				260				265					270			
	Glu	Leu	Pro	Cys	His	Leu	Pro	Pro	Gly	Val	Gly	Thr	Pro	Ser	Leu	Leu
				275				280				285				
	Ile	Ala	Lys	Trp	Thr	Pro	Pro	Gly	Gly	Gly	Pro	Glu	Leu	Pro	Val	Ala
				290			295					300				
40	Gly	Lys	Ser	Gly	Asn	Phe	Thr	Leu	His	Leu	Glu	Ala	Val	Gly	Leu	Ala
	305					310					315				320	
	Gln	Ala	Gly	Thr	Tyr	Thr	Cys	Ser	Ile	His	Leu	Gln	Gly	Gln	Gln	Leu
				325						330				335		
	Asn	Ala	Thr	Val	Thr	Leu	Ala	Val	Ile	Thr	Val	Thr	Pro	Lys	Ser	Phe
45				340					345				350			
	Gly	Leu	Pro	Gly	Ser	Arg	Gly	Lys	Leu	Leu	Cys	Glu	Val	Thr	Pro	Ala
				355				360				365				
	Ser	Gly	Lys	Glu	Arg	Phe	Val	Trp	Arg	Pro	Leu	Asn	Asn	Leu	Ser	Arg

	370		375		380	
	Ser Cys Pro Gly Pro Val Leu Glu Ile Gln Glu Ala Arg Leu Leu Ala					
	385		390		395	400
	Glu Arg Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Glu Gly Gln Arg Leu Leu Gly Ala					
5		405		410		415
	Thr Val Tyr Ala Ala Glu Ser Ser Ser Gly Ala His Ser Ala Arg Arg					
		420		425		430
	Ile Ser Gly Asp Leu Lys Gly Gly His Leu Val Leu Val Leu Ile Leu					
		435		440		445
10	Gly Ala Leu Ser Leu Phe Leu Leu Val Ala Gly Ala Phe Gly Phe Asn					
		450		455		460
	Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro					
	465		470		475	480
	Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala					
15		485		490		495
	Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro					
		500				
	<210> 137					
	<211> 1530					
20	<212> ДНК					
	<213> Искусственная последовательность					
	<220>					
	<223> muLag3-CD28tm					
	<400> 137					
25	atgagagagg acctgctgct gggctttctg ctgctgggac tgctgtggga ggcccctgtg					60
	gtgtcatctg gccctggcaa agaactgccc gtcgtgtggg ctcaggaagg cgctcctgtg					120
	catctgccct gcagcctgaa gtcccccaac ctggaccca acttcctgag aagaggcggc					180
	gtgatctggc agcaccagcc tgattctggc cagcccacac ctatccctgc cctggatctg					240
	caccagggca tgcctagccc tagacagcct gccctggca gatacacctg gctgtctgtg					300
30	gctcctggcg gcctgagaag tggcagacag cctctgcacc ctcacgtgca gctggaagag					360
	aggggactgc agaggggcca cttcagcctg tggctgaggc ctgccctgag aacagatgcc					420
	ggcgagtacc acgctaccgt gcggtgcct aacagagccc tgagctgctc cctgagactg					480
	agagtgggcc aggccagcat gatcgctct ccatctggcg tgctgaagct gagcgactgg					540
	gtgctgctga actgcagctt ctccagaccc gacagacccg tgtccgtgca ctggttccag					600
35	ggacagaaca gagtggccgt gtacaacagc cccagacact tctggccga gacattcctg					660
	ctgctgcccc aggtgtcccc tctggactct ggcacatggg gctgctgtgct gacatacagg					720
	gacggcttca acgtgtccat cacctacaac ctgaagggtc tgggcctgga acccgaggct					780
	cctctgacag tgtacgccc cgagggcagc agagtggaa tgccttgtca tctgccaccc					840
	ggcgtgggca caccttctct gctgatcgcc aagtggaccc ctccaggcgg aggacctgaa					900
40	ctgccagtgg ctggcaagag cggcaacttc accctgcacc tgggaagcagt gggcctggct					960
	caggccggca cctacacctg tagcatccat ctgcagggcc agcagctgaa cgccacctg					1020
	acactggccg tgatcacctg gacccccaa agctttggcc tgccctggctc cagaggcaag					1080
	ctgctgtgtg aagtgacccc cgccagcggc aaagaaagat tcgtgtggcg gcctctgaac					1140
	aacctgagca gatcctgccc aggccccgtg ctggaaatcc aggaagccag actgctggcc					1200
45	gagcgggtggc agtgccagct gtatgaggga cagcgactgc tgggcgccac tgtgtacgt					1260
	gctgagtcta gctctggcgc ccacagcggc agaagaatca gcggcgatct gaagggcggc					1320
	cacctgttct gggccctggg ggtggtggcc ggcgtgctgt tttgttacgg cctgctcgtg					1380
	accgtggccc tgtgcgtgat ctggaccaac agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgac					1440

tacatgaaca tgacccccag aaggcctggc ctgaccagaa agccctacca gccttacgcc 1500
cctgccagag acttcgccgc ctacagacct 1530
<210> 138
<211> 510
5 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> muLag3-CD28tm
<400> 138
10 Met Arg Glu Asp Leu Leu Leu Gly Phe Leu Leu Leu Gly Leu Leu Trp
1 5 10 15
Glu Ala Pro Val Val Ser Ser Gly Pro Gly Lys Glu Leu Pro Val Val
20 25 30
Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Val His Leu Pro Cys Ser Leu Lys Ser
15 35 40 45
Pro Asn Leu Asp Pro Asn Phe Leu Arg Arg Gly Gly Val Ile Trp Gln
50 55 60
His Gln Pro Asp Ser Gly Gln Pro Thr Pro Ile Pro Ala Leu Asp Leu
65 70 75 80
20 His Gln Gly Met Pro Ser Pro Arg Gln Pro Ala Pro Gly Arg Tyr Thr
85 90 95
Val Leu Ser Val Ala Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly Arg Gln Pro Leu
100 105 110
His Pro His Val Gln Leu Glu Glu Arg Gly Leu Gln Arg Gly Asp Phe
25 115 120 125
Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Leu Arg Thr Asp Ala Gly Glu Tyr His
130 135 140
Ala Thr Val Arg Leu Pro Asn Arg Ala Leu Ser Cys Ser Leu Arg Leu
145 150 155 160
30 Arg Val Gly Gln Ala Ser Met Ile Ala Ser Pro Ser Gly Val Leu Lys
165 170 175
Leu Ser Asp Trp Val Leu Leu Asn Cys Ser Phe Ser Arg Pro Asp Arg
180 185 190
Pro Val Ser Val His Trp Phe Gln Gly Gln Asn Arg Val Pro Val Tyr
35 195 200 205
Asn Ser Pro Arg His Phe Leu Ala Glu Thr Phe Leu Leu Leu Pro Gln
210 215 220
Val Ser Pro Leu Asp Ser Gly Thr Trp Gly Cys Val Leu Thr Tyr Arg
225 230 235 240
40 Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Thr Tyr Asn Leu Lys Val Leu Gly Leu
245 250 255
Glu Pro Val Ala Pro Leu Thr Val Tyr Ala Ala Glu Gly Ser Arg Val
260 265 270
Glu Leu Pro Cys His Leu Pro Pro Gly Val Gly Thr Pro Ser Leu Leu
45 275 280 285
Ile Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Gly Pro Glu Leu Pro Val Ala
290 295 300
Gly Lys Ser Gly Asn Phe Thr Leu His Leu Glu Ala Val Gly Leu Ala

	305		310		315		320									
	Gln	Ala	Gly	Thr	Tyr	Thr	Cys	Ser	Ile	His	Leu	Gln	Gly	Gln	Gln	Leu
					325					330					335	
	Asn	Ala	Thr	Val	Thr	Leu	Ala	Val	Ile	Thr	Val	Thr	Pro	Lys	Ser	Phe
5				340					345					350		
	Gly	Leu	Pro	Gly	Ser	Arg	Gly	Lys	Leu	Leu	Cys	Glu	Val	Thr	Pro	Ala
			355				360					365				
	Ser	Gly	Lys	Glu	Arg	Phe	Val	Trp	Arg	Pro	Leu	Asn	Asn	Leu	Ser	Arg
		370					375					380				
10	Ser	Cys	Pro	Gly	Pro	Val	Leu	Glu	Ile	Gln	Glu	Ala	Arg	Leu	Leu	Ala
	385					390				395				400		
	Glu	Arg	Trp	Gln	Cys	Gln	Leu	Tyr	Glu	Gly	Gln	Arg	Leu	Leu	Gly	Ala
				405					410				415			
	Thr	Val	Tyr	Ala	Ala	Glu	Ser	Ser	Ser	Gly	Ala	His	Ser	Ala	Arg	Arg
15			420					425				430				
	Ile	Ser	Gly	Asp	Leu	Lys	Gly	Gly	His	Leu	Phe	Trp	Ala	Leu	Val	Val
		435					440					445				
	Val	Ala	Gly	Val	Leu	Phe	Cys	Tyr	Gly	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Ala	Leu
	450				455						460					
20	Cys	Val	Ile	Trp	Thr	Asn	Ser	Arg	Arg	Asn	Arg	Gly	Gly	Gln	Ser	Asp
	465					470				475				480		
	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly	Leu	Thr	Arg	Lys	Pro	Tyr
				485					490				495			
	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro	Ala	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	Pro		
25			500					505				510				
	<210>	139														
	<211>	1557														
	<212>	ДНК														
	<213>	Искусственная последовательность														
30	<220>															
	<223>	muLag3-CD28Cys														
	<400>	139														
	atgagagagg	acctgctgct	gggctttctg	ctgctgggac	tgctgtggga	ggcccctgtg										60
	gtgtcatctg	gccctggcaa	agaactgccc	gtcgtgtggg	ctcaggaagg	cgctcctgtg										120
35	catctgccct	gcagcctgaa	gtcccccaac	ctggacccca	acttcctgag	aagaggcggc										180
	gtgatctggc	agcaccagcc	tgattctggc	cagcccacac	ctatccctgc	cctggatctg										240
	caccagggca	tgccctagccc	tagacagcct	gcccctggca	gatacaccgt	gctgtctgtg										300
	gctcctggcg	gcctgagaag	tggcagacag	cctctgcacc	ctcacgtgca	gctggaagag										360
	aggggactgc	agaggggcga	cttcagcctg	tggctgaggc	ctgccctgag	aacagatgcc										420
40	ggcgagtacc	acgctaccgt	gcggctgcct	aacagagccc	tgagctgctc	cctgagactg										480
	agagtgggcc	aggccagcat	gatcgccctc	ccatctggcg	tgctgaagct	gagcgactgg										540
	gtgctgctga	actgcagctt	ctccagaccc	gacagacccg	tgtccgtgca	ctgggtccag										600
	ggacagaaca	gagtgtcccgt	gtacaacagc	cccagacact	tcctggccga	gacattcctg										660
	ctgctgcccc	aggtgtcccc	tctggactct	ggcacatggg	gctgctgtgct	gacatacagg										720
45	gacggcttca	acgtgtccat	cacctacaac	ctgaaggtgc	tgggcctgga	acccgtggct										780
	cctctgacag	tgtacgccgc	cgagggcagc	agagtggaaac	tgccctgtca	tctgccaccc										840
	ggcgtgggca	caccttctct	gctgatcgcc	aagtggaccc	ctccaggcgg	aggacctgaa										900
	ctgccagtgg	ctggcaagag	cggcaacttc	accctgcacc	tggaagcagt	gggcctggct										960

caggccggca cctacacctg tagcatccat ctgcagggcc agcagctgaa cgccaccgtg 1020
acactggccg tgatcacctg gaccccccaag agctttggcc tgcctggctc cagaggcaag 1080
ctgctgtgtg aagtgacccc cgccagcggc aaagaaagat tcgtgtggcg gcctctgaac 1140
aacctgagca gatcctgccc aggccccgtg ctggaaatcc aggaagccag actgctggcc 1200
5 gagcgggtggc agtgccagct gtatgagggg cagcgactgc tgggcgccac tgtgtacgct 1260
gctgagtcta gctctggcgc ccacagcggc agaagaatca gcggcgatct gaagggcggc 1320
cacctgtgcc acaccagag cagcccccaag ctgttctggg ccctggtggt ggtggccggc 1380
gtgctgtttt gttacggcct gctcgtgacc gtggccctgt gcgtgatctg gaccaacagc 1440
agaagaaaca gaggcggcca gagcgactac atgaacatga ccccagaag gcctggcctg 1500
10 accagaaagc cctaccagcc ttacgcccct gccagagact tcgccgcta cagacct 1557
<210> 140
<211> 519
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
15 <220>
<223> muLag3-CD28Cys
<400> 140
Met Arg Glu Asp Leu Leu Leu Gly Phe Leu Leu Leu Gly Leu Leu Trp
1 5 10 15
20 Glu Ala Pro Val Val Ser Ser Gly Pro Gly Lys Glu Leu Pro Val Val
20 25 30
Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Val His Leu Pro Cys Ser Leu Lys Ser
35 40 45
Pro Asn Leu Asp Pro Asn Phe Leu Arg Arg Gly Gly Val Ile Trp Gln
25 50 55 60
His Gln Pro Asp Ser Gly Gln Pro Thr Pro Ile Pro Ala Leu Asp Leu
65 70 75 80
His Gln Gly Met Pro Ser Pro Arg Gln Pro Ala Pro Gly Arg Tyr Thr
85 90 95
30 Val Leu Ser Val Ala Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly Arg Gln Pro Leu
100 105 110
His Pro His Val Gln Leu Glu Glu Arg Gly Leu Gln Arg Gly Asp Phe
115 120 125
Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Leu Arg Thr Asp Ala Gly Glu Tyr His
35 130 135 140
Ala Thr Val Arg Leu Pro Asn Arg Ala Leu Ser Cys Ser Leu Arg Leu
145 150 155 160
Arg Val Gly Gln Ala Ser Met Ile Ala Ser Pro Ser Gly Val Leu Lys
165 170 175
40 Leu Ser Asp Trp Val Leu Leu Asn Cys Ser Phe Ser Arg Pro Asp Arg
180 185 190
Pro Val Ser Val His Trp Phe Gln Gly Gln Asn Arg Val Pro Val Tyr
195 200 205
Asn Ser Pro Arg His Phe Leu Ala Glu Thr Phe Leu Leu Leu Pro Gln
45 210 215 220
Val Ser Pro Leu Asp Ser Gly Thr Trp Gly Cys Val Leu Thr Tyr Arg
225 230 235 240
Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Thr Tyr Asn Leu Lys Val Leu Gly Leu

					245					250					255				
	Glu	Pro	Val	Ala	Pro	Leu	Thr	Val	Tyr	Ala	Ala	Glu	Gly	Ser	Arg	Val			
				260					265					270					
	Glu	Leu	Pro	Cys	His	Leu	Pro	Pro	Gly	Val	Gly	Thr	Pro	Ser	Leu	Leu			
5				275					280					285					
	Ile	Ala	Lys	Trp	Thr	Pro	Pro	Gly	Gly	Gly	Pro	Glu	Leu	Pro	Val	Ala			
		290						295				300							
	Gly	Lys	Ser	Gly	Asn	Phe	Thr	Leu	His	Leu	Glu	Ala	Val	Gly	Leu	Ala			
	305					310					315					320			
10	Gln	Ala	Gly	Thr	Tyr	Thr	Cys	Ser	Ile	His	Leu	Gln	Gly	Gln	Gln	Leu			
				325						330					335				
	Asn	Ala	Thr	Val	Thr	Leu	Ala	Val	Ile	Thr	Val	Thr	Pro	Lys	Ser	Phe			
				340					345					350					
	Gly	Leu	Pro	Gly	Ser	Arg	Gly	Lys	Leu	Leu	Cys	Glu	Val	Thr	Pro	Ala			
15				355					360					365					
	Ser	Gly	Lys	Glu	Arg	Phe	Val	Trp	Arg	Pro	Leu	Asn	Asn	Leu	Ser	Arg			
		370					375					380							
	Ser	Cys	Pro	Gly	Pro	Val	Leu	Glu	Ile	Gln	Glu	Ala	Arg	Leu	Leu	Ala			
	385					390					395					400			
20	Glu	Arg	Trp	Gln	Cys	Gln	Leu	Tyr	Glu	Gly	Gln	Arg	Leu	Leu	Gly	Ala			
				405						410					415				
	Thr	Val	Tyr	Ala	Ala	Glu	Ser	Ser	Ser	Gly	Ala	His	Ser	Ala	Arg	Arg			
				420					425					430					
	Ile	Ser	Gly	Asp	Leu	Lys	Gly	Gly	His	Leu	Cys	His	Thr	Gln	Ser	Ser			
25				435					440					445					
	Pro	Lys	Leu	Phe	Trp	Ala	Leu	Val	Val	Val	Ala	Gly	Val	Leu	Phe	Cys			
		450					455					460							
	Tyr	Gly	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Ala	Leu	Cys	Val	Ile	Trp	Thr	Asn	Ser			
	465					470					475					480			
30	Arg	Arg	Asn	Arg	Gly	Gly	Gln	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg			
				485						490					495				
	Arg	Pro	Gly	Leu	Thr	Arg	Lys	Pro	Tyr	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro	Ala	Arg			
				500					505					510					
	Asp	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	Pro												
35				515															
	<210>	141																	
	<211>	1530																	
	<212>	ДНК																	
	<213>	Искусственная последовательность																	
40	<220>																		
	<223>	muLag3-9aas-CD28Cys																	
	<400>	141																	
	atgagagagg	acctgctgct	gggcttttctg	ctgctggggac	tgctgtggga	ggcccctgtg													60
	gtgtcatctg	gccctggcaa	agaactgccc	gtcgtgtggg	ctcaggaagg	cgctcctgtg													120
45	catctgccct	gcagcctgaa	gtcccccaac	ctggacccca	acttcctgag	aagaggcggc													180
	gtgatctggc	agcaccagcc	tgattctggc	cagcccacac	ctatccctgc	cctggatctg													240
	caccagggca	tgccatagccc	tagacagcct	gccctgggca	gatacacctg	gctgtctgtg													300
	gctcctggcg	gcctgagaag	tggcagacag	cctctgcacc	ctcacgtgca	gctggaagag													360

aggggactgc agagggggcga cttcagcctg tggctgagggc ctgccctgag aacagatgcc 420
 ggcgagtacc acgctaccgt gcggctgcct aacagagccc tgagctgctc cctgagactg 480
 agagtggggc aggccagcat gatcgctctt ccatctggcg tgctgaagct gagcgactgg 540
 gtgctgctga actgcagctt ctccagaccc gacagacccg tgtccgtgca ctgggtccag 600
 5 ggacagaaca gagtgtcccgt gtacaacagc cccagacact tcctggccga gacattcctg 660
 ctgctgcccc aggtgtcccc tctggactct ggacatggg gctgctgtgct gacatacagg 720
 gacggcttca acgtgtccat cacctacaac ctgaaggtgc tgggcctgga acccgtggct 780
 cctctgacag tgtacgccgc cgagggcagc agagtggaaac tgccttgtca tctgccaccc 840
 ggcgtggggc caccttctct gctgatcgcc aagtggaccc ctccaggcgg aggacctgaa 900
 10 ctgccagtgg ctggcaagag cggcaacttc accctgcacc tggaagcagt gggcctggct 960
 caggccggca cctacacctg tagcatccat ctgcaggggc agcagctgaa cgccaccgtg 1020
 aactggccg tgatcacctg gacccccaaag agctttggcc tgcctggctc cagaggcaag 1080
 ctgctgtgtg aagtgacccc cgccagcggc aaagaaagat tctgtgtggc gcctctgaac 1140
 aacctgagca gatcctgccc agggcccgtg ctggaaatcc aggaagccag actgctggcc 1200
 15 gagcgggtggc agtgccagct gtatgaggga cagcgactgc tgggcgccac tgtgtacgct 1260
 gctgagtcta gctctggcgc ccacagcgcc agaagaatct gccacacca gagcagcccc 1320
 aagctgttct gggccctggg ggtggtggcc ggcgtgctgt tttgttacgg cctgctcgtg 1380
 accgtggccc tgtgctgat ctggaccaac agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgac 1440
 tacatgaaca tgacccccag aaggcctggc ctgaccagaa agccctacca gccttacgcc 1500
 20 cctgccagag acttcgccgc ctacagacct 1530
 <210> 142
 <211> 510
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 25 <220>
 <223> muLag3-9aas-CD28Cys
 <400> 142
 Met Arg Glu Asp Leu Leu Leu Gly Phe Leu Leu Leu Gly Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 30 Glu Ala Pro Val Val Ser Ser Gly Pro Gly Lys Glu Leu Pro Val Val
 20 25 30
 Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Val His Leu Pro Cys Ser Leu Lys Ser
 35 40 45
 Pro Asn Leu Asp Pro Asn Phe Leu Arg Arg Gly Gly Val Ile Trp Gln
 35 50 55 60
 His Gln Pro Asp Ser Gly Gln Pro Thr Pro Ile Pro Ala Leu Asp Leu
 65 70 75 80
 His Gln Gly Met Pro Ser Pro Arg Gln Pro Ala Pro Gly Arg Tyr Thr
 85 90 95
 40 Val Leu Ser Val Ala Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly Arg Gln Pro Leu
 100 105 110
 His Pro His Val Gln Leu Glu Glu Arg Gly Leu Gln Arg Gly Asp Phe
 115 120 125
 Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Leu Arg Thr Asp Ala Gly Glu Tyr His
 45 130 135 140
 Ala Thr Val Arg Leu Pro Asn Arg Ala Leu Ser Cys Ser Leu Arg Leu
 145 150 155 160
 Arg Val Gly Gln Ala Ser Met Ile Ala Ser Pro Ser Gly Val Leu Lys

RU 2 755 227 C2

					165					170					175	
	Leu	Ser	Asp	Trp	Val	Leu	Leu	Asn	Cys	Ser	Phe	Ser	Arg	Pro	Asp	Arg
					180					185					190	
5	Pro	Val	Ser	Val	His	Trp	Phe	Gln	Gly	Gln	Asn	Arg	Val	Pro	Val	Tyr
					195					200					205	
	Asn	Ser	Pro	Arg	His	Phe	Leu	Ala	Glu	Thr	Phe	Leu	Leu	Leu	Pro	Gln
					210					215					220	
	Val	Ser	Pro	Leu	Asp	Ser	Gly	Thr	Trp	Gly	Cys	Val	Leu	Thr	Tyr	Arg
	225						230				235					240
10	Asp	Gly	Phe	Asn	Val	Ser	Ile	Thr	Tyr	Asn	Leu	Lys	Val	Leu	Gly	Leu
					245						250					255
	Glu	Pro	Val	Ala	Pro	Leu	Thr	Val	Tyr	Ala	Ala	Glu	Gly	Ser	Arg	Val
					260						265					270
	Glu	Leu	Pro	Cys	His	Leu	Pro	Pro	Gly	Val	Gly	Thr	Pro	Ser	Leu	Leu
15					275					280					285	
	Ile	Ala	Lys	Trp	Thr	Pro	Pro	Gly	Gly	Gly	Pro	Glu	Leu	Pro	Val	Ala
					290					295					300	
	Gly	Lys	Ser	Gly	Asn	Phe	Thr	Leu	His	Leu	Glu	Ala	Val	Gly	Leu	Ala
	305						310					315				320
20	Gln	Ala	Gly	Thr	Tyr	Thr	Cys	Ser	Ile	His	Leu	Gln	Gly	Gln	Gln	Leu
					325						330					335
	Asn	Ala	Thr	Val	Thr	Leu	Ala	Val	Ile	Thr	Val	Thr	Pro	Lys	Ser	Phe
					340					345					350	
	Gly	Leu	Pro	Gly	Ser	Arg	Gly	Lys	Leu	Leu	Cys	Glu	Val	Thr	Pro	Ala
25					355					360					365	
	Ser	Gly	Lys	Glu	Arg	Phe	Val	Trp	Arg	Pro	Leu	Asn	Asn	Leu	Ser	Arg
					370					375					380	
	Ser	Cys	Pro	Gly	Pro	Val	Leu	Glu	Ile	Gln	Glu	Ala	Arg	Leu	Leu	Ala
	385						390				395					400
30	Glu	Arg	Trp	Gln	Cys	Gln	Leu	Tyr	Glu	Gly	Gln	Arg	Leu	Leu	Gly	Ala
					405						410					415
	Thr	Val	Tyr	Ala	Ala	Glu	Ser	Ser	Ser	Gly	Ala	His	Ser	Ala	Arg	Arg
					420						425					430
	Ile	Cys	His	Thr	Gln	Ser	Ser	Pro	Lys	Leu	Phe	Trp	Ala	Leu	Val	Val
35					435					440					445	
	Val	Ala	Gly	Val	Leu	Phe	Cys	Tyr	Gly	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Ala	Leu
					450					455					460	
	Cys	Val	Ile	Trp	Thr	Asn	Ser	Arg	Arg	Asn	Arg	Gly	Gly	Gln	Ser	Asp
	465						470				475					480
40	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly	Leu	Thr	Arg	Lys	Pro	Tyr
					485						490					495
	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro	Ala	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	Pro		

<223> muTim3tm-CD28

<400> 143

	atgttcagcg	gcctgaccct	gaactgctg	ctcctgctgc	tgcagctgct	gctggccaga	60
	agcctggaaa	acgcctacgt	gttcgaagt	ggcaagaacg	cctacctgcc	ctgcagctac	120
5	accctgtcta	cacctggcgc	cctggtgcct	atgtgttggg	gcaagggctt	ctgcccttgg	180
	agccagtgca	ccaacgagct	gctgagaacc	gacgagagaa	acgtgaccta	ccagaagtcc	240
	agcagatacc	agctgaagg	cgacctgaac	aagggcgacg	tgtccctgat	catcaagaac	300
	gtgaccttgg	acgaccacgg	cacctactgc	tgcagaatcc	agttccccgg	cctgatgaac	360
	gacaagaagc	tggaactgaa	gctggacatc	aaggccgcca	aagtgacccc	tgcccagaca	420
10	gcccacggcg	actctacaac	agccagcccc	agaaccctga	ccaccgagag	gaacggcagc	480
	gagacacaga	ccctcgtgac	actgcacaac	aacaacggca	ccaagatcag	cacctgggccc	540
	gacgagatca	aggacacggg	cgagacaatc	agaaccgcca	tccacatcgg	cgtgggcgtg	600
	tccgctggac	tgacactggc	tctgatcatc	ggagtgtgta	tcaacagcag	aagaaacaga	660
	ggcggccaga	gcgactacat	gaacatgacc	cccagaaggc	ctggcctgac	cagaaagccc	720
15	taccagcctt	acgcccctgc	cagagacttc	gccgcctaca	gacct		765

<210> 144

<211> 255

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

20 <220>

<223> muTim3tm-CD28

<400> 144

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

Ile Ile Gly Val Leu Ile Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser
 210 215 220
 Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro
 225 230 235 240
 5 Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro
 245 250 255
 <210> 145
 <211> 783
 <212> ДНК
 10 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> muTim3-CD28tm
 <400> 145
 atgttcagcg gcctgaccct gaactgctg ctcctgctgc tgcagctgct gctggccaga 60
 15 agcctggaaa acgcctacgt gttcgaagtg ggcaagaacg cctacctgcc ctgcagctac 120
 accctgtcta cacctggcgc cctggtgcct atgtgttggg gcaagggctt ctgcccttgg 180
 agccagtgc ccaacgagct gctgagaacc gacgagagaa acgtgaccta ccagaagtcc 240
 agcagatacc agctgaaggc cgacctgaac aagggcgacg tgtccctgat catcaagaac 300
 gtgaccctgg acgaccacgg cacctactgc tgcagaatcc agttccccgg cctgatgaac 360
 20 gacaagaagc tggaactgaa gctggacatc aaggccgcca aagtgacccc tgcccagaca 420
 gcccacggcg actctacaac agccagcccc agaaccctga ccaccgagag gaacggcagc 480
 gagacacaga ccctcgtgac actgcacaac aacaacggca ccaagatcag cacctgggccc 540
 gacgagatca aggacagcgg cgagacaatc agaaccgcct tctggggccct ggtggtggtg 600
 gccggcgctgc tgttttgtta cggcctgctc gtgaccgtgg ccctgtgcgt gatctggacc 660
 25 aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc gactacatga acatgacccc cagaaggcct 720
 ggccctgacca gaaagcccta ccagccttac gccctgcca gagacttcgc cgcctacaga 780
 cct 783
 <210> 146
 <211> 261
 30 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> muTim3-CD28tm
 <400> 146
 35 Met Phe Ser Gly Leu Thr Leu Asn Cys Val Leu Leu Leu Leu Gln Leu
 1 5 10 15
 Leu Leu Ala Arg Ser Leu Glu Asn Ala Tyr Val Phe Glu Val Gly Lys
 20 25 30
 Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Ser Tyr Thr Leu Ser Thr Pro Gly Ala Leu
 40 35 40 45
 Val Pro Met Cys Trp Gly Lys Gly Phe Cys Pro Trp Ser Gln Cys Thr
 50 55 60
 Asn Glu Leu Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asn Val Thr Tyr Gln Lys Ser
 65 70 75 80
 45 Ser Arg Tyr Gln Leu Lys Gly Asp Leu Asn Lys Gly Asp Val Ser Leu
 85 90 95
 Ile Ile Lys Asn Val Thr Leu Asp Asp His Gly Thr Tyr Cys Cys Arg
 100 105 110

	Ile	Gln	Phe	Pro	Gly	Leu	Met	Asn	Asp	Lys	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys	Leu	
	Asp	Ile	Lys	Ala	Ala	Lys	Val	Thr	Pro	Ala	Gln	Thr	Ala	His	Gly	Asp	
5	Ser	Thr	Thr	Ala	Ser	Pro	Arg	Thr	Leu	Thr	Thr	Glu	Arg	Asn	Gly	Ser	
	Glu	Thr	Gln	Thr	Leu	Val	Thr	Leu	His	Asn	Asn	Asn	Gly	Thr	Lys	Ile	
	Ser	Thr	Trp	Ala	Asp	Glu	Ile	Lys	Asp	Ser	Gly	Glu	Thr	Ile	Arg	Thr	
10																	
	Ala	Phe	Trp	Ala	Leu	Val	Val	Val	Ala	Gly	Val	Leu	Phe	Cys	Tyr	Gly	
	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Ala	Leu	Cys	Val	Ile	Trp	Thr	Asn	Ser	Arg	Arg	
15	Asn	Arg	Gly	Gly	Gln	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg	Pro	
	Gly	Leu	Thr	Arg	Lys	Pro	Tyr	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro	Ala	Arg	Asp	Phe	
	Ala	Ala	Tyr	Arg	Pro												
20																	
	<210>	147															
	<211>	810															
	<212>	ДНК															
	<213>	Искусственная последовательность															
25	<220>																
	<223>	muTim3-CD28Cys															
	<400>	147															
	atgttcagcg	gcctgaccct	gaactgcg	ctcctgctgc	tgcagctgct	gctggccaga										60	
	agcctggaaa	acgcctacgt	gttcgaagt	ggcaagaac	cctacctgcc	ctgcagctac										120	
30	accctgtcta	cacctggcgc	cctgggtgcct	atgtgttggg	gcaagggctt	ctgcccttgg										180	
	agccagtgca	ccaacgagct	gctgagaacc	gacgagagaa	acgtgaccta	ccagaagtcc										240	
	agcagatacc	agctgaaggg	cgacctgaac	aaggggcgacg	tgtccctgat	catcaagaac										300	
	gtgaccctgg	acgaccacgg	cacctactgc	tgcagaatcc	agttccccgg	cctgatgaac										360	
	gacaagaagc	tggaactgaa	gctggacatc	aaggccgccca	aagtgacccc	tgcccagaca										420	
35	gcccacggcg	actctacaac	agccagcccc	agaaccctga	ccaccgagag	gaacggcagc										480	
	gagacacaga	ccctcgtgac	actgcacaac	aacaacggca	ccaagatcag	cacctgggcc										540	
	gacgagatca	aggacagcgg	cgagacaatc	agaaccgcct	gccacacca	gagcagcccc										600	
	aagctgttct	gggccctggg	ggtggtggcc	ggcgtgctgt	tttgttacgg	cctgctcgtg										660	
	accgtggccc	tgtgcgtgat	ctggaccaac	agcagaagaa	acagaggcgg	ccagagcgac										720	
40	tacatgaaca	tgacccccag	aaggcctggc	ctgaccagaa	agccctacca	gccttacgcc										780	
	cctgccagag	acttcgccgc	ctacagacct													810	
	<210>	148															
	<211>	270															
	<212>	PRT															
45	<213>	Искусственная последовательность															
	<220>																
	<223>	muTim3-CD28Cys															
	<400>	148															

RU 2755 227 C2

	Met	Phe	Ser	Gly	Leu	Thr	Leu	Asn	Cys	Val	Leu	Leu	Leu	Leu	Gln	Leu
	1				5					10					15	
	Leu	Leu	Ala	Arg	Ser	Leu	Glu	Asn	Ala	Tyr	Val	Phe	Glu	Val	Gly	Lys
				20					25					30		
5	Asn	Ala	Tyr	Leu	Pro	Cys	Ser	Tyr	Thr	Leu	Ser	Thr	Pro	Gly	Ala	Leu
		35						40					45			
	Val	Pro	Met	Cys	Trp	Gly	Lys	Gly	Phe	Cys	Pro	Trp	Ser	Gln	Cys	Thr
		50					55					60				
	Asn	Glu	Leu	Leu	Arg	Thr	Asp	Glu	Arg	Asn	Val	Thr	Tyr	Gln	Lys	Ser
10	65					70					75				80	
	Ser	Arg	Tyr	Gln	Leu	Lys	Gly	Asp	Leu	Asn	Lys	Gly	Asp	Val	Ser	Leu
				85						90					95	
	Ile	Ile	Lys	Asn	Val	Thr	Leu	Asp	Asp	His	Gly	Thr	Tyr	Cys	Cys	Arg
				100					105					110		
15	Ile	Gln	Phe	Pro	Gly	Leu	Met	Asn	Asp	Lys	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys	Leu
		115						120					125			
	Asp	Ile	Lys	Ala	Ala	Lys	Val	Thr	Pro	Ala	Gln	Thr	Ala	His	Gly	Asp
		130					135					140				
	Ser	Thr	Thr	Ala	Ser	Pro	Arg	Thr	Leu	Thr	Thr	Glu	Arg	Asn	Gly	Ser
20	145					150					155				160	
	Glu	Thr	Gln	Thr	Leu	Val	Thr	Leu	His	Asn	Asn	Asn	Gly	Thr	Lys	Ile
				165						170					175	
	Ser	Thr	Trp	Ala	Asp	Glu	Ile	Lys	Asp	Ser	Gly	Glu	Thr	Ile	Arg	Thr
				180					185					190		
25	Ala	Cys	His	Thr	Gln	Ser	Ser	Pro	Lys	Leu	Phe	Trp	Ala	Leu	Val	Val
		195						200					205			
	Val	Ala	Gly	Val	Leu	Phe	Cys	Tyr	Gly	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Ala	Leu
		210					215					220				
	Cys	Val	Ile	Trp	Thr	Asn	Ser	Arg	Arg	Asn	Arg	Gly	Gly	Gln	Ser	Asp
30	225					230				235					240	
	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg	Pro	Gly	Leu	Thr	Arg	Lys	Pro	Tyr
				245						250				255		
	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro	Ala	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	Pro		
				260					265					270		
35	<210>	149														
	<211>	783														
	<212>	ДНК														
	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
40	<223>	muTim3-9aas-CD28Cys														
	<400>	149														
	atgttcagcg	gcctgaccct	gaactgcgtg	ctcctgctgc	tgcagctgct	gctggccaga									60	
	agcctggaaa	acgcctacgt	gttcgaagtg	ggcaagaacg	cctacctgcc	ctgcagctac									120	
	accctgtcta	cacctggcgc	cctggtgcct	atgtgttggg	gcaagggctt	ctgcccttgg									180	
45	agccagtgca	ccaacgagct	gctgagaacc	gacgagagaa	acgtgacctt	ccagaagtcc									240	
	agcagatacc	agctgaaggg	cgacctgaac	aagggcgacg	tgtccctgat	catcaagaac									300	
	gtgaccctgg	acgaccacgg	cacctactgc	tgcagaatcc	agttccccgg	cctgatgaac									360	
	gacaagaagc	tggaactgaa	gctggacatc	aaggccgcca	aagtgacccc	tgcccagaca									420	

gcccacggcg actctacaac agccagcccc agaaccctga ccaccgagag gaacggcagc 480
 gagacacaga ccctcgtgac actgcacaac aacaacggca ccaagatcag cacctgggcc 540
 gacgagatca agtgccacac ccagagcagc cccaagctgt tctggggcct ggtggtggtg 600
 gccggcgtgc tgttttggtta cggcctgctc gtgaccgtgg ccctgtgctg gatctggacc 660
 5 aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc gactacatga acatgacccc cagaaggcct 720
 ggcctgacca gaaagcccta ccagccttac gccctgcca gagacttcgc cgcctacaga 780
 cct 783
 <210> 150
 <211> 261
 10 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> muTim3-9aas-CD28Cys
 <400> 150
 15 Met Phe Ser Gly Leu Thr Leu Asn Cys Val Leu Leu Leu Leu Gln Leu
 1 5 10 15
 Leu Leu Ala Arg Ser Leu Glu Asn Ala Tyr Val Phe Glu Val Gly Lys
 20 25 30
 Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Ser Tyr Thr Leu Ser Thr Pro Gly Ala Leu
 20 35 40 45
 Val Pro Met Cys Trp Gly Lys Gly Phe Cys Pro Trp Ser Gln Cys Thr
 50 55 60
 Asn Glu Leu Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asn Val Thr Tyr Gln Lys Ser
 65 70 75 80
 25 Ser Arg Tyr Gln Leu Lys Gly Asp Leu Asn Lys Gly Asp Val Ser Leu
 85 90 95
 Ile Ile Lys Asn Val Thr Leu Asp Asp His Gly Thr Tyr Cys Cys Arg
 100 105 110
 Ile Gln Phe Pro Gly Leu Met Asn Asp Lys Lys Leu Glu Leu Lys Leu
 30 115 120 125
 Asp Ile Lys Ala Ala Lys Val Thr Pro Ala Gln Thr Ala His Gly Asp
 130 135 140
 Ser Thr Thr Ala Ser Pro Arg Thr Leu Thr Thr Glu Arg Asn Gly Ser
 145 150 155 160
 35 Glu Thr Gln Thr Leu Val Thr Leu His Asn Asn Asn Gly Thr Lys Ile
 165 170 175
 Ser Thr Trp Ala Asp Glu Ile Lys Cys His Thr Gln Ser Ser Pro Lys
 180 185 190
 Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly
 40 195 200 205
 Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg
 210 215 220
 Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro
 225 230 235 240
 45 Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe
 245 250 255
 Ala Ala Tyr Arg Pro
 260

<210> 151
 <211> 1536
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

5 <220>

<223> huLag3tm-CD28

<400> 151

atgtgggaag cgcagtttct tggacttctt tttctccagc cgctgtgggt tgcgccagta 60
 aagccgctcc aacccggtgc agaggttccg gtagtgtggg cgcaagaggg tgcaccagcg 120
 10 cagctccccct gcagtcggac gattccgctg caagatttgt cactgcttag aagggcgggc 180
 gtaacgtggc agcaccaacc ggatagtggc cctccggctg cagcaccagg gcacccactc 240
 gcccccgcc ctcattccgc agcaccgagc agctgggggtc ctagaccacg cagatataca 300
 gtactctcag taggtcccgg cggcctgcgg tccggctcgt tgccccttca acctagagta 360
 cagctggatg aaagaggctg acaacggggg gattttctccc tctggttgag gcctgcacga 420
 15 cgagcagatg ctggggagta tagggctgcc gtacacctgc gagaccgcg acttagttgt 480
 agactccggc tccggctggg acaggcctct atgacagcgt cccccctgg gtccctgcga 540
 gcctctgatt gggtaataact caactgctca ttttctcggc cagatcgccc cgctagtgtt 600
 cattgggtcc gaaatcgcg ccaaggctgc gtgcctgttc gagaatctcc acaccacat 660
 ttggcggagt cttttctttt tctgcctcag gtctccccta tggactctgg accgtggggc 720
 20 tgtattttga catatcggga tgggtttaac gtgagtataa tgtataatct cactgtcttg 780
 ggtcttgagc cacctacgcc gctgacggtg tacgcgggag ccggcagccg ggttggtctg 840
 ccctgcaggc tgcctgcagg agtcgggaca aggtcattcc ttacagcaaa gtggaccccg 900
 ccagggtggg ggcccagcct ccttgtaacg ggagataatg gagatttcac tctgagactt 960
 gaggatgtct ctcaagctca ggctgggact tatacatgtc acattcactt gcaagaacag 1020
 25 cagttgaatg cgacggttac cctggctatc ataacagtaa cacctaaatc tttcggtagt 1080
 ccgggtagcc tgggcaaaact gttgtgtgag gtaacccccg tgtcagggtc agagcggttc 1140
 gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatccttta gcggaccctg gctcgaagcc 1200
 caagaagccc agctgctttc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgcctt 1260
 ctcggtgcgg ctgtctactt caccgaattg tcctctccgg gagcgcaaag aagtggacgc 1320
 30 gccccagggg ccctcccggc aggacacctt ctgctgtttt tgattttggg ggtacttagt 1380
 ttgctgctgc ttgtcacagg cgctttcggg ttccgcagca agcggagcag aggcggccac 1440
 agcgactaca tgaacatgac ccctagacgg cctggcccca ccagaaagca ctaccagccc 1500
 tacgcccctc cccgggactt tgccgcctac agaagc 1536

<210> 152

35 <211> 512

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> huLag3tm-CD28

40 <400> 152

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

RU 2755 227 C2

	His	Gln	Pro	Asp	Ser	Gly	Pro	Pro	Ala	Ala	Ala	Pro	Gly	His	Pro	Leu
	65					70					75					80
	Ala	Pro	Gly	Pro	His	Pro	Ala	Ala	Pro	Ser	Ser	Trp	Gly	Pro	Arg	Pro
					85					90					95	
5	Arg	Arg	Tyr	Thr	Val	Leu	Ser	Val	Gly	Pro	Gly	Gly	Leu	Arg	Ser	Gly
					100				105					110		
	Arg	Leu	Pro	Leu	Gln	Pro	Arg	Val	Gln	Leu	Asp	Glu	Arg	Gly	Arg	Gln
					115				120					125		
	Arg	Gly	Asp	Phe	Ser	Leu	Trp	Leu	Arg	Pro	Ala	Arg	Arg	Ala	Asp	Ala
10																
		130						135						140		
	Gly	Glu	Tyr	Arg	Ala	Ala	Val	His	Leu	Arg	Asp	Arg	Ala	Leu	Ser	Cys
	145					150					155					160
	Arg	Leu	Arg	Leu	Arg	Leu	Gly	Gln	Ala	Ser	Met	Thr	Ala	Ser	Pro	Pro
						165					170					175
15	Gly	Ser	Leu	Arg	Ala	Ser	Asp	Trp	Val	Ile	Leu	Asn	Cys	Ser	Phe	Ser
					180					185					190	
	Arg	Pro	Asp	Arg	Pro	Ala	Ser	Val	His	Trp	Phe	Arg	Asn	Arg	Gly	Gln
					195					200					205	
	Gly	Arg	Val	Pro	Val	Arg	Glu	Ser	Pro	His	His	His	Leu	Ala	Glu	Ser
20																
		210													220	
	Phe	Leu	Phe	Leu	Pro	Gln	Val	Ser	Pro	Met	Asp	Ser	Gly	Pro	Trp	Gly
	225					230						235				240
	Cys	Ile	Leu	Thr	Tyr	Arg	Asp	Gly	Phe	Asn	Val	Ser	Ile	Met	Tyr	Asn
					245					250					255	
25	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Leu	Glu	Pro	Pro	Thr	Pro	Leu	Thr	Val	Tyr	Ala
					260					265					270	
	Gly	Ala	Gly	Ser	Arg	Val	Gly	Leu	Pro	Cys	Arg	Leu	Pro	Ala	Gly	Val
					275					280					285	
	Gly	Thr	Arg	Ser	Phe	Leu	Thr	Ala	Lys	Trp	Thr	Pro	Pro	Gly	Gly	Gly
30																
		290												300		
	Pro	Asp	Leu	Leu	Val	Thr	Gly	Asp	Asn	Gly	Asp	Phe	Thr	Leu	Arg	Leu
	305					310						315				320
	Glu	Asp	Val	Ser	Gln	Ala	Gln	Ala	Gly	Thr	Tyr	Thr	Cys	His	Ile	His
					325					330					335	
35	Leu	Gln	Glu	Gln	Gln	Leu	Asn	Ala	Thr	Val	Thr	Leu	Ala	Ile	Ile	Thr
					340					345					350	
	Val	Thr	Pro	Lys	Ser	Phe	Gly	Ser	Pro	Gly	Ser	Leu	Gly	Lys	Leu	Leu
					355					360					365	
	Cys	Glu	Val	Thr	Pro	Val	Ser	Gly	Gln	Glu	Arg	Phe	Val	Trp	Ser	Ser
40																
		370												380		
	Leu	Asp	Thr	Pro	Ser	Gln	Arg	Ser	Phe	Ser	Gly	Pro	Trp	Leu	Glu	Ala
	385					390						395				400
	Gln	Glu	Ala	Gln	Leu	Leu	Ser	Gln	Pro	Trp	Gln	Cys	Gln	Leu	Tyr	Gln
					405						410				415	
45	Gly	Glu	Arg	Leu	Leu	Gly	Ala	Ala	Val	Tyr	Phe	Thr	Glu	Leu	Ser	Ser
					420					425					430	
	Pro	Gly	Ala	Gln	Arg	Ser	Gly	Arg	Ala	Pro	Gly	Ala	Leu	Pro	Ala	Gly
					435										445	

His Leu Leu Leu Phe Leu Ile Leu Gly Val Leu Ser Leu Leu Leu Leu
450 455 460
Val Thr Gly Ala Phe Gly Phe Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His
465 470 475 480
5 Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys
485 490 495
His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
500 505 510
<210> 153
10 <211> 1350
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> эктодомен huLag3
15 <400> 153
atgtgggaag cgcagtttct tggacttctt tttctccagc cgctgtgggt tgcgccagta 60
aagccgctcc aaccgggtgc agagggtccg gtagtgtggg cgcaagaggg tgcaccagcg 120
cagctcccct gcagtccgac gattccgctg caagatttgt cactgcttag aagggcgggc 180
gtaacgtggc agcaccaacc ggatagtggc cctccggctg cagcaccagg gcaccactc 240
20 gccccggcc ctcattccgc agcaccgagc agctggggtc ctagaccacg cagatataca 300
gtactctcag taggtcccgg cggcctgcgg tccggctcgt tgccccttca acctagagta 360
cagctggatg aaagagggtc acaacggggg gatttctccc tctggttgag gcctgcacga 420
cgagcagatg ctggggagta tagggctgcc gtacacctgc gagaccgcgc acttagttgt 480
agactccggc tccggctggg acaggcctct atgacagcgt cccccctgg gtccctgcga 540
25 gcctctgatt gggtaatact caactgctca ttttctcggc cagatcgccc cgctagtgtt 600
cattggttcc gaaatcgcgg ccaaggctgc gtgcctgttc gagaatctcc acaccacat 660
ttggcggagt cttttctttt tctgcctcag gtctccccta tggactctgg accgtggggc 720
tgtattttga catatcggga tgggtttaac gtgagtataa tgtataatct cactgtcttg 780
ggtcttgagc cacctacgcc gctgacgggtg tacgcgggag ccggcagccg ggttggtctg 840
30 ccctgcaggc tgcttcgagg agtcggggaca aggtcattcc ttacagcaaa gtggacccccg 900
ccagggtgggg ggccccgacct ccttgtaacg ggagataatg gagatttcac tctgagactt 960
gaggatgtct ctcaagctca ggctgggact tatacatgtc acattcactt gcaagaacag 1020
cagttgaatg cgacgggttac cctggctatc ataacagtaa cacctaaatc tttcggtagt 1080
ccgggtagcc tgggcaaaact gttgtgtgag gtaacccccg tgtcagggtc agagcgggtc 1140
35 gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatccttta gcggaccctg gctcgaagcc 1200
caagaagccc agctgctttc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgcctt 1260
ctcgggtgcgg ctgtctactt caccgaattg tcctctccgg gagcgcaaag aagtggacgc 1320
gccccagggg ccctcccggc aggacacctt 1350
<210> 154
40 <211> 450
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> эктодомен huLag3
45 <400> 154
Met Trp Glu Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp
1 5 10 15
Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val

RU 2755 227 C2

		20		25		30											
		Trp	Ala	Gln	Glu	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Leu	Pro	Cys	Ser	Pro	Thr	Ile
		35							40				45				
		Pro	Leu	Gln	Asp	Leu	Ser	Leu	Leu	Arg	Arg	Ala	Gly	Val	Thr	Trp	Gln
5		50						55					60				
		His	Gln	Pro	Asp	Ser	Gly	Pro	Pro	Ala	Ala	Ala	Pro	Gly	His	Pro	Leu
		65					70					75				80	
		Ala	Pro	Gly	Pro	His	Pro	Ala	Ala	Pro	Ser	Ser	Trp	Gly	Pro	Arg	Pro
						85					90					95	
10		Arg	Arg	Tyr	Thr	Val	Leu	Ser	Val	Gly	Pro	Gly	Gly	Leu	Arg	Ser	Gly
						100				105					110		
		Arg	Leu	Pro	Leu	Gln	Pro	Arg	Val	Gln	Leu	Asp	Glu	Arg	Gly	Arg	Gln
						115				120					125		
		Arg	Gly	Asp	Phe	Ser	Leu	Trp	Leu	Arg	Pro	Ala	Arg	Arg	Ala	Asp	Ala
15		130						135					140				
		Gly	Glu	Tyr	Arg	Ala	Ala	Val	His	Leu	Arg	Asp	Arg	Ala	Leu	Ser	Cys
		145					150					155				160	
		Arg	Leu	Arg	Leu	Arg	Leu	Gly	Gln	Ala	Ser	Met	Thr	Ala	Ser	Pro	Pro
						165					170					175	
20		Gly	Ser	Leu	Arg	Ala	Ser	Asp	Trp	Val	Ile	Leu	Asn	Cys	Ser	Phe	Ser
						180				185					190		
		Arg	Pro	Asp	Arg	Pro	Ala	Ser	Val	His	Trp	Phe	Arg	Asn	Arg	Gly	Gln
						195				200					205		
		Gly	Arg	Val	Pro	Val	Arg	Glu	Ser	Pro	His	His	His	Leu	Ala	Glu	Ser
25		210						215					220				
		Phe	Leu	Phe	Leu	Pro	Gln	Val	Ser	Pro	Met	Asp	Ser	Gly	Pro	Trp	Gly
		225					230					235				240	
		Cys	Ile	Leu	Thr	Tyr	Arg	Asp	Gly	Phe	Asn	Val	Ser	Ile	Met	Tyr	Asn
						245					250					255	
30		Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Leu	Glu	Pro	Pro	Thr	Pro	Leu	Thr	Val	Tyr	Ala
						260					265				270		
		Gly	Ala	Gly	Ser	Arg	Val	Gly	Leu	Pro	Cys	Arg	Leu	Pro	Ala	Gly	Val
						275					280				285		
		Gly	Thr	Arg	Ser	Phe	Leu	Thr	Ala	Lys	Trp	Thr	Pro	Pro	Gly	Gly	Gly
35		290						295					300				
		Pro	Asp	Leu	Leu	Val	Thr	Gly	Asp	Asn	Gly	Asp	Phe	Thr	Leu	Arg	Leu
		305					310					315				320	
		Glu	Asp	Val	Ser	Gln	Ala	Gln	Ala	Gly	Thr	Tyr	Thr	Cys	His	Ile	His
						325					330					335	
40		Leu	Gln	Glu	Gln	Gln	Leu	Asn	Ala	Thr	Val	Thr	Leu	Ala	Ile	Ile	Thr
						340					345				350		
		Val	Thr	Pro	Lys	Ser	Phe	Gly	Ser	Pro	Gly	Ser	Leu	Gly	Lys	Leu	Leu
						355					360				365		
		Cys	Glu	Val	Thr	Pro	Val	Ser	Gly	Gln	Glu	Arg	Phe	Val	Trp	Ser	Ser
45		370						375					380				
		Leu	Asp	Thr	Pro	Ser	Gln	Arg	Ser	Phe	Ser	Gly	Pro	Trp	Leu	Glu	Ala
		385					390					395				400	
		Gln	Glu	Ala	Gln	Leu	Leu	Ser	Gln	Pro	Trp	Gln	Cys	Gln	Leu	Tyr	Gln

		405		410		415										
	Gly	Glu	Arg	Leu	Leu	Gly	Ala	Ala	Val	Tyr	Phe	Thr	Glu	Leu	Ser	Ser
				420					425					430		
	Pro	Gly	Ala	Gln	Arg	Ser	Gly	Arg	Ala	Pro	Gly	Ala	Leu	Pro	Ala	Gly
5			435					440					445			
	His	Leu														
		450														
	<210>	155														
	<211>	63														
10	<212>	ДНК														
	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
	<223>	трансмембранный домен huLag3														
	<400>	155														
15	ctgctgtttt	tgattttggg	ggtacttagt	ttgctgctgc	ttgtcacagg	cgctttcggt										60
	ttc															63
	<210>	156														
	<211>	21														
	<212>	PRT														
20	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
	<223>	трансмембранный домен huLag3														
	<400>	156														
	Leu	Leu	Phe	Leu	Ile	Leu	Gly	Val	Leu	Ser	Leu	Leu	Leu	Leu	Val	Thr
25	1			5					10					15		
	Gly	Ala	Phe	Gly	Phe											
				20												
	<210>	157														
	<211>	1554														
30	<212>	ДНК														
	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
	<223>	huLag3-CD28tm														
	<400>	157														
35	atgtgggaag	cgcagtttct	tggacttctt	tttctccagc	cgctgtgggt	tgcgccagta										60
	aagccgctcc	aaccggtgc	agaggttccg	gtagtgtggg	cgcaagaggg	tgaccagcg										120
	cagctcccct	gcagtccgac	gattccgctg	caagatttgt	cactgcttag	aagggcgggc										180
	gtaacgtggc	agaccaacc	ggatagtggc	cctccggctg	cagcaccagg	gcaccactc										240
	gccccgggcc	ctcatcccg	agcaccgagc	agctggggtc	ctagaccacg	cagatataca										300
40	gtactctcag	taggtcccgg	cggcctgcgg	tccggtcgct	tgccccttca	acctagagta										360
	cagctggatg	aaagaggtcg	acaacggggg	gattttctcc	tctggttgag	gcctgcacga										420
	cgagcagatg	ctggggagta	tagggctgcc	gtacacctgc	gagaccgcgc	acttagtgt										480
	agactccggc	tccggctggg	acaggcctct	atgacagcgt	ccccccctgg	gtccctgcga										540
	gcctctgatt	gggtaatact	caactgctca	ttttctcggc	cagatcgccc	cgctagtgtt										600
45	cattggttcc	gaaatcgcg	ccaaggtcgc	gtgcctgttc	gagaatctcc	acaccaccat										660
	ttggcggagt	cttttctttt	tctgcctcag	gtctccccta	tggactctgg	accgtggggc										720
	tgtattttga	catatcggga	tgggtttaac	gtgagtataa	tgtataatct	cactgtcttg										780
	ggctcttgagc	cacctacgcc	gctgacgggtg	tacgcgggag	ccggcagccg	ggttggtctg										840

ccctgcaggc tgccctgcagg agtcggggaca aggtcattcc ttacagcaaa gtggacccccg 900
ccaggtgggg ggccccgacct ccttgtaacg ggagataatg gagatttcac tctgagactt 960
gaggatgtct ctcaagctca ggctgggact tatacatgtc acattcactt gcaagaacag 1020
cagttgaatg cgacgggttac cctgggctatc ataacagtaa cacctaaatc tttcggtagt 1080
5 ccgggtagcc tggggcaact gttgtgtgag gtaacccccg tgtcagggtca agagcgggtc 1140
gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatccttta gcggaccctg gctcgaagcc 1200
caagaagccc agctgctttc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgcctt 1260
ctcgggtgcg ctgtctactt caccgaattg tcctctccgg gagcgcaaag aagtggacgc 1320
gccccagggg ccctcccggc aggacacctt ttctgggtgc tgggtggtgg cgagggcgtg 1380
10 ctggcctgct acagcctgct ggtcaccgtg gccttcatca tcttttgggt ccgcagcaag 1440
cggagcagag gcggccacag cgactacatg aacatgaccc ctagacggcc tggccccacc 1500
agaaagcact accagcccta cgcccctccc cgggactttg ccgcctacag aagc 1554
<210> 158
<211> 518
15 <212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> huLag3-CD28tm
<400> 158
20 Met Trp Glu Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp
1 5 10 15
Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val
20 25 30
Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile
25 35 40 45
Pro Leu Gln Asp Leu Ser Leu Leu Arg Arg Ala Gly Val Thr Trp Gln
50 55 60
His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu
65 70 75 80
30 Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro
85 90 95
Arg Arg Tyr Thr Val Leu Ser Val Gly Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly
100 105 110
Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln
35 115 120 125
Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg Arg Ala Asp Ala
130 135 140
Gly Glu Tyr Arg Ala Ala Val His Leu Arg Asp Arg Ala Leu Ser Cys
145 150 155 160
40 Arg Leu Arg Leu Arg Leu Gly Gln Ala Ser Met Thr Ala Ser Pro Pro
165 170 175
Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn Cys Ser Phe Ser
180 185 190
Arg Pro Asp Arg Pro Ala Ser Val His Trp Phe Arg Asn Arg Gly Gln
45 195 200 205
Gly Arg Val Pro Val Arg Glu Ser Pro His His His Leu Ala Glu Ser
210 215 220
Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser Gly Pro Trp Gly

RU 2755 227 C2

	225		230		235		240									
	Cys	Ile	Leu	Thr	Tyr	Arg	Asp	Gly	Phe	Asn	Val	Ser	Ile	Met	Tyr	Asn
					245					250					255	
	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Leu	Glu	Pro	Pro	Thr	Pro	Leu	Thr	Val	Tyr	Ala
5				260				265						270		
	Gly	Ala	Gly	Ser	Arg	Val	Gly	Leu	Pro	Cys	Arg	Leu	Pro	Ala	Gly	Val
				275				280						285		
	Gly	Thr	Arg	Ser	Phe	Leu	Thr	Ala	Lys	Trp	Thr	Pro	Pro	Gly	Gly	Gly
				290				295						300		
10	Pro	Asp	Leu	Leu	Val	Thr	Gly	Asp	Asn	Gly	Asp	Phe	Thr	Leu	Arg	Leu
	305					310				315				320		
	Glu	Asp	Val	Ser	Gln	Ala	Gln	Ala	Gly	Thr	Tyr	Thr	Cys	His	Ile	His
					325					330				335		
	Leu	Gln	Glu	Gln	Gln	Leu	Asn	Ala	Thr	Val	Thr	Leu	Ala	Ile	Ile	Thr
15				340				345						350		
	Val	Thr	Pro	Lys	Ser	Phe	Gly	Ser	Pro	Gly	Ser	Leu	Gly	Lys	Leu	Leu
				355				360						365		
	Cys	Glu	Val	Thr	Pro	Val	Ser	Gly	Gln	Glu	Arg	Phe	Val	Trp	Ser	Ser
				370				375						380		
20	Leu	Asp	Thr	Pro	Ser	Gln	Arg	Ser	Phe	Ser	Gly	Pro	Trp	Leu	Glu	Ala
	385					390					395			400		
	Gln	Glu	Ala	Gln	Leu	Leu	Ser	Gln	Pro	Trp	Gln	Cys	Gln	Leu	Tyr	Gln
				405						410				415		
	Gly	Glu	Arg	Leu	Leu	Gly	Ala	Ala	Val	Tyr	Phe	Thr	Glu	Leu	Ser	Ser
25				420				425						430		
	Pro	Gly	Ala	Gln	Arg	Ser	Gly	Arg	Ala	Pro	Gly	Ala	Leu	Pro	Ala	Gly
				435				440						445		
	His	Leu	Phe	Trp	Val	Leu	Val	Val	Val	Gly	Gly	Val	Leu	Ala	Cys	Tyr
				450				455						460		
30	Ser	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Ala	Phe	Ile	Ile	Phe	Trp	Val	Arg	Ser	Lys
	465					470					475			480		
	Arg	Ser	Arg	Gly	Gly	His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg
				485					490					495		
	Pro	Gly	Pro	Thr	Arg	Lys	His	Tyr	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro	Pro	Arg	Asp
35				500				505						510		
	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	Ser										
				515												
	<210>	159														
	<211>	1554														
40	<212>	ДНК														
	<213>	Искусственная последовательность														
	<220>															
	<223>	huLag3-12aas-CD28Cys														
	<400>	159														
45	atgtgggaag	cgcagtttct	tggaacttctt	tttctccagc	cgctgtgggt	tgcgccagta										60
	aagccgctcc	aacccgggtgc	agagggttccg	gtagtgtggg	cgcaagaggg	tgcaccagcg										120
	cagctcccct	gcagtccgac	gattccgctg	caagatttgt	cactgcttag	aagggcgggc										180
	gtaacgtggc	agcaccaacc	ggatagtggc	cctccggctg	cagcaccagg	gcaccactc										240

gcccccggcc ctcatcccgc agcaccgagc agctgggggtc ctagaccacg cagatataca 300
 gtactctcag taggtcccgg cggcctgcgg tccggtcgct tgccccttca acctagagta 360
 cagctggatg aaagaggctg acaacggggg gattttctccc tctgggttgag gcctgcacga 420
 cgagcagatg ctgggggagta tagggctgcc gtacacctgc gagaccgcgc acttagttgt 480
 5 agactccggc tccggctggg acaggcctct atgacagcgt cccccctgg gtccctgcga 540
 gcctctgatt gggtaataact caactgctca ttttctcggc cagatcgccc cgctagtgtt 600
 cattgggttcc gaaatcgcgg ccaaggctgc gtgcctgttc gagaatctcc acaccacat 660
 ttggcggagt cttttctttt tctgcctcag gtctccccta tggactctgg accgtggggc 720
 tgtattttga catatcggga tgggtttaac gtgagtataa tgtataatct cactgtcttg 780
 10 ggtcttgagc cacctacgcc gctgacggtg tacgcgggag ccggcagccg gggttggtctg 840
 ccctgcaggc tgcctgcagg agtcgggaca aggtcattcc ttacagcaaa gtggacccccg 900
 ccagggtgggg ggcccgacct ccttgtaacg ggagataatg gagatttcac tctgagactt 960
 gaggatgtct ctcaagctca ggctgggact tatacatgtc acattcactt gcaagaacag 1020
 cagttgaatg cgacggttac cctggctatc ataacagtaa cacctaaatc tttcggtagt 1080
 15 ccgggtagcc tgggcaaaact gttgtgtgag gtaacccccg tgtcagggtca agagcggttc 1140
 gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatccttta gcggaccctg gctcgaagcc 1200
 caagaagccc agctgctttc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgcctt 1260
 ctcggtgcgg ctgtctactt caccgaattg tcctctccgg gagcgcaaag aagttgtccc 1320
 agccctctgt tccccggccc tagcaagcct ttctgggtgc tgggtggtgg cggaggcgtg 1380
 20 ctggcctgct acagcctgct ggtcaccgtg gccttcatca tcttttgggt ccgcagcaag 1440
 cggagcagag gcggccacag cgactacatg aacatgaccc ctagacggcc tggccccacc 1500
 agaaagcact accagcccta cgcccctccc cgggactttg ccgcctacag aagc 1554

<210> 160

<211> 518

25 <212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> huLag3-12aas-CD28Cys

<400> 160

30 Met Trp Glu Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp
 1 5 10 15
 Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val
 20 25 30
 Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile
 35 35 40 45
 Pro Leu Gln Asp Leu Ser Leu Leu Arg Arg Ala Gly Val Thr Trp Gln
 50 55 60
 His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu
 65 70 75 80
 40 Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro
 85 90 95
 Arg Arg Tyr Thr Val Leu Ser Val Gly Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly
 100 105 110
 Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln
 45 115 120 125
 Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg Arg Ala Asp Ala
 130 135 140
 Gly Glu Tyr Arg Ala Ala Val His Leu Arg Asp Arg Ala Leu Ser Cys

RU 2 755 227 C2

	145				150				155						160	
	Arg	Leu	Arg	Leu	Arg	Leu	Gly	Gln	Ala	Ser	Met	Thr	Ala	Ser	Pro	Pro
					165				170						175	
5	Gly	Ser	Leu	Arg	Ala	Ser	Asp	Trp	Val	Ile	Leu	Asn	Cys	Ser	Phe	Ser
					180				185						190	
	Arg	Pro	Asp	Arg	Pro	Ala	Ser	Val	His	Trp	Phe	Arg	Asn	Arg	Gly	Gln
					195				200						205	
	Gly	Arg	Val	Pro	Val	Arg	Glu	Ser	Pro	His	His	His	Leu	Ala	Glu	Ser
					210				215						220	
10	Phe	Leu	Phe	Leu	Pro	Gln	Val	Ser	Pro	Met	Asp	Ser	Gly	Pro	Trp	Gly
	225					230					235					240
	Cys	Ile	Leu	Thr	Tyr	Arg	Asp	Gly	Phe	Asn	Val	Ser	Ile	Met	Tyr	Asn
					245					250					255	
15	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Leu	Glu	Pro	Pro	Thr	Pro	Leu	Thr	Val	Tyr	Ala
					260				265						270	
	Gly	Ala	Gly	Ser	Arg	Val	Gly	Leu	Pro	Cys	Arg	Leu	Pro	Ala	Gly	Val
					275				280						285	
	Gly	Thr	Arg	Ser	Phe	Leu	Thr	Ala	Lys	Trp	Thr	Pro	Pro	Gly	Gly	Gly
					290			295				300				
20	Pro	Asp	Leu	Leu	Val	Thr	Gly	Asp	Asn	Gly	Asp	Phe	Thr	Leu	Arg	Leu
	305					310					315					320
	Glu	Asp	Val	Ser	Gln	Ala	Gln	Ala	Gly	Thr	Tyr	Thr	Cys	His	Ile	His
					325					330					335	
25	Leu	Gln	Glu	Gln	Gln	Leu	Asn	Ala	Thr	Val	Thr	Leu	Ala	Ile	Ile	Thr
					340				345					350		
	Val	Thr	Pro	Lys	Ser	Phe	Gly	Ser	Pro	Gly	Ser	Leu	Gly	Lys	Leu	Leu
					355				360					365		
	Cys	Glu	Val	Thr	Pro	Val	Ser	Gly	Gln	Glu	Arg	Phe	Val	Trp	Ser	Ser
					370			375				380				
30	Leu	Asp	Thr	Pro	Ser	Gln	Arg	Ser	Phe	Ser	Gly	Pro	Trp	Leu	Glu	Ala
	385					390					395					400
	Gln	Glu	Ala	Gln	Leu	Leu	Ser	Gln	Pro	Trp	Gln	Cys	Gln	Leu	Tyr	Gln
					405						410				415	
35	Gly	Glu	Arg	Leu	Leu	Gly	Ala	Ala	Val	Tyr	Phe	Thr	Glu	Leu	Ser	Ser
					420				425					430		
	Pro	Gly	Ala	Gln	Arg	Ser	Cys	Pro	Ser	Pro	Leu	Phe	Pro	Gly	Pro	Ser
					435				440					445		
	Lys	Pro	Phe	Trp	Val	Leu	Val	Val	Val	Gly	Gly	Val	Leu	Ala	Cys	Tyr
					450			455				460				
40	Ser	Leu	Leu	Val	Thr	Val	Ala	Phe	Ile	Ile	Phe	Trp	Val	Arg	Ser	Lys
	465					470					475					480
	Arg	Ser	Arg	Gly	Gly	His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	Arg	Arg

<211> 1314

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

5 <223> huLag3-12aas

<400> 161

```

atgtgggaag cgcagtttct tggacttctt tttctccagc cgctgtgggt tgcgccagta      60
aagccgctcc aaccgcgtgc agagggtccg gtagtgtggg cgcaagaggg tgcaccagcg      120
cagctcccct gcagtcgcac gattccgctg caagatttgt cactgcttag aagggcgggc      180
10 gtaacgtggc agcaccaacc ggatagtggc cctccggctg cagcaccagg gcaccactc      240
gcccccggcc ctcatcccg cagcaccgagc agctgggggt ctagaccacg cagatataca      300
gtactctcag taggtcccgg cggcctgcgg tccgggtcgt tgccccctca acctagagta      360
cagctggatg aaagagggtc acaacggggg gatttctccc tctggttgag gcctgcacga      420
cgagcagatg ctggggagta tagggctgcc gtacacctgc gagaccgcgc acttagttgt      480
15 agactccggc tccggctggg acaggcctct atgacagcgt ccccccctgg gtccctgcga      540
gcctctgatt gggtaatact caactgctca ttttctcggc cagatcgccc cgctagtgtt      600
cattgggttcc gaaatcgcg ccaaggctgc gtgcctgttc gagaatctcc acaccaccat      660
ttggcggagt cttttctttt tctgcctcag gtctccccta tggactctgg accgtggggc      720
tgtattttga catatcggga tgggtttaac gtgagtataa tgtataatct cactgtcttg      780
20 ggtcttgagc cacctacgcc gctgacgggt tacgcgggag ccggcagccg ggttggtctg      840
ccctgcaggc tgctgcagg agtcgggaca aggtcattcc ttacagcaaa gtggaccccg      900
ccagggtggg ggcccgcact ccttgtaacg ggagataatg gagatttcac tctgagactt      960
gaggatgtct ctcaagctca ggctgggact tatacatgtc acattcactt gcaagaacag      1020
cagttgaatg cgacgggtac cctggctatc ataacagtaa cacctaaatc tttcggtagt      1080
25 ccgggtagcc tgggcaaact gttgtgtgag gtaacccccg tgtcagggtc agagcgggtc      1140
gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatccttta gcggaccctg gctcgaagcc      1200
caagaagccc agctgctttc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgcctt      1260
ctcgggtcgg ctgtctactt caccgaattg tcctctccgg gagcgcaaag aagt      1314

```

<210> 162

30 <211> 438

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> huLag3-12aas

35 <400> 162

```

Met Trp Glu Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp
 1              5              10              15
Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val
              20              25              30
40 Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile
              35              40              45
Pro Leu Gln Asp Leu Ser Leu Leu Arg Arg Ala Gly Val Thr Trp Gln
              50              55              60
His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu
45 65              70              75              80
Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro
              85              90              95
Arg Arg Tyr Thr Val Leu Ser Val Gly Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly

```

RU 2755 227 C2

		100		105		110											
		Arg	Leu	Pro	Leu	Gln	Pro	Arg	Val	Gln	Leu	Asp	Glu	Arg	Gly	Arg	Gln
		115							120					125			
		Arg	Gly	Asp	Phe	Ser	Leu	Trp	Leu	Arg	Pro	Ala	Arg	Arg	Ala	Asp	Ala
5		130						135					140				
		Gly	Glu	Tyr	Arg	Ala	Ala	Val	His	Leu	Arg	Asp	Arg	Ala	Leu	Ser	Cys
		145				150						155				160	
		Arg	Leu	Arg	Leu	Arg	Leu	Gly	Gln	Ala	Ser	Met	Thr	Ala	Ser	Pro	Pro
					165						170					175	
10		Gly	Ser	Leu	Arg	Ala	Ser	Asp	Trp	Val	Ile	Leu	Asn	Cys	Ser	Phe	Ser
				180						185					190		
		Arg	Pro	Asp	Arg	Pro	Ala	Ser	Val	His	Trp	Phe	Arg	Asn	Arg	Gly	Gln
				195						200				205			
		Gly	Arg	Val	Pro	Val	Arg	Glu	Ser	Pro	His	His	His	Leu	Ala	Glu	Ser
15		210						215					220				
		Phe	Leu	Phe	Leu	Pro	Gln	Val	Ser	Pro	Met	Asp	Ser	Gly	Pro	Trp	Gly
		225				230						235				240	
		Cys	Ile	Leu	Thr	Tyr	Arg	Asp	Gly	Phe	Asn	Val	Ser	Ile	Met	Tyr	Asn
					245						250				255		
20		Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Leu	Glu	Pro	Pro	Thr	Pro	Leu	Thr	Val	Tyr	Ala
				260						265					270		
		Gly	Ala	Gly	Ser	Arg	Val	Gly	Leu	Pro	Cys	Arg	Leu	Pro	Ala	Gly	Val
				275					280					285			
		Gly	Thr	Arg	Ser	Phe	Leu	Thr	Ala	Lys	Trp	Thr	Pro	Pro	Gly	Gly	Gly
25		290						295					300				
		Pro	Asp	Leu	Leu	Val	Thr	Gly	Asp	Asn	Gly	Asp	Phe	Thr	Leu	Arg	Leu
		305				310						315				320	
		Glu	Asp	Val	Ser	Gln	Ala	Gln	Ala	Gly	Thr	Tyr	Thr	Cys	His	Ile	His
					325						330				335		
30		Leu	Gln	Glu	Gln	Gln	Leu	Asn	Ala	Thr	Val	Thr	Leu	Ala	Ile	Ile	Thr
				340						345					350		
		Val	Thr	Pro	Lys	Ser	Phe	Gly	Ser	Pro	Gly	Ser	Leu	Gly	Lys	Leu	Leu
				355					360					365			
		Cys	Glu	Val	Thr	Pro	Val	Ser	Gly	Gln	Glu	Arg	Phe	Val	Trp	Ser	Ser
35		370						375					380				
		Leu	Asp	Thr	Pro	Ser	Gln	Arg	Ser	Phe	Ser	Gly	Pro	Trp	Leu	Glu	Ala
		385				390						395				400	
		Gln	Glu	Ala	Gln	Leu	Leu	Ser	Gln	Pro	Trp	Gln	Cys	Gln	Leu	Tyr	Gln
				405						410					415		
40		Gly	Glu	Arg	Leu	Leu	Gly	Ala	Ala	Val	Tyr	Phe	Thr	Glu	Leu	Ser	Ser
				420						425					430		
		Pro	Gly	Ala	Gln	Arg	Ser										
				435													
		<210>	163														
45		<211>	1590														
		<212>	ДНК														
		<213>	Искусственная последовательность														
		<220>															

<223> huLag3-CD28Cys

<400> 163

atgtgggaag cgcagtttct tggacttctt tttctccagc cgctgtgggt tgcgccagta 60
 aagccgctcc aaccgggtgc agagggtccg gtagtgtggg cgcaagaggg tgcaccagcg 120
 5 cagctcccct gcagtccgac gattccgctg caagatttgt cactgcttag aagggcgggc 180
 gtaacgtggc agcaccaacc ggatagtggc cctccggctg cagcaccagg gcaccactc 240
 gccccgggcc ctcatccgc agcaccgagc agctggggtc ctagaccacg cagatataca 300
 gtactctcag taggtcccgg cggcctgcgg tccggctcgt tgccccttca acctagagta 360
 cagctggatg aaagaggctg acaacggggg gatttctccc tctggttgag gcctgcacga 420
 10 cgagcagatg ctggggagta tagggctgcc gtacacctgc gagaccgcg acttagttgt 480
 agactccggc tccggctggg acaggcctct atgacagcgt cccccctgg gtccctgcga 540
 gcctctgatt gggtaatact caactgctca ttttctcggc cagatcgccc cgctagtgtt 600
 cattgggttcc gaaatcgcgg ccaaggctgc gtgcctgttc gagaatctcc acaccacat 660
 ttggcggagt cttttctttt tctgcctcag gtctccccta tggactctgg accgtggggc 720
 15 tgtattttga catatcggga tgggtttaac gtgagtataa tgtataatct cactgtcttg 780
 ggtcttgagc cacctacgcc gctgacggtg tacgcgggag ccggcagccg ggttggtctg 840
 ccctgcaggc tgctgcagg agtcgggaca aggtcattcc ttacagcaaa gtggaccccg 900
 ccagggtggg ggcccgacct ccttgtaacg ggagataatg gagatttcac tctgagactt 960
 gaggatgtct ctcaagctca ggctgggact tatacatgtc acattcactt gcaagaacag 1020
 20 cagttgaatg cgacggttac cctggctatc ataacagtaa cacctaaatc tttcggtagt 1080
 ccgggtagcc tgggcaaact gttgtgtgag gtaacccccg tgtcaggta agagcgggtc 1140
 gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatccttta gcggaccctg gctcgaagcc 1200
 caagaagccc agctgctttc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgctt 1260
 ctgggtgcgg ctgtctactt caccgaattg tcctctccgg gagcgcaaag aagtggacgc 1320
 25 gccccagggg ccctcccggc aggacacctt tgtcccagcc ctctgtttcc cggccctagc 1380
 aagcctttct ggggtgctgg ggtggtcggg ggcgtgctgg cctgctacag cctgctggtc 1440
 accgtggcct tcatcatctt ttgggtccgc agcaagcgga gcagaggcg ccacagcgac 1500
 tacatgaaca tgacccttag acggcctggc cccaccagaa agcactacca gccctacgcc 1560
 cctccccggg actttgccgc ctacagaagc 1590

30 <210> 164

<211> 530

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

35 <223> huLag3-CD28Cys

<400> 164

Met Trp Glu Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp
 1 5 10 15
 Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val
 40 20 25 30
 Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile
 35 40 45
 Pro Leu Gln Asp Leu Ser Leu Leu Arg Arg Ala Gly Val Thr Trp Gln
 50 55 60
 45 His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu
 65 70 75 80
 Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro
 85 90 95

RU 2755 227 C2

	Arg	Arg	Tyr	Thr	Val	Leu	Ser	Val	Gly	Pro	Gly	Gly	Leu	Arg	Ser	Gly	
				100					105					110			
	Arg	Leu	Pro	Leu	Gln	Pro	Arg	Val	Gln	Leu	Asp	Glu	Arg	Gly	Arg	Gln	
			115					120					125				
5	Arg	Gly	Asp	Phe	Ser	Leu	Trp	Leu	Arg	Pro	Ala	Arg	Arg	Ala	Asp	Ala	
		130					135					140					
	Gly	Glu	Tyr	Arg	Ala	Ala	Val	His	Leu	Arg	Asp	Arg	Ala	Leu	Ser	Cys	
	145					150					155					160	
	Arg	Leu	Arg	Leu	Arg	Leu	Gly	Gln	Ala	Ser	Met	Thr	Ala	Ser	Pro	Pro	
10					165					170					175		
	Gly	Ser	Leu	Arg	Ala	Ser	Asp	Trp	Val	Ile	Leu	Asn	Cys	Ser	Phe	Ser	
				180					185					190			
	Arg	Pro	Asp	Arg	Pro	Ala	Ser	Val	His	Trp	Phe	Arg	Asn	Arg	Gly	Gln	
			195					200					205				
15	Gly	Arg	Val	Pro	Val	Arg	Glu	Ser	Pro	His	His	His	Leu	Ala	Glu	Ser	
		210					215					220					
	Phe	Leu	Phe	Leu	Pro	Gln	Val	Ser	Pro	Met	Asp	Ser	Gly	Pro	Trp	Gly	
	225					230					235					240	
	Cys	Ile	Leu	Thr	Tyr	Arg	Asp	Gly	Phe	Asn	Val	Ser	Ile	Met	Tyr	Asn	
20					245					250					255		
	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Leu	Glu	Pro	Pro	Thr	Pro	Leu	Thr	Val	Tyr	Ala	
				260					265					270			
	Gly	Ala	Gly	Ser	Arg	Val	Gly	Leu	Pro	Cys	Arg	Leu	Pro	Ala	Gly	Val	
		275					280					285					
25	Gly	Thr	Arg	Ser	Phe	Leu	Thr	Ala	Lys	Trp	Thr	Pro	Pro	Gly	Gly	Gly	
		290					295					300					
	Pro	Asp	Leu	Leu	Val	Thr	Gly	Asp	Asn	Gly	Asp	Phe	Thr	Leu	Arg	Leu	
	305					310					315					320	
	Glu	Asp	Val	Ser	Gln	Ala	Gln	Ala	Gly	Thr	Tyr	Thr	Cys	His	Ile	His	
30					325					330					335		
	Leu	Gln	Glu	Gln	Gln	Leu	Asn	Ala	Thr	Val	Thr	Leu	Ala	Ile	Ile	Thr	
				340					345					350			
	Val	Thr	Pro	Lys	Ser	Phe	Gly	Ser	Pro	Gly	Ser	Leu	Gly	Lys	Leu	Leu	
		355					360					365					
35	Cys	Glu	Val	Thr	Pro	Val	Ser	Gly	Gln	Glu	Arg	Phe	Val	Trp	Ser	Ser	
		370					375					380					
	Leu	Asp	Thr	Pro	Ser	Gln	Arg	Ser	Phe	Ser	Gly	Pro	Trp	Leu	Glu	Ala	
	385					390					395					400	
	Gln	Glu	Ala	Gln	Leu	Leu	Ser	Gln	Pro	Trp	Gln	Cys	Gln	Leu	Tyr	Gln	
40					405					410					415		
	Gly	Glu	Arg	Leu	Leu	Gly	Ala	Ala	Val	Tyr	Phe	Thr	Glu	Leu	Ser	Ser	
				420					425				430				
	Pro	Gly	Ala	Gln	Arg	Ser	Gly	Arg	Ala	Pro	Gly	Ala	Leu	Pro	Ala	Gly	
		435					440					445					
45	His	Leu	Cys	Pro	Ser	Pro	Leu	Phe	Pro	Gly	Pro	Ser	Lys	Pro	Phe	Trp	
		450					455					460					
	Val	Leu	Val	Val	Val	Gly	Gly	Val	Leu	Ala	Cys	Tyr	Ser	Leu	Leu	Val	
	465					470					475					480	

Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly
485 490 495
Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr
500 505 510
5 Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr
515 520 525
Arg Ser
530
<210> 165
10 <211> 792
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> huTim3tm-CD28
15 <400> 165
atgtttctccc atcttccctt cgactgtgtg ttgtctcttc tcctcctgct tctcaccg 60
tcaagcgaag tagagtaccg ggcggaagta ggtcagaacg catatctccc ctgtttttac 120
acacccgctg cgccgggaaa cctgggtccc gtgtgttggg gaaagggggc atgccctggt 180
ttcgagtgtg gcaacgtggt cctccggacg gatgagcgag acgtgaatta ttggacgagc 240
20 agatattggt tgaatggcga ttttagaaag ggtgatgtga gcttgaccat tgagaatgta 300
acgcttgctg atagcgggat atattgctgt agaattcaaa tccctgggtat aatgaacgac 360
gaaaaattca atctgaagct ggtaattaag ccggccaagg tgacacccgc cccgacacga 420
cagcgcgact tcacggctgc ctttccacgc atgttgacca caaggggaca tggccagcg 480
gagacccaga cacttggttag cctcccgac ataaacctca cacaatatc cacgttggcg 540
25 aacgagctcc gagattccag gcttgccaat gacctgaggg attctggagc taccatcaga 600
atcgggtatct acataggtgc cgggatatgc gccggtctcg cacttgccct gattttcggg 660
gcactgattc gcagcaagcg gagcagaggc ggccacagcg actacatgaa catgaccct 720
agacggcctg gccccaccag aaagcactac cagccctacg cccctccccg ggactttgcc 780
gcctacagaa gc 792
30 <210> 166
<211> 264
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность
<220>
35 <223> huTim3tm-CD28
<400> 166
Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu
1 5 10 15
Leu Leu Thr Arg Ser Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln
40 20 25 30
Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu
35 40 45
Val Pro Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly
50 55 60
45 Asn Val Val Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser
65 70 75 80
Arg Tyr Trp Leu Asn Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr
85 90 95

RU 2 755 227 C2

	Ile	Glu	Asn	Val	Thr	Leu	Ala	Asp	Ser	Gly	Ile	Tyr	Cys	Cys	Arg	Ile	
				100					105					110			
	Gln	Ile	Pro	Gly	Ile	Met	Asn	Asp	Glu	Lys	Phe	Asn	Leu	Lys	Leu	Val	
			115					120					125				
5	Ile	Lys	Pro	Ala	Lys	Val	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Arg	Gln	Arg	Asp	Phe	
		130					135					140					
	Thr	Ala	Ala	Phe	Pro	Arg	Met	Leu	Thr	Thr	Arg	Gly	His	Gly	Pro	Ala	
	145					150				155						160	
	Glu	Thr	Gln	Thr	Leu	Gly	Ser	Leu	Pro	Asp	Ile	Asn	Leu	Thr	Gln	Ile	
10					165				170						175		
	Ser	Thr	Leu	Ala	Asn	Glu	Leu	Arg	Asp	Ser	Arg	Leu	Ala	Asn	Asp	Leu	
			180					185					190				
	Arg	Asp	Ser	Gly	Ala	Thr	Ile	Arg	Ile	Gly	Ile	Tyr	Ile	Gly	Ala	Gly	
		195					200					205					
15	Ile	Cys	Ala	Gly	Leu	Ala	Leu	Ala	Leu	Ile	Phe	Gly	Ala	Leu	Ile	Arg	
		210					215				220						
	Ser	Lys	Arg	Ser	Arg	Gly	Gly	His	Ser	Asp	Tyr	Met	Asn	Met	Thr	Pro	
	225				230					235						240	
	Arg	Arg	Pro	Gly	Pro	Thr	Arg	Lys	His	Tyr	Gln	Pro	Tyr	Ala	Pro	Pro	
20					245				250					255			
	Arg	Asp	Phe	Ala	Ala	Tyr	Arg	Ser									
				260													
	<210>	167															
	<211>	606															
25	<212>	ДНК															
	<213>	Искусственная последовательность															
	<220>																
	<223>	эктодомен huTim3															
	<400>	167															
30	atgtttctccc	atctttccctt	cgactgtgtg	ttgctccttc	tctctctgct	tctcaccg											60
	tcaagcgaag	tagagtaccg	ggcggaagta	ggtcagaacg	catatctccc	ctgtttttac											120
	acaccgcgtg	cgccgggaaa	cctggttccc	gtgtgttggg	gaaagggggc	atgcctgtt											180
	ttcgagtgtg	gcaacgtggt	cctccggacg	gatgagcgag	acgtgaatta	ttggacgagc											240
	agatattggt	tgaatggcga	ttttagaaag	ggtgatgtga	gcttgaccat	tgagaatgta											300
35	acgcttgctg	atagcgggat	atattgctgt	agaattcaaa	tccctgggat	aatgaacgac											360
	gaaaaattca	atctgaagct	ggtaattaag	ccggccaagg	tgacaccgcg	cccgacacga											420
	cagcgcgact	tcacggctgc	ctttccacgc	atgttgacca	caaggggaca	tggtccagcg											480
	gagaccacga	cacttggtag	cctcccggac	ataaacctca	cacaaatc	cacgttggcg											540
	aacgagctcc	gagattccag	gcttgcggaat	gacctgaggg	attctggagc	taccatcaga											600
40	atcggt																606
	<210>	168															

RU 2 755 227 C2

	1				5					10					15		
	Leu	Leu	Thr	Arg	Ser	Ser	Glu	Val	Glu	Tyr	Arg	Ala	Glu	Val	Gly	Gln	
				20					25					30			
	Asn	Ala	Tyr	Leu	Pro	Cys	Phe	Tyr	Thr	Pro	Ala	Ala	Pro	Gly	Asn	Leu	
5			35					40					45				
	Val	Pro	Val	Cys	Trp	Gly	Lys	Gly	Ala	Cys	Pro	Val	Phe	Glu	Cys	Gly	
		50				55					60						
	Asn	Val	Val	Leu	Arg	Thr	Asp	Glu	Arg	Asp	Val	Asn	Tyr	Trp	Thr	Ser	
	65				70					75						80	
10	Arg	Tyr	Trp	Leu	Asn	Gly	Asp	Phe	Arg	Lys	Gly	Asp	Val	Ser	Leu	Thr	
				85					90					95			
	Ile	Glu	Asn	Val	Thr	Leu	Ala	Asp	Ser	Gly	Ile	Tyr	Cys	Cys	Arg	Ile	
			100					105					110				
	Gln	Ile	Pro	Gly	Ile	Met	Asn	Asp	Glu	Lys	Phe	Asn	Leu	Lys	Leu	Val	
15			115					120				125					
	Ile	Lys	Pro	Ala	Lys	Val	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Arg	Gln	Arg	Asp	Phe	
		130				135					140						
	Thr	Ala	Ala	Phe	Pro	Arg	Met	Leu	Thr	Thr	Arg	Gly	His	Gly	Pro	Ala	
	145				150					155						160	
20	Glu	Thr	Gln	Thr	Leu	Gly	Ser	Leu	Pro	Asp	Ile	Asn	Leu	Thr	Gln	Ile	
				165				170					175				
	Ser	Thr	Leu	Ala	Asn	Glu	Leu	Arg	Asp	Ser	Arg	Leu	Ala	Asn	Asp	Leu	
			180					185				190					
	Arg	Asp	Ser	Gly	Ala	Thr	Ile	Arg	Ile	Gly							
25			195				200										
	<210>	169															
	<211>	63															
	<212>	ДНК															
	<213>	Искусственная последовательность															
30	<220>																
	<223>	трансмембранный huTim3															
	<400>	169															
	atctacatag	gtgccgggat	atgcgccggt	ctcgcaacttg	ccttgattttt	cggggcactg											60
	att																63
35	<210>	170															
	<211>	21															
	<212>	PRT															
	<213>	Искусственная последовательность															
	<220>																
40	<223>	трансмембранный huTim3															
	<400>	170															
	Ile	Tyr	Ile	Gly	Ala	Gly	Ile	Cys	Ala	Gly	Leu	Ala	Leu	Ala	Leu	Ile	
	1																

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> huTim3-CD28tm

<400> 171

5	atgttctccc atcttccctt cgactgtgtg ttgtccttc tcctcctgct tctcaccg	60
	tcaagcgaag tagagtaccg ggcggaagta ggtcagaacg catatctccc ctgtttttac	120
	acaccgctg cgccgggaaa cctgggtccc gtgtgttggg gaaagggggc atgccctgtt	180
	ttcgagtgtg gcaacgtggt cctccggacg gatgagcgag acgtgaatta ttggacgagc	240
	agatattggt tgaatggcga ttttagaaaag ggtgatgtga gcttgaccat tgagaatgta	300
10	acgcttgctg atagcgggat atattgctgt agaattcaaa tccctggtat aatgaacgac	360
	gaaaaattca atctgaagct ggtaattaag ccggccaagg tgacaccgcg cccgacacga	420
	cagcgcgact tcacggctgc ctttcacgc atgttgacca caaggggaca tgggtccagcg	480
	gagaccacga cacttggtag cctcccgac ataaacctca caciaatc caggttgcg	540
	aacgagctcc gagattccag gcttgcaat gacctgaggg attctggagc taccatcaga	600
15	atcggtttct ggggtgctggt ggtggtcggg ggcgtgctgg cctgctacag cctgctggtc	660
	accgtggcct tcatcatctt ttgggtccgc agcaagcgga gcagaggcg ccacagcgac	720
	tacatgaaca tgacccttag acggcctggc cccaccagaa agcactacca gccctacgcc	780
	cctccccggg actttgccgc ctacagaagc	810

<210> 172

20 <211> 270

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> huTim3-CD28tm

25 <400> 172

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

	180	185	190	
	Arg Asp Ser Gly Ala Thr Ile Arg Ile Gly Phe Trp Val Leu Val Val			
	195	200	205	
	Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe			
5	210	215	220	
	Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp			
	225	230	235	240
	Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr			
	245	250	255	
10	Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser			
	260	265	270	
	<210> 173			
	<211> 846			
	<212> ДНК			
15	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			
	<223> huTim3-CD28Cys			
	<400> 173			
	atgtttctccc atctttccctt cgactgtgtg ttgctccttc tcttctgtgt tctcaccg	60		
20	tcaagcgaag tagagtaccg ggcggaagta ggtcagaacg catatctccc ctgtttttac	120		
	acaccgctg cgccgggaaa cctggttccc gtgtgttggg gaaagggggc atgccctgtt	180		
	ttcgagtgtg gcaacgtggt cctccggacg gatgagcgag acgtgaatta ttggacgagc	240		
	agatattggt tgaatggcga ttttagaaaag ggtgatgtga gcttgaccat tgagaatgta	300		
	acgcttgctg atagcgggat atattgctgt agaattcaaa tccctggtat aatgaacgac	360		
25	gaaaaattca atctgaagct ggtaattaag ccggccaagg tgacaccgcg cccgacacga	420		
	cagcgcgact tcacggctgc ctttccacgc atgttgacca caaggggaca tgggtccagcg	480		
	gagacccaga cacttggttag cctcccggac ataaacctca cacaaatata cacgttggcg	540		
	aacgagctcc gagattccag gcttgcgaaat gacctgaggg attctggagc taccatcaga	600		
	atcggttgtc ccagccctct gtttcccggc ctagcaagc ctttctgggt gctggtggtg	660		
30	gtcggaggcg tgctggcctg ctacagcctg ctggtcaccg tggccttcat catcttttgg	720		
	gtccgcagca agcggagcag aggcggccac agcgactaca tgaacatgac ccctagacgg	780		
	cctggcccca ccagaaagca ctaccagccc tacgcccctc cccgggactt tgccgcctac	840		
	agaagc	846		
	<210> 174			
35	<211> 282			
	<212> PRT			
	<213> Искусственная последовательность			
	<220>			
	<223> huTim3-CD28Cys			
40	<400> 174			
	Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu			
	1 5 10 15			
	Leu Leu Thr Arg Ser Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln			
	20 25 30			
45	Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu			
	35 40 45			
	Val Pro Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly			
	50 55 60			

	Asn Val Val Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser	
	65	70 75 80
	Arg Tyr Trp Leu Asn Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr	
		85 90 95
5	Ile Glu Asn Val Thr Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile	
		100 105 110
	Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val	
		115 120 125
	Ile Lys Pro Ala Lys Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe	
10		130 135 140
	Thr Ala Ala Phe Pro Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala	
		145 150 155 160
	Glu Thr Gln Thr Leu Gly Ser Leu Pro Asp Ile Asn Leu Thr Gln Ile	
		165 170 175
15	Ser Thr Leu Ala Asn Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Asp Leu	
		180 185 190
	Arg Asp Ser Gly Ala Thr Ile Arg Ile Gly Cys Pro Ser Pro Leu Phe	
		195 200 205
	Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val	
20		210 215 220
	Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp	
		225 230 235 240
	Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met	
		245 250 255
25	Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala	
		260 265 270
	Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser	
		275 280
	<210> 175	
30	<211> 810	
	<212> ДНК	
	<213> Искусственная последовательность	
	<220>	
	<223> huTim3-12aas-CD28Cys	
35	<400> 175	
	atgtttctccc atcttccctt cgactgtgtg ttgctccttc tcctcctgct tctcaccg	60
	tcaagcgaag tagagtaccg ggcggaagta ggtcagaacg catatctccc ctgtttttac	120
	acacccgctg cgccgggaaa cctggttccc gtgtgttggg gaaagggggc atgccctgtt	180
	ttcgagtgtg gcaacgtggt cctccggacg gatgagcgag acgtgaatta ttggacgagc	240
40	agatattggt tgaatggcga ttttagaaag ggtgatgtga gcttgaccat tgagaatgta	300
	acgcttgctg atagcgggat atattgctgt agaattcaaa tccctggtat aatgaacgac	360
	gaaaaattca atctgaagct ggtaattaag ccggccaagg tgacacccgc cccgacacga	420
	cagcgcgact tcacggctgc ctttccacgc atgttgacca caaggggaca tgggtccagcg	480
	gagacccaga cacttggtag cctcccgac ataaacctca caciaatatc cacgttggcg	540
45	aacgagctcc gagattccag gcttgcgaaat tgtcccagcc ctctgtttcc cggccctagc	600
	aagcctttct ggggtgctggt ggtggtcgga ggcgtgctgg cctgctacag cctgctggtc	660
	accgtggcct tcatcatctt ttgggtccgc agcaagcgga gcagaggcgg ccacagcgac	720
	tacatgaaca tgacccttag acggcctggc cccaccagaa agcactacca gccctacgcc	780

cctccccggg actttgccgc ctacagaagc

<210> 176

<211> 270

<212> PRT

5 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> huTim3-12aas-CD28Cys

<400> 176

```

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu
10 1 5 10 15
Leu Leu Thr Arg Ser Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln
20 25 30
Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu
35 40 45
15 Val Pro Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly
50 55 60
Asn Val Val Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser
65 70 75 80
Arg Tyr Trp Leu Asn Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr
20 85 90 95
Ile Glu Asn Val Thr Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile
100 105 110
Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val
115 120 125
25 Ile Lys Pro Ala Lys Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe
130 135 140
Thr Ala Ala Phe Pro Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala
145 150 155 160
Glu Thr Gln Thr Leu Gly Ser Leu Pro Asp Ile Asn Leu Thr Gln Ile
30 165 170 175
Ser Thr Leu Ala Asn Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Cys Pro
180 185 190
Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val
195 200 205
35 Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe
210 215 220
Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp
225 230 235 240
Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr
40 245 250 255
Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
260 265 270

```

<210> 177

<211> 570

45 <212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> huTim3-12aas

<400> 177
 atgtttctccc atcttccctt cgactgtgtg ttgctccttc tcctcctgct tctcaccg 60
 tcaagcgaag tagagtaccg ggcggaagta ggtcagaacg catatctccc ctgtttttac 120
 acacccgctg cgccgggaaa cctgggttccc gtgtgttggg gaaagggggc atgccctgtt 180
 5 ttcgagtgtg gcaacgtggt cctccggacg gatgagcgag acgtgaatta ttggacgagc 240
 agatattggt tgaatggcga ttttagaaaag ggtgatgtga gcttgaccat tgagaatgta 300
 acgcttgctg atagcgggat atattgctgt agaattcaaa tccctggtat aatgaacgac 360
 gaaaaattca atctgaagct ggtaattaag cgggccaagg tgacaccgc cccgacacga 420
 cagcgcgact tcacggctgc ctttccacgc atgttgacca caaggggaca tgggccagcg 480
 10 gagacccaga cacttggtag cctcccgac ataaacctca cacaatatc cacgttggcg 540
 aacgagctcc gagattccag gcttgccaat 570
 <210> 178
 <211> 190
 <212> PRT
 15 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> huTim3-12aas
 <400> 178
 Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu
 20 1 5 10 15
 Leu Leu Thr Arg Ser Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln
 20 25 30
 Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu
 35 40 45
 25 Val Pro Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly
 50 55 60
 Asn Val Val Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser
 65 70 75 80
 Arg Tyr Trp Leu Asn Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr
 30 85 90 95
 Ile Glu Asn Val Thr Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile
 100 105 110
 Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val
 115 120 125
 35 Ile Lys Pro Ala Lys Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe
 130 135 140
 Thr Ala Ala Phe Pro Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala
 145 150 155 160
 Glu Thr Gln Thr Leu Gly Ser Leu Pro Asp Ile Asn Leu Thr Gln Ile
 40 165 170 175
 Ser Thr Leu Ala Asn Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn
 180 185 190

(57) Формула изобретения

45 1. Слитый белок, связывающийся с CD47 для передачи костимулирующего сигнала CD28 Т-клетке, содержащий: (а) внеклеточный компонент, состоящий из CD47-связывающей части SIRPα или его связывающего варианта, где внеклеточный компонент содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей

мере 95% идентичностью к аминокислотной последовательности, изложенной под SEQ ID NO:44, (b) внутриклеточный компонент, состоящий из сигнального домена костимулирующей молекулы CD28 или его варианта, где внутриклеточный компонент содержит аминокислотную последовательность, которая характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью к аминокислотной последовательности, изложенной под SEQ ID NO:28, и (c) гидрофобный компонент, соединяющий внеклеточный и внутриклеточный компоненты, содержащий трансмембранную часть CD28, где гидрофобный компонент содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:27.

2. Слитый белок по п. 1, где экспрессия слитого белка в Т-клетке, содержащей TCR или химерный антигенный рецептор, специфичный в отношении антигена, приводит к по меньшей мере 1,5-кратному, 2-кратному или 3-кратному увеличению показателя выживания, размножения, цитотоксичности, секреции цитокинов и/или ответа на несколько циклов стимуляции у Т-клетки в ответ на связывание антигена и/или после введения субъекту и/или приводит к по меньшей мере 1,5-кратному, 2-кратному или 3-кратному увеличению показателя времени выживания, выживаемости без признаков заболевания или уменьшению интенсивности одного или более симптомов заболевания у субъекта, которому вводится клетка, по сравнению с клеткой по существу такой же, как Т-клетка, но не содержащей слитый белок.

3. Слитый белок по п. 1, где в случае экспрессии в Т-клетке слитый белок способен колокализироваться с TCR или CAR, экспрессируемыми Т-клеткой.

4. Слитый белок по п. 1, где внеклеточный компонент содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:40.

5. Слитый белок по п. 4, где внеклеточный компонент дополнительно содержит дополнительную внеклеточную часть, где дополнительная внеклеточная часть содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:32.

6. Слитый белок по п. 1, где внутриклеточный компонент дополнительно содержит второй сигнальный домен костимулирующей молекулы, предусматривающий внутриклеточный сигнальный домен CD137 (4-1BB) или его вариант, где второй сигнальный домен костимулирующей молекулы содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 95% идентичностью к аминокислотной последовательности, изложенной под SEQ ID NO:36.

7. Слитый белок по п. 1, где слитый белок содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:42.

8. Слитый белок по п. 1, где слитый белок содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:43.

9. Слитый белок по п. 1, где слитый белок содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:46.

10. Слитый белок по п. 1, где (a) внеклеточный компонент содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:40, (b) гидрофобный компонент содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:27, и (c) внутриклеточный компонент содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:28.

11. Слитый белок по п. 1, где (a) внеклеточный компонент содержит связывающий домен с аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:44, и домен мультимеризации с аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:32, (b) гидрофобный компонент содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:27, и (c) внутриклеточный компонент содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:28.

12. Слитый белок по п. 1, где (а) внеклеточный компонент содержит связывающий домен с аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:44, и домен мультимеризации с аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:32, (b) гидрофобный компонент содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:27, и (с) внутриклеточный компонент содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:28, и аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO:36.

13. Слитый белок для передачи костимулирующего сигнала CD-28 Т-клетке, содержащий: (а) внеклеточный компонент, состоящий из CD47-связывающей части SIRP α или его связывающего варианта, где внеклеточный компонент содержит аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, которая характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью к нуклеотидной последовательности, изложенной под SEQ ID NO:21, (b) внутриклеточный компонент, состоящий из сигнального домена костимулирующей молекулы CD-28 или его варианта, где внутриклеточный компонент содержит аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, которая характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью к нуклеотидной последовательности, изложенной под SEQ ID NO:5, и (с) гидрофобный компонент, соединяющий внеклеточный и внутриклеточный компоненты, содержащий трансмембранную часть CD28, где гидрофобный компонент содержит аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:4.

14. Слитый белок по п. 13, где внеклеточный компонент содержит аминокислотную последовательность, кодируемую нуклеотидной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:17.

15. Слитый белок по п. 13, где внеклеточный компонент дополнительно содержит дополнительную внеклеточную часть, где дополнительная внеклеточная часть содержит аминокислотную последовательность, кодируемую нуклеотидной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:9.

16. Слитый белок по п. 13, где внутриклеточный компонент дополнительно содержит второй сигнальный домен костимулирующей молекулы, предусматривающий внутриклеточный сигнальный домен CD137 (4-1BB) или его вариант, где второй сигнальный домен костимулирующей молекулы содержит аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, которая характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью к нуклеотидной последовательности, изложенной под SEQ ID NO:13.

17. Слитый белок по п. 13, где слитый белок содержит аминокислотную последовательность, кодируемую нуклеотидной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:19.

18. Слитый белок по п. 13, где слитый белок содержит аминокислотную последовательность, кодируемую нуклеотидной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:20.

19. Слитый белок по п. 13, где слитый белок содержит аминокислотную последовательность, кодируемую нуклеотидной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO:23.

20. Слитый белок по п. 13, где (а) внеклеточный компонент содержит связывающий домен с аминокислотной последовательностью, кодируемой молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:21, и домен мультимеризации с аминокислотной последовательностью, кодируемой молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под

SEQ ID NO:9, (b) гидрофобный компонент содержит аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:4, и (с) внутриклеточный компонент содержит аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под

5 SEQ ID NO:5.

21. Слитый белок по п. 20, где внутриклеточный компонент дополнительно содержит аминокислотную последовательность, кодируемую молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:13.

10 22. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая слитый белок по любому из пп. 13-21.

23. Вектор экспрессии, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по п. 22.

24. Вектор экспрессии по п. 23, где вектор является вирусным вектором.

25. Вектор экспрессии по п. 24, где вирусный вектор является лентивирусным или ретровирусным вектором.

15 26. Вектор экспрессии по п. 25, где вирусный вектор является лентивирусным вектором.

27. Вектор экспрессии для доставки молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей слитый белок, и нуклеиновой кислоты, кодирующей антигенспецифический TCR, содержащий: (а) молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую слитый белок для
20 передачи костимулирующего сигнала CD28 Т-клетке, содержащую (i) молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую внеклеточный компонент и характеризующуюся по меньшей мере 95% идентичностью к нуклеотидной последовательности, изложенной под SEQ ID NO:21, (b) молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую гидрофобный компонент и содержащую молекулу нуклеиновой кислоты, изложенную под SEQ ID
25 NO:4, и (с) молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую внутриклеточный компонент и характеризующуюся по меньшей мере 95% идентичностью к нуклеотидной последовательности, изложенной под SEQ ID NO:5; и (b) нуклеиновую кислоту, кодирующую антигенспецифический TCR.

28. Вектор экспрессии по п. 27, где TCR является экзогенным для клетки-хозяина.

30 29. Вектор экспрессии по п. 27, где TCR является специфичным к рестриктированному по HLA класса I антигену.

30. Вектор экспрессии по п. 27, где антиген представляет собой ракспецифический антиген.

31. Вектор экспрессии по п. 30, где ракспецифический антиген предусматривает WT-
35 1, мезотелин или циклин-A1.

32. Вектор экспрессии по п. 27, дополнительно кодирующий CD47.

33. Вектор экспрессии по п. 27, дополнительно кодирующий siRNA для снижения экспрессии эндогенного рецептора, где эндогенный рецептор предусматривает SIRPα или представляет собой TCR или его часть.

40 34. Т-клетка, презентирующая слитый белок по любому из пп. 13-21, содержащая вектор экспрессии по п. 23, причем указанная клетка не является клеткой эмбриона человека или клеткой зародышевой линии человека.

35. Т-клетка по п. 34, где Т-клетка представляет собой CD4⁺ Т-клетку.

45 36. Т-клетка по п. 34, где Т-клетка представляет собой CD8⁺ Т-клетку.

37. Т-клетка, презентирующая слитый белок для передачи костимулирующего сигнала CD28 Т-клетке и для нацеливания на антиген, содержащая: (а) слитый белок для передачи костимулирующего сигнала CD28 Т-клетке, содержащий (i) внеклеточный компонент, кодируемый молекулой нуклеиновой кислоты, характеризующейся по меньшей мере

95% идентичностью к нуклеотидной последовательности, изложенной под SEQ ID NO: 21, (b) гидрофобный компонент, кодируемый молекулой нуклеиновой кислоты, изложенной под SEQ ID NO:4, и (c) внутриклеточный компонент, кодируемый молекулой нуклеиновой кислоты, характеризующейся по меньшей мере 95% идентичностью к нуклеотидной последовательности, изложенной под SEQ ID NO:5, где гидрофобный компонент соединяет внеклеточный и внутриклеточный компоненты; и (b) антигенный рецептор, который необязательно представляет собой антигенспецифический TCR.

38. Т-клетка по п. 37, где антигенспецифический TCR является экзогенным для клетки или хозяина.

39. Т-клетка по п. 37, где TCR связывается с комплексом антиген::HLA с высокой аффинностью.

40. Т-клетка по п. 39, где высокоаффинное связывание характеризуется значением K_a , составляющим 10^7 M^{-1} или больше.

41. Т-клетка по п. 37, где TCR является специфичным к рестриктированному по HLA класса I антигену.

42. Т-клетка по п. 37, где антиген представляет собой ракспецифический антиген.

43. Т-клетка по п. 42, где ракспецифический антиген предусматривает WT-1, мезотелин или циклин-A1.

44. Т-клетка по п. 37, где антигенный рецептор является химерным антигенным рецептором.

45. Т-клетка по п. 44, где химерный антигенный рецептор содержит внеклеточный антигенсвязывающий домен и внутриклеточный сигнальный домен, способный передавать первичный сигнал Т-клетке, и необязательно костимулирующий домен.

46. Т-клетка по п. 37, дополнительно содержащая CD47.

47. Т-клетка по п. 37, дополнительно содержащая siRNA для снижения экспрессии эндогенного SIRP α .

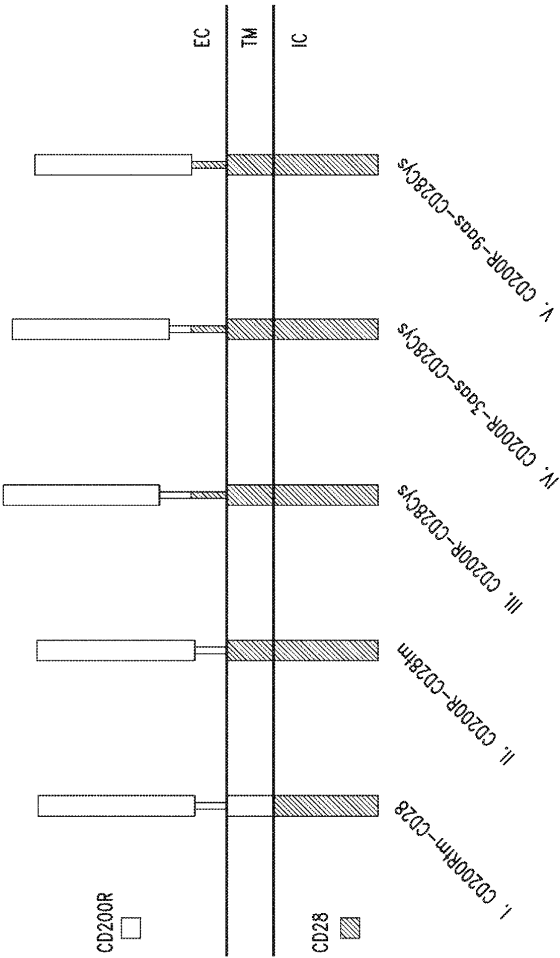
48. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту вектора экспрессии по п. 23, где раковые клетки экспрессируют CD47.

49. Способ по п. 48, где субъект является человеком.

50. Способ лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту Т-клетки по п. 34, где раковые клетки экспрессируют CD47.

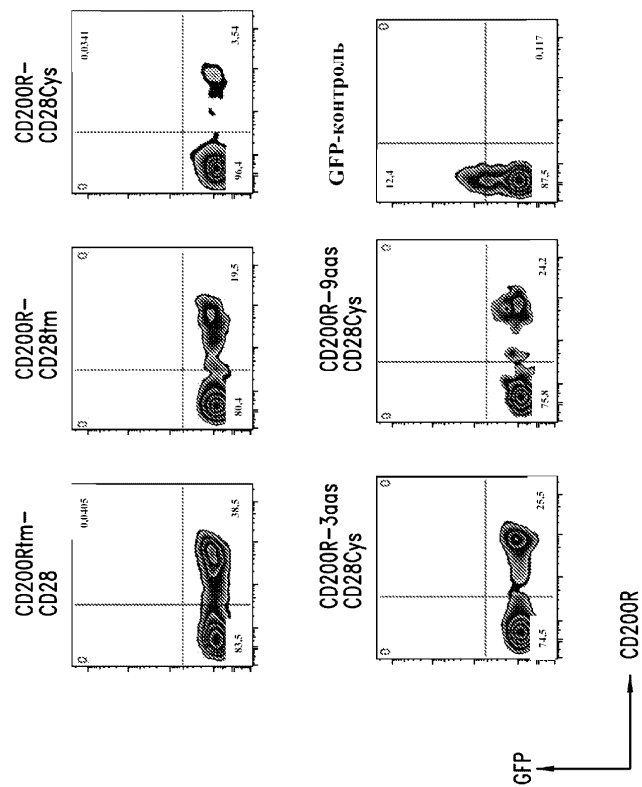
51. Способ по п. 50, где субъект является человеком.

1

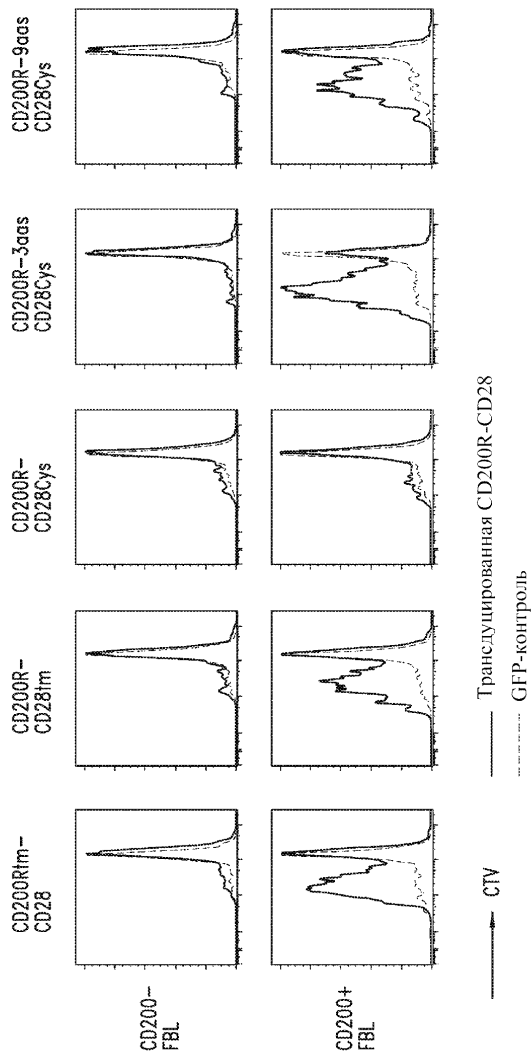


Фиг. 1А

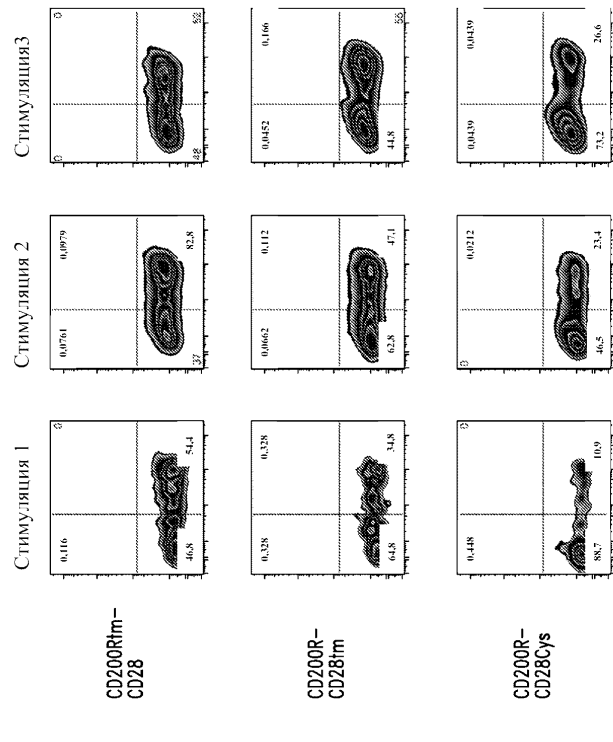
2



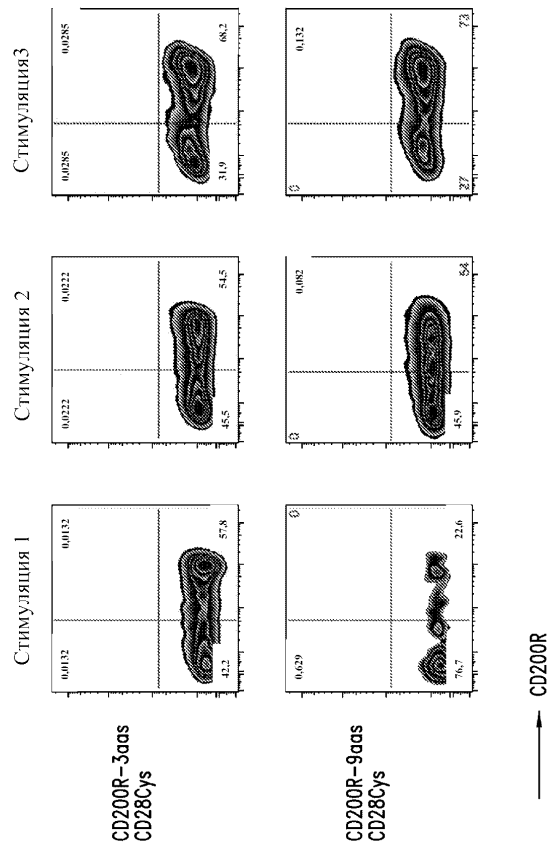
Фиг. 1В



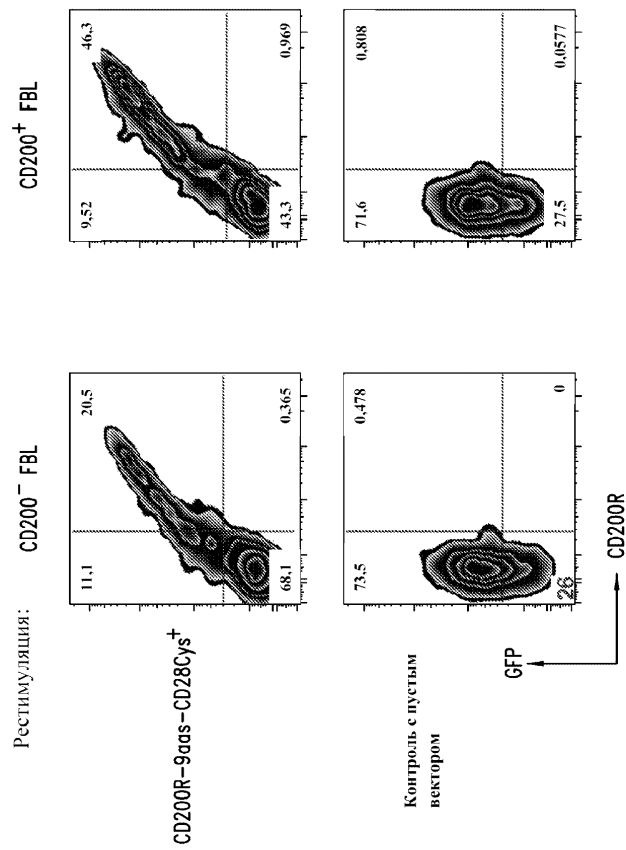
Фиг. 2А



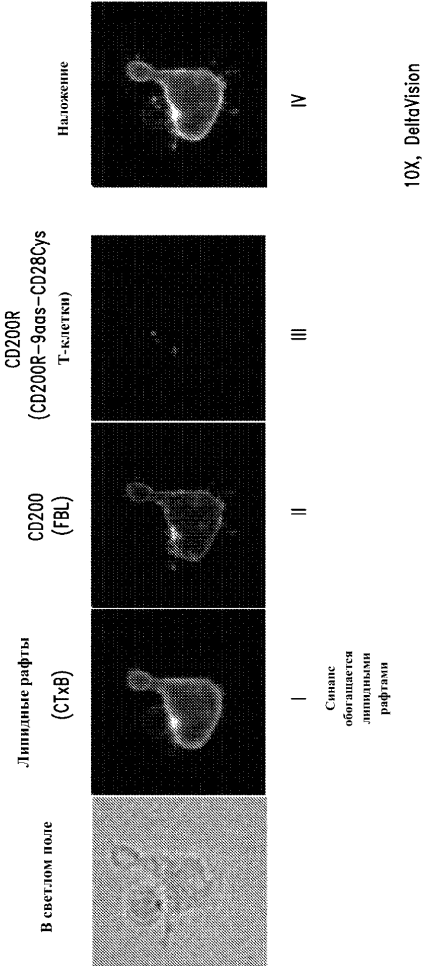
Фиг. 2В



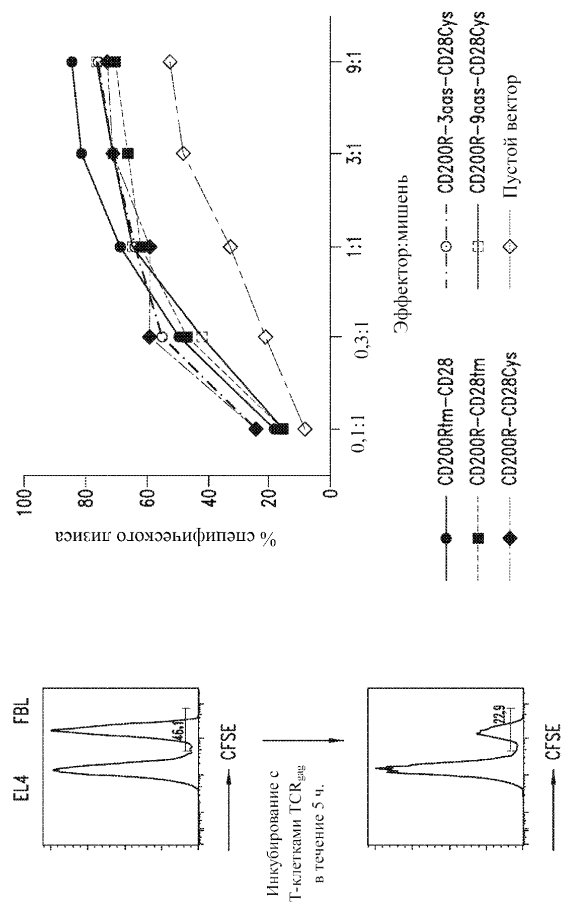
Фиг. 2В (продолж.)



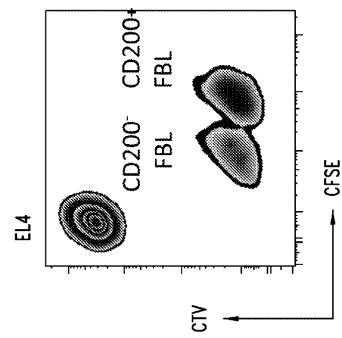
Фиг. 2С



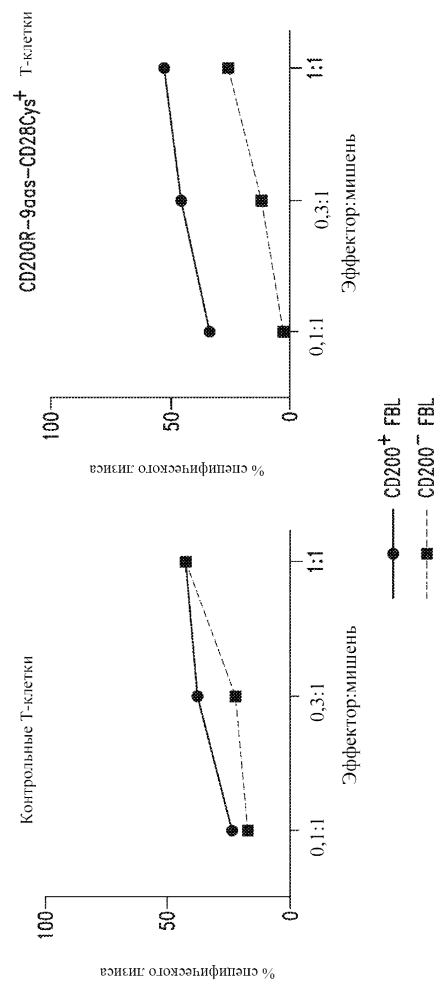
Фиг. 2D



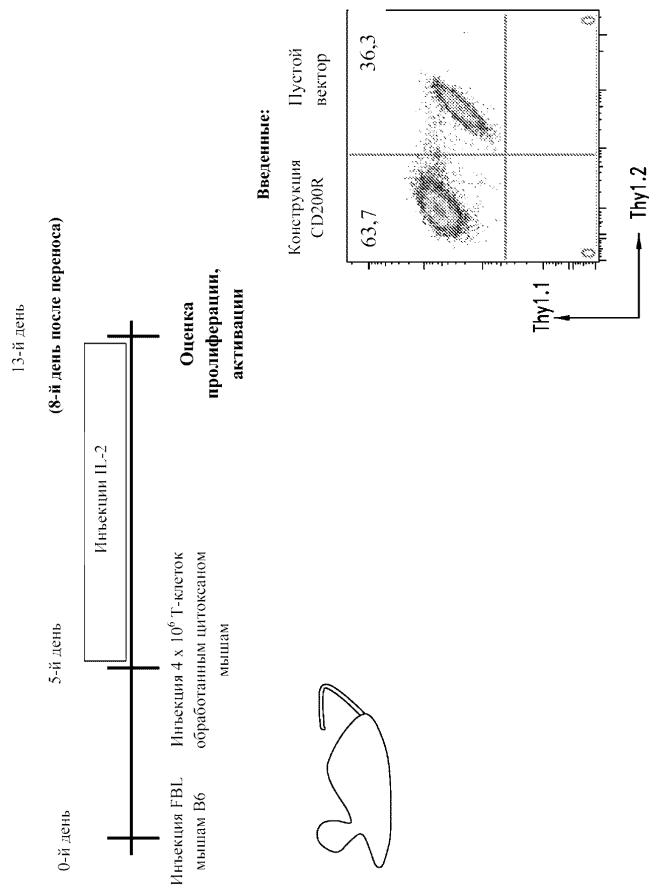
Фиг. 2Е



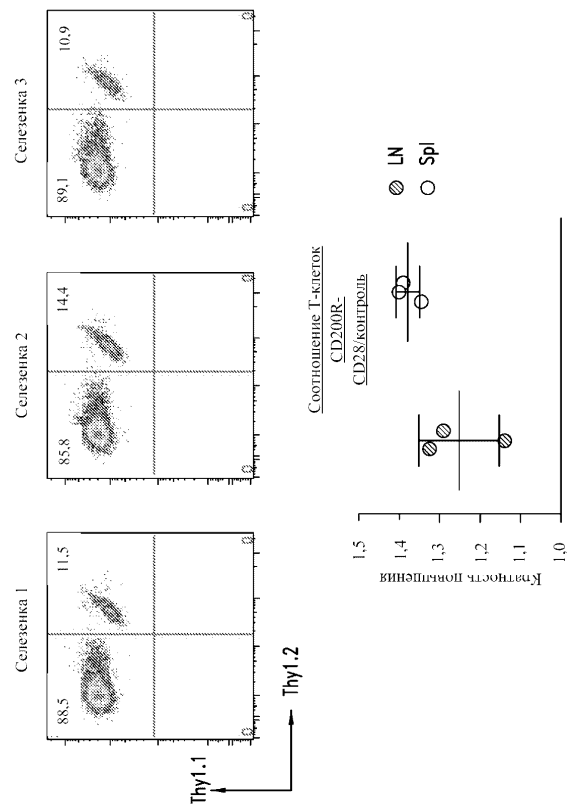
Фиг. 2F



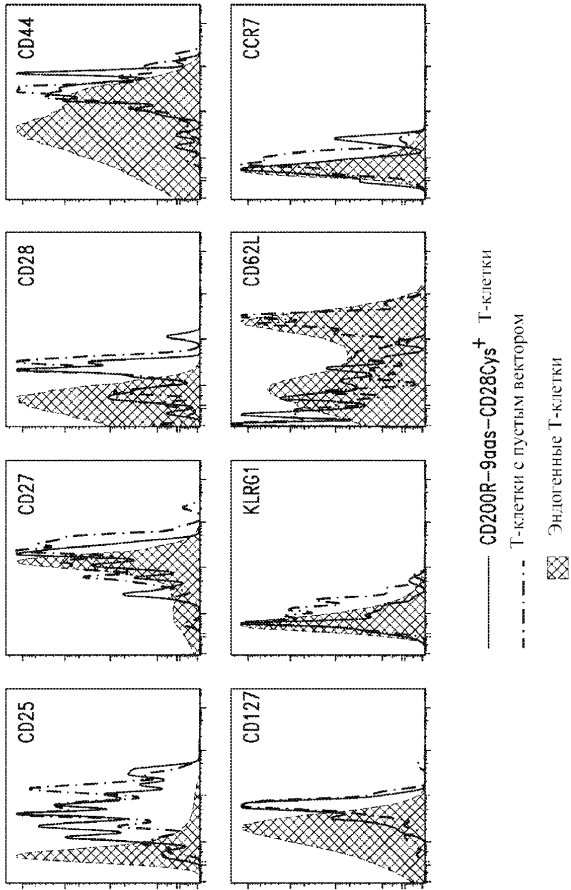
Фиг. 2G



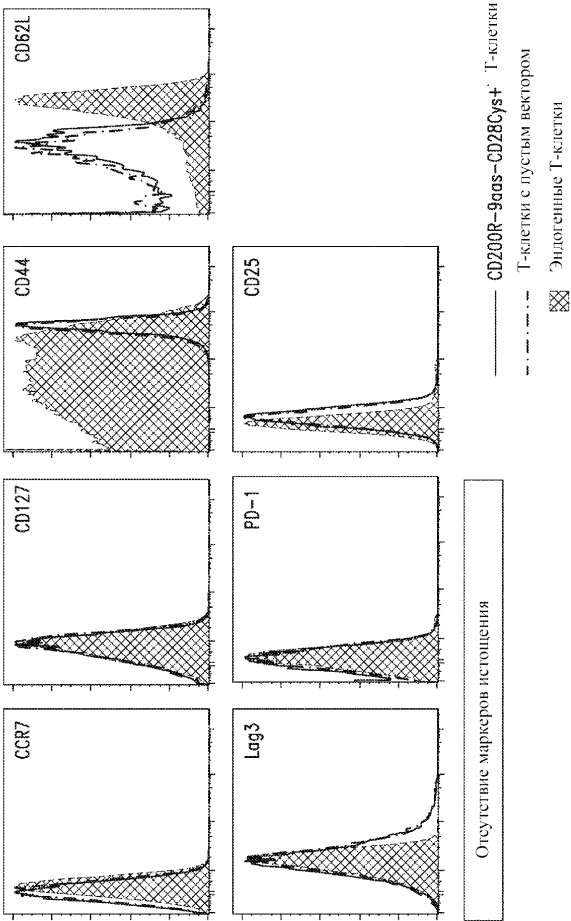
Фиг. 3А



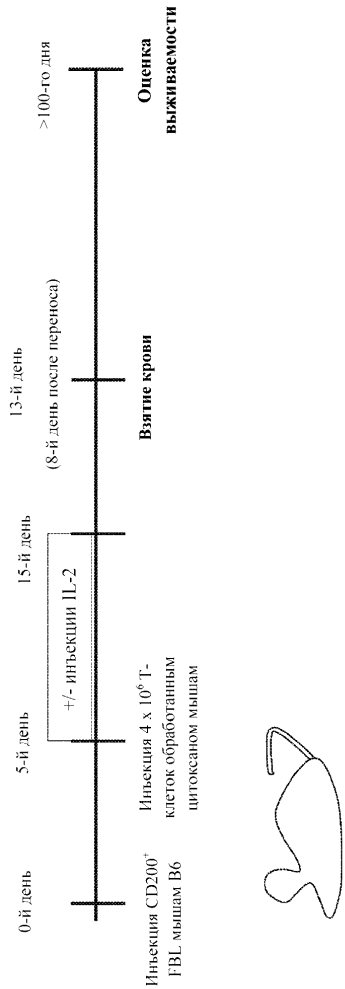
Фиг. 3В



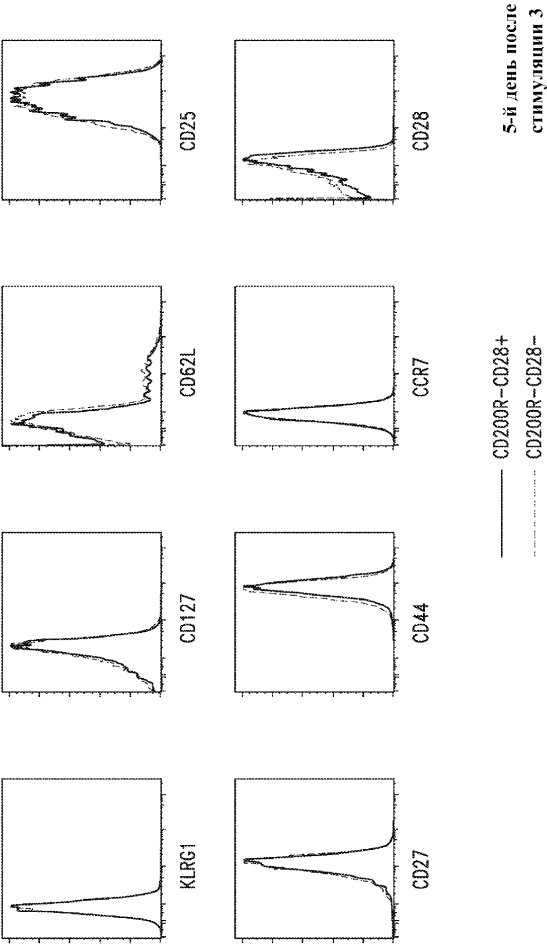
Фиг. 3С



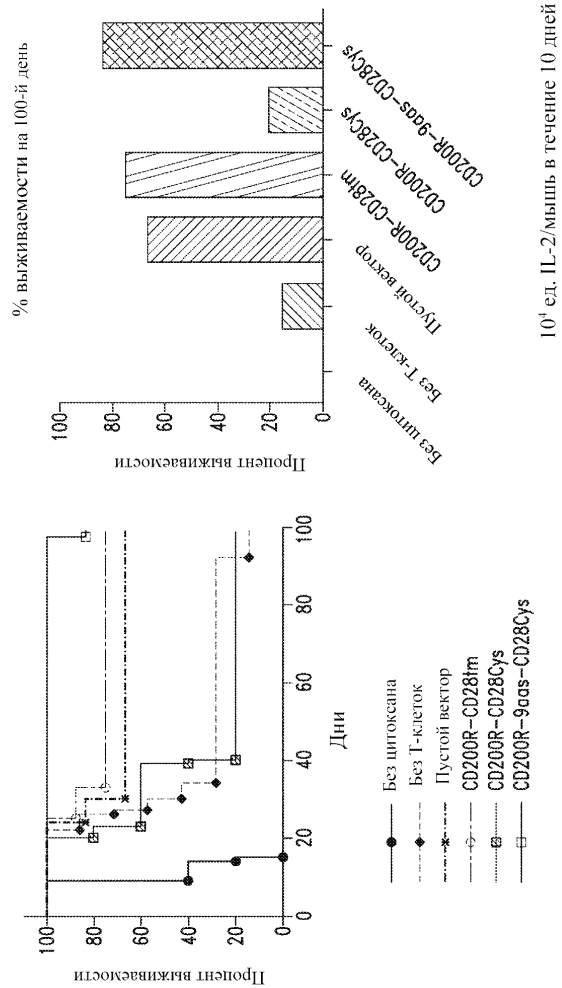
Фиг. 3D



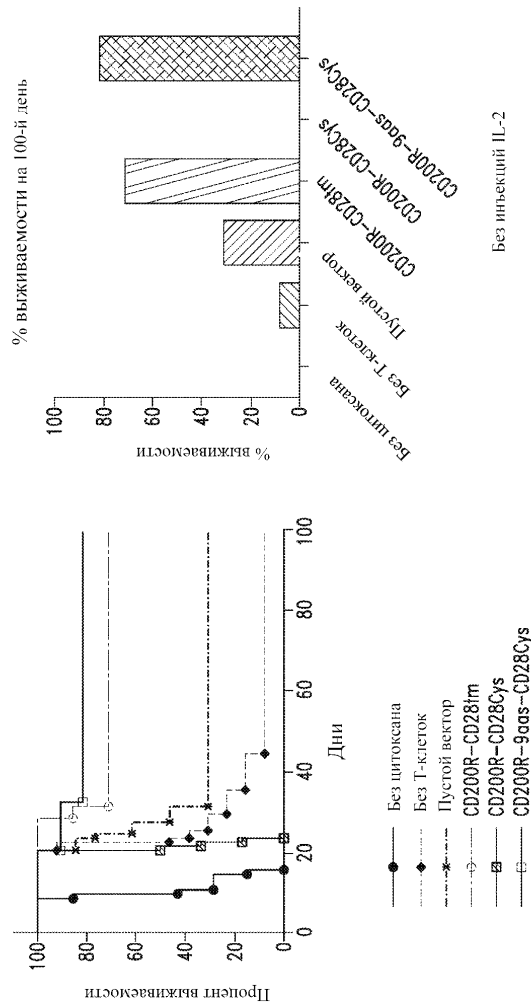
Фиг. 4А



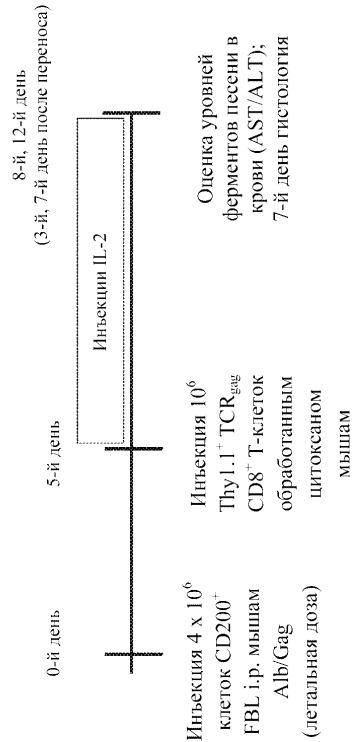
Фиг. 4В



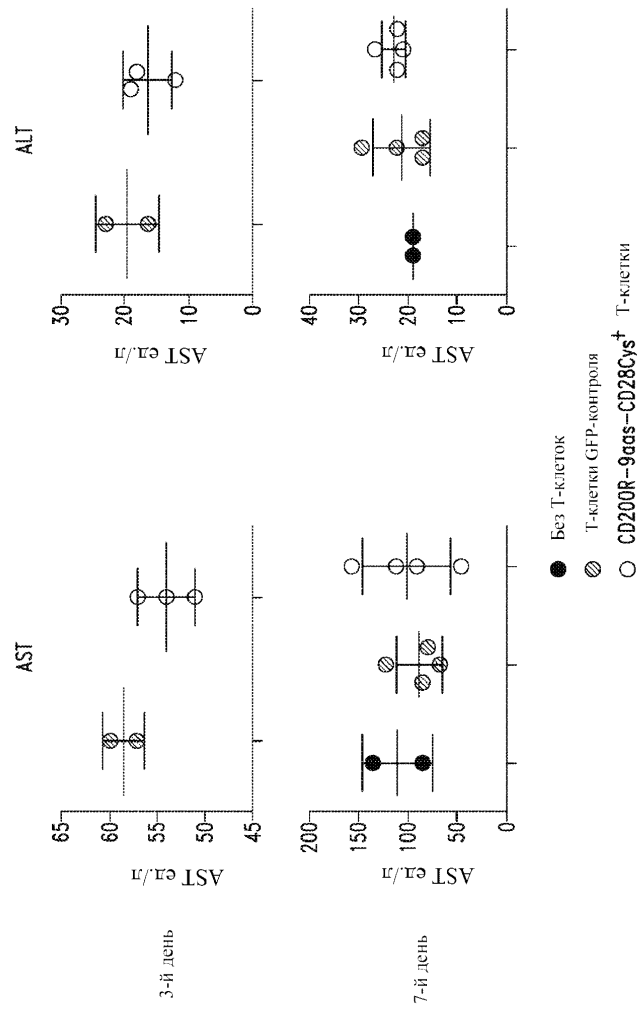
Фиг. 4С



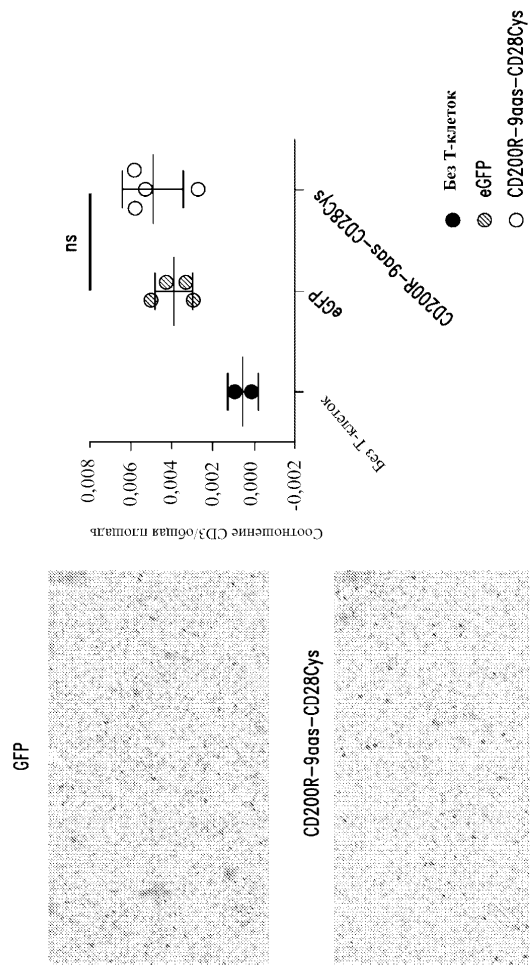
Фиг. 4D



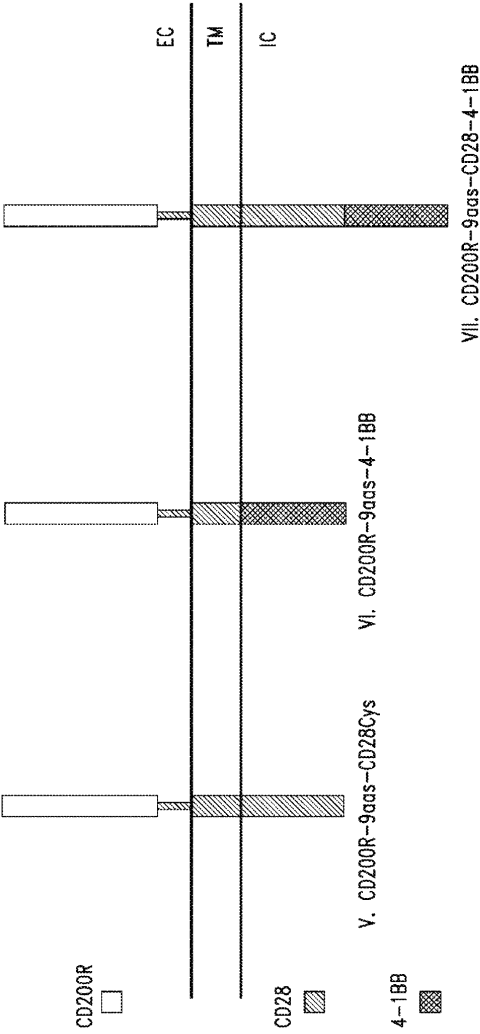
Фиг. 5А



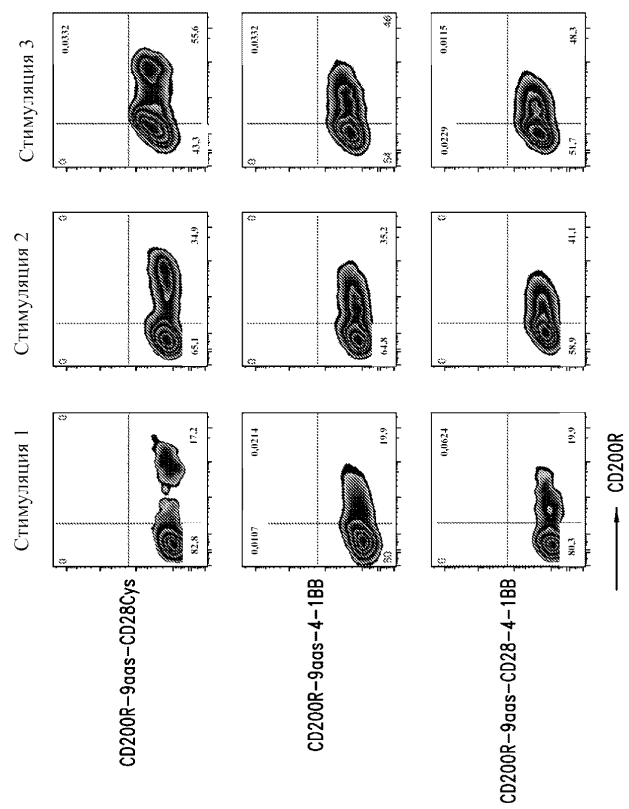
Фиг. 5В



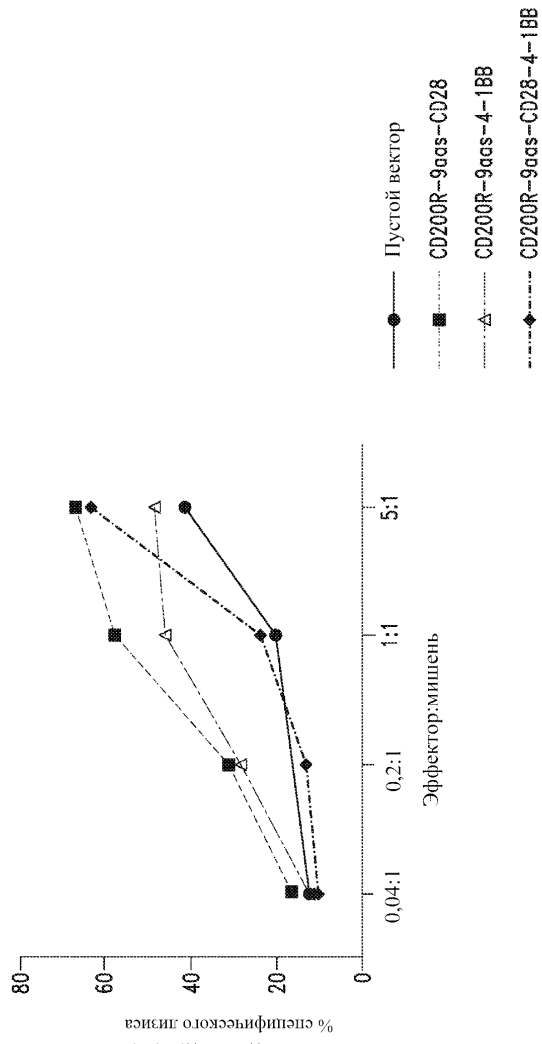
Фиг. 5С



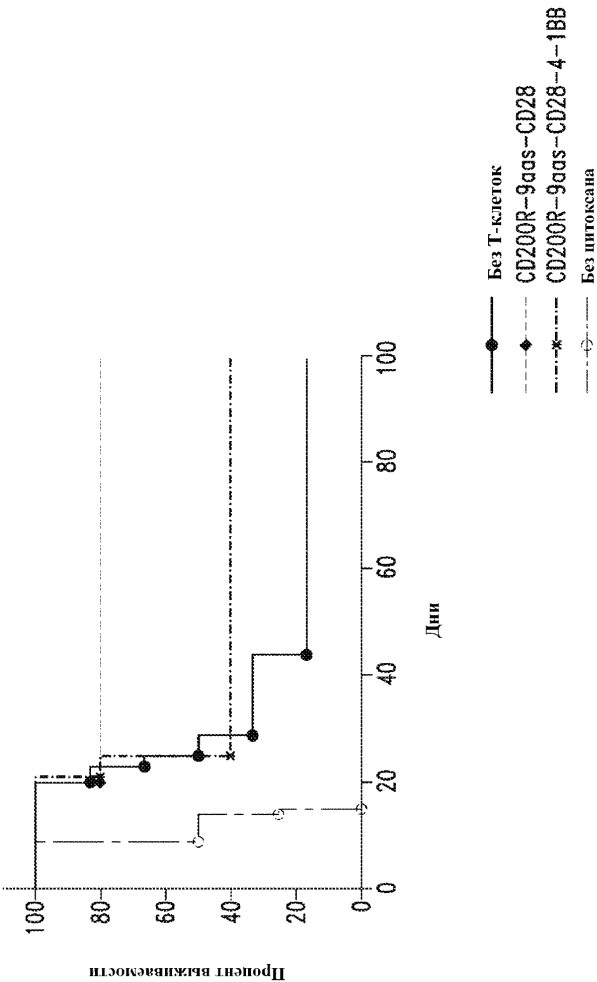
Фиг. 6А



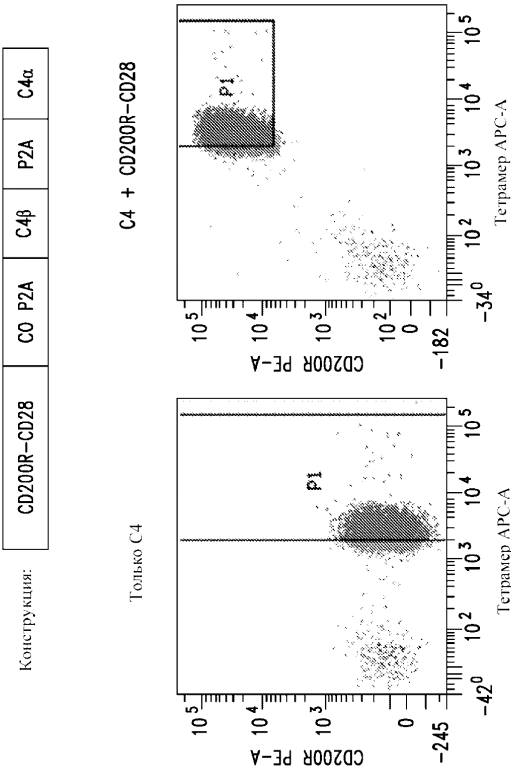
Фиг. 6В



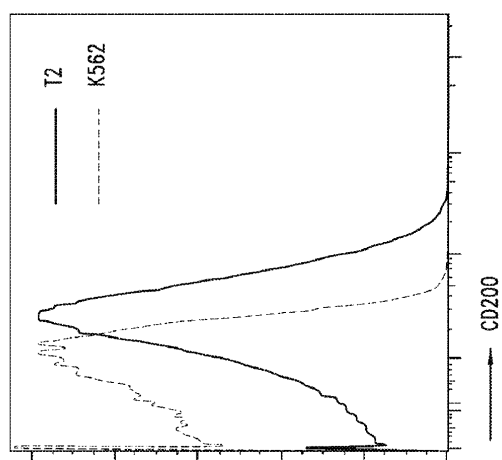
Фиг. 6С



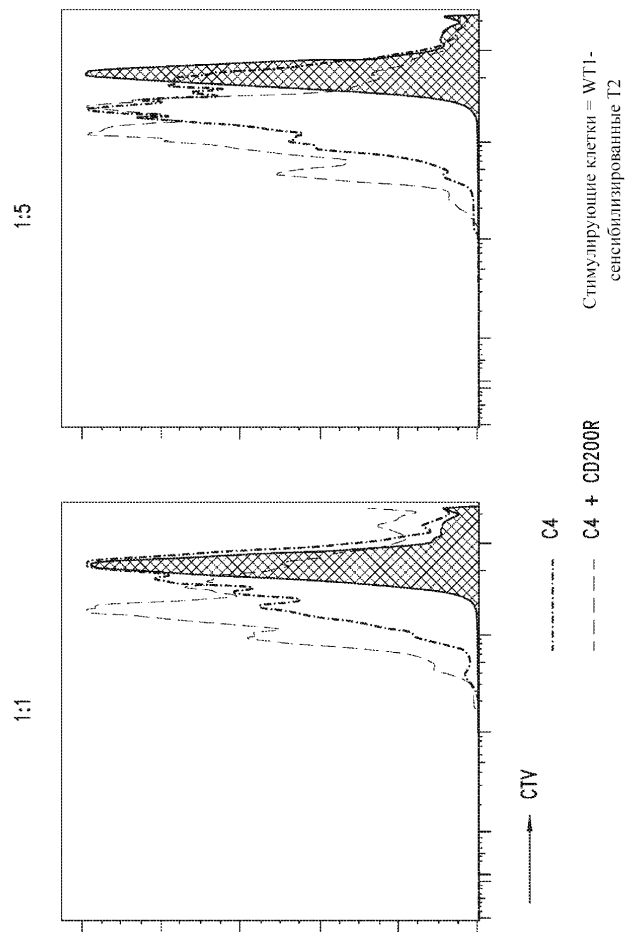
Фиг. 6D



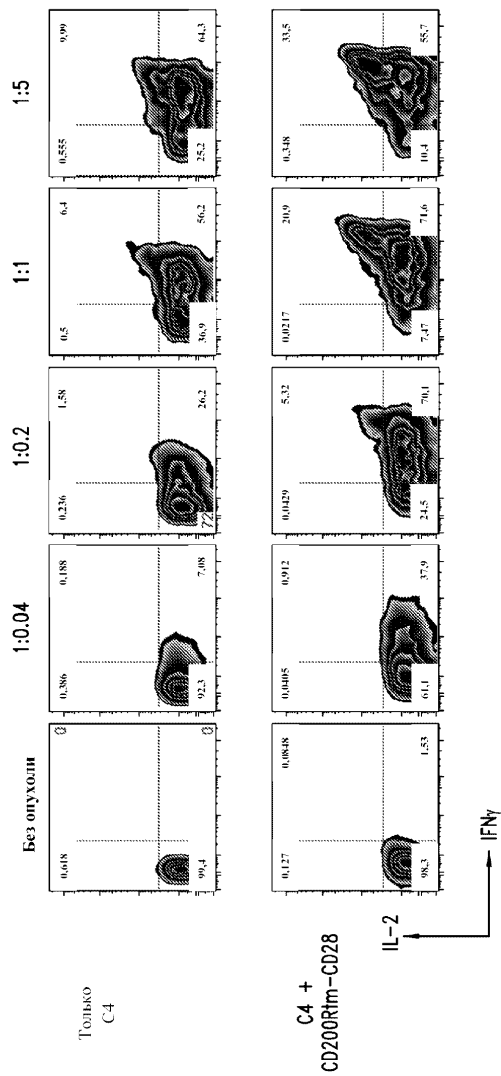
Фиг. 7А



Фиг. 7В

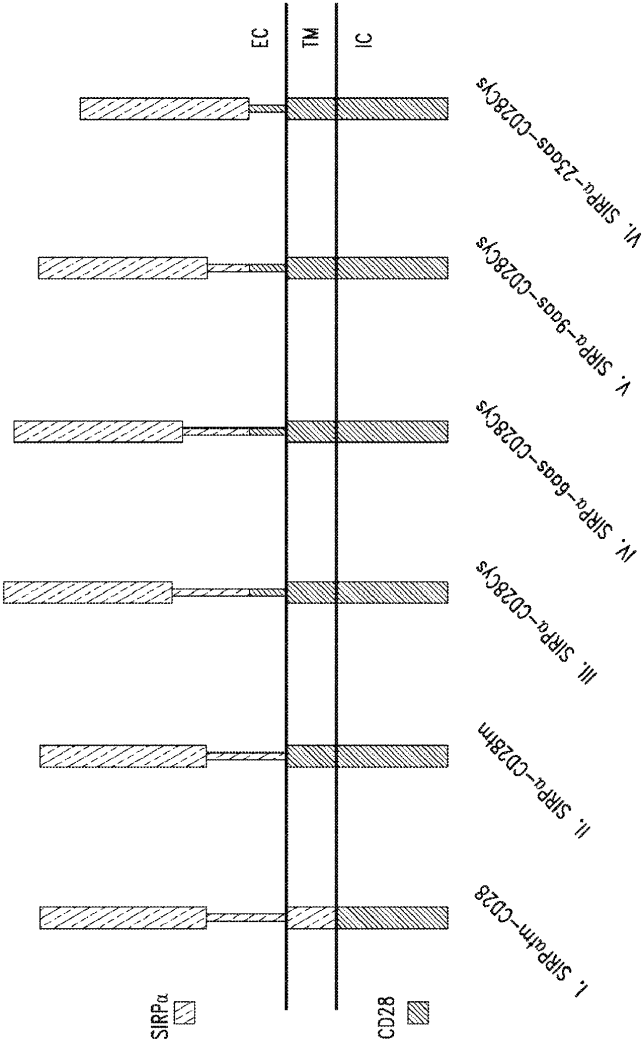


Фиг. 7С

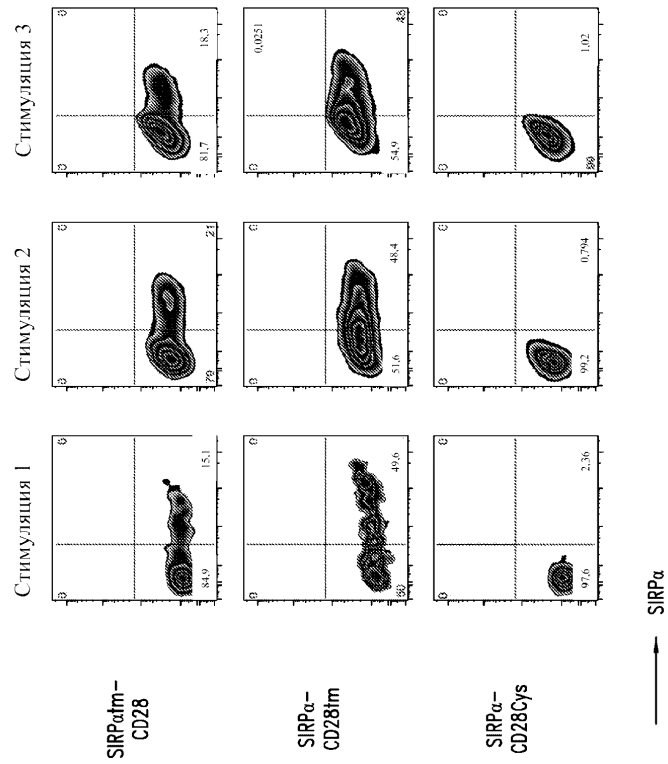


Мишени = WП-сенсибилизированные T2

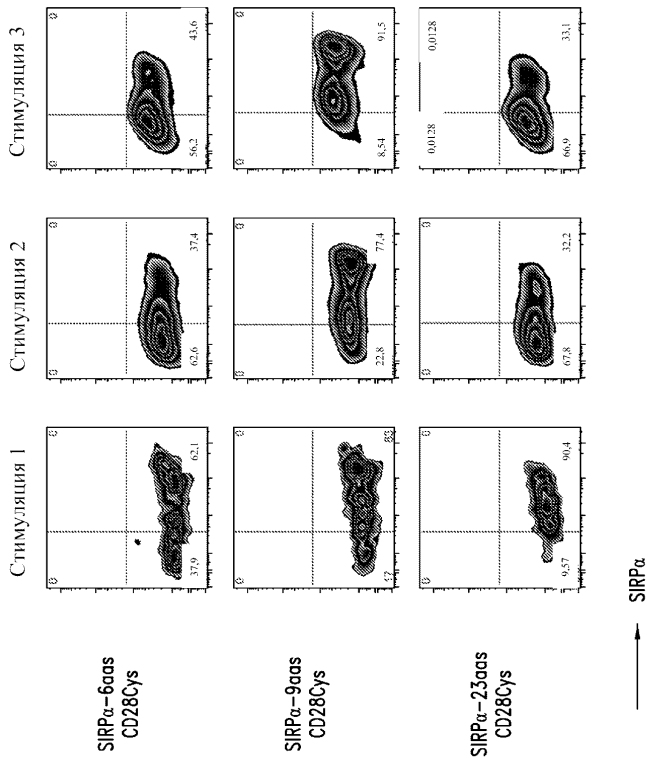
Фиг. 7D



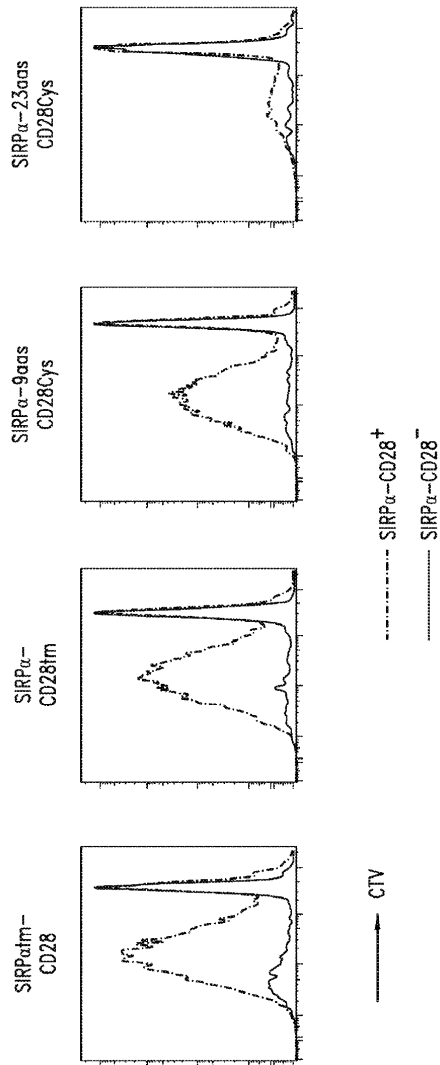
Фиг. 8А



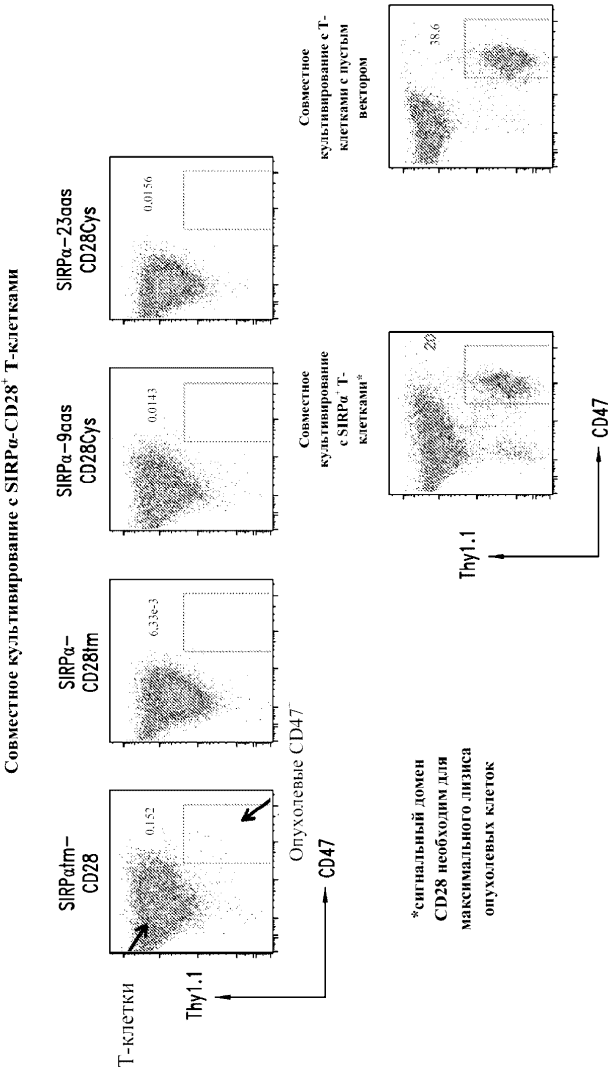
Фиг. 8В



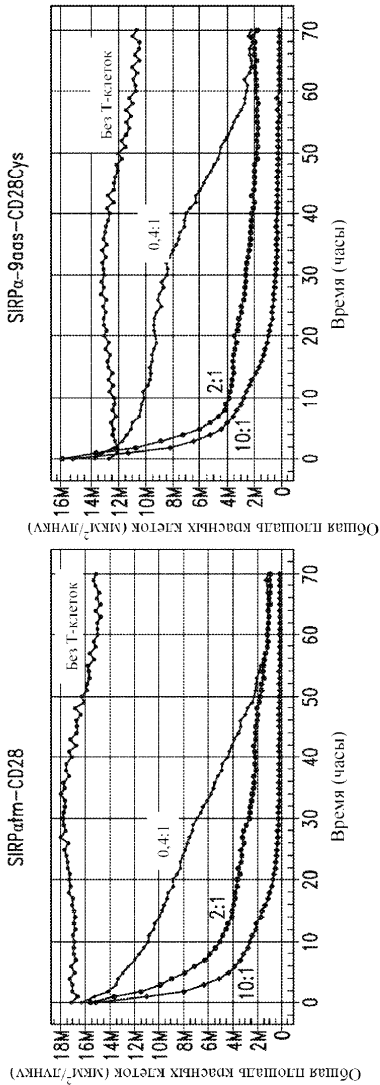
Фиг. 8В (продолж.)



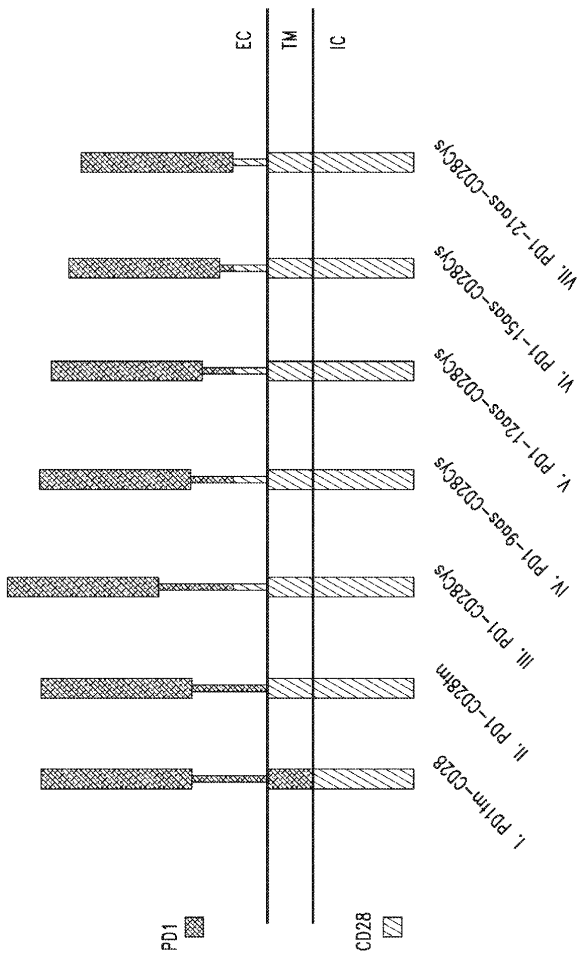
Фиг. 8С



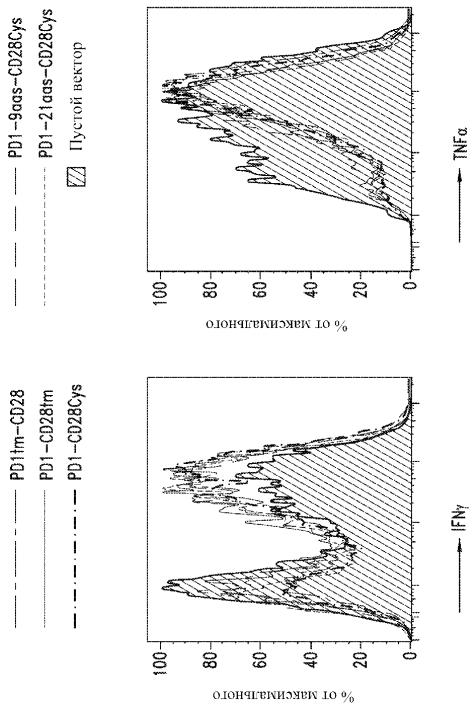
Фиг. 8D



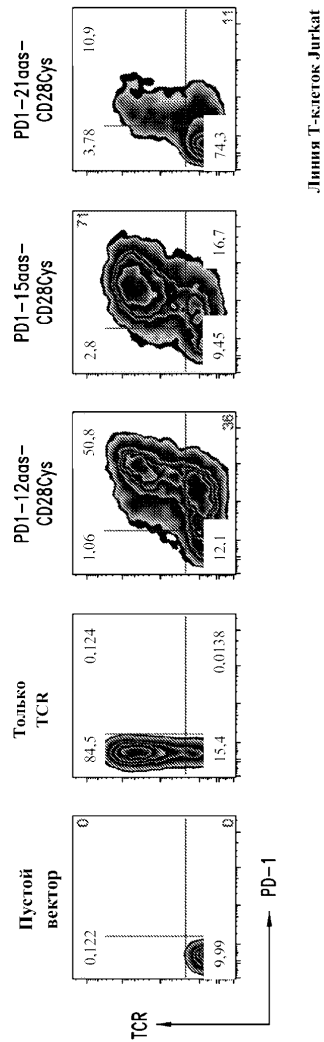
Фиг. 8Е



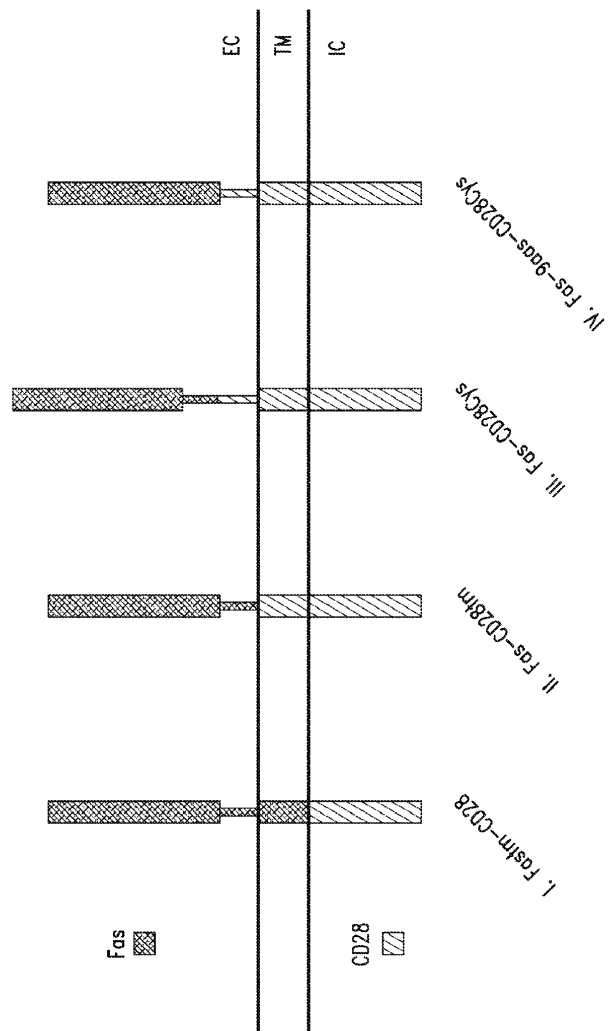
Фиг. 9А



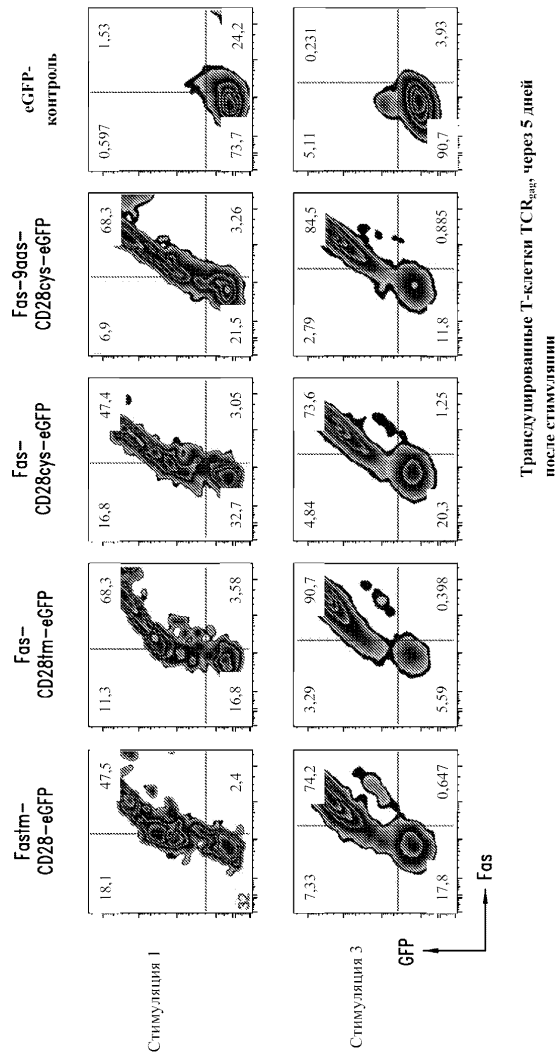
Фиг. 9В



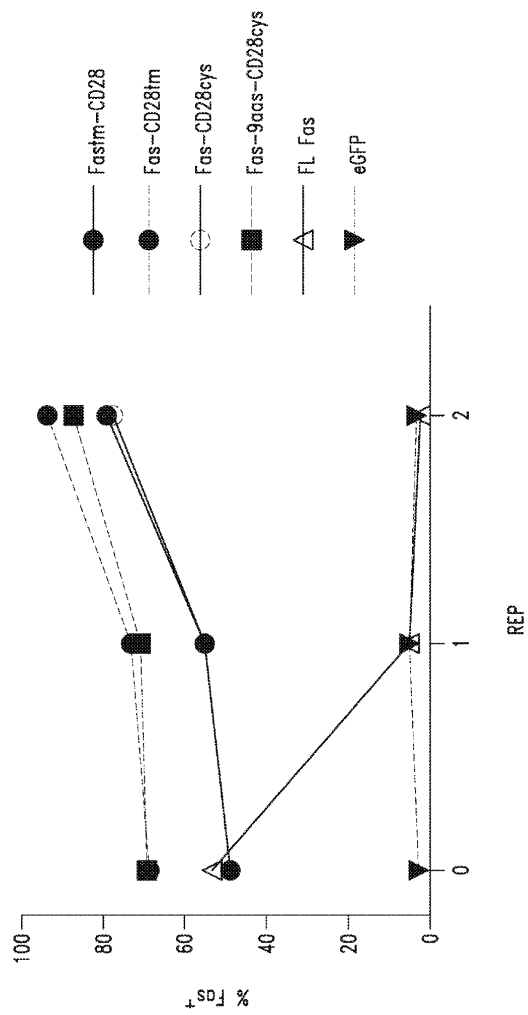
Фиг. 10



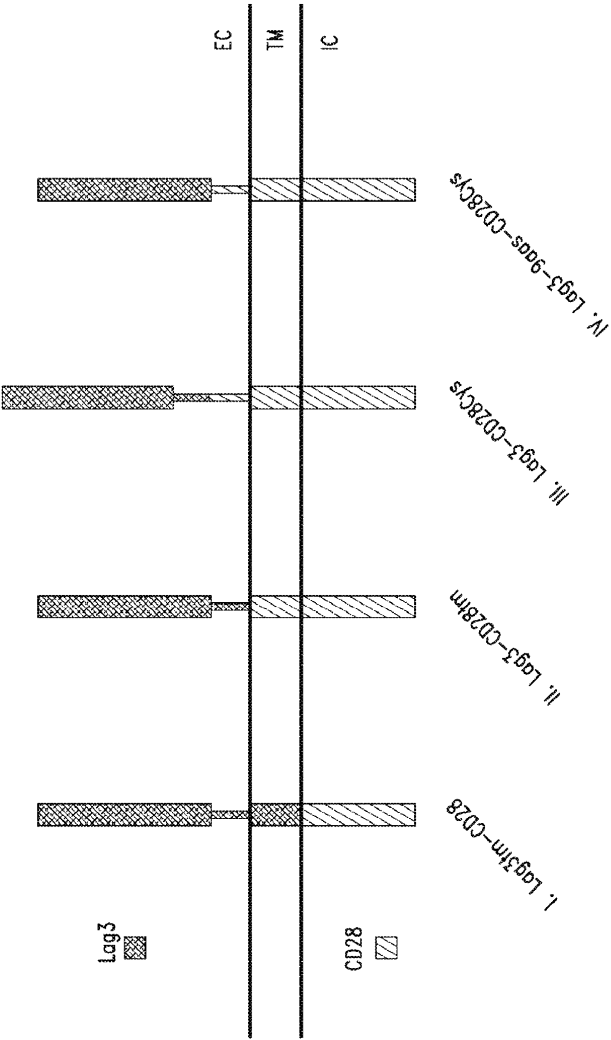
Фиг. 11А



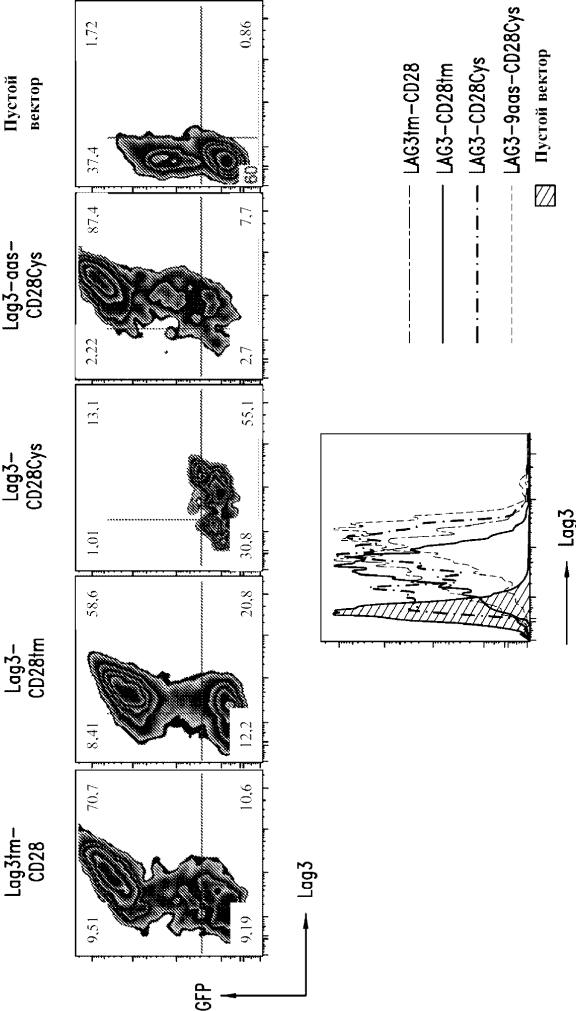
Фиг. 11В



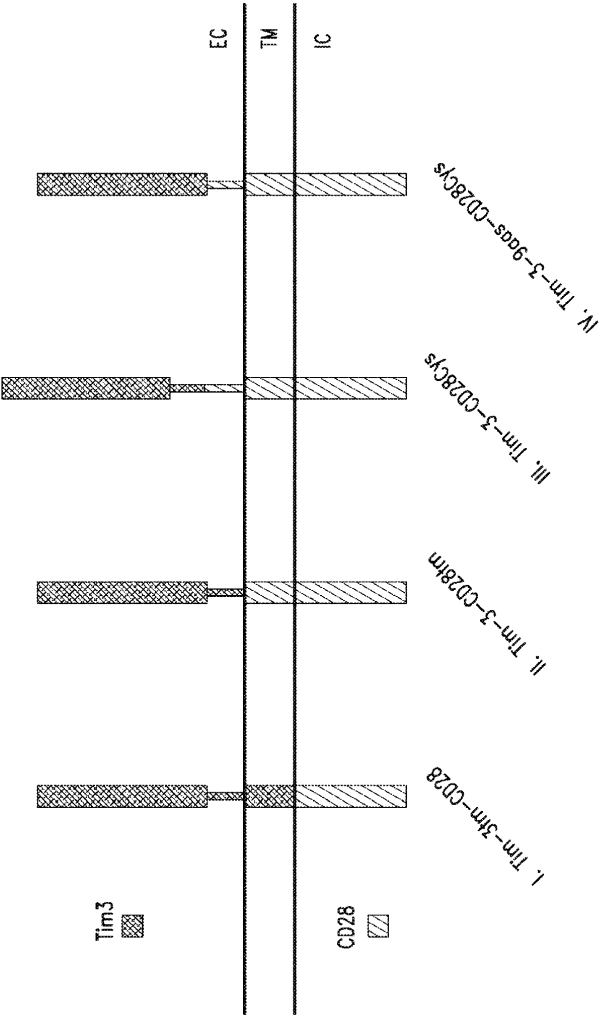
Фиг. 11С



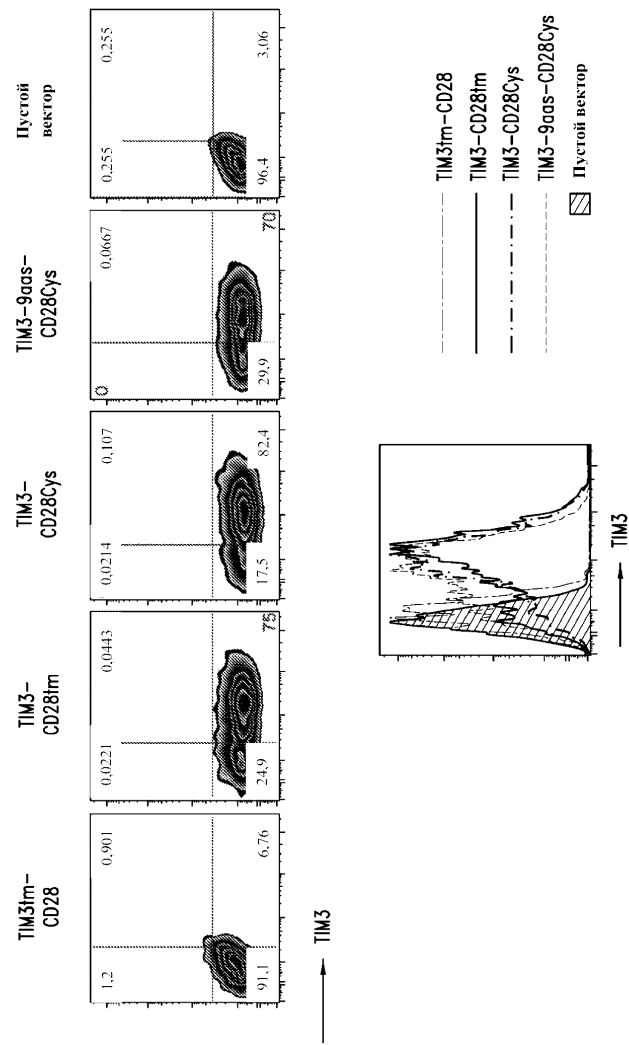
Фиг. 12А



Фиг. 12В



Фиг. 13А



Фиг. 13В