

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 201792420 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2018.04.30

(51) Int. Cl. C07K 14/705 (2006.01)  
C07K 14/725 (2006.01)  
C07K 19/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2016.05.18

(54) КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ПЕРЕПРОГРАММИРОВАНИЯ TCR С ПОМОЩЬЮ ГИБРИДНЫХ БЕЛКОВ

(31) 62/163,342

(32) 2015.05.18

(33) US

(86) PCT/US2016/033146

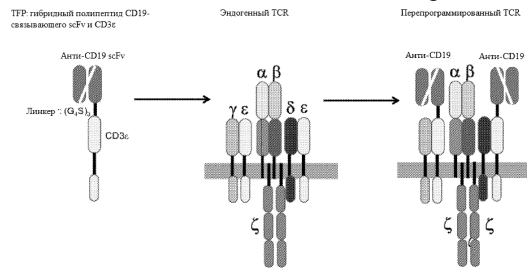
(87) WO 2016/187349 2016.11.24

(71) Заявитель:  
ТСР2 ТЕРАПЬЮТИКС ИНК. (US)

(72) Изобретатель:  
Баеурле Патрик, Сичкевич Грегори,  
Хофмайстер Роберт (US)

(74) Представитель:  
Строкова О.В. (RU)

(57) В настоящем изобретении предложены гибридные белки (TFP) Т-клеточного рецептора (TCR), Т-клетки, модифицированные для экспрессии одного или более TFP, и способы их применения для лечения заболеваний, включая рак.



201792420

A1

A1

201792420

# КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ПЕРЕПРОГРАММИРОВАНИЯ TCR С ПОМОЩЬЮ ГИБРИДНЫХ БЕЛКОВ

## ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет согласно предварительной заявке на патент США №62/163342, поданной 18 мая 2015, которая полностью включена в настоящую заявку посредством ссылки.

## УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0002] Большинство пациентов с гематологическими злокачественными опухолями или солидными опухолями на поздней стадии не излечиваются с использованием стандартной терапии. Кроме того, традиционные способы лечения часто имеют серьезные побочные эффекты. Были предприняты многочисленные попытки задействовать иммунную систему пациента для отторжения раковых клеток, этот подход обобщенно называется иммунотерапией рака. Однако ряд обстоятельств затрудняет достижение клинической эффективности. Несмотря на то, что были выявлены сотни так называемых опухолевых антигенов, они часто происходят из аутоантигенов и, соответственно, могут направлять иммунотерапию рака против здоровой ткани или обладают низкой иммуногенностью. Кроме того, раковые клетки используют множество механизмов, чтобы сделать себя невидимыми или враждебными по отношению к инициации и распространению иммунной атаки в результате действия иммунотерапевтических способов лечения рака.

[0003] Последние разработки с использованием терапии на основе аутологичных Т-клеток, модифицированных химерным антигенным рецептором (CAR), которая опирается на перенаправление генетически модифицированных Т-клеток на подходящую молекулу на поверхности раковых клеток, демонстрируют обнадеживающие результаты в использовании возможностей иммунной системы для лечения В-клеточных злокачественных опухолей (см., например, Sadelain et al., *Cancer Discovery* 3:388-398 (2013)). Клинические результаты, полученные при использовании CD19-специфичных CAR Т-клеток (называемых CTL019), продемонстрировали полную ремиссию у пациентов, страдающих хроническим лимфобластным лейкозом (CLL), а также при детском остром лимфобластном лейкозе (ALL) (см., например, Kalos et al., *Sci Transl Med* 3:95ra73 (2011), Porter et al., *NEJM* 365:725-733 (2011), Grupp et al., *NEJM* 368:1509-1518 (2013)). Альтернативный подход заключается в применении альфа-цепи и бета-цепи Т-клеточного рецептора (TCR), выбранных на основании специфичности в отношении ассоциированного с опухолью пептидного антигена, для генетической модификации

аутологичных Т-клеток. Указанные цепи TCR будут образовывать полные комплексы TCR и обеспечат получение Т-клеток, несущих TCR со вторым видом определенной специфичности. Обнадёживающие результаты были получены при использовании модифицированных аутологичных Т-клеток, экспрессирующих NY-ESO-1-специфичные альфа-цепи и бета-цепи TCR, у пациентов с синовиальной карциномой.

[0004] Помимо способности генетически модифицированных Т-клеток, экспрессирующих CAR или второй TCR, распознавать и вызывать гибель соответствующих клеток-мишеней в условиях *in vitro/ex vivo*, успешное лечение пациентов с использованием модифицированных Т-клеток требует наличия Т-клеток, которые способны к сильной активации, пролиферации и устойчивости в течение продолжительного периода времени и, в случае рецидивирующего заболевания, генерации ответа «памяти». Высокая и контролируемая клиническая эффективность Т-клеток, несущих CAR, в настоящее время ограничена CD19-положительными В-клеточными злокачественными опухолями и возможностью применения у пациентов с синовиальной саркомой, экспрессирующей пептид NY-ESO-1 и HLA-A2. Существует очевидная потребность в улучшении генетически модифицированных Т-клеток для более широкого применения против различных злокачественных опухолей человека. В настоящем изобретении предложены новые гибридные белки субъединиц TCR, включая CD3-эпсилон, CD3-гамма и CD3-дельта, а также альфа-цепи и бета-цепи TCR со связывающими доменами, специфичными в отношении клеточных поверхностных антигенов, которые могут преодолеть ограничения существующих подходов. В настоящем изобретении предложены новые гибридные белки, которые более эффективно вызывают гибель клеток-мишеней, чем CAR, однако высвобождают сопоставимые или более низкие уровни провоспалительных цитокинов. Указанные гибридные белки и способы их применения обеспечивают преимущества для TFP по сравнению с CAR, поскольку повышенные уровни указанных цитокинов связаны с ограничивающей дозу токсичностью для ряда видов адоптивной CAR-T терапии.

### **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

[0005] В настоящем изобретении предложены гибридные белки (TFP) Т-клеточного рецептора (TCR), Т-клетки, модифицированные для экспрессии одного или более TFP, и способы их применения для лечения заболеваний.

[0006] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложена выделенная молекула рекомбинантной нуклеиновой кислоты, кодирующая гибридный белок (TFP) Т-клеточного рецептора (TCR), содержащий субъединицу TCR, содержащую по меньшей

мере часть внеклеточного домена TCR, и внутриклеточный домен TCR, содержащий стимулирующий домен из внутриклеточного сигнального домена CD3-эпсилон; и домен антитела человека или гуманизированного антитела, содержащий антигенсвязывающий домен, причем указанная субъединица TCR и домен антитела функционально связаны, и при этом указанный TFP встраивается в TCR при экспрессии в Т-клетке.

[0007] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложена выделенная молекула рекомбинантной нуклеиновой кислоты, кодирующая гибридный белок (TFP) Т-клеточного рецептора (TCR), содержащий субъединицу TCR, содержащую по меньшей мере часть внеклеточного домена TCR, и внутриклеточный домен TCR, содержащий стимулирующий домен из внутриклеточного сигнального домена CD3-гамма; и домен антитела человека или гуманизированного антитела, содержащий антигенсвязывающий домен, причем указанная субъединица TCR и домен антитела функционально связаны, и при этом указанный TFP встраивается в TCR при экспрессии в Т-клетке.

[0008] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложена выделенная молекула рекомбинантной нуклеиновой кислоты, кодирующая гибридный белок (TFP) Т-клеточного рецептора (TCR), содержащий субъединицу TCR, содержащую по меньшей мере часть внеклеточного домена TCR, и внутриклеточный домен TCR, содержащий стимулирующий домен из внутриклеточного сигнального домена CD3-дельта; и домен антитела человека или гуманизированного антитела, содержащий антигенсвязывающий домен, причем указанная субъединица TCR и домен антитела функционально связаны, и при этом указанный TFP встраивается в TCR при экспрессии в Т-клетке.

[0009] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложена выделенная молекула рекомбинантной нуклеиновой кислоты, кодирующая гибридный белок (TFP) Т-клеточного рецептора (TCR), содержащий субъединицу TCR, содержащую по меньшей мере часть внеклеточного домена TCR, и внутриклеточный домен TCR, содержащий стимулирующий домен из внутриклеточного сигнального домена TCR-альфа; и домен антитела человека или гуманизированного антитела, содержащий антигенсвязывающий домен, причем указанная субъединица TCR и домен антитела функционально связаны, и при этом TFP встраивается в TCR при экспрессии в Т-клетке.

[00010] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложена выделенная молекула рекомбинантной нуклеиновой кислоты, кодирующая гибридный белок (TFP) Т-клеточного рецептора (TCR), содержащий субъединицу TCR, содержащую по меньшей мере часть внеклеточного домена TCR, и внутриклеточный домен TCR, содержащий стимулирующий домен из внутриклеточного сигнального домена TCR-бета; и домен антитела человека или гуманизированного антитела, содержащий антигенсвязывающий

домен, причем указанная субъединица TCR и домен антитела функционально связаны, и при этом TFP встраивается в TCR при экспрессии в Т-клетке.

[00011] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложена выделенная молекула рекомбинантной нуклеиновой кислоты, кодирующая гибридный белок (TFP) Т-клеточного рецептора (TCR), содержащий субъединицу TCR и домен антитела человека или гуманизированного антитела, содержащий антигенсвязывающий домен, который представляет собой CD19-связывающий домен.

[00012] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложена выделенная молекула рекомбинантной нуклеиновой кислоты, кодирующая гибридный белок (TFP) Т-клеточного рецептора (TCR), содержащий субъединицу TCR и домен антитела человека или гуманизированного антитела, содержащий антигенсвязывающий домен, который представляет собой домен, связывающий В-клеточный антиген созревания (BCMA).

[00013] В некоторых случаях субъединица TCR и домен антитела функционально связаны. В некоторых случаях TFP встраивается в TCR при экспрессии в Т-клетке. В некоторых случаях кодируемый антигенсвязывающий домен соединен с внеклеточным доменом TCR посредством линкерной последовательности. В некоторых случаях кодируемая линкерная последовательность содержит  $(G_4S)_n$ , где  $n=1-4$ . В некоторых случаях субъединица TCR содержит внеклеточный домен TCR. В некоторых случаях субъединица TCR содержит трансмембранный домен TCR. В некоторых случаях субъединица TCR содержит внутриклеточный домен TCR. В некоторых случаях субъединица TCR содержит (i) внеклеточный домен TCR, (ii) трансмембранный домен TCR, и (iii) внутриклеточный домен TCR, причем по меньшей мере два из (i), (ii) и (iii) получены из одной и той же субъединицы TCR. В некоторых случаях субъединица TCR содержит внутриклеточный домен TCR, содержащий стимулирующий домен, выбранный из внутриклеточного сигнального домена CD3-эпсилон, CD3-гамма или CD3-дельта, или аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, две или три модификации. В некоторых случаях субъединица TCR содержит внутриклеточный домен, содержащий стимулирующий домен, выбранный из функционального сигнального домена 4-1BB и/или функционального сигнального домена CD3-дзета, или аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну модификацию. В некоторых случаях домен антитела человека или гуманизированного антитела содержит фрагмент антитела. В некоторых случаях домен антитела человека или гуманизированного антитела содержит scFv или домен  $V_H$ . В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует (i) гипервариабельный участок (CDR) 1 легкой цепи (LC), LC CDR2 и LC CDR3 аминокислотной последовательности CD19-связывающего домена легкой цепи,

которая на 70-100% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27 и SEQ ID NO: 29, и/или (ii) CDR1 тяжелой цепи (HC), HC CDR2 и HC CDR3 аминокислотной последовательности CD19-связывающего домена тяжелой цепи, которая на 70-100% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33 и SEQ ID NO: 35, соответственно. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует переменную область легкой цепи, причем переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, но не более 30 модификаций аминокислотной последовательности переменной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 49, или последовательность, которая на 95-99% идентична аминокислотной последовательности переменной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 49. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует переменную область тяжелой цепи, причем переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, но не более 30 модификаций аминокислотной последовательности переменной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 51, или последовательность, которая на 95-99% идентична аминокислотной последовательности переменной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 51. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует (i) CDR1 легкой цепи (LC), LC CDR2 и LC CDR3 аминокислотной последовательности ВСМА-связывающего домена легкой цепи, которая на 70-100% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39 и SEQ ID NO: 41, соответственно, и/или (ii) CDR1 тяжелой цепи (HC), HC CDR2 и HC CDR3 аминокислотной последовательности ВСМА-связывающего домена тяжелой цепи, которая на 70-100% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45 и SEQ ID NO: 47, соответственно. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует переменную область легкой цепи, причем переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, но не более 30 модификаций аминокислотной последовательности переменной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 53, или последовательность, которая на 95-99% идентична аминокислотной последовательности переменной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 53. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует переменную область тяжелой цепи, причем переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, но не более 30 модификаций аминокислотной последовательности переменной области тяжелой цепи,

представленной в SEQ ID NO: 55, или последовательность, которая на 95-99% идентична аминокислотной последовательности варибельной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 55. В некоторых случаях TFP содержит внеклеточный домен субъединицы TCR, который содержит внеклеточный домен или его часть из белка, выбранного из группы, состоящей из альфа-цепи TCR, бета-цепи TCR, субъединицы CD3-эпсилон TCR, субъединицы CD3-гамма TCR, субъединицы CD3-дельта TCR, их функциональных фрагментов и аминокислотных последовательностей, содержащих по меньшей мере одну, но не более 20 модификаций. В некоторых случаях кодируемый TFP содержит трансмембранный домен, который содержит трансмембранный домен белка, выбранного из группы, состоящей из альфа-цепи TCR, бета-цепи TCR, субъединицы CD3-эпсилон TCR, субъединицы CD3-гамма TCR, субъединицы CD3-дельта TCR, их функциональных фрагментов и аминокислотных последовательностей, содержащих по меньшей мере одну, но не более 20 модификаций. В некоторых случаях кодируемый TFP содержит трансмембранный домен, который содержит трансмембранный домен из белка, выбранного из группы, состоящей из альфа-цепи TCR, бета-цепи TCR, дзета-цепи TCR, субъединицы CD3-эпсилон TCR, субъединицы CD3-гамма TCR, субъединицы CD3-дельта TCR, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD28, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, их функциональных фрагментов и их аминокислотных последовательностей, содержащих по меньшей мере одну, но не более 20 модификаций. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты дополнительно содержит последовательность, кодирующую костимулирующий домен. В некоторых случаях костимулирующий домен представляет собой функциональный сигнальный домен, полученный из белка, выбранного из группы, состоящей из OX40, CD2, CD27, CD28, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278) и 4-1BB (CD137), и их аминокислотных последовательностей, содержащих по меньшей мере одну, но не более 20 модификаций. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты дополнительно содержит лидерную последовательность. В некоторых случаях выделенная молекула нуклеиновой кислоты представляет собой иРНК.

[00014] В некоторых случаях TFP содержит иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (ITAM) субъединицы TCR, которая содержит ITAM или его часть из белка, выбранного из группы, состоящей из субъединицы CD3-дзета TCR, субъединицы CD3-эпсилон TCR, субъединицы CD3-гамма TCR, субъединицы CD3-дельта TCR, дзета-цепи TCR, цепи рецептора Fc-эпсилон 1, цепи рецептора Fc-эпсилон 2, цепи рецептора Fc-гамма 1, цепи рецептора Fc-гамма 2a, цепи рецептора Fc-гамма 2b1, цепи рецептора Fc-гамма 2b2, цепи рецептора Fc-гамма 3a, цепи рецептора Fc-гамма 3b, цепи

рецептора Fc-бета 1, TYROBP (DAP12), CD5, CD16a, CD16b, CD22, CD23, CD32, CD64, CD79a, CD79B, CD89, CD278, CD66d, их функциональных фрагментов и их аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере одну, но не более 20 модификаций. В некоторых случаях ITAM заменяет ITAM CD3-гамма, CD3-дельта или CD3-эпсилон. В некоторых случаях ITAM выбран из группы, состоящей из субъединицы CD3-дзета TCR, субъединицы CD3-эпсилон TCR, субъединицы CD3-гамма TCR и субъединицы CD3-дельта TCR, и заменяет различные ITAM, выбранные из группы, состоящей из субъединицы CD3-дзета TCR, субъединицы CD3-эпсилон TCR, субъединицы CD3-гамма TCR и субъединицы CD3-дельта TCR.

[00015] В некоторых случаях нуклеиновая кислота содержит аналог нуклеотида. В некоторых случаях аналог нуклеотида выбран из группы, состоящей из 2'-О-метил, 2'-О-метоксиэтил (2'-О-МОЕ), 2'-О-аминопропил, 2'-дезоксидезокси-2'-фтор, 2'-О-аминопропил (2'-О-АП), 2'-О-диметиламиноэтил (2'-О-DMAOE), 2'-О-диметиламинопропил (2'-О-DMAP), Т-О-диметиламиноэтилоксиэтил (2'-О-DMAEOE), 2'-О-N-метилацетиламино (2'-О-NMA)-модифицированной, закрытой нуклеиновой кислоты (LNA), соединенной этиленовыми мостиками нуклеиновой кислоты (ENA), пептидной нуклеиновой кислоты (PNA), 1',5'-ангидрогекситоловой нуклеиновой кислоты (HNA), морфолино, метилфосфонатного нуклеотида, тиолфосфонатного нуклеотида и 2'-фтор-N3-P5'-фосфорамидита.

[00016] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложена выделенная молекула полипептида, кодируемая молекулой нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению.

[00017] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложена выделенная молекула TFR, содержащая человеческий или гуманизированный CD19-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен TCR.

[00018] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложена выделенная молекула TFR, содержащая человеческий или гуманизированный CD19-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен TCR, причем указанная молекула TFR способна функционально взаимодействовать с эндогенным комплексом TCR и/или по меньшей мере одним эндогенным полипептидом TCR.

[00019] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложена выделенная молекула TFR, содержащая человеческий или гуманизированный CD19-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный



домен TCR, причем указанная молекула TFP способна функционально интегрироваться в эндогенный комплекс TCR.

[00020] В некоторых случаях выделенная молекула TFP содержит антитело или фрагмент антитела, содержащий человеческий или гуманизированный CD19-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен TCR. В некоторых случаях CD19-связывающий домен представляет собой scFv или домен V<sub>H</sub>. В некоторых случаях CD19-связывающий домен содержит тяжелую цепь, которая на 95-100% идентична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 51, ее функциональный фрагмент или ее аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, но не более 30 модификаций. В некоторых случаях CD19-связывающий домен содержит легкую цепь, которая на 95-100% идентична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 49, ее функциональный фрагмент или ее аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, но не более 30 модификаций. В некоторых случаях выделенная молекула TFP содержит внеклеточный домен TCR, который содержит внеклеточный домен или его часть из белка, выбранного из группы, состоящей из альфа-цепи TCR, бета-цепи TCR, субъединицы CD3-эпсилон TCR, субъединицы CD3-гамма TCR, субъединицы CD3-дельта TCR, их функциональных фрагментов и их аминокислотных последовательностей, содержащих по меньшей мере одну, но не более 20 модификаций. В некоторых случаях CD19-связывающий домен соединен с внеклеточным доменом TCR посредством линкерной последовательности. В некоторых случаях линкерная область содержит (G<sub>4</sub>S)<sub>n</sub>, где n=1-4.

[00021] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложена выделенная молекула TFP, содержащая человеческий или гуманизированный ВСМА-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен TCR.

[00022] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложена выделенная молекула TFP, содержащая человеческий или гуманизированный ВСМА-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен TCR, причем указанная молекула TFP способна функционально взаимодействовать с эндогенным комплексом TCR и/или по меньшей мере одним эндогенным полипептидом TCR.

[00023] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложена выделенная молекула TFP, содержащая человеческий или гуманизированный ВСМА-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный

домен TCR, причем указанная молекула TFP способна функционально интегрироваться в эндогенный комплекс TCR.

[00024] В некоторых случаях выделенная молекула TFP содержит антитело или фрагмент антитела, содержащий человеческий или гуманизированный ВСМА-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен TCR. В некоторых случаях ВСМА-связывающий домен представляет собой scFv или домен V<sub>H</sub>. В некоторых случаях ВСМА-связывающий домен содержит тяжелую цепь, которая на 95-100% идентична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 55, ее функциональный фрагмент или ее аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, но не более 30 модификаций. В некоторых случаях ВСМА-связывающий домен содержит легкую цепь, которая на 95-100% идентична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 53, ее функциональный фрагмент или ее аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, но не более 30 модификаций. В некоторых случаях выделенная молекула TFP содержит внеклеточный домен TCR, который содержит внеклеточный домен или его часть из белка, выбранного из группы, состоящей из альфа-цепи TCR, бета-цепи TCR, субъединицы CD3-эпсилон TCR, субъединицы CD3-гамма TCR, субъединицы CD3-дельта TCR, их функциональных фрагментов и аминокислотных последовательностей, содержащих по меньшей мере одну, но не более 20 модификаций. В некоторых случаях ВСМА-связывающий домен соединен с внеклеточным доменом TCR посредством линкерной последовательности. В некоторых случаях линкерная область содержит (G<sub>4</sub>S)<sub>n</sub>, где n=1-4. В некоторых случаях выделенная молекула TFP дополнительно содержит последовательность, кодирующую костимулирующий домен. В некоторых случаях выделенная молекула TFP дополнительно содержит последовательность, кодирующую внутриклеточный сигнальный домен. В некоторых случаях выделенная молекула TFP дополнительно содержит лидерную последовательность.

[00025] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложен вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую TFP согласно настоящему изобретению. В некоторых случаях вектор выбран из группы, состоящей из ДНК, РНК, плазмиды, лентивирусного вектора, аденовирусного вектора, вектора на основе вируса саркомы Рауса (RSV) или ретровирусного вектора. В некоторых случаях вектор дополнительно содержит промотор. В некоторых случаях вектор представляет собой вектор, транскрибируемый в условиях *in vitro*. В некоторых случаях последовательность нуклеиновой кислоты в векторе дополнительно содержит поли(A)-хвост. В некоторых

случаях последовательность нуклеиновой кислоты в векторе дополнительно содержит 3'-нетранслируемую область (НТО).

[00026] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложена клетка, содержащая вектор согласно настоящему изобретению. В некоторых случаях клетка представляет собой Т-клетку человека. В некоторых случаях Т-клетка представляет собой CD8<sup>+</sup> или CD4<sup>+</sup> Т-клетку. В некоторых случаях клетка дополнительно содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую ингибирующую молекулу, которая содержит первый полипептид, который содержит по меньшей мере часть ингибирующей молекулы, связанный со вторым полипептидом, который содержит положительный сигнал из внутриклеточного сигнального домена. В некоторых случаях ингибирующая молекула содержит первый полипептид, который содержит по меньшей мере часть PD1, и второй полипептид, содержащий костимулирующий домен и первичный сигнальный домен.

[00027] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложена CD8<sup>+</sup> или CD4<sup>+</sup> Т-клетка человека, содержащая по меньшей мере две молекулы TFP, причем указанные молекулы TFP содержат человеческий или гуманизированный CD19-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен TCR, при этом указанная молекула TFP способна функционально взаимодействовать с эндогенным комплексом TCR и/или по меньшей мере одним эндогенным полипептидом TCR внутри, вблизи и/или на поверхности CD8<sup>+</sup> или CD4<sup>+</sup> Т-клетки человека.

[00028] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложен белковый комплекс, содержащий молекулу TFP, содержащую человеческий или гуманизированный CD19-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен TCR; и по меньшей мере один эндогенный комплекс TCR.

[00029] В некоторых случаях TCR содержит внеклеточный домен или его часть из белка, выбранного из группы, состоящей из альфа-цепи TCR, бета-цепи TCR, субъединицы CD3-эпсилон TCR, субъединицы CD3-гамма TCR и субъединицы CD3-дельта TCR. В некоторых случаях CD19-связывающий домен соединен с внеклеточным доменом TCR посредством линкерной последовательности. В некоторых случаях линкерная область содержит (G<sub>4</sub>S)<sub>n</sub>, где n=1-4.

[00030] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложен белковый комплекс, содержащий молекулу TFP, содержащую человеческий или гуманизированный ВСМА-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен TCR; и по меньшей мере один эндогенный комплекс TCR.

[00031] В некоторых случаях TCR содержит внеклеточный домен или его часть из белка, выбранного из группы, состоящей из альфа-цепи TCR, бета-цепи TCR, субъединицы CD3-эпсилон TCR, субъединицы CD3-гамма TCR и субъединицы CD3-дельта TCR. В некоторых случаях ВСМА-связывающий домен соединен с внеклеточным доменом TCR посредством линкерной последовательности. В некоторых случаях линкерная область содержит  $(G_4S)_n$ , где  $n=1-4$ .

[00032] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложена CD8<sup>+</sup> или CD4<sup>+</sup> Т-клетка человека, содержащая по меньшей мере два различных белка TFP на белковый комплекс согласно настоящему изобретению.

[00033] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложен способ изготовления клетки, включающий трансдукцию Т-клетки вектором согласно настоящему изобретению.

[00034] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложен способ получения популяции РНК-модифицированных клеток, включающий введение транскрибируемой в условиях *in vitro* РНК или синтетической РНК в клетку, причем РНК содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую молекулу TFP согласно настоящему изобретению.

[00035] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложен способ обеспечения противоопухолевого иммунитета у млекопитающего, включающий введение указанному млекопитающему эффективного количества клетки, экспрессирующей молекулу TFP согласно настоящему изобретению или экспрессирующей полипептидную молекулу согласно настоящему изобретению.

[00036] В некоторых случаях клетка представляет собой аутологичную Т-клетку. В некоторых случаях клетка представляет собой аллогенную Т-клетку. В некоторых случаях млекопитающее представляет собой человека.

[00037] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложен способ лечения млекопитающего, имеющего заболевание, связанное с экспрессией CD19 или ВСМА, включающий введение указанному млекопитающему эффективного количества молекулы TFP согласно настоящему изобретению, клетки согласно настоящему изобретению или молекулы полипептида согласно настоящему изобретению.

[00038] В некоторых случаях заболевание, связанное с экспрессией CD19 или ВСМА, выбрано из группы, состоящей из пролиферативного заболевания, рака, злокачественной опухоли, миелодисплазии, миелодиспластического синдрома, прелейкоза, показания, не относящегося к раку, связанного с экспрессией CD19. В некоторых случаях заболевание представляет собой гематологический рак, выбранный из

группы, включающей острый В-клеточный лимфобластный лейкоз (В-ALL), острый Т-клеточный лимфобластный лейкоз (Т-ALL), острый лимфобластный лейкоз (ALL); хронический миелобластный лейкоз (СМL), хронический лимфобластный лейкоз (СLЛ), В-клеточную пролимфоцитарную лейкемию, новообразование из бластных плазмацитоидных дендритных клеток, лимфому Беркитта, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому, фолликулярную лимфому, лейкоз ворсистых клеток, мелкоклеточную фолликулярную лимфому, крупноклеточную фолликулярную лимфому, злокачественные лимфопролиферативные состояния, лимфому MALT-типа, лимфому из клеток мантийной зоны, лимфому из клеток маргинальной зоны, множественную миелому, миелодисплазию, миелодиспластический синдром, неходжкинскую лимфому, плазмобластическую лимфому, новообразование плазмацитоидных дендритных клеток, макроглобулинемию Вальденстрема, прелейкоз, заболевание, связанное с экспрессией CD19 или ВСМА, и их комбинации. В некоторых случаях клетки, экспрессирующие молекулу TFP, вводят в комбинации с агентом, который повышает эффективность клетки, экспрессирующей молекулу TFP. В некоторых случаях у млекопитающего высвобождается меньшее количество цитокинов, по сравнению с млекопитающим, которому вводят эффективное количество Т-клетки, экспрессирующей CD19-связывающий химерный антигенный рецептор (CAR) или ВСМА-связывающий CAR. В некоторых случаях клетки, экспрессирующие молекулу TFP, вводят в комбинации с агентом, который улучшает один или более побочных эффектов, связанных с введением клетки, экспрессирующей молекулу TFP. В некоторых случаях клетки, экспрессирующие молекулу TFP, вводят в комбинации с агентом, который лечит заболевание, связанное с CD19 или ВСМА.

[00039] Согласно одному аспекту выделенная молекула нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению, выделенная полипептидная молекула согласно настоящему изобретению, выделенный TFP согласно настоящему изобретению, комплекс согласно настоящему изобретению, вектор согласно настоящему изобретению или клетка согласно настоящему изобретению предназначены для использования в качестве лекарственного средства.

[00040] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложен способ лечения млекопитающего, имеющего заболевание, связанное с экспрессией CD19 или ВСМА, включающий введение указанному млекопитающему эффективного количества молекулы TFP согласно настоящему изобретению, клетки согласно настоящему изобретению или молекулы полипептида согласно настоящему изобретению, причем у указанного млекопитающего высвобождается меньшее количество цитокинов, по

сравнению с млекопитающим, которому вводили эффективное количество Т-клетки, экспрессирующей CD19-связывающий химерный антигенный рецептор (CAR) или ВСМА-связывающий CAR.

### **ВКЛЮЧЕНИЕ ПОСРЕДСТВОМ ССЫЛКИ**

[00041] Все публикации, патенты и заявки на патенты, упомянутые в настоящем описании, включены в настоящую заявку посредством ссылки в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация, патент или заявка на патент была специально и индивидуально указана для включения посредством ссылки.

### **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ**

[00042] Новые признаки настоящего изобретения подробно изложены в прилагаемой формуле изобретения. Признаки и преимущества настоящего изобретения будут более понятны на основании нижеследующего подробного описания, в котором представлены иллюстративные варианты реализации, в которых используются принципы настоящего изобретения, и сопровождающие их чертежи:

[00043] На Фиг. 1 представлена схема, демонстрирующая использование гибридных полипептидов Т-клеточного рецептора (TFP) согласно настоящему изобретению. Типичный TFP содержит CD19-связывающий scFv и полноразмерный полипептид CD3-эпсилон, гибридный посредством линкерной последовательности (G<sub>4</sub>S)<sub>3</sub>. При выработке или введении в Т-клетку TFP связывается с другими полипептидами эндогенного Т-клеточного рецептора (TCR) (показано, что TCR содержит два полипептида CD3-эпсилон, один полипептид CD3-гамма, один полипептид CD3-дельта, два полипептида CD3-дзета, одну альфа-субъединицу TCR и одну бета-субъединицу TCR, где горизонтальный серый сегмент представляет плазматическую мембрану) с образованием перепрограммированного TCR, в котором один или оба эндогенных полипептида CD3-эпсилон замещены TFP.

[00044] На Фиг. 2А представлена схема, демонстрирующая примерные варианты гибридных полипептидов перепрограммированного Т-клеточного рецептора (TFP) согласно настоящему изобретению.

[00045] На Фиг. 2А представлен примерный перепрограммированный TCR, содержащий TFP, который содержит CD19-связывающий scFv и полноразмерный полипептид TCR V $\alpha$ , гибридный посредством линкерной последовательности (G<sub>4</sub>S)<sub>3</sub>.

[00046] На Фиг. 2B представлено несколько примерных перепрограммированных TCR, которые содержат несколько TFP, включая i) CD19-связывающий scFv и полноразмерный полипептид TCR V $\alpha$ , гибридный посредством линкерной последовательности (G<sub>4</sub>S)<sub>3</sub>, и ii) CD19-связывающий scFv и полноразмерный полипептид TCR V $\beta$ , гибридный посредством линкерной последовательности (G<sub>4</sub>S)<sub>3</sub>.

[00047] На Фиг. 2C представлен примерный перепрограммированный TCR, который содержит несколько TFP, включая i) CD19-связывающий scFv и усеченный ( $\Delta$ ) полипептид TCR, гибридный посредством линкерной последовательности (G<sub>4</sub>S)<sub>3</sub>, и ii) CD19-связывающий scFv и полноразмерный полипептид CD3-эпсилон, гибридный посредством линкерной последовательности (G<sub>4</sub>S)<sub>3</sub>. Усеченный ( $\Delta$ ) полипептид TCR усечен путем делеции V $\alpha$ .

[00048] На Фиг. 2D представлен примерный перепрограммированный TCR, который содержит несколько TFP, включая i) CD19-связывающий scFv и усеченный ( $\Delta$ ) полипептид TCR V $\alpha$ , гибридный посредством линкерной последовательности (G<sub>4</sub>S)<sub>3</sub>, и ii) CD19-связывающий scFv и усеченный ( $\Delta$ ) полипептид TCR V $\beta$ , гибридный посредством линкерной последовательности (G<sub>4</sub>S)<sub>3</sub>. Усеченный ( $\Delta$ ) полипептид TCR усечен путем делеции V $\beta$ .

[00049] На Фиг. 3 представлена схема, демонстрирующая использование гибридных полипептидов Т-клеточных рецепторов (TFP) согласно настоящему изобретению. Примерный TFP содержит CD19-связывающий домен V<sub>H</sub> и полноразмерный полипептид CD3-эпсилон, гибридный посредством линкерной последовательности (G<sub>4</sub>S)<sub>3</sub>. При выработке Т-клеткой или при введении в Т-клетку TFP связывается с другими полипептидами эндогенного Т-клеточного рецептора (TCR) (показано, что TCR содержит два полипептида CD3-эпсилон, один полипептид CD3-гамма, один полипептид CD3-дельта, два полипептида CD3-дзета, одну альфа-субъединицу TCR и одну бета-субъединицу TCR, где горизонтальный серый сегмент представляет плазматическую мембрану) с образованием перепрограммированного TCR, в котором один или оба эндогенных полипептида CD3-эпсилон замещены TFP.

[00050] На Фиг.4 представлено несколько схем, демонстрирующих конструкции ДНК, кодирующие различные TFP.

[00051] На Фиг. 5 представлена типичная столбиковая диаграмма поверхностной экспрессии CD19-связывающего LL (длинный линкер) TFP на Т-клетках после трансдукции лентивирусом. Эффекторные Т-клетки представляли собой нетрансдуцированные контрольные клетки или были трансдуцированы анти-CD19-28 $\zeta$  CAR или указанными конструкциями анти-CD19 LL TFP. После размножения в течение

10 дней в присутствии ИЛ-2 экспрессию соответствующего CAR или конструкции TFP на поверхности указанных клеток определяли методом проточной цитометрии.

[00052] На Фиг. 6 представлена типичная столбиковая диаграмма поверхностной экспрессии CD19-связывающего SL (короткий линкер) TFP на Т-клетках после трансдукции лентивирусом. Эффекторные Т-клетки представляли собой нетрансдуцированные контрольные клетки или были трансдуцированы анти-CD19-28 $\zeta$  CAR или указанными конструкциями анти-CD19 SL TFP. После размножения в течение 7 дней в присутствии ИЛ-2 экспрессию соответствующего CAR или конструкции TFP на поверхности указанных клеток определяли методом проточной цитометрии.

[00053] На Фиг. 7 представлена типичная столбиковая диаграмма поверхностной экспрессии ВСМА-связывающего TFP на Т-клетках после трансдукции лентивирусом. Эффекторные Т-клетки представляли собой нетрансдуцированные контрольные клетки или были трансдуцированы конструкциями анти-ВСМА-CD3 $\epsilon$  или анти-ВСМА-CD3 $\gamma$  TFP. После размножения в течение 10 дней в присутствии ИЛ-2 экспрессию TFP на поверхности указанных клеток определяли методом проточной цитометрии.

[00054] На Фиг. 8 представлена типичная столбиковая диаграмма, отражающая лизис CD19-экспрессирующих клеток-мишеней Raji под действием анти-CD19 LL TFP. Трансдуцированные эффекторные Т-клетки размножали в течение 14 дней перед началом инкубации в течение 18 часов с  $1 \times 10^4$  клеток-мишеней Raji при соотношении эффекторные клетки:клетки-мишени (Е:Т) равном 20:1, 10:1 или 5:1. Процент цитотоксичности определяли с помощью количественного исследования цитотоксичности методом проточной цитометрии.

[00055] На Фиг. 9 представлена типичная столбиковая диаграмма, отражающая лизис ВСМА-экспрессирующих клеток-мишеней RPMI8226 под действием ВСМА-связывающих TFP. Трансдуцированные эффекторные Т-клетки размножали в течение 12 дней перед началом инкубации в течение 4 часов с  $1 \times 10^4$  клеток-мишеней RPMI8226 при соотношении Е:Т равном 10:1 или 5:1. Процент цитотоксичности определяли с помощью количественного исследования цитотоксичности методом проточной цитометрии.

[00056] На Фиг. 10А представлена типичная столбиковая диаграмма, отражающая лизис CD19-трансдуцированных клеток-мишеней линии HeLa под действием конструкции анти-CD19-28 $\zeta$  CAR в зависимости от времени. Трансдуцированные эффекторные Т-клетки размножали в течение 14 дней перед инкубацией с  $1 \times 10^4$  CD19-трансдуцированных клеток-мишеней линии HeLa. Клеточный индекс, свидетельствующий о цитотоксичности, определяли с помощью количественного исследования RTCA.



[00057] На Фиг. 10B представлена типичная столбиковая диаграмма, отражающая лизис CD19-трансдуцированных клеток-мишеней линии HeLa под действием конструкции анти-CD19-CD3 $\epsilon$  LL TFP в зависимости от времени. Трансдуцированные эффекторные Т-клетки размножали в течение 14 дней перед инкубацией с  $1 \times 10^4$  CD19-трансдуцированных клеток-мишеней линии HeLa. Клеточный индекс, свидетельствующий о цитотоксичности, определяли с помощью количественного исследования RTCA.

[00058] На Фиг. 10C представлена типичная столбиковая диаграмма, отражающая лизис CD19-трансдуцированных клеток-мишеней линии HeLa под действием конструкции анти-CD19-CD3 $\gamma$  LL TFP в зависимости от времени. Трансдуцированные эффекторные Т-клетки размножали в течение 14 дней перед инкубацией с  $1 \times 10^4$  CD19-трансдуцированных клеток-мишеней линии HeLa. Клеточный индекс, свидетельствующий о цитотоксичности, определяли с помощью количественного исследования RTCA.

[00059] На Фиг. 10D представлена типичная столбиковая диаграмма, отражающая лизис CD19-трансдуцированных клеток-мишеней линии HeLa под действием конструкции анти-CD19-TCR $\alpha$ s LL TFP в зависимости от времени. Трансдуцированные эффекторные Т-клетки размножали в течение 14 дней перед инкубацией с  $1 \times 10^4$  CD19-трансдуцированных клеток-мишеней линии HeLa. Клеточный индекс, свидетельствующий о цитотоксичности, определяли с помощью количественного исследования RTCA.

[00060] На Фиг. 10E представлена типичная столбиковая диаграмма, отражающая лизис CD19-трансдуцированных клеток-мишеней линии HeLa под действием конструкции анти-CD19-TCR $\beta$ s LL TFP в зависимости от времени. Трансдуцированные эффекторные Т-клетки размножали в течение 14 дней перед инкубацией с  $1 \times 10^4$  CD19-трансдуцированных клеток-мишеней линии HeLa. Клеточный индекс, свидетельствующий о цитотоксичности, определяли с помощью количественного исследования RTCA.

[00061] На Фиг. 10F представлена типичная столбиковая диаграмма, отражающая лизис CD19-трансдуцированных клеток-мишеней линии HeLa под действием конструкции анти-CD19-TCR $\alpha$  LL TFP в зависимости от времени. Трансдуцированные эффекторные Т-клетки размножали в течение 14 дней перед инкубацией с  $1 \times 10^4$  CD19-трансдуцированных клеток-мишеней линии HeLa. Клеточный индекс, свидетельствующий о цитотоксичности, определяли с помощью количественного исследования RTCA.

[00062] На Фиг. 10G представлена типичная столбиковая диаграмма, отражающая лизис CD19-трансдуцированных клеток-мишеней линии HeLa под действием конструкции анти-CD19-TCR $\beta$  LL TFP в зависимости от времени. Трансдуцированные эффекторные Т-клетки размножали в течение 14 дней перед инкубацией с  $1 \times 10^4$  CD19-

трансдуцированных клеток-мишеней линии HeLa. Клеточный индекс, свидетельствующий о цитотоксичности, определяли с помощью количественного исследования RTCA.

[00063] На Фиг. 11 представлена типичная столбиковая диаграмма, отражающая лизис CD19-трансдуцированных клеток-мишеней линии HeLa под действием конструкции CD19-связывающих TFP. Трансдуцированные эффекторные Т-клетки размножали в течение 7 дней перед инкубацией с  $1 \times 10^4$  CD19-трансдуцированных клеток-мишеней линии HeLa. Клеточный индекс, свидетельствующий о цитотоксичности, определяли с помощью количественного исследования RTCA.

[00064] На Фиг. 12 представлена типичная столбиковая диаграмма, отражающая лизис ВСМА-трансдуцированных клеток-мишеней линии HeLa под действием ВСМА-связывающих TFP в зависимости от времени. Эффекторные Т-клетки, которые представляли собой нетрансдуцированные контрольные клетки или клетки, трансдуцированные анти-ВСМА-CD3 $\epsilon$  или анти-ВСМА-CD3 $\gamma$  TFP, размножали в течение 7 дней перед инкубацией с  $1 \times 10^4$  клеток-мишеней линии HeLa или клеток-мишеней линии HeLa-ВСМА. Клеточный индекс, свидетельствующий о цитотоксичности, определяли с помощью количественного исследования RTCA.

[00065] На Фиг. 13 представлена типичная столбиковая диаграмма, отражающая цитолитическую активность Т-клеток, трансдуцированных различными количествами лентивируса, кодирующего анти-CD19-CD3 $\epsilon$  LL TFP, в зависимости от времени. Т-клетки, трансдуцированные указанными MOI лентивируса, кодирующего анти-CD19-CD3 $\epsilon$  LL TFP, размножали в течение 14 дней перед инкубацией с  $1 \times 10^4$  CD19-трансдуцированных клеток-мишеней линии HeLa. Определяли клеточный индекс, свидетельствующий о цитотоксичности.

[00066] На Фиг. 14 представлена типичная столбиковая диаграмма, отражающая цитолитическую активность Т-клеток, трансфецированных путем электропорации с использованием транскрибируемой в условиях *in vitro* (IVT) иРНК, кодирующей анти-CD19-CD3 $\epsilon$  SL или анти-CD19-CD3 $\gamma$  SL TRuC. Эффекторные Т-клетки трансфецировали путем электропорации активированных мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК) транскрибируемой в условиях *in vitro* (IVT) иРНК, кодирующей контрольный белок GFP, анти-CD19-CD3 $\epsilon$  SL или анти-CD19-CD3 $\gamma$  SL TRuC. После размножения в течение 3 дней эффекторные клетки инкубировали в течение 4 часов с  $1 \times 10^4$  клеток Raji или клеток K562 при соотношении Е:Т равном 10:1. Процент цитотоксичности определяли с помощью количественного исследования цитотоксичности методом проточной цитометрии.

[00067] На Фиг. 15А представлен типичный график высвобождения ИЛ-2 из Т-клеток, трансдуцированных анти-CD19 LL TFP, в ответ на CD19-экспрессирующие клетки-мишени. Эффекторные Т-клетки, которые представляли собой нетрансдуцированные клетки или клетки, трансдуцированные контрольным CAR, анти-CD19-28 $\zeta$  CAT или указанным анти-CD19 LL TFP, размножали в течение 14 дней перед инкубацией с  $1 \times 10^4$  Raji или клеток-мишеней K562. Уровни ИЛ-2 определяли с помощью твердофазного иммуоферментного анализа (ИФА).

[00068] На Фиг. 15В представлен типичный график высвобождения ИФН- $\gamma$  из Т-клеток, трансдуцированных анти-CD19 LL TFP, в ответ на CD19-экспрессирующие клетки-мишени. Эффекторные Т-клетки, которые представляли собой нетрансдуцированные клетки или клетки, трансдуцированные контрольным CAR, анти-CD19-28 $\zeta$  CAT или указанным анти-CD19 LL TFP, размножали в течение 14 дней перед инкубацией с  $1 \times 10^4$  клеток-мишеней линии Raji или линии K562. Уровни ИФН- $\gamma$  определяли с помощью ИФА.

[00069] На Фиг. 15С представлен типичный график высвобождения ИЛ-2 из Т-клеток, трансдуцированных анти-CD19 LL TFP, в ответ на CD19-экспрессирующие клетки-мишени. Эффекторные Т-клетки, которые представляли собой нетрансдуцированные клетки или клетки, трансдуцированные контрольным CAR, анти-CD19-28 $\zeta$  CAT или указанным анти-CD19 LL TFP, размножали в течение 14 дней перед инкубацией с  $1 \times 10^4$  клеток-мишеней линии HeLa или линии CD19-HeLa. Уровни ИЛ-2 определяли с помощью ИФА.

[00070] На Фиг. 15D представлен типичный график высвобождения ИФН- $\gamma$  Т-клетками, трансдуцированными анти-CD19 LL TFP, в ответ на CD19-экспрессирующие клетки-мишени. Эффекторные Т-клетки, которые представляли собой нетрансдуцированные клетки или клетки, трансдуцированные контрольным CAR, анти-CD19-28 $\zeta$  CAT или указанным анти-CD19 LL TFP, размножали в течение 14 дней перед инкубацией с  $1 \times 10^4$  клеток-мишеней линии HeLa или линии CD19-HeLa. Уровни ИФН- $\gamma$  определяли с помощью ИФА.

[00071] На Фиг. 16 представлен типичный график высвобождения ИФН- $\gamma$  Т-клетками, трансдуцированными CD19-связывающими TFP, в ответ на CD19-экспрессирующие клетки-мишени. Эффекторные Т-клетки, которые представляли собой нетрансдуцированные клетки или клетки, трансдуцированные указанным CD19-связывающим TFP, размножали в течение 7 дней перед инкубацией с  $1 \times 10^4$  клеток-мишеней линии HeLa или линии CD19-HeLa. Уровни ИФН- $\gamma$  определяли с помощью ИФА.

[00072] На Фиг. 17А представлен типичный график высвобождения ИЛ-2 Т-клетками, трансдуцированными ВСМА-связывающими TFP, в ответ на ВСМА-экспрессирующие клетки-мишени. Эффекторные Т-клетки, которые представляли собой нетрансдуцированные клетки или клетки, трансдуцированные анти-ВСМА-CD3 $\epsilon$  или анти-ВСМА-CD3 $\gamma$  TFP, размножали в течение 7 дней перед инкубацией с  $1 \times 10^4$  клеток-мишеней линии HeLa или линии HeLa-ВСМА. Выработку ИЛ-2 определяли с помощью платформы 2-Plex Luminex.

[00073] На Фиг. 17В представлен типичный график высвобождения ИФН- $\gamma$  Т-клетками, трансдуцированными ВСМА-связывающими TFP, в ответ на ВСМА-экспрессирующие клетки-мишени. Эффекторные Т-клетки, которые представляли собой нетрансдуцированные клетки или клетки, трансдуцированные анти-ВСМА-CD3 $\epsilon$  или анти-ВСМА-CD3 $\gamma$  TFP, размножали в течение 7 дней перед инкубацией с  $1 \times 10^4$  клеток-мишеней линии HeLa или линии ВСМА-HeLa. Выработку ИФН- $\gamma$  определяли с помощью платформы 2-Plex Luminex<sup>TM</sup>.

[00074] На Фиг. 18 представлен типичный график оценки дегрануляции Т-клеток, трансдуцированных CD19-связывающими TFP, в ответ на CD19-экспрессирующие клетки-мишени. Эффекторные Т-клетки, которые представляли собой нетрансдуцированные клетки или клетки, трансдуцированные анти-CD19-28 $\zeta$  CAR, анти-ВСМА-CD3 $\epsilon$  LL TFP или анти-ВСМА-CD3 $\gamma$  LL TFP, размножали в течение 14 дней перед инкубацией с  $1 \times 10^4$  указанных клеток-мишеней CD19<sup>+</sup>ve или CD19<sup>-</sup>ve. Определяли процент CD107<sup>+</sup> клеток в пропущенной популяции CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> клеток. Клетки-мишени и эффекторные клетки совместно культивировали в присутствии флуоресцентномеченого антитела к CD107a. Процент Т-клеток в пропущенной популяции CD3 и CD4/CD8 клеток, которые имели положительные результаты окрашивания поверхностного CD107a, затем определяли методом проточной цитометрии.

[00075] На Фиг. 19 представлен типичный график оценки дегрануляции Т-клеток, трансдуцированных ВСМА-связывающими TFP, в ответ на ВСМА-экспрессирующие клетки-мишени. Эффекторные Т-клетки, которые представляли собой нетрансдуцированные клетки или клетки, трансдуцированные с использованием 50 MOI анти-ВСМА-CD3 $\epsilon$  или анти-ВСМА-CD3 $\gamma$  TFP, размножали в течение 13 дней перед инкубацией с  $1 \times 10^4$  указанных клеток-мишеней ВСМА<sup>+</sup>ve RPMI8226. Определяли процент CD107<sup>+</sup> клеток в пропущенной популяции CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> клеток.

[00076] На Фиг. 20А представлены типичные графики эффективности в условиях *in vivo* Т-клеток, трансдуцированных анти-CD19 LL TFP, в ксенотрансплантатных моделях генерализованного лейкоза человека. Мышей линии NSG иммунизировали путем

внутривенного введения  $5 \times 10^5$  клеток Raji за три дня до адоптивного переноса  $5 \times 10^6$  Т-клеток, которые представляли собой нетрансдуцированные клетки или клетки, трансдуцированные конструкциями анти-CD19-28 $\zeta$  CAR, анти-CD19-CD3 $\epsilon$  LL TFP или анти-CD19-CD3 $\gamma$  LL TFP.

[00077] На Фиг. 20В представлены типичные графики эффективности в условиях *in vivo* Т-клеток, трансдуцированных анти-CD19 LL TFP, в ксенотрансплантатных моделях генерализованного лейкоза человека. Мышей линии NSG иммунизировали путем внутривенного введения  $1 \times 10^6$  клеток Nalm-6 (справа) за три дня до адоптивного переноса  $5 \times 10^6$  Т-клеток, которые представляли собой нетрансдуцированные клетки или клетки, трансдуцированные конструкциями анти-CD19-28 $\zeta$  CAR, анти-CD19-CD3 $\epsilon$  LL TFP или анти-CD19-CD3 $\gamma$  LL TFP. Сравнение кривых выживания с помощью логарифмического рангового критерия (Мантеля-Кокса) выявило  $p=0,0001$  (группа 4 по сравнению с 1, 2, 3),  $p=0,0001$  (группа 1 по сравнению с 2, 3) и  $p=0,0004$  (группа 2 по сравнению с 3). Сравнение кривых выживания с использованием критерия Грехана-Бреслоу-Уилкоксона выявило  $p=0,0001$  (группа 4 по сравнению с 1, 2, 3),  $p=0,0001$  (группа 1 по сравнению с 2, 3) и  $p=0,0005$  (группа 2 по сравнению с 3).

### ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[00078] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении описаны выделенные молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие гибридный белок Т-клеточного рецептора (TCR) (TFP), который содержат субъединицу TCR и домен антитела человека или гуманизированного антитела, содержащий домен связывания CD19. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субъединица TCR содержит внеклеточный домен TCR. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения субъединица TCR содержит трансмембранный домен TCR. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения субъединица TCR содержит внутриклеточный домен TCR. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения субъединица TCR содержит (i) внеклеточный домен TCR, (ii) трансмембранный домен TCR, и (iii) внутриклеточный домен TCR, причем по меньшей мере два из (i), (ii) и (iii) получены из одной и той же субъединицы TCR. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения субъединица TCR содержит внутриклеточный домен TCR, содержащий стимулирующий домен, выбранный из внутриклеточного сигнального домена CD3-эпсилон, CD3-гамма или CD3-дельта, или аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, две или три модификации. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения субъединица TCR содержит

внутриклеточный домен, содержащий стимулирующий домен, выбранный из функционального сигнального домена 4-1BB и/или функционального сигнального домена CD3-дзета, или аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, две или три модификации.

[00079] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения домен антитела человека или гуманизированного антитела содержит фрагмент антитела. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения домен антитела человека или гуманизированного антитела содержит scFv или домен V<sub>H</sub>.

[00080] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения выделенные молекулы нуклеиновой кислоты содержат (i) CDR1 легкой цепи (LC), LC CDR2 и LC CDR3 из любой аминокислотной последовательности CD19-связывающего домена легкой цепи согласно настоящему изобретению, и/или (ii) CDR1 тяжелой цепи (HC), HC CDR2 и HC CDR3 из любой аминокислотной последовательности CD19-связывающего домена тяжелой цепи согласно настоящему изобретению.

[00081] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, две или три модификации, но не более 30, 20 или 10 модификаций в аминокислотной последовательности переменной области легкой цепи согласно настоящему изобретению, или последовательность, которая на 95-99% идентична аминокислотной последовательности согласно настоящему изобретению. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, две или три модификации, но не более 30, 20 или 10 модификаций в аминокислотной последовательности переменной области тяжелой цепи согласно настоящему изобретению, или последовательность, которая на 95-99% идентична аминокислотной последовательности согласно настоящему изобретению.

[00082] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения TFR содержит внеклеточный домен субъединицы TCR, который содержит внеклеточный домен или его часть из белка, выбранного из группы, состоящей из альфа-цепи или бета-цепи T-клеточного рецептора, CD3-дельта, CD3-эпсилон или CD3-гамма, или их функционального фрагмента, или аминокислотной последовательности, содержащей по меньшей мере одну, две или три модификации, но не более 20, 10 или 5 модификаций. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения кодируемый TFR содержит трансмембранный домен, который содержит трансмембранный домен белка, выбранного из группы, состоящей из альфа-цепи или бета-цепи TCR, или субъединиц

CD3-эпсилон, CD3-гамма и CD3-дельта TCR, или их функционального фрагмента, или аминокислотной последовательности, содержащей по меньшей мере одну, две или три модификации, но не более 20, 10 или 5 модификаций.

[00083] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения кодируемый TFP содержит трансмембранный домен, который содержит трансмембранный домен из белка, выбранного из группы, состоящей из альфа-, бета- или дзета-цепи TCR или CD3-эпсилон, CD3-гамма и CD3-дельта, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD28, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 и CD154, или их функционального фрагмента, или аминокислотной последовательности, содержащей по меньшей мере одну, две или три модификации, но не более 20, 10 или 5 модификаций.

[00084] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения кодируемый CD19-связывающий домен соединен с внеклеточным доменом TCR с помощью линкерной последовательности. В некоторых случаях кодируемая линкерная последовательность содержит  $(G_4S)_n$ , где  $n=1-4$ . В некоторых случаях кодируемая линкерная последовательность содержит длинную линкерную последовательность (LL). В некоторых случаях кодируемая длинная линкерная последовательность содержит  $(G_4S)_n$ , где  $n=2-4$ . В некоторых случаях кодируемая линкерная последовательность содержит короткую линкерную последовательность (SL). В некоторых случаях кодируемая короткая линкерная последовательность содержит  $(G_4S)_n$ , где  $n=1-3$ .

[00085] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения выделенная молекула нуклеиновой кислоты дополнительно содержит последовательность, кодирующую костимулирующий домен. В некоторых случаях костимулирующий домен представляет собой функциональный сигнальный домен, полученный из белка, выбранного из группы, состоящей из OX40, CD2, CD27, CD28, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278) и 4-1BB (CD137), или аминокислотной последовательности, содержащей по меньшей мере одну, две или три модификации, но не более 20, 10 или 5 модификаций.

[00086] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения выделенная молекула нуклеиновой кислоты дополнительно содержит лидерную последовательность.

[00087] В настоящем изобретении также предложены выделенные молекулы полипептида, кодируемого любой из описанных выше молекул нуклеиновых кислот.

[00088] Согласно другому аспекту в настоящем изобретении также предложены выделенные молекулы гибридного белка Т-клеточного рецептора (TFP), которые содержат человеческий или гуманизированный CD19-связывающий домен, внеклеточный

домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен TCR. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения выделенные молекулы TFP содержат антитело или фрагмент антитела, содержащий человеческий или гуманизированный CD19-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен TCR.

[00089] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения CD19-связывающий домен представляет собой scFv или домен  $V_H$ . Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения CD19-связывающий домен содержит легкую цепь и тяжелую цепь аминокислотной последовательности согласно настоящему изобретению, или ее функциональный фрагмент, или аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, две или три модификации, но не более 30, 20 или 10 модификаций в аминокислотной последовательности варибельной области легкой цепи согласно настоящему изобретению, или последовательность, которая на 95-99% идентична аминокислотной последовательности согласно настоящему изобретению.

[00090] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения выделенные молекулы TFP содержат внеклеточный домен TCR, который содержит внеклеточный домен или его часть из белка, выбранного из группы, состоящей из альфа- или бета-цепи Т-клеточного рецептора, CD3-дельта, CD3-эпсилон или CD3-гамма, или аминокислотной последовательности, содержащей по меньшей мере одну, две или три модификации, но не более 20, 10 или 5 модификаций.

[00091] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения CD19-связывающий домен соединен с внеклеточным доменом TCR с помощью линкерной последовательности. В некоторых случаях линкерная область содержит  $(G_4S)_n$ , где  $n=1-4$ . В некоторых случаях линкерная последовательность содержит длинную линкерную последовательность (LL). В некоторых случаях длинная линкерная последовательность содержит  $(G_4S)_n$ , где  $n=2-4$ . В некоторых случаях линкерная последовательность содержит короткую линкерную последовательность (SL). В некоторых случаях короткая линкерная последовательность содержит  $(G_4S)_n$ , где  $n=1-3$ .

[00092] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения выделенная молекула TFP дополнительно содержит последовательность, кодирующую костимулирующий домен. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения выделенная молекула TFP дополнительно содержит последовательность, кодирующую внутриклеточный сигнальный домен. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения выделенные молекулы TFP дополнительно содержат лидерную последовательность.



[00093] В настоящем изобретении также предложены векторы, которые содержат молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую любую из ранее описанных молекул TFP. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения вектор выбран из группы, состоящей из ДНК, РНК, плазмиды, лентивирусного вектора, аденовирусного вектора или ретровирусного вектора. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения вектор дополнительно содержит промотор. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения вектор представляет собой транскрибируемый в условиях *in vitro* вектор. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения последовательность нуклеиновой кислоты в векторе дополнительно содержит последовательность поли(А). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения последовательность нуклеиновой кислоты в векторе дополнительно содержит 3'-нетранслируемую область (НТО).

[00094] В настоящем изобретении также предложены клетки, которые содержат любые из описанных векторов. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения клетка представляет собой Т-клетку человека. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения клетка представляет собой CD8<sup>+</sup> или CD4<sup>+</sup> Т-клетку. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения клетка дополнительно содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую ингибирующую молекулу, которая содержит первый полипептид, который содержит по меньшей мере часть ингибирующей молекулы, связанный со вторым полипептидом, который содержит положительный сигнал из внутриклеточного сигнального домена. В некоторых случаях ингибирующие молекулы содержат первый полипептид, который содержит по меньшей мере часть PD1, и второй полипептид, содержащий костимулирующий домен и первичный сигнальный домен.

[00095] Согласно другому аспекту в настоящем изобретении предложены выделенные молекулы TFP, которые содержат человеческий или гуманизированный CD19-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен TCR, причем указанная молекула TFP способна функционально взаимодействовать с эндогенным комплексом TCR и/или по меньшей мере одним эндогенным полипептидом TCR.

[00096] Согласно другому аспекту в настоящем изобретении предложены выделенные молекулы TFP, которые содержат человеческий или гуманизированный CD19-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен TCR, причем указанная молекула TFP способна функционально интегрироваться в эндогенный комплекс TCR.

[00097] Согласно другому аспекту в настоящем изобретении предложены CD8<sup>+</sup> или CD4<sup>+</sup> Т-клетки человека, которые содержат по меньшей мере две молекулы TFP, причем указанные молекулы TFP содержат человеческий или гуманизированный CD19-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен TCR, при этом указанная молекула TFP способна функционально взаимодействовать с эндогенным комплексом TCR и/или по меньшей мере одним эндогенным полипептидом TCR внутри, возле и/или на поверхности CD8<sup>+</sup> или CD4<sup>+</sup> Т-клеток человека.

[00098] Согласно другому аспекту в настоящем изобретении предложены белковые комплексы, которые содержат i) молекулу TFP, содержащую человеческий или гуманизированный CD19-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен TCR; и ii) по меньшей мере один эндогенный комплекс TCR.

[00099] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения TCR содержит внеклеточный домен или его часть из белка, выбранного из группы, состоящей из альфа-цепи или бета-цепи Т-клеточного рецептора, CD3-дельта, CD3-эпсилон или CD3-гамма. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения CD19-связывающий домен соединен с внеклеточным доменом TCR с помощью линкерной последовательности. В некоторых случаях линкерная область содержит  $(G_4S)_n$ , где  $n=1-4$ . В некоторых случаях линкерная последовательность содержит длинную линкерную последовательность (LL). В некоторых случаях длинная линкерная последовательность содержит  $(G_4S)_n$ , где  $n=2-4$ . В некоторых случаях линкерная последовательность содержит короткую линкерную последовательность (SL). В некоторых случаях короткая линкерная последовательность содержит  $(G_4S)_n$ , где  $n=1-3$ .

[000100] В настоящем изобретении также предложены CD8<sup>+</sup> или CD4<sup>+</sup> Т-клетки человека, которые содержат по меньшей мере два различных белка TFP на любой из описанных белковых комплексов.

[000101] Согласно другому аспекту в настоящем изобретении предложена популяция CD8<sup>+</sup> или CD4<sup>+</sup> Т-клеток человека, при этом Т-клетки популяции, по отдельности или вместе, содержат по меньшей мере две молекулы TFP, причем указанные молекулы TFP содержат человеческий или гуманизированный CD19-связывающий или ВСМА-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен TCR, при этом указанная молекула TFP способна функционально взаимодействовать с эндогенным комплексом TCR и/или по меньшей мере одним

эндогенным полипептидом TCR внутри, возле и/или на поверхности CD8+ или CD4+ T-клеток человека.

[000102] Согласно другому аспекту в настоящем изобретении предложена популяция CD8+ или CD4+ T-клеток человека, при этом T-клетки популяции, по отдельности или вместе, содержат по меньшей мере две молекулы TFP, кодируемые выделенной молекулой нуклеиновой кислоты согласно настоящему изобретению.

[000103] Согласно другому аспекту в настоящем изобретении предложены способы получения клетки, которые включают трансдукцию T-клеток с использованием описанных векторов.

[000104] Согласно другому аспекту в настоящем изобретении предложены способы получения популяции РНК-модифицированных клеток, которые включают введение транскрибируемой в условиях *in vitro* РНК или синтетической РНК в клетку, при этом РНК содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую описанные молекулы TFP.

[000105] Согласно другому аспекту в настоящем изобретении предложены способы обеспечения противоопухолевого иммунитета у млекопитающего, которые включают введение указанному млекопитающему эффективного количества клетки, экспрессирующей описанные молекулы TFP. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения клетка представляет собой аутологичную T-клетку. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения клетка представляет собой аллогенную T-клетку. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения млекопитающее представляет собой человека.

[000106] Согласно другому аспекту в настоящем изобретении предложены способы лечения млекопитающего, страдающего заболеванием, связанным с экспрессией CD19, которые включают введение указанному млекопитающему эффективного количества клетки, содержащей описанные молекулы TFP. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения заболевание, связанное с экспрессией CD19, выбрано из пролиферативного заболевания, такого как рак или злокачественная опухоль, или предракового состояния, такого как миелодисплазия, MDS или прелейкоз, или представляет собой показание, не относящее к раку, связанное с экспрессией CD19. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения заболевание представляет собой гематологический рак, выбранный из группы, включающей один или более видов острого лейкоза, включая, но не ограничиваясь ими, острый В-клеточный лимфобластный лейкоз («B-ALL»), острый Т-клеточный лимфобластный лейкоз («T-ALL»), острый лимфобластный лейкоз (ALL); один или более видов хронического лейкоза, включая, но не ограничиваясь ими, хронический миелобластный лейкоз (CML),

хронический лимфобластный лейкоз (CLL); дополнительные виды гематологических раковых заболеваний или гематологических состояний, включая, но не ограничиваясь ими, пролимфоцитарный В-клеточный лейкоз, новообразование бластных плазмацитоидных дендритных клеток, лимфому Беркитта, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому, фолликулярную лимфому, лейкоз ворсистых клеток, мелкоклеточную или крупноклеточную фолликулярную лимфому, злокачественные лимфопролиферативные состояния, лимфому MALT-типа, лимфому из клеток мантийной зоны, лимфому из клеток маргинальной зоны, множественную миелому, миелодисплазию, миелодиспластический синдром, неходжкинскую лимфому, плазмобластическую лимфому, новообразование плазмацитоидных дендритных клеток, макроглобулинемию Вальденстрема и «прелейкоз», которые представляют собой различные гематологические состояния, общим признаком которых является неэффективная выработка (или дисплазия) миелоидных клеток крови, и заболевание, связанное с экспрессией CD19, включая, но не ограничиваясь ими, атипичные или неклассические виды рака, злокачественные опухоли, предраковые состояния или пролиферативные заболевания, экспрессирующие CD19, а также их комбинации.

[000107] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения клетки, экспрессирующие любую из описанных молекул TFP, вводят в комбинации с агентом, который облегчает один или более побочных эффектов, связанных с введением клеток, экспрессирующих молекулу TFP. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения клетку, экспрессирующую любую из описанных молекул TFP, вводят в комбинации с агентом, который лечит заболевание, связанное с CD19.

[000108] В настоящем изобретении также предложена любая из описанных выделенных молекул нуклеиновых кислот, любая из описанных выделенных молекул полипептидов, любой из описанных выделенных TFP, любой из описанных белковых комплексов, любой из описанных векторов или любая из описанных клеток для применения в качестве лекарственного средства.

### **Определения**

[000109] Если не определено иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют то же значение, которое обычно понятно специалисту в данной области техники, к которой относится настоящее изобретение.

[000110] Термин «а» и «ап» относится к одному или более чем одному (т.е. по меньшей мере одному) грамматическому объекту изделия. В качестве примера, «элемент» означает один элемент или более одного элемента.

[000111] В настоящей заявке «приблизительно» может означать плюс или минус менее чем 1 или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30 или более чем 30 процентов, в зависимости от ситуации, и как известно или может быть понятно специалисту в данной области техники.

[000112] В настоящей заявке термин «субъект» или «субъекты» или «индивидуумы» может включать, но не ограничивается ими, млекопитающих, таких как человек или другие млекопитающие, не относящиеся к человеку, например, одомашненные, сельскохозяйственные или дикие животные, а также птиц и водных животных. «Пациенты» являются субъектами, страдающими или подверженными риску развития заболевания, расстройства или состояния, или иначе нуждающимися в композициях и способах согласно настоящему изобретению.

[000113] В настоящей заявке термин «лечить» или «лечение» относится к любому из признаков успешности лечения или облегчения заболевания или состояния. Лечение может включать, например, снижение, задержку или облегчение степени тяжести одного или более симптомов заболевания или состояния, или оно может включать уменьшение частоты возникновения симптомов заболевания, дефекта, расстройства или нежелательного состояния и т.п. у пациента. В настоящей заявке термин «лечить или предотвратить» иногда относится к способу, который обеспечивает определенный уровень лечения или облегчения заболевания или состояния, а также включает ряд результатов, направленных на эту цель, включая, но не ограничиваясь этим, полное предотвращение состояния.

[000114] В настоящей заявке «предотвращение» относится к предотвращению заболевания или состояния, например, образования опухоли, у пациента. Например, если индивидуум, который входит в группу риска развития опухоли или другой формы рака, получает лечение с использованием способов согласно настоящему изобретению, и при этом в дальнейшем у него не развивается опухоль или другая форма рака, то у этого индивидуума заболевание было предотвращено, по меньшей мере в течение продолжительного периода времени.

[000115] В настоящей заявке «терапевтически эффективное количество» представляет собой количество композиции или ее активного компонента, которое достаточно для того чтобы обеспечить благоприятное действие или иным образом уменьшить вредное, неблагоприятное явление у индивидуума, которому вводят композицию. В настоящей заявке термин «терапевтически эффективная доза» означает дозу, которая обеспечивает одно или более желаемых или желательных (например, полезных) действий, для достижения которых ее вводят, введение осуществляют один или

более раз в течение заданного периода времени. Точная доза будет зависеть от цели лечения, и будет устанавливаться специалистом в данной области техники с использованием известных способов (см., например, Lieberman, *Pharmaceutical Dosage Forms* (vols. 1-3, 1992); Lloyd, *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding* (1999); и Pickar, *Dosage Calculations* (1999)).

[000116] В настоящей заявке термин «гибридный белок Т-клеточного рецептора (TCR)» или «TFP» включает рекомбинантный полипептид, полученный из различных полипептидов, содержащих TCR, который, как правило, способен i) связываться с поверхностным антигеном на клетках-мишенях, и ii) взаимодействовать с другими полипептидными компонентами интактного комплекса TCR, как правило, при совместном расположении внутри или на поверхности Т-клеток.

[000117] В настоящей заявке термин «CD19» относится к белку 19 кластера дифференцировки, который представляет собой антигенную детерминанту, которая детектируется на клетках-предшественниках В-клеточного лейкоза, других злокачественных В-клетках и большинстве клеток линии нормальных В-клеток. Аминокислотные последовательности и последовательности нуклеиновых кислот человека и мыши могут быть найдены в публичной базе данных, такой как GenBank, UniProt и Swiss-Prot. Например, аминокислотная последовательность CD19 человека может быть найдена в UniProt/Swiss-Prot под номером доступа P15391. Каноническая последовательность полипептида человека CD19 может быть найдена в UniProt под номером доступа P15391 (или P15391-1):  
 MPPRLLFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTSDGPTQQLTWSRESPLKP  
 FLKLSLGLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSQQMGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWTVNVEGSG  
 ELFRWNVSDLGGLGCGLKNRSSEGPSSPSGKLMSPKLYVWAKDRPEIWEGEPPCLPPRD  
 SLNQSLSQDLTMAPGSTLWLSCGVPPDSVSRGPLSWTHVHPKGPKSLLSLELKDDRRPAR  
 DMWVMETGLLLPRATAQDAGKYYCHRGNTMSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWKVS  
 AVTLAYLIFCLCSLVGILHLQRALVLRKRKRMTDPTRRFFKVTPPP GSGPQNQYGNVLS  
 LPTPTSGLGRAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQADGALGSRSPPGVGP EEEEEGEGYE EEP  
 DSEEDSEFYENDSNLQDQLSQDGSYENPEDEPLGPEDEDSFSNAESYENEDEELTQPV  
 ARTMDFLSPHGSAWDPSREATSLGSQSYEDMRGILYAAPQLRSIRGQPGPNHEEDADSY  
 ENMDNPDGPDPAWGGGGRMGTWSTR (SEQ ID NO: 1).

[000118] Нуклеотидная последовательность, кодирующая CD19 человека, может быть найдена под номером доступа NM001178098. CD19 экспрессируется на большинстве В-клеточных видов рака, включая, например, ALL, CLL и неходжкинскую лимфому (НХЛ). Другие клетки, которые экспрессируют CD19, представлены ниже в определении

«заболевания, связанные с экспрессией CD19». CD19 также является ранним маркером нормальных клеток-предшественников В-клеток. См., например, Nicholson et al. *Mol. Immun.* 34 (16-17): 1157-1165 (1997). В одном примере антигенсвязывающий участок TFP распознает и связывает эпитоп в пределах внеклеточного домена белка CD19, который экспрессируется на злокачественной и нормальной В-клетке.

[000119] В настоящей заявке термин «BCMA» относится к В-клеточному антигену созревания, также известному как член надсемейства рецепторов фактора некроза опухолей 17 (TNFRSF17) и белок 269 кластера дифференцировки (CD269), и представляет собой белок, который у человека кодируется геном TNFRSF17. TNFRSF17 представляет собой рецептор клеточной поверхности, который принадлежит к надсемейству рецепторов ФНО, распознающий фактор активации В-клеток (BAFF) (см., например, Laabi et al., *EMBO* 11 (11): 3897–904 (1992)). Этот рецептор экспрессируется в зрелых В-лимфоцитах и может иметь большое значение для развития В-клеток и аутоиммунных реакций. Аминокислотные последовательности и последовательности нуклеиновых кислот человека и мыши могут быть найдены в публичной базе данных, такой как GenBank, UniProt и Swiss-Prot. Например, аминокислотная последовательность BCMA человека может быть найдена в UniProt/Swiss-Prot под номером доступа Q02223. Каноническая последовательность полипептида BCMA человека может быть найдена в UniProt под номером доступа Q02223 (или Q02223-1):  
MLQMAGQCSQNEYFDSLHACIPCQLRCSSNTPPLTCQRYCNASVTNSVKGTNAILWTC  
LGLSLIISLAVFVLMFLLRKINSEPLKDEFKNTGSGLLGMANIDLEKSRTGDEIILPRGLEY  
TVEECTCEDCIKSKPKVDSDFPLPAMEEGATILVTTKTNDYCKSLPAALSATEIEKSSIS  
AR (SEQ ID NO: 2).

[000120] Нуклеотидная последовательность, кодирующая BCMA человека, может быть найдена под номером доступа NM001192. BCMA экспрессируется на большинстве В-клеточных видов рака, включая, например, лейкоз, лимфомы и множественную миелому. Другие клетки, которые экспрессируют BCMA, представлены ниже в определении «заболевания, связанные с экспрессией BCMA». Было показано, что этот рецептор специфично связывается с членом надсемейства факторов некроза опухолей 13b (лиганд) (TNFSF13B/TALL-1/BAFF) и приводит к активации NF-κappaB и MAPK8/JNK. Этот рецептор также связывается с различными членами семейства TRAF и тем самым может передавать сигналы для выживания и пролиферации клеток (см., например, Laabi et al., *Nucleic Acids Research* 22 (7): 1147–54 (1994)). В одном примере антигенсвязывающий участок TFP распознает и связывает эпитоп в пределах внеклеточного домена белка BCMA, который экспрессируется на злокачественной и нормальной В-клетке.

[000121] В настоящей заявке термин «антитело» относится к белку или полипептидной последовательности, полученной из молекулы иммуноглобулина, которая специфично связывается с антигеном. Антитела могут представлять собой интактные иммуноглобулины поликлонального или моноклонального происхождения или их фрагменты, и могут быть получены из природных или рекомбинантных источников.

[000122] Термины «фрагмент антитела» или «связывающий домен антитела» относятся к по меньшей мере одной части антитела или его рекомбинантных вариантов, которая содержит антигенсвязывающий домен, т.е. к вариательной области, определяющей антигенную специфичность интактного антитела, которая является достаточной для того чтобы обеспечить распознавание и специфичное связывание фрагмента антитела с мишенью, такой как антиген и его определенный эпитоп. Примеры фрагментов антител включают, но не ограничиваются ими, фрагменты Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> и Fv, одноцепочечные (sc)Fv («scFv») фрагменты антител, линейные антитела, однодоменные антитела, такие как sdAb (V<sub>L</sub> или V<sub>H</sub>), домены V<sub>HH</sub> верблюдовых и полиспецифичные антитела, образованные из фрагментов антител.

[000123] Термин «scFv» относится к гибриднему белку, содержащему по меньшей мере один фрагмент антитела, содержащий вариательную область легкой цепи, и по меньшей мере один фрагмент антитела, содержащий вариательную область тяжелой цепи, причем вариательные области легкой цепи и тяжелой цепи непосредственно связаны с помощью короткого гибкого полипептидного мостика, и способны экспрессироваться в виде одной полипептидной цепи, и при этом scFv сохраняет специфичность интактного антитела, из которого получен этот фрагмент.

[000124] Термин «вариательная область тяжелой цепи» или «V<sub>H</sub>» применительно к антителу относится к фрагменту тяжелой цепи, которая содержит три CDR, расположенные между фланкирующими участками, известными как каркасные участки, причем указанные каркасные участки, как правило, более высококонсервативны, чем CDR, и образуют каркас для поддержки CDR.

[000125] Если не указано иное, в настоящей заявке scFv может содержать вариательные области V<sub>L</sub> и V<sub>H</sub> в любом порядке, например, по отношению к N-концу и C-концу полипептида, scFv может содержать V<sub>L</sub>-линкер-V<sub>H</sub> или может содержать V<sub>H</sub>-линкер-V<sub>L</sub>.

[000126] Часть композиции TFP согласно настоящему изобретению, содержащая антитело или фрагмент антитела, может существовать в различных формах, в которых антигенсвязывающий домен экспрессируется как часть непрерывной полипептидной цепи, содержащей, например, фрагмент однодоменного антитела (sdAb), одноцепочечное



антитело (scFv), полученное из мышинового антитела, гуманизированного антитела или антитела человека (Harlow et al., 1999, In: Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y.; Harlow et al., 1989, в: Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, N.Y.; Houston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; Bird et al., 1988, Science 242:423-426). Согласно одному аспекту антигенсвязывающий домен композиции TFP согласно настоящему изобретению содержит фрагмент антитела. В дополнительном аспекте TFP содержит фрагмент антитела, который содержит scFv или sdAb.

[000127] Термин «тяжелая цепь антитела» относится к большей из двух типов полипептидных цепей, присутствующих в молекулах антител в природных конформациях, и обычно определяет класс, к которому принадлежит антитело.

[000128] Термин «легкая цепь антитела» относится к меньшей из двух типов полипептидных цепей, присутствующих в молекулах антител в природных конформациях. Каппа («к») и лямбда («λ») легкие цепи относятся к двум основным изотипам легкой цепи антитела.

[000129] Термин «рекомбинантное антитело» означает антитело, которое получено с использованием технологии рекомбинантной ДНК, такое как, например, антитело, которое экспрессируется системой экспрессии в бактериофагах или дрожжах. Термин также означает антитело, которое было получено путем синтеза молекулы ДНК, кодирующей антитело и обеспечивающей экспрессию указанного антитела, или аминокислотной последовательности, определяющей антитело, причем последовательность ДНК или аминокислотная последовательность была получена с использованием технологии рекомбинантной ДНК или аминокислотной последовательности, которая доступна и хорошо известна в данной области техники.

[000130] Термин «антиген» или «Ag» относится к молекуле, которая способна специфично связываться с антителом или иным образом провоцировать иммунный ответ. Иммунный ответ может включать выработку антител или активацию специфических иммунологически компетентных клеток, или и то, и другое.

[000131] Специалист в данной области техники поймет, что любая макромолекула, включая практически все белки или пептиды, может служить в качестве антигена. Кроме того, антигены могут быть получены из рекомбинантной или геномной ДНК. Специалист в данной области техники поймет, что любая ДНК, которая содержит нуклеотидную последовательность или частичную нуклеотидную последовательность, кодирующую белок, который вызывает иммунный ответ, следовательно, кодирует «антиген», в соответствии с использованием данного термина в настоящем документе. Кроме того,

специалист в данной области техники поймет, что антиген не должен кодироваться исключительно полноразмерной нуклеотидной последовательностью гена. Очевидно, что настоящее изобретение включает, но не ограничивается ими, применение частичных нуклеотидных последовательностей более чем одного гена, и что подходящие нуклеотидные последовательности сгруппированы в различные комбинации, чтобы кодировать полипептиды, которые вызывают желаемую иммунную реакцию. Кроме того, специалист в данной области техники поймет, что антиген не должен кодироваться «геном» вообще. Очевидно, что антиген может быть синтезирован или может быть получен из биологического образца, или может представлять собой макромолекулу, помимо полипептида. Подходящий биологический образец может включать, но не ограничивается ими, образец ткани, образец опухоли, клетку или жидкость с другими биологическими компонентами.

[000132] Термин «противоопухолевое действие» относится к биологическому эффекту, который может проявляться различными способами, включая, но не ограничиваясь ими, например, уменьшение объема опухоли, уменьшение количества опухолевых клеток, уменьшение числа метастазов, увеличение продолжительности жизни, уменьшение пролиферации опухолевых клеток, уменьшение выживаемости опухолевых клеток или улучшение различных физиологических симптомов, связанных с раковым состоянием. «Противоопухолевое действие» также может проявляться в виде способности пептидов, полинуклеотидов, клеток и антител согласно настоящему изобретению в первую очередь предотвращать возникновение опухоли.

[000133] Термин «аутологичный» относится к любому материалу, полученному от одного и того же индивидуума, которому он будет повторно введен позже.

[000134] Термин «аллогенный» относится к любому материалу, полученному из разных животных одного и того же вида или от пациента, который не является индивидуумом, которому вводят материал. Двое или более индивидуумов являются аллогенным по отношению друг к другу, когда гены в одном или более локусов не являются идентичными. В некоторых аспектах аллогенный материал от индивидуумов одного и того же вида может отличаться в достаточной степени генетически, чтобы вызвать антигенное взаимодействие.

[000135] Термин «ксеногенный» относится к трансплантату, полученному от животного другого вида.

[000136] Термин «рак» относится к заболеванию, которое характеризуется быстрым и неконтролируемым размножением аберрантных клеток. Раковые клетки могут распространяться локально или через кровоток и лимфатическую систему к другим

частям тела. Примеры различных видов рака описаны в настоящем документе и включают, но не ограничиваются ими, рак молочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, рак шейки матки, рак кожи, рак поджелудочной железы, колоректальный рак, рак почек, рак печени, рак мозга, лимфому, лейкоз, рак легких и т.п.

[000137] Выражение «заболевание, связанное с экспрессией CD19» и «заболевание, связанное с экспрессией ВСМА» включает, но не ограничивается ими, заболевание, связанное с экспрессией CD19 или ВСМА, или состояние, связанное с клетками, которые экспрессируют CD19 или ВСМА, включая, например, пролиферативные заболевания, такие как рак или злокачественная опухоль, или предраковое состояние, такое как миелодисплазия, миелодиспластический синдром или прелейкоз; или показание, не относящееся к раку, связанное с клетками, которые экспрессируют CD19 или ВСМА. Согласно одному аспекту рак, связанный с экспрессией CD19 или ВСМА, представляет собой гематологический рак. Согласно одному аспекту гематологический рак представляет собой лейкоз или лимфому. Согласно одному аспекту рак, связанный с экспрессией CD19 или ВСМА, включает различные виды рака и злокачественные опухоли, включая, но не ограничиваясь ими, например, один или более видов острого лейкоза, включая, но не ограничиваясь ими, например, острый В-клеточный лимфобластный лейкоз, острый Т-клеточный лимфобластный лейкоз («Т-ALL»); один или более видов хронического лейкоза, включая, но не ограничиваясь ими, CLL или хронический миелобластный лейкоз (СМЛ). Другие гематологические раковые заболевания или гематологические состояния, связанные с экспрессией CD19, включают, но не ограничиваются ими, например, пролимфоцитарный В-клеточный лейкоз, новообразование бластных плазмацитоидных дендритных клеток, лимфому Беркитта, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому, фолликулярную лимфому, лейкоз ворсистых клеток, мелкоклеточную или крупноклеточную фолликулярную лимфому, злокачественные лимфопролиферативные состояния, лимфому MALT-типа, лимфому из клеток мантийной зоны, лимфому из клеток маргинальной зоны, множественную миелому, миелодисплазию, миелодиспластический синдром, неходжкинскую лимфому, плазмобластическую лимфому, новообразование плазмацитоидных дендритных клеток, макроглобулинемию Вальденстрема и «прелейкоз», которые представляют собой разнородную совокупность гематологических состояний, общим признаком которых является неэффективная выработка (или дисплазия) миелоидных клеток крови, и т.п. Другие заболевания, связанные с экспрессией CD19 или ВСМА, включают, но не ограничиваются ими, атипичные и/или неклассические виды рака, злокачественные опухоли, предраковые состояния или пролиферативные заболевания, связанные с

экспрессией CD19 или ВСМА. Показания, не относящие к раку, связанные с экспрессией CD19 или ВСМА, включают, но не ограничиваются ими, аутоиммунное заболевание (например, волчанку, ревматоидный артрит, колит), воспалительные расстройства (аллергию и астму) и трансплантацию.

[000138] Термин «консервативные модификации последовательности» относится к модификациям аминокислот, которые не оказывают существенного влияния или не изменяют характеристики связывания антитела или фрагмента антитела, содержащего аминокислотную последовательность. Подходящие консервативные модификации включают замены, добавления и делеции аминокислот. Модификации могут быть введены в антитело или фрагмент антитела согласно настоящему изобретению с помощью стандартных способов, известных в данной области техники, таких как сайт-направленный мутагенез и ПЦР-опосредованный мутагенез. Консервативные замены аминокислот включают те, в которых остаток аминокислоты заменен остатком аминокислоты, имеющим сходную боковую цепь. Семейства остатков аминокислот, имеющих сходные боковые цепи, были определены в данной области техники. Эти семейства включают аминокислоты с основными боковыми цепями (например, лизин, аргинин, гистидин), кислотными боковыми цепями (например, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту), незаряженными полярными боковыми цепями (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин, триптофан), неполярными боковыми цепями (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин), бета-разветвленными боковыми цепями (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматическими боковыми цепями (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин). Следовательно, один или более остатков аминокислот в TFR согласно настоящему изобретению могут быть заменены другими остатками аминокислот из семейства, имеющего сходные боковые цепи, и измененный TFR может быть исследован с помощью функциональных количественных исследований, описанных в настоящем документе.

[000139] Термин «стимуляция» относится к первичной реакции, индуцируемой путем связывания стимулирующего домена или стимулирующей молекулы (например, комплекса TCR/CD3) с его когнатным лигандом, что приводит к передаче сигнала, включая, но не ограничиваясь этим, передачу сигнала с участием комплекса TCR/CD3. Стимуляция может опосредовать измененную экспрессию определенных молекул и/или реорганизацию структур цитоскелета и т.п.

[000140] Термин «стимулирующая молекула» или «стимулирующий домен» относится к молекуле или ее части, экспрессируемой T-клеткой, которая обеспечивает

первичную цитоплазматическую сигнальную последовательность(и), которая регулирует первичную активацию комплекса TCR, тем самым стимулируя его, по меньшей мере в отношении некоторых аспектов пути передачи сигналов с участием Т-клеток. Согласно одному аспекту первичный сигнал инициируется, например, при связывании комплекса TCR/CD3 с молекулой ГКГС, нагруженной пептидом, что ведет к индукции Т-клеточного ответа, включая, но не ограничиваясь ими, пролиферацию, активацию, дифференцировку и т.п. Первичная цитоплазматическая сигнальная последовательность (также называемая «первичный сигнальный домен»), которая действует стимулирующим образом, может содержать сигнальный мотив пути, который известен как иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив «ITAM». Примеры ITAM, содержащего первичную цитоплазматическую сигнальную последовательность, которую можно применять в настоящем изобретении, включают, но не ограничиваются ими, ITAM, полученные из TCR-дзета, FcR-гамма, FcR-бета, CD3-гамма, CD3-дельта, CD3-эпсилон, CD5, CD22, CD79a, CD79B, CD278 (также известного как «ICOS») и CD66d.

[000141] Термин «антигенпредставляющая клетка» или «АПК» относится к клетке иммунной системы, такой как вспомогательная клетка (например, В-клетка, дендритная клетка и т.п.), которая представляет чужеродный антиген в комплексе с молекулами основного комплекса гистосовместимости (ГКГС) на ее поверхности. Т-клетки могут распознавать эти комплексы с использованием своих Т-клеточных рецепторов (TCR). АПК обрабатывают антигены и представляют их Т-клеткам.

[000142] В настоящей заявке термин «внутриклеточный сигнальный домен» относится к внутриклеточной части молекулы. Внутриклеточный сигнальный домен создает сигнал, который стимулирует иммунную эффекторную функцию клетки, содержащей TFP, например, TFP-экспрессирующей Т-клетки. Примеры иммунной эффекторной функции, например, в TFP-экспрессирующей Т-клетке, включают цитолитическую активность и активность Т-хелперов, включая секрецию цитокинов. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения внутриклеточный сигнальный домен может содержать первичный внутриклеточный сигнальный домен. Типичные первичные внутриклеточные сигнальные домены включают те, которые получены из молекул, ответственных за первичную стимуляцию, или антигензависимую стимуляцию. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения внутриклеточный сигнальный домен может содержать костимулирующий внутриклеточный домен. Типичные костимулирующие внутриклеточные сигнальные домены включают те, которые получены из молекул, ответственных за костимулирующие сигналы, или антигеннезависимую стимуляцию.

[000143] Первичный внутриклеточный сигнальный домен может содержать ITAM («иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив»). Примеры ITAM, содержащих первичные цитоплазматические сигнальные последовательности, включают, но не ограничиваются ими, ITAM, полученные из CD3-дзета, FcR-гамма, FcR-бета, CD3-гамма, CD3-дельта, CD3-эпсилон, CD5, CD22, CD79a, CD79B и CD66d DAP10 и DAP12.

[000144] Термин «костимулирующая молекула» относится к когнатному партнеру по связыванию на Т-клетке, который специфично связывается с костимулирующим лигандом, инициируя тем самым костимулирующий ответ со стороны Т-клеток, такой как, но не ограничиваясь им, пролиферация. Костимулирующие молекулы представляют собой молекулы клеточной поверхности, отличные от рецепторов антигена или их лигандов, которые необходимы для эффективного иммунного ответа. Костимулирующие молекулы включают, но не ограничиваются ими, молекулы ГКГС класса 1, BTLA и лиганд Toll-рецептора, а также OX40, CD2, CD27, CD28, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18) и 4-1BB (CD137). Костимулирующий внутриклеточный сигнальный домен может представлять собой внутриклеточную часть костимулирующей молекулы. Костимулирующая молекула может быть представлена в следующих семействах белков: белки рецептора ФНО, иммуноглобулин-подобные белки, рецепторы цитокинов, интегрины, сигнальные активирующие лимфоциты молекулы (белки SLAM) и активирующие рецепторы NK-клеток. Примеры подходящих молекул включают CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, GITR, CD30, CD40, ICOS, BAFFR, HVEM, ассоциированный с функцией лимфоцитов антиген-1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3 и лиганд, который специфично связывается с CD83, и т.п. Внутриклеточный сигнальный домен может содержать всю внутриклеточную часть или весь нативный внутриклеточный сигнальный домен молекулы, из которой он получен, или его функциональный фрагмент. Термин «4-1BB» относится к члену надсемейства рецепторов факторов некроза опухолей с аминокислотной последовательностью, представленной в GenBank под номером доступа AAA62478.2, или эквивалентными остатками из вида, отличного от человека, например, мыши, грызуна, обезьяны, человекообразной обезьяны и т.п.; и «костимулирующий домен 4-1BB» определяют как аминокислотные остатки 214-255 из последовательности, представленной в GenBank под номером доступа AAA62478.2, или эквивалентные остатки из вида, отличного от человека, например, мыши, грызуна, обезьяны, человекообразной обезьяны и т.п.

[000145] Термин «кодирующий» относится к природному свойству специфических последовательностей нуклеотидов в полинуклеотиде, таком как ген, кДНК или иРНК, служить в биологических процессах в качестве матриц для синтеза других полимеров и

макромолекул, имеющих определенную последовательность нуклеотидов (например, рРНК, тРНК и иРНК) или определенную последовательность аминокислот и биологические свойства, обусловленные указанной аминокислотной последовательностью. Следовательно, ген, кДНК, или РНК, кодирует белок, если транскрипция и трансляция иРНК, соответствующей этому гену, приводит к выработке белка в клетке или другой биологической системе. Кодирующая цепь, нуклеотидная последовательность которой идентична последовательности иРНК и, как правило, представлена в перечне последовательностей, и не кодирующая цепь, использованная в качестве матрицы для транскрипции гена или кДНК, могут быть отнесены к кодирующим белок или другой продукт указанного гена или кДНК.

[000146] Если не указано иное, то «нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность», включает все нуклеотидные последовательности, которые являются вырожденными вариантами друг друга и которые кодируют одну и ту же аминокислотную последовательность. Выражение «нуклеотидная последовательность, которая кодирует белок или РНК» также может включать интроны в тех случаях, когда нуклеотидная последовательность, кодирующая белок, в некоторых вариантах, содержит один или более интронов.

[000147] Термины «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество» используются в настоящем документе взаимозаменяемо и относятся к количеству соединения, состава, материала или композиции, описанному в настоящем документе, которое является эффективным для достижения конкретного биологического или терапевтического результата.

[000148] Термин «эндогенный» относится к любому материалу, который получен из организма, клетки, ткани или системы или произведен внутри них.

[000149] Термин «экзогенный» относится к любому материалу, поступившему из организма, клетки, ткани или системы или произведенному вне них.

[000150] Термин «экспрессия» относится к транскрипции и/или трансляции конкретной нуклеотидной последовательности, управляемой промотором.

[000151] Термин «вектор для переноса» относится к композиции соединений, которая содержит выделенную нуклеиновую кислоту и которую можно применять для доставки выделенной нуклеиновой кислоты во внутреннее содержимое клетки. Многочисленные векторы известны в данной области техники, включая, но не ограничиваясь ими, линейные полинуклеотиды, полинуклеотиды, связанные с ионными или амфифильными соединениями, плазмиды и вирусы. Следовательно, термин «вектор для переноса» включает автономно реплицирующуюся плазмиду или вирус. Термин также

дополнительно включает неплазмидные и невирусные соединения, которые облегчают перенос нуклеиновой кислоты в клетки, такие как, например, полилизин, липосома и т.п. Примеры вирусных векторов для переноса включают, но не ограничиваются ими, аденовирусные векторы, векторы на основе аденоассоциированных вирусов, ретровирусные векторы, лентивирусные векторы и т.п.

[000152] Термин «вектор экспрессии» относится к вектору, содержащему рекомбинантный полинуклеотид, содержащий последовательности, контролирующую экспрессию, функционально связанные с нуклеотидной последовательностью, которую экспрессируют. Вектор экспрессии содержит достаточное количество *cis*-действующих элементов для экспрессии; другие элементы для экспрессии могут обеспечиваться клеткой-хозяином или в системе экспрессии в условиях *in vitro*. Векторы экспрессии включают все векторы, которые известны в данной области техники, в том числе космиды, плазмиды (например, лишенные оболочки или содержащиеся в липосомах) и вирусы (например, лентивирусы, ретровирусы, аденовирусы и аденоассоциированные вирусы), которые включают рекомбинантный полинуклеотид.

[000153] Термин «лентивирус» относится к роду семейства *Retroviridae*. Лентивирусы являются уникальными среди ретровирусов, поскольку они способны инфицировать не делящиеся клетки; они могут доставить значительное количество генетической информации в ДНК клетки-хозяина, поэтому они являются одними из наиболее эффективных векторов для доставки генов. ВИЧ, SIV и FIV являются примерами лентивирусов.

[000154] Термин «лентивирусный вектор» относится к вектору, полученному из по меньшей мере части генома лентивируса, в частности, включая самоинактивирующийся лентивирусный вектор, описанный в Milone et al., *Mol. Ther.* 17(8): 1453-1464 (2009). Другие примеры лентивирусных векторов, которые могут быть использованы в клинических условиях, включают, но не ограничиваются ими, например, технологию доставки генов LENTIVECTOR™ от Oxford BioMedica, векторную систему LENTIMAX™ от Lentigen, и т.п. Неклинические типы лентивирусных векторов также доступны и должны быть известны специалистам в данной области техники.

[000155] Термин «гомологичный» или «идентичность» относится к идентичности последовательностей субъединиц между двумя полимерными молекулами, например, между двумя молекулами нуклеиновых кислот, такими как две молекулы ДНК или две молекулы РНК, или между двумя молекулами полипептидов. В случае если положение субъединицы в обеих молекулах занято аналогичной мономерной субъединицей, например, если положение в каждой из двух молекул ДНК занято аденином, то они



являются гомологичными или идентичными в этом положении. Гомология между двумя последовательностями является прямой функцией числа совпадающих или гомологичных положений; например, если половина (например, пять положений в полимере, который содержит десять субъединиц в длину) положений в двух последовательностях являются гомологичными, то две последовательности на 50% гомологичны; если 90% положений (например, 9 из 10) совпадают или гомологичны, то две последовательности на 90% гомологичны.

[000156] «Гуманизированные» формы антител из вида, отличного от человека (например, мыши), представляют собой химерные иммуноглобулины, цепи иммуноглобулинов или их фрагменты (такие как Fv, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> или другие антигенсвязывающие подпоследовательности антител), которые содержат минимальную последовательность, полученную из иммуноглобулина вида, отличного от человека. По большей части, гуманизированные антитела и фрагменты таких антител представляют собой иммуноглобулины человека (реципиентное антитело или фрагмент антитела), в которых остатки из гипервариабельного участка (CDR) реципиента заменены остатками из CDR вида, отличного от человека (донорное антитело), такого как мышь, крыса или кролик, имеющим требуемую специфичность, аффинность и активность. В некоторых случаях остатки каркасного участка Fv (FR) иммуноглобулина человека заменены соответствующими остатками из вида, отличного от человека. Кроме того, гуманизированное антитело/фрагмент антитела может содержать остатки, которые не обнаруживаются ни в антителе-реципиенте, ни в импортируемых CDR или каркасных последовательностях. Эти модификации могут дополнительно улучшить и оптимизировать функциональность антитела или фрагмента. В целом, гуманизированное антитело или фрагмент указанного антитела будет содержать по существу все из по меньшей мере одного, обычно двух вариабельных доменов, в которых все или по существу все из областей CDR соответствуют таковым иммуноглобулина из вида, отличного от человека, и все или значительная часть FR представляют собой участки из последовательности иммуноглобулина человека. Гуманизированное антитело или фрагмент указанного антитела также может содержать по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина (Fc), обычно иммуноглобулина человека. Jones et al., *Nature*, 321: 522-525, 1986; Reichmann et al., *Nature*, 332: 323-329, 1988; Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 2: 593-596, 1992.

[000157] Термин «человеческий» или «полностью человеческий» относится к иммуноглобулину, такому как антитело или фрагмент антитела, когда вся молекула

получена от человека или состоит из аминокислотной последовательности, идентичной антителу или иммуноглобулину человека.

[000158] Термин «выделенный» означает измененный или удаленный из природного состояния. Например, нуклеиновая кислота или пептид, которые обнаруживаются у живого животного в природных условиях, не являются «выделенными», однако аналогичная нуклеиновая кислота или пептид, частично или полностью отделенные от сопутствующих материалов в его природном состоянии, являются «выделенными». Выделенная нуклеиновая кислота или белок может существовать в по существу очищенной форме или может существовать в неприродной среде, такой как, например, клетка-хозяин.

[000159] Применительно к настоящему изобретению для часто встречающихся оснований нуклеиновых кислот используются следующие сокращения. «А» относится к аденозину, «С» относится к цитозину, «G» относится к гуанозину, «Т» относится к тимидину и «U» относится к уридину.

[000160] Термин «функционально связанный» или «транскрипционный контроль» относится к функциональной связи между регуляторной последовательностью и гетерологичной последовательностью нуклеиновой кислоты, что приводит к экспрессии последней. Например, первая последовательность нуклеиновой кислоты функционально связана со второй последовательностью нуклеиновой кислоты, когда первая последовательность нуклеиновой кислоты находится в функциональной связи со второй последовательностью нуклеиновой кислоты. Например, промотор функционально связан с кодирующей последовательностью, если промотор воздействует на транскрипцию или экспрессию кодирующей последовательности. Функционально связанные последовательности ДНК могут быть смежными друг с другом и, например, если необходимо соединить две области, кодирующие белки, находятся в одной и той же рамке считывания.

[000161] Термин «парентеральное» введение иммуногенной композиции включает, например, подкожную (п/к), внутривенную (в/в), внутримышечную (в/м) или интратермальную инъекцию, внутриопухолевое введение или методики инфузий.

[000162] Термин «нуклеиновая кислота» или «полинуклеотид» относится к дезоксирибонуклеиновым кислотам (ДНК) или рибонуклеиновым кислотам (РНК) и их полимерам в одно- или двухцепочечной форме. Если конкретно не ограничено, термин охватывает нуклеиновые кислоты, содержащие известные аналоги природных нуклеотидов, которые имеют аналогичные связывающие свойства, как и эталонная нуклеиновая кислота, и которые метаболизируются аналогично природным нуклеотидам.

Если не указано иное, то конкретная последовательность нуклеиновой кислоты также неявно включает консервативно модифицированные варианты (например, замены вырожденных кодонов), аллели, ортологи, SNP и комплементарные последовательности, а также последовательность, указанную в явном виде. В частности, замены вырожденных кодонов могут быть достигнуты путем создания последовательностей, в которых третье положение одного или более из выбранных (или всех) кодонов заменено неоднозначными основаниями и/или дезоксиинозиновыми остатками (Batzer et al., *Nucleic Acid Res.* 19:5081 (1991); Ohtsuka et al., *J. Biol. Chem.* 260:2605-2608 (1985); и Rossolini et al., *Mol. Cell. Probes* 8:91-98 (1994)).

[000163] Термины «пептид» «полипептид» и «белок» используются взаимозаменяемо и относятся к соединению, состоящему из остатков аминокислот, ковалентно соединенных пептидными связями. Белок или пептид должен содержать по меньшей мере две аминокислоты, при этом максимальное количество аминокислот, которые может содержать последовательность белка или пептида, не ограничено. Полипептиды включают любой пептид или белок, содержащий две или более аминокислот, соединенных друг с другом пептидными связями. В настоящей заявке термин относится к коротким цепям, которые также обычно называются в данной области техники пептидами, олигопептидами и олигомерами, например, и к более длинным цепям, которые обычно называются в данной области техники белками, которых существует много типов. «Полипептиды» содержат, например, биологически активные фрагменты, по существу гомологичные полипептиды, олигопептиды, гомодимеры, гетеродимеры, варианты полипептидов, модифицированные полипептиды, производные, аналоги, гибридные белки, помимо всего прочего. Полипептид включает природный пептид, рекомбинантный пептид или их комбинацию.

[000164] Термин «промотор» относится к последовательности ДНК, которая распознается аппаратом транскрипции клетки или введенным синтетическим молекулярным аппаратом, и необходима для инициирования специфичной транскрипции полинуклеотидной последовательности.

[000165] Термин «промотор/регуляторная последовательность» относится к последовательности нуклеиновой кислоты, которая необходима для экспрессии продукта гена, функционально связанного с промоторной/регуляторной последовательностью. В некоторых случаях указанная последовательность может быть основной промоторной последовательностью, при этом в других случаях указанная последовательность также может включать последовательность энхансера и другие регуляторные элементы, которые необходимы для экспрессии продукта гена. Промотор/регуляторная последовательность

может, например, представлять собой последовательность, которая экспрессирует продукт гена в ткани специфичным образом.

[000166] Термин «конститутивный» промотор относится к нуклеотидной последовательности, которая, при наличии функциональной связи с полинуклеотидом, который кодирует или определяет продукт гена, вызывает выработку генного продукта в клетке в большинстве или во всех физиологических условиях клетки.

[000167] Термин «индуцируемый» промотор относится к нуклеотидной последовательности, которая, при наличии функциональной связи с полинуклеотидом, который кодирует или определяет продукт гена, вызывает выработку генного продукта в клетке по существу только если в клетке присутствует индуктор, который соответствует промотору.

[000168] Термин «тканеспецифичный» промотор относится к нуклеотидной последовательности, которая, при наличии функциональной связи с полинуклеотидом, который кодирует или определяет продукт гена, вызывает выработку генного продукта в клетке по существу только если клетка представляет собой клетку из типа ткани, соответствующей промотору.

[000169] Термины «линкер» и «гибкий полипептидный линкер», применительно к scFv, относятся к пептидному линкеру, который состоит из аминокислот, таких как остатки глицина и/или серина, используемых по отдельности или в комбинации, предназначенному для соединения переменных областей тяжелой и легкой цепей. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения гибкий полипептидный линкер представляет собой линкер Gly/Ser и содержит аминокислотную последовательность (Gly-Gly-Gly-Ser)<sub>n</sub>, где n представляет собой положительное целое число равное или больше 1. Например, n=1, n=2, n=3, n=4, n=5, n=6, n=7, n=8, n=9 и n=10. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения гибкие полипептидные линкеры включают, но не ограничиваются ими, (Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>4</sub> или (Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>3</sub>. Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения линкеры содержат множественные повторы (Gly<sub>2</sub>Ser), (GlySer) или (Gly<sub>3</sub>Ser). Линкеры, описанные в WO2012/138475 (включен в настоящий документ посредством ссылки), также включены в объем настоящего изобретения. В некоторых случаях линкерная последовательность содержит длинную линкерную последовательность (LL). В некоторых случаях длинная линкерная последовательность содержит (G<sub>4</sub>S)<sub>n</sub>, где n=2-4. В некоторых случаях линкерная последовательность содержит короткую линкерную последовательность (SL). В некоторых случаях короткая линкерная последовательность содержит (G<sub>4</sub>S)<sub>n</sub>, где n=1-3.

[000170] В настоящей заявке 5'-кэп (также называемый РНК-кэп, РНК-7-метилгуанозиновый кэп или РНК-m7G-кэп) представляет собой модифицированный гуаниновый нуклеотид, который был добавлен к «началу» или на 5'-конце эукариотической матричной РНК вскоре после старта транскрипции. 5'-кэп состоит из терминальной группы, которая соединена с первым транскрибируемым нуклеотидом. Его присутствие является очень важным для распознавания рибосомой и защиты от РНКазы. Добавление кэпа связано с транскрипцией и происходит котранскрипционно так, что каждый процесс влияет на другой. Вскоре после начала транскрипции 5'-конец синтезируемой иРНК связывается с кэп-синтезирующим комплексом, связанным с РНК-полимеразой. Этот ферментный комплекс катализирует химические реакции, которые необходимы для кэппирования иРНК. Синтез протекает как многостадийная биохимическая реакция. Кэппирующий фрагмент может быть модифицирован, чтобы модулировать функциональность иРНК, например, стабильность или эффективность трансляции.

[000171] В настоящей заявке «транскрибируемая в условиях *in vitro* РНК» относится к РНК, предпочтительно иРНК, которая была синтезирована в условиях *in vitro*. Как правило, транскрибируемая в условиях *in vitro* РНК получена из транскрибируемого в условиях *in vitro* вектора. Транскрибируемый в условиях *in vitro* вектор содержит матрицу, используемую для получения транскрибируемой в условиях *in vitro* РНК.

[000172] В настоящей заявке «поли(А)» представляет собой несколько остатков аденозина, прикрепленных с помощью полиаденилирования к иРНК. В предпочтительном варианте реализации конструкции для кратковременной экспрессии последовательность полиА содержит от 50 до 5000, предпочтительно более 64, более предпочтительно более 100, наиболее предпочтительно более 300 или 400 оснований. Последовательности поли(А) могут быть модифицированы химическим или ферментативным путем, чтобы модулировать функциональные возможности иРНК, такие как локализация, стабильность и эффективность трансляции.

[000173] В настоящей заявке «полиаденилирование» относится к ковалентному связыванию полиаденильного фрагмента или его модифицированного варианта с молекулой иРНК. У эукариотических организмов большинство молекул информационной РНК (иРНК) полиаденилированы на 3'-конце. 3'-поли(А) хвост представляет собой длинную последовательность адениновых нуклеотидов (часто несколько сотен), добавленных к пре-иРНК под действием фермента полиаденилатполимеразы. У высших эукариот поли(А) хвост добавляется на транскрипты, которые содержат специфичную последовательность, сигнал полиаденилирования. Последовательность поли(А) и

связанный с ней белок помогают защищать иРНК от разрушения экзонуклеазами. Полиаденилирование также имеет большое значение для терминации транскрипции, экспорта иРНК из ядра и трансляции. Полиаденилирование происходит в ядре сразу после транскрипции ДНК в РНК, но дополнительно также может происходить позже в цитоплазме. После прекращения транскрипции цепь иРНК расщепляется под действием эндонуклеазного комплекса, связанного с РНК-полимеразой. Сайт расщепления обычно характеризуется наличием последовательности оснований AAUAAA вблизи сайта расщепления. После расщепления иРНК происходит добавление аденозиновых остатков к свободному 3'-концу в сайте расщепления.

[000174] В настоящей заявке термин «кратковременный» относится к экспрессии неинтегрированного трансгена в течение часов, дней или недель, причем период времени, необходимый для экспрессии, меньше, чем период времени для экспрессии гена, интегрированного в геном или содержащегося в стабильном плазмидном репликоне в клетке-хозяине.

[000175] Термин «путь передачи сигнала» относится к биохимической взаимосвязи между различными сигнальными молекулами, которые участвуют в передаче сигнала от одной части клетки к другой части клетки. Выражение «рецептор клеточной поверхности» включает молекулу и комплексы молекул, способных принимать сигнал и передавать сигнал через мембрану клетки.

[000176] Термин «субъект» включает живые организмы, у которых может быть вызвана иммунная реакция (например, млекопитающих, человека).

[000177] Термин «по существу очищенная» клетка относится к клетке, которая по существу не содержит других типов клеток. По существу очищенная клетка также относится к клетке, которая была отделена от других типов клеток, с которыми она обычно связана в природном состоянии. В некоторых случаях популяция по существу очищенных клеток относится к гомогенной популяции клеток. В других случаях этот термин относится только к клеткам, которые были отделены от клеток, с которыми они связаны в природном состоянии. В некоторых аспектах клетки культивируют в условиях *in vitro*. В других аспектах клетки не культивируют в условиях *in vitro*.

[000178] В настоящей заявке термин «терапевтический» означает лечение. Терапевтический эффект достигается путем уменьшения, подавления, ремиссии или эрадикации болезненного состояния.

[000179] В настоящей заявке термин «профилактика» означает профилактику или защитную обработку в отношении заболевания или болезненного состояния.

[000180] Применительно к настоящему изобретению термины «опухолевый антиген» или «антиген гиперпролиферативного расстройства» или «антиген, связанный с гиперпролиферативным расстройством» относятся к антигенам, которые являются общими для конкретных гиперпролиферативных расстройств. Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения антигены гиперпролиферативного расстройства согласно настоящему изобретению имеют раковое происхождение, включая, но не ограничиваясь ими, первичную или метастатическую меланому, тимому, лимфому, саркому, рак легких, рак печени, НХЛ, лейкозы, рак матки, рак шейки матки, рак мочевого пузыря, рак почек и аденокарциномы, такие как рак молочной железы, рак предстательной железы, рак яичников, рак поджелудочной железы и т.п.

[000181] Термин «трансфецированный» или «трансформированный» или «трансдуцированный» относится к процессу, с помощью которого экзогенную нуклеиновую кислоту переносят или вводят в клетку-хозяина. «Трансфецированная» или «трансформированная» или «трансдуцированная» клетка представляет собой клетку, которая была трансфецирована, трансформирована или трансдуцирована экзогенной нуклеиновой кислотой. Клетка включает первичную клетку субъекта и ее потомство.

[000182] Термин «специфично связывается» означает антитело, фрагмент антитела или специфичный лиганд, который распознает и связывается с когнатным партнером по связыванию (например, CD19), присутствующим в образце, но который по существу и в значительной степени не распознает или не связывает другие молекулы в образце.

[000183] Диапазоны: в настоящем документе различные аспекты настоящего изобретения могут быть представлены в формате диапазона. Следует понимать, что описание в формате диапазона приведено исключительно для удобства и краткости и не должно быть истолковано как жесткое ограничение объема настоящего изобретения. Соответственно, описание диапазона следует рассматривать, как конкретно описывающее все возможные поддиапазоны, а также отдельные числовые значения в пределах данного диапазона. Например, описание диапазона, например, от 1 до 6, следует рассматривать как конкретно раскрытые поддиапазоны, такие как от 1 до 3, от 1 до 4, от 1 до 5, от 2 до 4, от 2 до 6, от 3 до 6 и т.д., а также отдельные цифровые значения в пределах данного диапазона, например, 1, 2, 2,7, 3, 4, 5, 5,3 и 6. В качестве другого примера, диапазон, например, 95-99% идентичность, включает любое значение из 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, и включает поддиапазоны, такие как 96-99%, 96-98%, 96-97%, 97-99%, 97-98% и 98-99% идентичность. Широта диапазона не является ограничивающим фактором.

## **ОПИСАНИЕ**

[000184] В настоящем изобретении предложены композиции соединений и способы применения для лечения заболевания, такого как рак, с использованием гибридных белков Т-клеточных рецепторов (TCR). В настоящей заявке «гибридный белок Т-клеточного рецептора (TCR)» или «TFP» содержит рекомбинантный полипептид, полученный из различных полипептидов, содержащих TCR, которые, как правило, способны i) связываться с поверхностным антигеном на клетках-мишенях, и ii) взаимодействовать с другими полипептидными компонентами интактного комплекса TCR, как правило, при совместном расположении внутри или на поверхности Т-клеток. TFP согласно настоящему изобретению обеспечивают значительные преимущества по сравнению с химерными антигенными рецепторами. Термин «химерный антигенный рецептор» или, в другом варианте, «CAR» относится к рекомбинантному полипептиду, содержащему внеклеточный антигенсвязывающий домен в форме scFv, трансмембранный домен и цитоплазматические сигнальные домены (также называемые в настоящем документе «внутриклеточные сигнальные домены»), содержащие функциональный сигнальный домен, полученный из стимулирующей молекулы, определенной ниже. Обычно центральный внутриклеточный сигнальный домен CAR получен из дзета-цепи CD3, которая обычно связана с комплексом TCR. Сигнальный домен CD3-дзета может быть гибридизован с одним или более функциональными сигнальными доменами, полученными из по меньшей мере одной костимулирующей молекулы, такой как 4-1BB (т.е., CD137), CD27 и/или CD28.

#### **Гибридные белки Т-клеточных рецепторов (TCR) (TFP)**

[000185] В область настоящего изобретения включены рекомбинантные конструкции ДНК, кодирующие TFP, причем указанный TFP содержит фрагмент антитела, который специфично связывается с CD19, например, CD19 человека, при этом последовательность фрагмента антитела является смежной и находится в пределах одной и той же рамки считывания, как и последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая субъединицу TCR или ее часть. В область настоящего изобретения включены рекомбинантные конструкции ДНК, кодирующие TFP, причем указанный TFP содержит фрагмент антитела, который специфично связывается с ВСМА, например, ВСМА человека, при этом последовательность фрагмента антитела является смежной и находится в пределах одной и той же рамки считывания, как и последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая субъединицу TCR или ее часть. TFP согласно настоящему изобретению могут связываться с одной или более эндогенных (или, в другом варианте, одной или более экзогенных, или комбинацией эндогенных и экзогенных субъединиц) субъединиц TCR для того чтобы сформировать функциональный комплекс TCR.



[000186] Согласно одному аспекту TFR согласно настоящему изобретению содержит специфичный в отношении мишени связывающий элемент, иначе называемый антигенсвязывающий домен. Выбор фрагмента зависит от типа и количества антигена-мишени, который характеризует поверхность клетки-мишени. Например, антигенсвязывающий домен может быть выбран так, чтобы распознавать антиген-мишень, который выступает в качестве маркера клеточной поверхности на клетках-мишенях, связанных с конкретным болезненным состоянием. Следовательно, примеры маркеров клеточной поверхности, которые могут выступать в качестве антигенов-мишеней для антигенсвязывающего домена в TFR согласно настоящему изобретению, включают те, которые связаны с вирусными, бактериальными и паразитарными инфекциями; аутоиммунными заболеваниями; и раковыми заболеваниями (например, злокачественными заболеваниями).

[000187] Согласно одному аспекту TFR-опосредованный T-клеточный ответ может быть направлен на антиген, представляющий интерес, путем модификации антигенсвязывающего домена в TFR, который специфично связывается с желаемым антигеном.

[000188] Согласно одному аспекту часть TFR, содержащая антигенсвязывающий домен, содержит антигенсвязывающий домен, который нацелен к CD19. В одном аспекте антигенсвязывающий домен нацелен к CD19 человека. Согласно одному аспекту часть TFR, содержащая антигенсвязывающий домен, содержит антигенсвязывающий домен, нацеленный к ВСМА. В одном аспекте антигенсвязывающий домен нацелен к ВСМА человека.

[000189] Антигенсвязывающий домен может представлять собой любой домен, который связывается с антигеном, включая, но не ограничиваясь ими, моноклональное антитело, поликлональное антитело, рекомбинантное антитело, антитело человека, гуманизированное антитело и их функциональный фрагмент, включая, но не ограничиваясь ими, однодоменное антитело, такое как переменный домен тяжелой цепи ( $V_H$ ), переменный домен легкой цепи ( $V_L$ ) и переменный домен ( $V_{HH}$ ) нанотела, полученного из верблюдовых, а также альтернативный каркас, известный в данной области техники, чтобы функционировать в качестве антигенсвязывающего домена, такой как рекомбинантный домен фибронектина, антикалин, белок DARPIN и т.п. Аналогичным образом, природный или синтетический лиганд, специфично распознающий и связывающий антиген-мишень, может быть использован в качестве антигенсвязывающего домена для TFR. В некоторых случаях получение антигенсвязывающего домена из того же вида, в котором в конечном итоге будет использован TFR, может обеспечить

преимущества. Например, антигенсвязывающий домен TFP, содержащий остатки антитела человека или остатки гуманизированного антитела, может обеспечить преимущества при применении у человека.

[000190] Следовательно, согласно одному аспекту антигенсвязывающий домен содержит гуманизированное антитело или антитело человека или фрагмент антитела, или антитело или фрагмент антитела мыши. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения гуманизированный или человеческий CD19- или ВСМА-связывающий домен содержит один или более (например, все три) из гипервариабельного участка легкой цепи 1 (LC CDR1), гипервариабельного участка легкой цепи 2 (LC CDR2) и гипервариабельного участка легкой цепи 3 (LC CDR3) гуманизированного или человеческого CD19- или ВСМА-связывающего домена, описанного в настоящем документе, и/или один или более (например, все три) из гипервариабельного участка тяжелой цепи 1 (HC CDR1), гипервариабельного участка тяжелой цепи 2 (HC CDR2) и гипервариабельного участка тяжелой цепи 3 (HC CDR3) гуманизированного или человеческого CD19-связывающего домена, описанного в настоящем документе, например, гуманизированный или человеческий CD19- или ВСМА-связывающий домен, содержащий один или более, например, все три, LC CDR, и один или более, например, все три, HC CDR. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения гуманизированный или человеческий CD19-связывающий домен содержит один или более (например, все три) из гипервариабельного участка тяжелой цепи 1 (HC CDR1), гипервариабельного участка тяжелой цепи 2 (HC CDR2) и гипервариабельного участка тяжелой цепи 3 (HC CDR3) гуманизированного или человеческого CD19- или ВСМА-связывающего домена, описанного в настоящем документе, например, гуманизированный или человеческий CD19- или ВСМА-связывающий домен содержит две переменные области тяжелой цепи, каждая из которых содержит HC CDR1, HC CDR2 и HC CDR3, описанные в настоящем документе. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения гуманизированный или человеческий CD19- или ВСМА-связывающий домен содержит переменную область легкой цепи гуманизированного антитела или антитела человека, описанную в настоящем документе, и/или переменную область тяжелой цепи гуманизированного антитела или антитела человека, описанную в настоящем документе. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения гуманизированный или человеческий CD19- или ВСМА-связывающий домен содержит гуманизированную переменную область тяжелой цепи, описанную в настоящем документе, например, по меньшей мере две гуманизированные переменные области тяжелой цепи или переменные области тяжелой цепи человека, описанные в настоящем документе.

Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения CD19- или ВСМА-связывающий домен представляет собой scFv, содержащий легкую цепь и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность согласно настоящему изобретению. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения CD19- или ВСМА-связывающий домен (например, scFv) содержит: переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, две или три модификации (например, замены), но не более 30, 20 или 10 модификаций (например, замен) аминокислотной последовательности переменной области легкой цепи согласно настоящему изобретению, или последовательность, которая на 95-99% идентична аминокислотной последовательности согласно настоящему изобретению; и/или переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, две или три модификации (например, замены), но не более 30, 20 или 10 модификаций (например, замен) в аминокислотной последовательности переменной области тяжелой цепи согласно настоящему изобретению, или последовательность, которая на 95-99% идентична аминокислотной последовательности согласно настоящему изобретению. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения гуманизированный или человеческий CD19- или ВСМА-связывающий домен представляет собой scFv, и переменная область легкой цепи, содержащая аминокислотную последовательность, описанную в настоящем документе, присоединена к переменной области тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность, описанную в настоящем документе, с помощью линкера, например, линкера, описанного в настоящем документе. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения гуманизированный CD19- или ВСМА-связывающий домен содержит линкер  $(Gly_4-Ser)_n$ , в котором n равно 1, 2, 3, 4, 5 или 6, предпочтительно 3 или 4. Переменная область легкой цепи и переменная область тяжелой цепи scFv может быть, например, в любой из следующих ориентаций: переменная область легкой цепи-линкер-переменная область тяжелой цепи или переменная область тяжелой цепи-линкер-переменная область легкой цепи. В некоторых случаях линкерная последовательность содержит длинную линкерную последовательность (LL). В некоторых случаях длинная линкерная последовательность содержит  $(G_4S)_n$ , где n=2-4. В некоторых случаях линкерная последовательность содержит короткую линкерную последовательность (SL). В некоторых случаях короткая линкерная последовательность содержит  $(G_4S)_n$ , где n=1-3.

[000191] Согласно некоторым аспектам антитело из вида, не относящегося к человеку, представляет собой гуманизованное антитело, в котором специфичные

последовательности или области антитела модифицированы, чтобы увеличить сходство с антителом, которое вырабатывается у человека в природных условиях, или его фрагментом. Согласно одному аспекту антигенсвязывающий домен является гуманизированным.

[000192] Гуманизированное антитело может быть получено с использованием различных способов, известных в данной области техники, включая, но не ограничиваясь ими, прививку CDR (см., например, европейский патент EP239400; международную публикацию WO 91/09967 и патенты США №№5225539, 5530101 и 5585089, каждый из которых полностью включен в настоящую заявку посредством ссылки), рекомбинацию поверхностных остатков или модификацию поверхности (см., например, европейский патент EP592106 и EP519596; Padlan, 1991, *Molecular Immunology*, 28(4/5):489-498; Studnicka et al., 1994, *Protein Engineering*, 7(6):805-814; и Roguska et al., 1994, *PNAS*, 91:969-973, каждый из которых полностью включен в настоящую заявку посредством ссылки), перестановку цепей (см., например, патент США №5565332, который полностью включен в настоящую заявку посредством ссылки), а также методики, описанные, например, в публикации заявки на патент US2005/0042664, публикации заявки на патент US2005/0048617, патенте США №6407213, патенте США №5766886, международной публикации WO 9317105, Tan et al., *J. Immunol.*, 169:1119-25 (2002), Caldas et al., *Protein Eng.*, 13(5):353-60 (2000), Morea et al., *Methods*, 20(3):267-79 (2000), Baca et al., *J. Biol. Chem.*, 272(16):10678-84 (1997), Roguska et al., *Protein Eng.*, 9(10):895-904 (1996), Couto et al., *Cancer Res.*, 55 (23 Supp):5973s-5977s (1995), Couto et al., *Cancer Res.*, 55(8):1717-22 (1995), Sandhu J S, *Gene*, 150(2):409-10 (1994), и Pedersen et al., *J. Mol. Biol.*, 235(3):959-73 (1994), которые все полностью включены в настоящую заявку посредством ссылки. Обычно каркасные остатки в каркасных участках будут заменены соответствующим остатком из CDR донорного антитела для изменения, например, улучшения, связывания антигена. Подходящие замены в каркасных участках определяют с помощью способов, хорошо известных в данной области техники, например, путем моделирования взаимодействий CDR и каркасных остатков для выявления каркасных остатков, важных для связывания антигена, и сравнения последовательностей для выявления нестандартных каркасных остатков в конкретных положениях (см., например, работу Queen et al., патент США №5585089; и Riechmann et al., 1988, *Nature*, 332:323, которая полностью включена в настоящую заявку посредством ссылки).

[000193] Гуманизированное антитело или фрагмент антитела содержит один или более остатков аминокислот, которые остаются в нем из источника, который не относится к человеку. Указанные аминокислотные остатки, не относящиеся к остаткам человека,

часто называют «импортными» остатками, которые обычно берут из «импортного» переменного домена. Согласно настоящему изобретению гуманизированные антитела или фрагменты антител содержат один или более CDR из молекул иммуноглобулина из вида, не относящегося к человеку, и каркасные участки, в которых аминокислотные остатки, составляющие каркас, получены полностью или в основном из зародышевой линии человека. Несколько методик гуманизации антител или фрагментов антител хорошо известны в данной области техники и по существу могут быть выполнены в соответствии со способом, описанным Winter et al (Jones et al., *Nature*, 321:522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature*, 332:323-327 (1988); Verhoeven et al., *Science*, 239:1534-1536 (1988)), путем замены CDR или последовательностей CDR грызунов соответствующими последовательностями антитела человека, т.е. путем прививки CDR (EP 239400; публикация PCT WO91/09967, и патенты США №№4816567; 6331415; 5225539; 5530101; 5585089; 6548640, содержание которых полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки). В указанных гуманизированных антителах и фрагментах антител последовательность по существу меньшего размера, чем интактный переменный домен человека, заменяли соответствующей последовательностью из вида, отличного от человека. Гуманизированные антитела часто являются антителами человека, в которых некоторые остатки CDR и необязательно некоторые остатки каркасных участков (FR) заменены остатками из аналогичных участков антител грызунов. Гуманизация антител и фрагментов антител также может быть достигнута путем рекомбинации поверхностных остатков или модификации поверхности (EP 592106; EP 519596; Padlan, 1991, *Molecular Immunology*, 28(4/5):489-498; Studnicka et al., *Protein Engineering*, 7(6):805-814 (1994); и Roguska et al., *PNAS*, 91:969-973 (1994)) или путем рекомбинации целых цепей (патент США №5565332), содержание которых полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки.

[000194] Выбор переменных доменов человека, как легких, так и тяжелых, для использования в получении гуманизированных антител проводят для снижения антигенности. В соответствии с так называемым способом «наилучшей подгонки» последовательность переменного домена антитела грызуна подвергают скринингу с использованием полной библиотеки известных последовательностей переменных доменов человека. Последовательность человека, которая максимально сходна с последовательностью грызуна, затем принимают в качестве каркасного участка человека (FR) для гуманизированного антитела (Sims et al., *J. Immunol.*, 151:2296 (1993); Chothia et al., *J. Mol. Biol.*, 196:901 (1987), содержание которых полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки). В другом способе используют конкретный каркас,

полученный из консенсусной последовательности всех антител человека конкретной подгруппы легких или тяжелых цепей. Аналогичный каркас может быть использован для нескольких различных гуманизованных антител (см., например, Nicholson et al. *Mol. Immun.* 34 (16-17): 1157-1165 (1997); Carter et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); Presta et al., *J. Immunol.*, 151:2623 (1993), содержание которых полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения каркасный участок, например, все четыре каркасных участка, вариабельной области тяжелой цепи получен из последовательности зародышевой линии V<sub>H</sub>4-4-59. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения каркасный участок может содержать одну, две, три, четыре или пять модификаций, например, замен, например, аминокислоты в соответствующей мышинной последовательности. Согласно одному варианту реализации каркасный участок, например, все четыре каркасных участка вариабельной области легкой цепи получены из последовательности зародышевой линии VK3-1.25. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения каркасный участок может содержать одну, две, три, четыре или пять модификаций, например, замен, например, аминокислоты в соответствующей мышинной последовательности.

[000195] Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения часть композиции TFR согласно настоящему изобретению, которая содержит фрагмент антитела, является гуманизованной и сохраняет высокую аффинность в отношении антигена-мишени, а также другие благоприятные биологические свойства. В соответствии с одним аспектом настоящего изобретения гуманизованные антитела и фрагменты антител получают с помощью анализа исходных последовательностей и различных концептуальных гуманизованных продуктов с использованием трехмерных моделей исходных и гуманизованных последовательностей. Трехмерные модели иммуноглобулинов обычно доступны и известны специалистам в данной области техники. Существуют компьютерные программы, которые иллюстрируют и отображают возможные трехмерные конформационные структуры выбранных последовательностей иммуноглобулинов. Проверка таких образцов позволяет проанализировать вероятную роль остатков в функционировании последовательности иммуноглобулина-кандидата, например, анализ остатков, которые влияют на способность иммуноглобулина-кандидата связываться с антигеном-мишенью. Следовательно, остатки FR могут быть выбраны и объединены из последовательности-реципиента и импортируемой последовательности так, что достигается желаемая характеристика антитела или фрагмента антитела, например,

повышенная аффинность в отношении антигена-мишени. В целом, остатки CDR непосредственно и наиболее существенно влияют на связывание антигена.

[000196] Гуманизированное антитело или фрагмент антитела может сохранять аналогичную антигенную специфичность, как и исходное антитело, например, согласно настоящему изобретению, способность связываться с CD19 человека. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения гуманизированное антитело или фрагмент антитела может иметь улучшенную аффинность и/или специфичность связывания с CD19 человека или ВСМА человека.

[000197] Согласно одному аспекту CD19- или ВСМА-связывающий домен характеризуется определенными функциональными признаками или свойствами антитела или фрагмента антитела. Например, согласно одному аспекту часть композиции TFP согласно настоящему изобретению, которая содержит антигенсвязывающий домен, специфично связывается с CD19 человека или ВСМА человека. Согласно одному аспекту реализации настоящего изобретения антигенсвязывающий домен имеет сходную или аналогичную специфичность связывания с CD19 человека, как и FMC63 scFv, описанный в Nicholson et al. *Mol. Immun.* 34 (16-17): 1157-1165 (1997). Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложен антигенсвязывающий доменом, содержащий антитело или фрагмент антитела, причем указанный антигенсвязывающий домен специфично связывается с белком CD19 или ВСМА или его фрагментом, при этом антитело или фрагмент антитела содержит переменную легкую цепь и/или переменную тяжелую цепь, которая содержит аминокислотную последовательность согласно настоящему изобретению. Согласно некоторым аспектам scFv является смежным и находится в пределах одной и той же рамки считывания, как и лидерная последовательность.

[000198] Согласно одному аспекту CD19- или ВСМА-связывающий домен представляет собой фрагмент, например, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv). Согласно одному аспекту CD19-связывающий домен представляет собой Fv, Fab, (Fab')<sub>2</sub> или бифункциональное (например, биспецифичное) гибридное антитело (например, Lanzavecchia et al., *Eur. J. Immunol.* 17, 105 (1987)). Согласно одному аспекту антитело и его фрагменты связываются с белком CD19 с аффинностью, характерной для антитела дикого типа, или с повышенной аффинностью.

[000199] В настоящем изобретении также предложены способы получения антигенсвязывающего домена антитела, специфичного в отношении антигена-мишени (например, CD19, ВСМА или любого антигена-мишени, описанного в настоящем документе в другом месте, чтобы нацелить связывающие домены гибридного фрагмента), причем указанный способ позволяет получить путем добавления, удаления, замены или

вставки одной или более аминокислот в аминокислотной последовательности домена  $V_H$ , описанного в настоящем документе, домен  $V_H$ , который представляет собой вариант аминокислотной последовательности домена  $V_H$ , с последующим необязательным комбинированием домена  $V_H$ , полученного указанным способом, с одним или более доменами  $V_L$ , и исследованием домена  $V_H$  или комбинации  $V_H/V_L$  или их комбинации, чтобы выявить конкретный связывающий элемент или антигенсвязывающий домен антитела, специфичный в отношении антигена-мишени, представляющего интерес (например, CD19 или BCMA), и необязательно с одним или более желаемыми свойствами.

[000200] В некоторых случаях домены  $V_H$  и scFv могут быть получены в соответствии со способом, известным в данной области техники (см., например, Bird et al., (1988) Science 242:423-426 и Huston et al., (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883). Молекулы scFv могут быть получены путем соединения областей  $V_H$  и  $V_L$  с использованием гибких полипептидных линкеров. Молекулы scFv содержат линкер (например, линкер Ser-Gly) с оптимизированной длиной и/или аминокислотным составом. Длина линкера может сильно влиять на сворачивание и взаимодействие переменных областей в scFv. Действительно, при использовании короткого полипептидного линкера (например, примерно 5-10 аминокислот) внутрицепочечное сворачивание предотвращается. Межцепочечное сворачивание также необходимо для сближения двух переменных областей, чтобы сформировать функциональный сайт связывания эпитопа. В некоторых случаях линкерная последовательность содержит длинную линкерную последовательность (LL). В некоторых случаях длинная линкерная последовательность содержит  $(G_4S)_n$ , где  $n=2-4$ . В некоторых случаях линкерная последовательность содержит короткую линкерную последовательность (SL). В некоторых случаях короткая линкерная последовательность содержит  $(G_4S)_n$ , где  $n=1-3$ . Примеры ориентации и размера линкера описаны, например, в Hollinger et al. 1993 Proc Natl Acad. Sci. U.S.A. 90:6444-6448, публикации заявки на патент США 2005/0100543, 2005/0175606, 2007/0014794 и публикации PCT WO2006/020258 и WO2007/024715, содержание которых полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки.

[000201] scFv может содержать линкер, содержащий приблизительно 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более 15 остатков, между областями  $V_L$  и  $V_H$ . Линкерная последовательность может содержать любую природную аминокислоту. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения линкерная последовательность содержит аминокислоты глицин и серин. Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения линкерная последовательность содержит наборы из повторов остатков глицина и серина, такие как  $(Gly_4Ser)_n$ , где  $n$  представляет собой положительное целое



число, равное или большее 1. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения линкер может представлять собой  $(\text{Gly}_4\text{Ser})_4$  или  $(\text{Gly}_4\text{Ser})_3$ . Изменение длины линкера может сохранить или повысить активность, что приводит к более высокой эффективности в исследованиях активности. В некоторых случаях линкерная последовательность содержит длинную линкерную последовательность (LL). В некоторых случаях длинная линкерная последовательность содержит  $(\text{G}_4\text{S})_n$ , где  $n=2-4$ . В некоторых случаях линкерная последовательность содержит короткую линкерную последовательность (SL). В некоторых случаях короткая линкерная последовательность содержит  $(\text{G}_4\text{S})_n$ , где  $n=1-3$ .

### **Стабильность и мутации**

[000202] Стабильность CD19- или ВСМА-связывающего домена, например, молекулы scFv (например, растворимого scFv), можно оценить, исходя из биофизических свойств (например, термической стабильности) стандартной контрольной молекулы scFv или полноразмерного антитела. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения термическая стабильность гуманизированного scFv или scFv человека больше на приблизительно 0,1, приблизительно 0,25, приблизительно 0,5, приблизительно 0,75, приблизительно 1, приблизительно 1,25, приблизительно 1,5, приблизительно 1,75, приблизительно 2, приблизительно 2,5, приблизительно 3, приблизительно 3,5, приблизительно 4, приблизительно 4,5, приблизительно 5, приблизительно 5,5, приблизительно 6, приблизительно 6,5, приблизительно 7, приблизительно 7,5, приблизительно 8, приблизительно 8,5, приблизительно 9, приблизительно 9,5, приблизительно 10 градусов, приблизительно 11 градусов, приблизительно 12 градусов, приблизительно 13 градусов, приблизительно 14 градусов, или приблизительно 15 градусов по Цельсию, чем исходного scFv в описанных количественных исследованиях.

[000203] Улучшенная термическая стабильность CD19- или ВСМА-связывающего домена, например, scFv, затем придается полной конструкции CD19-TFP, что приводит к улучшению терапевтических свойств CD19- или ВСМА-связывающей конструкции TFP. Термическая стабильность CD19- или ВСМА-связывающего домена, например, scFv, может быть улучшена по меньшей мере приблизительно на 2 °C или 3 °C, по сравнению со стандартным антителом. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения термическая стабильность CD19- или ВСМА-связывающего домена, например, scFv, улучшена на 1 °C по сравнению со стандартным антителом. Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения термическая стабильность CD19- -связывающего домена, например, scFv, улучшена на 2 °C по сравнению со стандартным антителом. Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения термическая

стабильность scFv улучшена на 4 °C, 5 °C, 6 °C, 7 °C, 8 °C, 9 °C, 10 °C, 11 °C, 12 °C, 13 °C, 14 °C или 15 °C, по сравнению со стандартным антителом. Сравнения могут быть сделаны, например, между молекулами scFv, раскрытыми в настоящем документе, и молекулами scFv или фрагментами Fab антитела, из которого были получены scFv, V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub>. Термическая стабильность может быть измерена с использованием способов, известных в данной области техники. Например, в одном варианте реализации, может быть измерена T<sub>M</sub>. Способы измерения T<sub>M</sub> и другие способы определения стабильности белка более подробно описаны ниже.

[000204] Мутации в scFv (возникающие при гуманизации или прямом мутагенезе растворимого scFv) изменяют стабильность scFv и улучшают общую стабильность scFv и CD19- или ВСМА-связывающей конструкции TFP. Стабильность гуманизированного scFv сравнивают с scFv мыши с использованием измерений T<sub>M</sub>, температуры денатурации и температуры агрегации. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения CD19- или ВСМА-связывающий домен, например, scFv, содержит по меньшей мере одну мутацию, возникшую в процессе гуманизации, так, что мутированный scFv придает повышенную стабильность CD19-связывающей конструкции TFP. Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения CD19-связывающий домен, например, scFv, содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 мутаций, возникающих в процессе гуманизации, так, что мутированный scFv придает повышенную стабильность конструкции CD19-TFP или ВСМА-TFP.

[000205] Согласно одному аспекту реализации настоящего изобретения антигенсвязывающий домен TFP содержит аминокислотную последовательность, которая гомологична аминокислотной последовательности антигенсвязывающего домена согласно настоящему изобретению, и антигенсвязывающий домен сохраняет желаемые функциональные свойства фрагментов антител к CD19 или к ВСМА, описанных в настоящем документе. В одном конкретном аспекте композиция TFP согласно настоящему изобретению содержит фрагмент антитела. Согласно другому аспекту указанный фрагмент антитела содержит scFv.

[000206] Согласно различным аспектам антигенсвязывающий домен TFP сконструирован путем модификации одной или более аминокислот в одной или обеих переменных областях (например, V<sub>H</sub> и/или V<sub>L</sub>), например, в пределах одного или более CDR и/или в пределах одного или более каркасных участков. Согласно одному конкретному аспекту композиция TFP согласно настоящему изобретению содержит фрагмент антитела. Согласно другому аспекту указанный фрагмент антитела содержит scFv.

[000207] Специалист в данной области техники поймет, что антитело или фрагмент антитела согласно настоящему изобретению могут быть дополнительно модифицированы так, что они будут отличаться по аминокислотной последовательности (например, от дикого типа), но не желаемой активностью. Например, в белок могут быть введены дополнительные нуклеотидные замены, приводящие к аминокислотным заменам в «несущественных» аминокислотных остатках. Например, остаток заменимой аминокислоты в молекуле может быть заменен остатком другой аминокислоты из семейства со сходными боковыми цепями. Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения участок аминокислотной последовательности может быть заменен структурно аналогичным участком последовательности, который отличается по порядку и/или композиции членов семейства со сходными боковыми цепями, например, может быть сделана консервативная замена, в которой остаток аминокислоты заменен остатком аминокислоты, имеющим сходную боковую цепь.

[000208] Семейства остатков аминокислот, имеющих сходные боковые цепи, были определены в данной области техники, включая основные боковые цепи (например, лизин, аргинин, гистидин), кислотные боковые цепи (например, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту), незаряженные полярные боковые цепи (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин), неполярные боковые цепи (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин, триптофан), бета-разветвленные боковые цепи (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматические боковые цепи (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин).

[000209] Процент идентичности, применительно к двум или более нуклеиновым кислотам или полипептидным последовательностям, относится к двум или более последовательностям, которые являются одинаковыми. Две последовательности являются «по существу идентичными», если две последовательности имеют определенный процент остатков аминокислот или нуклеотидов, которые являются одинаковыми (например, 60% идентичность, необязательно 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичность определенного участка, или, если не указано иное, всей последовательности), при сравнении и сопоставлении для определения максимального соответствия в окне сравнения, или обозначенного участка, оцененного с помощью одного из следующих алгоритмов сравнения последовательностей или путем ручного выравнивания и визуальной оценки. Необязательно, идентичность может иметь место на участке, который содержит по меньшей мере приблизительно 50 нуклеотидов (или 10

аминокислот) в длину, или более предпочтительно на участке, который содержит от 100 до 500 или 1000 или более нуклеотидов (или 20, 50, 200 или более аминокислот) в длину.

[000210] Для сравнения последовательностей, как правило, одна последовательность выступает в качестве эталонной последовательности, с которой сравнивают исследуемые последовательности. При использовании алгоритма сравнения последовательностей испытуемую и эталонную последовательности вводятся в компьютер, назначают координаты подпоследовательностей, в случае необходимости, а также назначают параметры алгоритма для программы сопоставления последовательностей. Могут быть использованы параметры программы по умолчанию, или могут быть назначены альтернативные параметры. Затем на основании параметров программы алгоритм сравнения последовательностей вычисляет процент идентичности последовательности для испытуемых последовательностей по отношению к эталонной последовательности. Методы сопоставления последовательностей для сравнения хорошо известны в данной области техники. Оптимальное сопоставление последовательностей для сравнения можно проводить, например, с помощью алгоритма локальной гомологии, предложенного Smith and Waterman, (1970) *Adv. Appl. Math.* 2:482с, с помощью алгоритма сопоставления областей гомологии, предложенного Needleman and Wunsch, (1970) *J. Mol. Biol.* 48:443, с помощью поиска сходства с использованием метода Pearson and Lipman, (1988) *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 85:2444, с помощью компьютерных вариантов реализации указанных алгоритмов (GAP, BESTFIT, FASTA и TFASTA в Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.), или с помощью мануального сопоставления и визуальной оценки (см., например, Brent et al., (2003) *Current Protocols in Molecular Biology*). Два примера алгоритмов, которые пригодны для определения процента идентичности последовательностей и сходства последовательностей, включают алгоритмы BLAST и BLAST 2.0, которые описаны в Altschul et al., (1977) *Nuc. Acids Res.* 25:3389-3402; и Altschul et al., (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410, соответственно. Программное обеспечение для проведения анализа с помощью BLAST общедоступно через Национальный центр биотехнологической информации.

[000211] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложены модификации аминокислотной последовательности исходного антитела или фрагмента (например, scFv), которые приводят к получению функционально эквивалентных молекул. Например,  $V_H$  или  $V_L$  из CD19- или BCMA-связывающего домена, например, scFv, входящие в состав TFP, могут быть модифицированы, чтобы сохранить по меньшей мере приблизительно 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%,

99% идентичность каркасного участка исходной области  $V_H$  или  $V_L$  CD19-связывающего домена, например, scFv. В настоящем изобретении предложены модификации всей конструкции TFP, например, модификации в одной или более аминокислотных последовательностях различных областей конструкции TFP, чтобы получить функционально эквивалентные молекулы. Конструкция TFP может быть модифицирована, чтобы сохранить по меньшей мере приблизительно 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% идентичность с исходной конструкцией TFP.

### **Внеклеточный домен**

[000212] Внеклеточный домен может быть получен из природного или из рекомбинантного источника. Если источник является природным, то домен может быть получен из любого белка, в частности из связанного с мембраной или трансмембранного белка. Согласно одному аспекту реализации настоящего изобретения внеклеточный домен способен связываться с трансмембранным доменом. Внеклеточный домен конкретного варианта применения в настоящем изобретении может содержать по меньшей мере внеклеточную область(области), например, из альфа, бета или дзета-цепи T-клеточного рецептора, или CD3-эпсилон, CD3-гамма или CD3-дельта, или, в другом варианте, CD28, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154.

### **Трансмембранный домен**

[000213] В целом, последовательность TFP содержит внеклеточный домен и трансмембранный домен, кодируемый одной геномной последовательностью. В других вариантах реализации TFP может быть сконструирован так, чтобы содержать трансмембранный домен, который является гетерологичным по отношению к внеклеточному домену TFP. Трансмембранный домен может содержать одну или более дополнительных аминокислот, смежных с трансмембранной областью, например, одну или более аминокислот, связанных с внеклеточной областью белка, из которой был получен трансмембранный домен (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или вплоть до 15 аминокислот внеклеточной области), и/или одну или более дополнительных аминокислот, связанных с внутриклеточной областью белка, из которой был получен трансмембранный белок (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или вплоть до 15 аминокислот внутриклеточной области). Согласно одному аспекту трансмембранный домен представляет собой домен, который связан с одним из других используемых доменов TFP. В некоторых случаях трансмембранный домен может быть выбран или модифицирован путем замены

аминокислот, чтобы избежать связывания таких доменов с трансмембранными доменами одного и того же или различных поверхностных мембранных белков, например, чтобы свести к минимуму взаимодействие с другими членами рецепторного комплекса. Согласно одному аспекту трансмембранный домен способен к гомодимеризации с другим TFP на поверхности TFP-T-клеток. В другом аспекте аминокислотная последовательность трансмембранного домена может быть модифицирована или заменена так, чтобы свести к минимуму взаимодействия со связывающими доменами нативного партнера по связыванию, присутствующего в том же TFP.

[000214] Трансмембранный домен может быть получен из природного или из рекомбинантного источника. Если источник является природным, то домен может быть получен из любого связанного с мембраной или трансмембранного белка. Согласно одному аспекту реализации настоящего изобретения трансмембранный домен способен передавать сигналы к внутриклеточному домену(ам) всякий раз, когда TFP связывался с мишенью. Трансмембранный домен конкретного варианта применения в настоящем изобретении может содержать по меньшей мере трансмембранную область (области) из, например, альфа, бета или дзета-цепи T-клеточного рецептора, CD28, CD3-эпсилон, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154.

[000215] В некоторых случаях трансмембранный домен может быть присоединен к внеклеточной области TFP, например, антигенсвязывающего домена TFP, с помощью шарнирной области, например, шарнирной области белка человека. Например, в одном варианте реализации, шарнирная область может представлять собой шарнирную область иммуноглобулина (Ig) человека, например, шарнирную область IgG4 или шарнирную область CD8a.

### **Линкеры**

[000216] Необязательно, короткий олиго- или полипептидный линкер, содержащий от 2 до 10 аминокислот в длину, может образовывать связь между трансмембранным доменом и цитоплазматической областью TFP. Дублет глицин-серин обеспечивает особенно подходящий линкер. Например, согласно одному аспекту линкер содержит аминокислотную последовательность GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 3). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения линкер кодируется нуклеотидной последовательностью GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTCC (SEQ ID NO: 4).

### **Цитоплазматический домен**

[000217] Цитоплазматический домен TFP может содержать внутриклеточный сигнальный домен, если TFP содержит полипептиды CD3-гамма, дельта или эпсилон; субъединицы TCR-альфа и TCR-бета, как правило, отсутствуют в сигнальном домене. Внутриклеточный сигнальный домен обычно отвечает за активацию по меньшей мере одной из нормальных эффекторных функций иммунной клетки, в которую был введен TFP. Термин «эффекторные функции» относится к специализированной функции клетки. Эффекторная функция Т-клеток, например, может представлять собой цитолитическую активность или вспомогательную активность, включая секрецию цитокинов. Следовательно, термин «внутриклеточный сигнальный домен» относится к части белка, которая передает эффекторный функциональный сигнал и направляет клетку на выполнение специализированной функции. Несмотря на то, что обычно может быть использован полноразмерный внутриклеточный сигнальный домен, во многих случаях нет необходимости использовать всю цепь. В той степени, в которой используется усеченная часть внутриклеточного сигнального домена, такая усеченная часть может быть использована вместо интактной цепи до тех пор, пока она передает эффекторный функциональный сигнал. Термин внутриклеточный сигнальный домен, следовательно, включает любую усеченную часть внутриклеточного сигнального домена, достаточную для передачи эффекторного функционального сигнала.

[000218] Примеры внутриклеточных сигнальных доменов для использования в TFP согласно настоящему изобретению включают цитоплазматические последовательности Т-клеточного рецептора (TCR) и ко-рецепторы, которые действуют совместно, чтобы инициировать передачу сигнала после связывания антигенного рецептора, а также любое производное или вариант указанных последовательностей и любой рекомбинантной последовательности, которая имеет аналогичную функциональную способность.

[000219] Как известно, сигналы, которые возникают при участии только TCR, не могут вызвать полную активацию наивных Т-клеток, и необходим вторичный и/или костимулирующий сигнал. Следовательно, можно сказать, что активация наивных Т-клеток опосредована двумя различными классами цитоплазматических сигнальных последовательностей: теми, которые инициируют антигензависимую первичную активацию посредством TCR (первичные внутриклеточные сигнальные домены), а также теми, которые действуют антигеннезависимым способом, чтобы обеспечить вторичный или костимулирующий сигнал (вторичный цитоплазматический домен, например, костимулирующий домен).

[000220] Первичный сигнальный домен регулирует первичную активацию комплекса TCR посредством стимулирующего пути или ингибирующего пути. Первичные

внутриклеточные сигнальные домены, которые действуют стимулирующим путем, могут содержать мотивы, которые известны как иммунорецепторные тирозиновые активирующие мотивы (ITAM).

[000221] Примеры ITAM, содержащих первичные внутриклеточные сигнальные домены, которые являются особенно пригодными согласно настоящему изобретению, включают домены из CD3-дзета, FcR-гамма, FcR-бета, CD3-гамма, CD3-дельта, CD3-эпсилон, CD5, CD22, CD79a, CD79B и CD66d. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения TFR согласно настоящему изобретению содержит внутриклеточный сигнальный домен, например, первичный сигнальный домен из CD3-эпсилон. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения первичный сигнальный домен содержит модифицированный домен ITAM, например, мутированный домен ITAM, который имеет измененную (например, повышенную или пониженную) активность по сравнению с нативным доменом ITAM. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения первичный сигнальный домен содержит модифицированный ITAM-содержащий первичный внутриклеточный сигнальный домен, например, оптимизированный и/или усеченный ITAM-содержащий первичный внутриклеточный сигнальный домен. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения первичный сигнальный домен содержит один, два, три, четыре или более мотивов ITAM.

[000222] Внутриклеточный сигнальный домен TFR может содержать сигнальный домен CD3-дзета по отдельности или он может быть объединен с любым другим желаемым внутриклеточным сигнальным доменом (доменами), который можно применять в TFR согласно настоящему изобретению. Например, внутриклеточный сигнальный домен TFR может содержать часть цепи CD3-эпсилон и костимулирующий сигнальный домен. Костимулирующий сигнальный домен относится к части TFR, содержащей внутриклеточный домен костимулирующей молекулы. Костимулирующая молекула представляет собой молекулу клеточной поверхности, за исключением антигенного рецептора или его лигандов, которая необходима для эффективного ответа лимфоцитов на антиген. Примеры таких молекул включают CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, CD40, PD1, ICOS, ассоциированный с функцией лимфоцитов антиген-1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3 и лиганд, который специфично связывается с CD83, и т.п. Например, было показано, что костимуляция CD27 усиливает пролиферацию, эффекторную функцию и выживание TFR-Т-клеток человека в условиях *in vitro* и увеличивает устойчивость и противоопухолевую активность Т-клеток человека в условиях *in vivo* (Song et al. Blood. 2012; 119(3):696-706).



[000223] Внутриклеточные сигнальные последовательности в цитоплазматической части TFP согласно настоящему изобретению могут быть связаны друг с другом в случайном или указанном порядке. Необязательно, короткий олиго- или полипептидный линкер, например, содержащий от 2 до 10 аминокислот (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот) в длину, может образовывать связь между внутриклеточными сигнальными последовательностями.

[000224] Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения в качестве подходящего линкера может быть использован дублет глицин-серин. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения в качестве подходящего линкера может быть использована отдельная аминокислота, например, аланин или глицин.

[000225] Согласно одному аспекту TFP-экспрессирующая клетка, описанная в настоящем документе, может дополнительно содержать второй TFP, например, второй TFP, который содержит другой антигенсвязывающий домен, например, нацеленный к одной и той же мишени (CD19 или BCMA) или другой мишени (например, CD123). Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения, если TFP-экспрессирующая клетка содержит два или более различных TFP, то антигенсвязывающие домены различных TFP не взаимодействуют друг с другом. Например, клетка, экспрессирующая первый и второй TFP, может содержать антигенсвязывающий домен первого TFP, например, в виде фрагмента, например, scFv, который не связывается с антигенсвязывающим доменом второго TFP, например, антигенсвязывающий домен второго TFP представляет собой  $V_{HH}$ .

[000226] Согласно другому аспекту TFP-экспрессирующая клетка, описанная в настоящем документе, может дополнительно экспрессировать другой агент, например, агент, который повышает активность TFP-экспрессирующей клетки. Например, в одном варианте реализации, агент может являться агентом, который ингибирует ингибирующую молекулу. Ингибирующая молекула, например, PD1, может, в некоторых вариантах реализации, уменьшать способность TFP-экспрессирующей клетки вызывать иммунный эффекторный ответ. Примеры ингибирующих молекул включают PD1, PD-L1, CTLA4, TIM3, LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 и TGFR $\beta$ . Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения агент, который ингибирует ингибирующую молекулу, содержит первый полипептид, например, ингибирующую молекулу, связанную со вторым полипептидом, который передает положительный сигнал в клетку, например, с внутриклеточным сигнальным доменом, описанным в настоящем документе. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения агент содержит первый полипептид, например, из ингибирующей молекулы, такой как PD1, LAG3, CTLA4, CD160, BTLA,

LAIR1, TIM3, 2B4 и TIGIT, или фрагмент любой из указанных молекул (например, по меньшей мере часть внеклеточного домена любой из указанных молекул), и второй полипептид, который представляет собой внутриклеточный сигнальный домен, описанный в настоящем документе (например, содержащий костимулирующий домен (например, 4-1BB, CD27 или CD28, например, описанный в настоящем документе) и/или первичный сигнальный домен (например, сигнальный домен CD3-дзета, описанный в настоящем документе). Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения агент содержит первый полипептид PD1 или его фрагмент (например, по меньшей мере часть внеклеточного домена PD1), и второй полипептид внутриклеточного сигнального домена, описанного в настоящем документе (например, сигнального домена CD28, описанного в настоящем документе, и/или сигнального домена CD3-дзета, описанного в настоящем документе). PD1 является ингибирующим членом семейства рецепторов CD28, которое также включает CD28, CTLA-4, ICOS и BTLA. PD-1 экспрессируется на активированных В-клетках, Т-клетках и миелоидных клетках (Agata et al. 1996 *Int. Immunol* 8:765-75). Было показано, что два лиганда PD1, PD-L1 и PD-L2, подавляют активацию Т-клеток после связывания с PD1 (Freeman et al. 2000 *J Exp Med* 192:1027-34; Latchman et al. 2001 *Nat Immunol* 2:261-8; Carter et al. 2002 *Eur J Immunol* 32:634-43). PD-L1 широко экспрессируется в злокачественных опухолях человека (Dong et al. 2003 *J Mol Med* 81:281-7; Blank et al. 2005 *Cancer Immunol. Immunother* 54:307-314; Konishi et al. 2004 *Clin Cancer Res* 10:5094). Подавление иммунитета может быть обращено путем ингибирования локального взаимодействия PD1 с PD-L1.

[000227] Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения агент содержит внеклеточный домен (ВКД) ингибирующей молекулы, например, молекула запрограммированной гибели 1 (PD1) может быть гибридизована с трансмембранным доменом и необязательно внутриклеточным сигнальным доменом, таким как 4-1BB и CD3-дзета (также называемым в настоящем документе как PD1 TFP). Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения PD1 TFP, при использовании в комбинациях с CD19-связывающим TFP, описанным в настоящем документе, улучшает устойчивость Т-клетки. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения TFP представляет собой PD1 TFP, содержащий внеклеточный домен PD1. В другом варианте, в настоящем изобретении предложены TFP, содержащие антитело или фрагмент антитела, такой как scFv, который специфично связывается с лигандом молекулы запрограммированной гибели 1 (PD-L1) или лигандом молекулы запрограммированной гибели 2 (PD-L2).

[000228] Согласно другому аспекту в настоящем изобретении предложена популяция TFP-экспрессирующих Т-клеток, например, TFP-Т-клеток. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения популяция TFP-экспрессирующих Т-клеток содержит смесь клеток, экспрессирующих различные TFP. Например, в одном варианте, популяция TFP-Т-клеток может содержать первую клетку, экспрессирующую TFP, содержащий CD19- или VCMA-связывающий домен, описанный в настоящем документе, и вторую клетку, экспрессирующую TFP, содержащий другой CD19- или VCMA-связывающий домен, например, CD19- или VCMA-связывающий домен, описанный в настоящем документе, который отличается от CD19-связывающего домена в TFP, экспрессированном в первой клетке. В качестве другого примера, популяция TFP-экспрессирующих клеток может содержать первую клетку, экспрессирующую TFP, который содержит CD19- или VCMA-связывающий домен, например, описанный в настоящем документе, и вторую клетку, экспрессирующую TFP, который содержит антигенсвязывающий домен к мишени, отличной от CD19 или VCMA (например, к другому, ассоциированному с опухолью антигену).

[000229] Согласно другому аспекту в настоящем изобретении предложена популяция клеток, в которой по меньшей мере одна клетка в популяции экспрессирует TFP, содержащий CD19- или VCMA-связывающий домен, описанный в настоящем документе, и вторая клетка, экспрессирующая другой агент, например, агент, который повышает активность TFP-экспрессирующей клетки. Например, в одном варианте реализации, агент может являться агентом, который ингибирует ингибирующую молекулу. Ингибирующая молекула, например, может, в некоторых вариантах реализации, уменьшать способность TFP-экспрессирующей клетки вызывать иммунный эффекторный ответ. Примеры ингибирующих молекул включают PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 и TGF $\beta$ . Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения агент, который ингибирует ингибирующую молекулу, содержит первый полипептид, например, ингибирующую молекулу, связанную со вторым полипептидом, который передает положительный сигнал в клетку, например, с внутриклеточным сигнальным доменом, описанным в настоящем документе.

[000230] В настоящем изобретении предложены способы получения транскрибируемой в условиях *in vitro* РНК, кодирующей TFP. В настоящем изобретении также предложена РНК, кодирующая конструкцию TFP, которая может быть непосредственно трансфицирована в клетку. Способ получения иРНК для использования в трансфекции может включать транскрипцию в условиях *in vitro* (IVT) матрицы с использованием специально сконструированных праймеров, с последующим добавлением

последовательности поли(А), чтобы получить конструкцию, содержащую 3'- и 5'-нетранслируемую последовательность («НТО»), 5'-кэп и/или сайт внутренней посадки рибосомы (IRES), нуклеиновую кислоту, которую экспрессируют, и последовательность поли(А), обычно содержащую 50-2000 оснований. РНК, полученная с помощью указанного способа, может эффективно трансфецировать различные виды клеток. Согласно одному аспекту матрица содержит последовательности для TFP.

[000231] Согласно одному аспекту CD19-связывающий или ВСМА-связывающий TFP кодируется информационной РНК (иРНК). Согласно одному аспекту настоящего изобретения иРНК, кодирующую CD19-связывающий или ВСМА-связывающий TFP, вводят в Т-клетку для получения TFP-Т-клеток. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения транскрибируемая в условиях *in vitro* РНК TFP может быть введена в клетку в качестве одной из форм кратковременной трансфекции. РНК получают с помощью транскрипции в условиях *in vitro* с использованием матрицы, полученной с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Представляющая интерес ДНК из любого источника может быть непосредственно преобразована с помощью ПЦР в матрицу для синтеза иРНК в условиях *in vitro* с использованием соответствующих праймеров и РНК-полимеразы. Источником ДНК может быть, например, геномная ДНК, плазмидная ДНК ДНК фага, кДНК, синтетическая последовательность ДНК или ДНК из любого другого соответствующего источника ДНК. Желаемая матрица для транскрипции в условиях *in vitro* представляет собой TFP согласно настоящему изобретению. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения ДНК, которая будет использована для ПЦР, содержит открытую рамку считывания. ДНК может быть получена из природной последовательности ДНК из генома организма. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения нуклеиновая кислота может содержать некоторые или все из 5'-и/или 3'-нетранслируемых областей (НТО). Нуклеиновая кислота может содержать экзоны и интроны. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения ДНК, которая будет использована для ПЦР, представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты человека. В другом варианте ДНК, которая будет использована для ПЦР, представляет собой последовательность нуклеиновой кислоты человека, включая 5'- и 3'-НТО. В другом варианте ДНК может представлять собой искусственную последовательность ДНК, которая обычно не экспрессируется в организме в природных условиях. Типичная искусственная последовательность ДНК представляет собой последовательность, которая содержит участки генов, которые лигированы вместе, чтобы образовать открытую рамку считывания, кодирующую гибридный белок. Участки ДНК,

которые лигированы вместе, могут быть получены из одного организма или более чем из одного организма.

[000232] ПЦР применяют для получения матрицы для транскрипции в условиях *in vitro* иРНК, которая используется для трансфекции. Способы проведения ПЦР хорошо известны в данной области техники. Праймеры для использования в ПЦР сконструированы так, чтобы содержать участки, которые являются по существу комплементарными участкам ДНК, которая будет использована в качестве матрицы для ПЦР. В настоящей заявке термин «по существу комплементарны» относится к последовательностям нуклеотидов, в которых большинство или все из оснований в последовательности праймера являются комплементарными, или одно или более оснований являются некомплементарными или несовпадающими. По существу комплементарные последовательности могут сплавляться или гибридизоваться с предполагаемой мишенью ДНК в условиях сплавления, используемых для ПЦР. Праймеры могут быть сконструированы так, чтобы быть по существу комплементарными любой части ДНК-матрицы. Например, праймеры могут быть сконструированы для амплификации части нуклеиновой кислоты, которая обычно транскрибируется в клетках (открытая рамка считывания), включая 5'- и 3'-НТО. Праймеры также могут быть предназначены для амплификации фрагмента нуклеиновой кислоты, который кодирует определенную область, представляющую интерес. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения праймеры предназначены для амплификации кодирующей области кДНК человека, включая все или части 5'- и 3'-НТО. Праймеры, которые можно применять для ПЦР, могут быть получены с помощью методов синтеза, которые хорошо известны в данной области техники. «Прямые праймеры» представляют собой праймеры, содержащие область нуклеотидов, которые являются по существу комплементарными нуклеотидам на ДНК-матрице, расположенным выше 5'-конца относительно последовательности ДНК, которая должна быть амплифицирована. В настоящей заявке термин «расположенный выше 5'-конца» используется для обозначения положения выше 5'-конца по отношению к последовательности ДНК, подлежащей амплификации, по отношению к кодирующей цепи. «Обратные праймеры» представляют собой праймеры, содержащие область нуклеотидов, которые по существу комплементарны матрице двухцепочечной ДНК, расположенной ниже 3'-конца относительно последовательности ДНК, которая должна быть амплифицирована. В настоящей заявке термин «расположенный ниже 3'-конца» используется для обозначения положения ниже 3'-конца по отношению к последовательности ДНК, подлежащей амплификации, по отношению к кодирующей цепи.

[000233] Любая ДНК-полимераза, которую можно применять для ПЦР, может быть использована в способах, описанных в настоящем документе. Реагенты и полимеразы коммерчески доступны из различных источников.

[000234] Также могут быть использованы химические структуры, способные усиливать стабильность и/или эффективность трансляции. РНК предпочтительно содержит 5'- и 3'-НТО. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения 5'-НТО содержит от одного до 3000 нуклеотидов в длину. Длина последовательностей 5'- и 3'-НТО, которые будут добавлены к кодирующей области, может быть изменена различными способами, включая, но не ограничиваясь ими, конструирование праймеров для ПЦР, которые сплавляются с различными участками НТО. Используя этот подход, специалист в данной области техники может модифицировать длины 5'- и 3'-НТО, необходимых для достижения оптимальной эффективности трансляции после трансфекции транскрибированной РНК.

[000235] 5'- и 3'-НТО могут быть природными, эндогенными 5'- и 3'-НТО для нуклеиновой кислоты, представляющей интерес. В другом варианте, последовательности НТО, которые не являются эндогенными по отношению к представляющей интерес нуклеиновой кислоте, могут быть добавлены путем включения последовательности НТО в прямой и обратный праймеры или с помощью любых других модификаций матрицы. Использование последовательностей НТО, которые не являются эндогенными по отношению к представляющей интерес нуклеиновой кислоте, может быть пригодным для модификации стабильности и/или эффективности трансляции РНК. Например, как известно, AU-обогащенные элементы в последовательностях 3'-НТО могут уменьшать стабильность иРНК. Следовательно, 3'-НТО могут быть выбраны или сконструированы для повышения стабильности транскрипции РНК на основании свойств НТО, которые хорошо известны в данной области техники.

[000236] Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения 5'-НТО может содержать последовательность Козак из эндогенной нуклеиновой кислоты. В другом варианте, если 5'-НТО, которая не является эндогенной по отношению к представляющей интерес нуклеиновой кислоте, добавляют с помощью ПЦР, как описано выше, то консенсусная последовательность Козак может быть изменена путем добавления последовательности 5'-НТО. Последовательности Козак могут повысить эффективность трансляции некоторых транскриптов РНК, однако, по-видимости, не требуются для всех РНК для обеспечения эффективной трансляции. Необходимость присутствия последовательностей Козак для многих иРНК известна в данной области техники. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения 5'-НТО может

представлять собой 5'-НТО из РНК-вируса, РНК-геном которого стабилен в клетках. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения различные нуклеотидные аналоги могут быть использованы в 3' или 5'-НТО, чтобы препятствовать разрушению иРНК экзонуклеазами.

[000237] Чтобы обеспечить синтез РНК из ДНК-матрицы без клонирования генов, промотор транскрипции должен быть присоединен к ДНК-матрице выше 5'-конца относительно транскрибируемой последовательности. Если последовательность, которая функционирует в качестве промотора для РНК-полимеразы, добавляют к 5'-концу прямого праймера, то промотор РНК-полимеразы включается в продукт ПЦР в выше 5'-конца относительно открытой рамки считывания, которая должна быть транскрибирована. Согласно одному предпочтительному варианту реализации настоящего изобретения промотор представляет собой промотор полимеразы T7, описанный в настоящем документе в другом месте. Другие подходящие промоторы включают, но не ограничиваются ими, промоторы РНК-полимеразы T3 и SP6. Консенсусные нуклеотидные последовательности для промоторов T7, T3 и SP6 известны в данной области техники.

[000238] Согласно предпочтительному варианту реализации настоящего изобретения иРНК содержит кэп на 5'-конце и 3'-поли(А) последовательность, которые определяют связывание рибосомы, инициацию трансляции и стабильность иРНК в клетке. На матрице круговой ДНК, например, плазмидной ДНК, РНК-полимераза синтезирует длинный конкатамерный продукт, который не пригоден для экспрессии в эукариотических клетках. Транскрипция плазмидной ДНК, линеаризованной на конце 3'-НТО, приводит к синтезу иРНК нормального размера, которая не является эффективной при трансфекции в эукариотические клетки, даже если она была полиаденилирована после транскрипции.

[000239] На матрице линейной ДНК РНК-полимераза фага T7 может продлить 3'-конец транскрипта после последнего основания матрицы (Schenborn and Mierendorf, *Nuc Acids Res.*, 13:6223-36 (1985); Nacheva and Berzal-Herranz, *Eur. J. Biochem.*, 270:1485-65 (2003).

[000240] Молекулярное клонирование является стандартным способом интеграции участков полиА/Т в матрицу ДНК. Однако последовательность полиА/Т, интегрированная в плазмидную ДНК, может привести к нестабильности плазмиды, поэтому плазмидные ДНК-матрицы, полученные из бактериальных клеток, часто сильно загрязнены делециями и другими абберациями. Это делает процедуры клонирования не только трудоемкими и длительными, но зачастую и ненадежными. Именно поэтому очень необходим способ, который позволяет конструировать ДНК-матрицы с 3'-концевым участком полиА/Т без использования молекулярного клонирования.

[000241] Сегмент полиА/Т транскрипционной матрицы ДНК может быть получен в ходе ПЦР с использованием обратного праймера, содержащего полиТ-хвост, такой как полиТ-хвост, содержащий 100 оснований (размер может составлять 50-5000 Т), или после ПЦР, проведенной любым другим способом, включая, но не ограничиваясь ими, лигирование ДНК или рекомбинацию в условиях *in vitro*. Поли(А)-хвосты также обеспечивают стабильность РНК и уменьшают их разрушение. Как правило, длина поли(А)-хвоста положительно коррелирует с устойчивостью транскрибированной РНК. В одном из вариантов реализации поли(А)-хвост содержит от 100 до 5000 аденозиновых оснований.

[000242] Поли(А)-хвосты РНК могут быть дополнительно продлены после транскрипции в условиях *in vitro* с использованием поли(А)-полимеразы, такой как поли(А)-полимераза из штамма *E. coli* (E-PAP). Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения увеличение длины поли(А)-хвоста от 100 нуклеотидов до 300-400 нуклеотидов приводит приблизительно к двукратному увеличению эффективности трансляции РНК. Помимо этого присоединение различных химических групп к 3'-концу может увеличить стабильность иРНК. Подходящие концевые удлинения могут содержать модифицированные/искусственные нуклеотиды, аптамеры и другие соединения. Например, аналоги АТФ могут быть включены в поли(А)-хвост с использованием поли(А)-полимеразы. Аналоги АТФ могут дополнительно повысить стабильность РНК.

[000243] 5'-Кэпы также обеспечивают стабильность молекул РНК. В предпочтительном варианте реализации РНК, полученные способами, описанными в настоящем документе, содержат 5'-кэп. 5'-Кэп обеспечивается с использованием методик, известных в данной области техники и описанных в настоящем документе (Cougot, et al., Trends in Biochem. Sci., 29:436-444 (2001); Stepinski, et al., RNA, 7:1468-95 (2001); Elango, et al., Biochim. Biophys. Res. Commun., 330:958-966 (2005)).

[000244] РНК, полученные способами, описанными в настоящем документе, также могут содержать последовательность сайта внутренней посадки рибосомы (IRES). Последовательность IRES может представлять собой любую вирусную, хромосомную или синтетическую последовательность, которая инициирует кэп-независимое связывание рибосомы с иРНК и способствует инициации трансляции. Любые растворенные вещества, пригодные для клеточной электропорации, которые могут содержать факторы, увеличивающие проницаемость и жизнеспособность клетки, такие как сахара, пептиды, липиды, белки, антиоксиданты и поверхностно-активные вещества, могут быть включены.

[000245] РНК может быть введена в клетки-мишени с использованием любого из ряда различных способов, например, коммерчески доступных способов, которые включают, но



не ограничиваются ими, электропорацию (Amaha Nucleofector-II (Amaha Biosystems, Кельн, Германия)), (ECM 830 (VTX) (Harvard Instruments, Бостон, Массачусетс, США) или Gene Pulser II (BioRad, Денвер, Колорадо, США), Multiporator (Eppendorf, Гамбург, Германия), трансфекцию опосредованную катионными липосомами, с использованием липофекции, инкапсуляцию полимерами, опосредованную пептидами трансфекцию или системы для биолиственной доставки частиц, такие как «генные ружья» (см., например, Nishikawa, et al. Hum Gene Ther., 12(8):861-70 (2001)).

### **Конструкции нуклеиновых кислот, кодирующих TFP**

[000246] В настоящем изобретении также предложены молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие одну или более конструкций TFP, описанных в настоящем документе. Согласно одному аспекту молекула нуклеиновой кислоты обеспечена в виде транскрипта информационной РНК. Согласно одному аспекту молекула нуклеиновой кислоты обеспечена в виде конструкции ДНК.

[000247] Последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие желаемые молекулы, могут быть получены с использованием рекомбинантных способов, известных в данной области техники, таких как, например, скрининг библиотек из клеток, экспрессирующих ген, путем получения гена из вектора, который, как известно, содержит указанный ген, или путем выделения непосредственно из клеток и тканей, содержащих указанный ген, с использованием стандартных методик. В другом варианте, представляющий интерес ген может быть получен с помощью способов синтеза, а не клонирования.

[000248] В настоящем изобретении также предложены векторы, в которые вставлены ДНК согласно настоящему изобретению. Векторы, полученные из ретровирусов, таких как лентивирусы, являются подходящими инструментами для достижения долгосрочного переноса генов, поскольку они обеспечивают длительную, устойчивую интеграцию трансгена и его распространение в дочерних клетках. Лентивирусные векторы имеют дополнительное преимущество по сравнению с векторами, полученными из онко-ретровирусов, таких как вирусы лейкоза мышей, поскольку они могут обеспечивать трансдукцию непролиферирующих клеток, таких как гепатоциты. Также их дополнительное преимущество заключается в низкой иммуногенности.

[000249] Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую желаемый TFP согласно настоящему изобретению, представляет собой аденовирусный вектор (A5/35). Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения экспрессия нуклеиновых кислот, кодирующих TFP, может быть осуществлена с использованием транспозонов, таких как

транспозон «Спящая красавица», *crispr*, *CAS9* и нуклеазы с доменом «цинковые пальцы». См. работу June et al. 2009 *Nature Reviews Immunology* 9.10: 704-716, которая включена в настоящую заявку посредством ссылки.

[000250] Конструкции для экспрессии согласно настоящему изобретению также можно применять для иммунизации нуклеиновой кислотой и для генной терапии с использованием стандартных протоколов доставки генов. Способы доставки генов известны в данной области техники (см., например, патенты США №№5399346, 5580859, 5589466, которые полностью включены в настоящую заявку посредством ссылки). Согласно другому варианту реализации в настоящем изобретении предложен вектор для генной терапии.

[000251] Нуклеиновая кислота может быть клонирована в ряд векторов. Например, нуклеиновая кислота может быть клонирована в вектор, включая, но не ограничиваясь ими, плазмиду, фагмиду, производное фага, вирус животного и космиду. Векторы, представляющие особый интерес, включают векторы экспрессии, векторы репликации, векторы для получения зонда и векторы для секвенирования.

[000252] В свою очередь вектор экспрессии может быть введен в клетку в форме вирусного вектора. Технология вирусных векторов хорошо известна в данной области техники и описана, например, в Sambrook et al., 2012, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, volumes 1-4, Cold Spring Harbor Press, NY), а также в других руководствах по вирусологии и молекулярной биологии. Вирусы, которые можно применять в качестве векторов, включают, но не ограничиваются ими, ретровирусы, аденовирусы, аденоассоциированные вирусы, вирусы герпеса и лентивирусы. В целом, подходящий вектор содержит сайт инициации репликации, который является функциональным по меньшей мере в одном организме, последовательность промотора, удобные сайты рестрикции эндонуклеазами и один или более селективных маркеров, (например, WO 01/96584, WO 01/29058 и патент США №6326193).

[000253] Целый ряд систем на основе вирусов был разработан для переноса генов в клетки млекопитающих. Например, ретровирусы обеспечивают удобную платформу для систем доставки генов. Выбранный ген может быть введен в вектор и упакован в ретровирусные частицы с использованием способов, известных в данной области техники. Рекомбинантный вирус затем может быть выделен и доставлен к клеткам субъекта в условиях *in vivo* или *ex vivo*. Ряд ретровирусных систем известен в данной области техники. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения используются аденовирусные векторы. Ряд аденовирусных векторов известен в данной

области техники. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения используются лентивирусные векторы.

[000254] Дополнительные промоторные элементы, например, энхансеры, регулируют частоту инициации транскрипции. Как правило, они расположены в области, которая локализована на 30-110 пар оснований выше 5'-конца сайта инициации, хотя было показано, что ряд промоторов содержит функциональные элементы, расположенные ниже сайта инициации. Расстояние между промоторными элементами часто является различным, так, что функция промотора сохраняется, если элементы инвертированы или перемещены относительно друг друга. В промоторе тимидинкиназы (ТК) расстояние между элементами промотора может быть увеличено до 50 пар оснований, прежде чем активность начинает снижаться. Как представляется, в зависимости от промотора отдельные элементы могут функционировать совместно или независимо друг от друга, чтобы активировать транскрипцию.

[000255] Примером промотора, который способен экспрессировать трансген TFP в Т-клетках млекопитающих, является промотор EF1a. Нативный промотор EF1a стимулирует экспрессию альфа-субъединицы комплекса фактора элонгации-1, который отвечает за ферментативную доставку аминоксил-тРНК к рибосоме. Промотор EF1a широко используется в плаزمиде экспрессии у млекопитающих, и было показано, что он является эффективными в стимулировании экспрессии TFP из трансгенов, клонированных в лентивирусный вектор (см., например, Milone et al., Mol. Ther. 17(8): 1453-1464 (2009)). Другим примером промотора является последовательность промотора немедленных ранних генов цитомегаловируса (ЦМВ). Указанная последовательность промотора представляет собой последовательность сильного конститутивного промотора, способного вызывать высокие уровни экспрессии любой полинуклеотидной последовательности, функционально связанной с ней. Однако также могут быть использованы другие конститутивные промоторные последовательности, включая, но не ограничиваясь ими, промотор генов раннего ответа вируса обезьян 40 (SV40), промотор вируса опухоли молочной железы мыши (MMTV), промотор длинного концевой повтора (LTR) вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), промотор MoMuLV, промотор вируса птичьего лейкоза, промотор генов немедленного раннего ответа вируса Эпштейна-Барр, промотор вируса саркомы Рауса, а также промоторы генов человека, такие как, но не ограничиваясь ими, промотор актина, промотор миозина, промотор фактора элонгации-1a, промотор гемоглобина и промотор креатинкиназы. В дальнейшем настоящее изобретение не должно быть ограничено использованием конститутивных промоторов. Индуцируемые промоторы также рассматриваются как часть настоящего изобретения. Применение

индуцируемого промотора обеспечивает молекулярный переключатель, способный индуцировать экспрессию полинуклеотидной последовательности, с которой он функционально связан, если ее экспрессия необходима, или подавить экспрессию, если экспрессия не требуется. Примеры индуцируемых промоторов включают, но не ограничиваясь ими, промотор металлотионеина, промотор глюкокортикоидов, промотор прогестерона и регулируемый тетрациклином промотор.

[000256] Для того чтобы оценить экспрессию полипептида TFP или его части, вектор экспрессии, который будет введен в клетку, также может содержать селективный маркерный ген или ген-репортер или оба, чтобы облегчить идентификацию и отбор экспрессирующих клеток из популяции клеток, которые стремились трансфецировать или инфицировать вирусными векторами. Согласно другим аспектам отдельная часть ДНК может нести селективный маркер, и он может быть использован в процедуре совместной трансфекции. Селективные маркеры и гены-репортеры могут быть фланкированы соответствующими регуляторными последовательностями, чтобы обеспечить экспрессию в клетках-хозяевах. Подходящие селективные маркеры содержат, например, гены устойчивости к антибиотикам, такие как нео и т.п.

[000257] Гены-репортеры используют для выявления потенциально трансфецированных клеток и для оценки функциональности регуляторных последовательностей. В целом, ген-репортер представляет собой ген, который не присутствует или не экспрессируется в организме или ткани реципиента, и который кодирует полипептид, экспрессия которого проявляется посредством какого-либо легко детектируемого свойства, например, ферментативной активности. Экспрессию гена-репортера количественно исследуют в подходящее время после введения ДНК в клетки-реципиенты. Подходящие гены-репортеры могут включать гены, кодирующие люциферазу, бета-галактозидазу, хлорамфениколацетилтрансферазу, секретируемую щелочную фосфатазу или ген зеленого флуоресцентного белка (например, Ui-Tei et al., 2000 FEBS Letters 479: 79-82). Подходящие системы экспрессии хорошо известны и могут быть получены с использованием известных способов или получены на коммерческой основе. В целом, конструкция с минимальной 5'-фланкирующей областью, вызывающая высокий уровень экспрессии гена-репортера, определена в качестве промотора. Подходящие промоторные области могут быть связаны с геном-репортером и используются для оценки способности агентов модулировать транскрипцию, инициированную промотором.

[000258] Способы введения и экспрессии генов в клетку известны в данной области техники. Применительно к вектору экспрессии, подходящий вектор может быть легко

введен в клетку-хозяина, например, клетку млекопитающих, бактерий, дрожжей или насекомых, любым способом, известным в данной области техники. Например, вектор экспрессии может быть перенесен в клетку-хозяина с помощью физических, химических или биологических способов.

[000259] Физические способы введения полинуклеотида в клетку-хозяина включают осаждение с фосфатом кальция, липофекцию, бомбардировку частицами, микроинъекцию, электропорацию и т.п. Способы получения клеток, содержащих векторы и/или экзогенные нуклеиновые кислоты, хорошо известны в данной области техники. См., например, Sambrook et al., 2012, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, volumes 1-4, Cold Spring Harbor Press, NY). Предпочтительный способ введения полинуклеотида в клетку-хозяина включает трансфекцию фосфатом кальция.

[000260] Биологические способы введения полинуклеотида, представляющего интерес, в клетку-хозяина включают использование векторов ДНК и РНК. Вирусные векторы, и особенно ретровирусные векторы, стали наиболее широко используемым способом для вставки генов в клетки млекопитающих, например, клетки человека. Другие вирусные векторы могут быть получены из лентивирусов, поксвирусов, вируса простого герпеса I, аденовирусов и аденоассоциированных вирусов и т.п. (см., например, патенты США №№5350674 и 5585362).

[000261] Химические средства для введения полинуклеотида в клетку-хозяина включают коллоидные дисперсные системы, такие как макромолекулярные комплексы, нанокапсулы, микросферы, гранулы, и системы на основе липидов, включая эмульсии масло-в-воде, мицеллы, смешанные мицеллы и липосомы. Типичная коллоидная система для использования в качестве носителя для доставки в условиях *in vitro* и в условиях *in vivo* представляет собой липосому (например, везикулу с искусственной мембраной). Доступны другие современные способы нацеленной доставки нуклеиновых кислот, например, доставка полинуклеотидов с использованием нацеленных наночастиц или другой подходящей системы доставки субмикронного размера.

[000262] В том случае, если используется невирусная система доставки, типичный носитель для доставки представляет собой липосому. Использование липидных составов предусмотрено в настоящем изобретении для введения нуклеиновых кислот в клетку-хозяина (в условиях *in vitro*, в условиях *ex vivo* или в условиях *in vivo*). Согласно другому аспекту нуклеиновая кислота может быть связана с липидом. Нуклеиновая кислота, связанная с липидом, может быть инкапсулирована в водном внутреннем содержимом липосомы, диспергирована в липидном бислое липосомы, присоединена к липосоме посредством связывающей молекулы, которая связана как с липосомой, так и с

олигонуклеотидом, включенном в липосому, может находиться в комплексе с липосомой, может быть диспергирована в растворе, содержащем липид, смешана с липидом, может быть комбинирована с липидом, может содержаться в виде суспензии в липиде, может содержаться или может быть в комплексе с мицеллой, или может быть связана иным образом с липидом. Композиции, связанные с липидом, липидом/ДНК или липидом/вектором экспрессии, не ограничены какой-либо конкретной структурой в растворе. Например, указанные композиции могут присутствовать в двухслойной структуре, в виде мицелл или в виде «свернутой» структуры. Указанные композиции также могут быть просто диспергированы в растворе, возможно, с образованием агрегатов, которые не являются однородными по размеру и форме. Липиды представляют собой жирные вещества, которые могут быть природными или синтетическими липидами. Например, липиды включают жирные капли, которые естественным образом возникают в цитоплазме, а также класс соединений, которые содержат длинноцепочечные алифатические углеводороды и их производные, такие как жирные кислоты, спирты, амины, аминспирты и альдегиды.

[000263] Липиды, пригодные для применения, могут быть получены из коммерческих источников. Например, димиристилфосфатидилхолин («DMPC») может быть получен из Sigma, Сент-Луис, Миссури, США; дицетилфосфат («DCP») может быть получен из K&K Laboratories (Плейнвью, Нью-Йорк, США); холестерин («Choi») может быть получен из Calbiochem-Behring; димиристилфосфатидилглицерин («DMPG») и другие липиды могут быть получены из Avanti Polar Lipids, Inc. (Бирмингем, Алабама, США). Исходные растворы липидов в хлороформе или смеси хлороформ/метанол можно хранить при температуре приблизительно  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Хлороформ используют в качестве единственного растворителя, поскольку он испаряется легче, чем метанол. «Липосома» это общий термин, охватывающий различные одно- и многослойные липидные носители, образованные путем создания замкнутых липидных бислоев или агрегатов. Липосомы могут быть охарактеризованы как везикулярные структуры с фосфолипидной двухслойной мембраной и внутренней водной средой. Многослойные липосомы имеют множество липидных слоев, разделенных водной средой. Многослойные липосомы образуются спонтанно при суспендировании фосфолипидов в избытке водного раствора. Липидные компоненты претерпевают самостоятельную перегруппировку перед образованием замкнутых структур и заключают воду и растворенные вещества между липидными бислоями (Ghosh et al., 1991 *Glycobiology* 5: 505-10). Однако в область настоящего изобретения также включены композиции, которые имеют различные структуры в растворе, по сравнению с нормальной везикулярной структурой. Например,

липиды могут образовывать мицеллярную структуру или просто существуют в виде негомогенных агрегатов молекул липидов. В область настоящего изобретения также включены комплексы липофектамин-нуклеиновые кислоты.

[000264] Независимо от способа, используемого для введения экзогенной нуклеиновой кислоты в клетку-хозяина, или иного способа воздействия на клетку ингибитора согласно настоящему изобретению, для того чтобы подтвердить наличие последовательности рекомбинантной ДНК в клетке-хозяине, можно осуществлять различные количественные исследования. Подходящие количественные исследования включают, например, «молекулярно-биологические» количественные исследования, хорошо известные специалистам в данной области техники, такие как саузерн-блоттинг и нозерн-блоттинг, ОТ-ПЦР и ПЦР; «биохимические» количественные исследования, такие как детектирование присутствия или отсутствия конкретного пептида, например, с помощью иммунологических способов (ИФА и вестерн-блоттинга), или с помощью количественных исследований, описанных в настоящем документе для выявления агентов в пределах объема настоящего изобретения.

[000265] В настоящем изобретении также предложен вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую TFP. Согласно одному аспекту вектор TFP может быть непосредственно трансдуцирован в клетку, например, в Т-клетку. Согласно одному аспекту вектор представляет собой вектор для клонирования или вектор для экспрессии, например, вектор, включающий, но не ограничивающийся ими, одну или более плазмид (например, плазмид для экспрессии, векторов для клонирования, миниколец, минивекторов, двойных микрохромосом), ретровирусные и лентивирусные векторные конструкции. Согласно одному аспекту реализации настоящего изобретения вектор способен экспрессировать конструкцию TFP в Т-клетках млекопитающих. Согласно одному аспекту реализации настоящего изобретения Т-клетки млекопитающих представляют собой Т-клетки человека.

### **Источники Т-клеток**

[000266] Перед пролиферацией и генетической модификацией источник Т-клеток получают из субъекта. Термин «субъект» предназначен для включения живых организмов, у которых может быть вызвана иммунная реакция (например, млекопитающих). Примеры субъектов включают человека, собак, кошек, мышей, крыс и их трансгенные виды. Т-клетки могут быть получены из различных источников, включая моноклеарные клетки периферической крови, костный мозг, ткань лимфатических узлов, пуповинную кровь, ткань тимуса, ткань из очага инфекции, асциты, плеврального выпота, ткань селезенки и опухоли. Согласно некоторым аспектам настоящего

изобретения может быть использовано любое число Т-клеточных линий, доступных в данной области техники. Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения Т-клетки могут быть получены из единицы крови, собранной у субъекта, используя любое число методик, известных специалисту в данной области техники, таких как разделение в градиенте фиколла™. Согласно одному предпочтительному аспекту клетки из циркулирующей крови индивидуума получают путем афереза. Продукт афереза обычно содержит лимфоциты, включая Т-клетки, моноциты, гранулоциты, В-клетки, другие ядродержащие лейкоциты, эритроциты и тромбоциты. Согласно одному аспекту клетки, собранные путем афереза, могут быть промыты, чтобы удалить фракцию плазмы и поместить клетки в подходящий буфер или среду для последующих этапов обработки. Согласно одному аспекту настоящего изобретения клетки промывают в фосфатно-солевом буферном растворе (ФСБ). В другом аспекте промывочный раствор не содержит кальция и может не содержать магния, также могут отсутствовать многие, если не все, двухвалентные катионы. Начальные шаги активации в отсутствие кальция могут привести к повышенной активации. Специалисты в данной области техники легко поймут, что этап промывки можно осуществлять с помощью способов, известных специалистам в данной области техники, например, с использованием полуавтоматической «проточной» центрифуги (например, устройства для обработки клеток Cobe 2991, Baxter CytoMate или Haemonetics Cell Saver 5) в соответствии с инструкциями производителя. После промывки клетки могут быть повторно суспендированы в различных биологически совместимых буферах, таких как, например, не содержащий Ca и Mg ФСБ, PlasmaLyte A или другой физиологический раствор с добавлением или без буфера. В другом варианте, нежелательные компоненты образца после афереза могут быть удалены, и клетки непосредственно ресуспендируют в культуральной среде.

[000267] Согласно одному аспекту Т-клетки выделяют из лимфоцитов периферической крови путем лизиса эритроцитов и истощения моноцитов, например, путем центрифугирования в градиенте Percoll™ или с помощью проточного элютриационного центрифугирования. Конкретная субпопуляция Т-клеток, таких как CD3<sup>+</sup>, CD28<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD45RA<sup>+</sup> и CD45RO<sup>+</sup> Т-клетки, может быть дополнительно выделена с использованием методик положительного или отрицательного отбора. Например, согласно одному аспекту Т-клетки выделяют путем инкубации с гранулами, конъюгированными с антителами к CD3/CD28 (например, 3×28), такими как Dynabeads™ M-450 CD3/CD28 T, в течение периода времени, достаточного для положительного отбора желаемых Т-клеток. Согласно одному аспекту период времени составляет приблизительно 30 минут. Согласно другому аспекту период времени находится в диапазоне от 30 минут



до 36 часов или дольше, и может быть равен любому целому значению в указанном диапазоне. Согласно другому аспекту период времени составляет по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или 6 часов. Согласно другому предпочтительному аспекту период времени составляет от 10 до 24 часов. Согласно одному аспекту период времени инкубации составляет 24 часа. Более длительные периоды инкубации могут быть использованы для выделения Т-клеток в любой ситуации, если присутствует несколько Т-клеток по сравнению с другими типами клеток, например, выделение проникающих в опухоль лимфоцитов (TIL) из опухолевой ткани или у индивидуумов с ослабленным иммунитетом. В свою очередь, использование более длительных периодов инкубации может повысить эффективность захвата CD8<sup>+</sup> Т-клеток. Следовательно, путем простого уменьшения или удлинения времени инкубации обеспечивают связывание Т-клеток с CD3/CD28-гранулами, и/или путем увеличения или уменьшения соотношения количества гранул и Т-клеток (как описано далее в настоящем документе) субпопуляции Т-клеток могут быть подвергнуты предпочтительно положительному или отрицательному отбору при инициации культуры или в других временных точках в ходе процесса отбора. Кроме того, путем увеличения или уменьшения соотношения антител к CD3 и/или антител к CD28 на гранулах или другой поверхности, субпопуляции Т-клеток могут быть подвергнуты предпочтительно положительному или отрицательному отбору при инициации культуры или в других желаемых временных точках. Специалист в данной области техники поймет, что многократные этапы отбора также могут быть использованы применительно к настоящему изобретению. Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения желательным может быть проведение отбора и использование «неотобранных» клеток в процессе активации и размножения. «Неотобранная» клетка также может быть подвергнута дальнейшим этапам отбора.

[000268] Обогащение Т-клеточной популяции путем отрицательной селекции может быть достигнуто с помощью комбинации антител, направленных к поверхностным маркерам, уникальным для отрицательно отобранных клеток. Один из способов заключается в сортировке клеток и/или отборе с помощью отрицательной магнитной иммунной адгезии или проточной цитометрии, при которой используют коктейль из моноклональных антител, направленных к поверхностным маркерам клеток, присутствующим на клетках, отобранных с помощью отрицательной селекции. Например, для обогащения CD4<sup>+</sup> клетками путем отрицательной селекции коктейль моноклональных антител, как правило, содержит антитела к CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR и CD8. Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения желательным может оказаться обогащение или положительный отбор регуляторных Т-клеток, которые, как правило,

экспрессируют CD4+, CD25+, CD62Lhi, GITR+ и FoxP3+. В другом варианте, согласно некоторым аспектам настоящего изобретения регуляторные Т-клетки истощают с помощью гранул, конъюгированных с антителом к С25, или с помощью другого аналогичного способа отбора.

[000269] Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения может быть отобрана популяция Т-клеток, которые экспрессируют один или более из ИФН- $\gamma$  ФНО-альфа, ИЛ-17А, ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-4, ГМ-КСФ, ИЛ-10, ИЛ-13, гранзима В и перфорина, или другие соответствующие молекулы, например, другие цитокины. Методы скрининга для оценки экспрессии в клетках могут быть определены, например, с помощью способов, описанных в публикации РСТ WO 2013/126712.

[000270] Для выделения желаемой популяции клеток с помощью положительного или отрицательного отбора можно варьировать концентрацию клеток и поверхностей (например, частиц, таких как гранул). Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения желательным может быть значительное уменьшение объема, в котором смешивают гранулы и клетки (например, увеличение концентрации клеток), чтобы обеспечить максимальный контакт клеток и гранул. Например, согласно одному аспекту используемая концентрация составляет 2 млрд. клеток/мл. Согласно одному аспекту используемая концентрация составляет 1 млрд. клеток/мл. Согласно другому аспекту используемая концентрация составляет более 100 млн. клеток/мл. Согласно другому аспекту используемая концентрация составляет 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 млн. клеток/мл. Согласно другому аспекту используемая концентрация составляет 75, 80, 85, 90, 95 или 100 млн. клеток/мл. Согласно другому аспекту используемая концентрация составляет 125 или 150 млн. клеток/мл. Использование высоких концентраций может привести к увеличению выхода клеток, активации клеток, а также пролиферации клеток. Кроме того, использование высоких концентраций клеток позволяет более эффективно захватывать клетки, которые слабо экспрессируют антигены-мишени, представляющие интерес, такие как CD28-отрицательные Т-клетки, или выделять клетки из образцов, в которых присутствуют многие опухолевые клетки (например, клетки крови при лейкозе, опухолевая ткань и т.д.). Такие популяции клеток могут иметь терапевтическое значение, и их получение является желательным. Например, использование высокой концентрации клеток обеспечивает более эффективный отбор CD8+ Т-клеток, которые обычно более слабо экспрессируют CD28.

[000271] Согласно родственному аспекту желательным может быть использование более низких концентраций клеток. При значительном разбавлении смеси Т-клеток и поверхности (например, частиц, таких как гранулы) взаимодействие между частицами и

клетками сведено к минимуму. Указанный способ позволяет отбирать клетки, которые экспрессируют большое количество желаемых антигенов, которые будут связаны с частицами. Например, CD4<sup>+</sup> Т-клетки экспрессируют более высокие уровни CD28 и захватываются более эффективно, чем CD8<sup>+</sup> Т-клетки в разбавленных концентрациях. Согласно одному аспекту используемая концентрация клеток составляет  $5 \times 10^6$ /мл. Согласно другим аспектам используемая концентрация может составлять приблизительно от  $1 \times 10^5$ /мл до  $1 \times 10^6$ /мл, и любое целое значение в указанном диапазоне. Согласно другим аспектам клетки можно инкубировать на ротационном шейкере с различной скоростью в течение различных периодов времени и при 2-10 °С или при комнатной температуре.

[000272] Т-клетки для стимуляции также могут быть заморожены после этапа промывки. Не желая быть связанными соответствием какой-либо конкретной теории, авторы настоящего изобретения полагают, что замораживание и последующий этап оттаивания обеспечивает более равномерный продукт за счет удаления гранулоцитов и в некоторой степени моноцитов в клеточной популяции. После этапа промывки, на котором происходит удаление плазмы и тромбоцитов, клетки могут быть суспендированы в растворе для замораживания. В то время как многие растворы и параметры замораживания известны в данной области техники и будут пригодны применительно к настоящему изобретению, один способ включает использование ФСБ, содержащего 20% ДМСО и 8% сывороточного альбумина человека, или культуральной среды, содержащей 10% декстрана 40 и 5% декстрозы, 20% сывороточного альбумина человека и 7,5% ДМСО, или 31,25% Plasmalyte-A, 31,25% декстрозы 5%, 0,45% NaCl, 10% декстрана 40 и 5% декстрозы, 20% сывороточного альбумина человека и 7,5% ДМСО, или другие подходящие среды для замораживания клеток, содержащие, например, Hespán и PlasmaLyte A, клетки затем замораживают при -80 °С со скоростью 1°С/мин и хранят в паровой фазе резервуара для хранения жидкого азота. Могут быть использованы другие способы контролируемого замораживания, а также неконтролируемое немедленное замораживание при -20 °С или в жидком азоте. Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения криоконсервированные клетки оттаивают и промывают, как описано в настоящем документе, и оставляют на один час при комнатной температуре перед активацией с использованием способов согласно настоящему изобретению.

[000273] Применительно к настоящему изобретению также предусмотрен сбор образцов крови или продуктов афереза у субъекта в течение некоторого периода времени, до того момента, когда могут потребоваться размноженные клетки, описанные в настоящем документе. Следовательно, источник клеток, которые размножают, может быть собран в любой необходимый момент времени, и желаемые клетки, такие как Т-

клетки, могут быть выделены и заморожены для дальнейшего использования в Т-клеточной терапии для любого числа заболеваний или состояний, в отношении которых Т-клеточная терапия обеспечит положительный результат, таких как те, которые описаны в настоящем документе. Согласно одному аспекту реализации настоящего изобретения образец крови или продукт афереза получают в целом от здорового субъекта. Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения образец крови или продукт афереза получают в целом от здорового субъекта, который подвергается риску развития заболевания, но у которого заболевание еще не развилось, и клетки, представляющие интерес, выделяют и замораживают для последующего использования. Согласно некоторым аспектам Т-клетки могут быть размножены, заморожены и использованы в более позднее время. Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения образцы собирают у пациента вскоре после диагностики определенного заболевания, описанного в настоящем документе, но до применения каких-либо способов лечения. Согласно другому аспекту клетки выделяют из образца крови или афереза от субъекта до применения любого числа соответствующих способов лечения, включая, но не ограничиваясь ими, обработку агентами, такими как натализумаб, эфализумаб, противовирусными агентами, химиотерапию, облучение, применение иммуносупрессивных агентов, таких как циклоспорин, азатиоприн, метотрексат, мофетил, и FK506, антител или других иммунодеструктивных агентов, таких как CAMPATH, антитела к CD3, цитоксан, флударабин, циклоспорин, FK506, рапамицин, микофенольная кислота, стероиды, FR901228 и облучение.

[000274] Согласно другому аспекту настоящего изобретения Т-клетки получены от пациента непосредственно после лечения, которое не затрагивает функциональность Т-клеток у субъекта. В связи с этим было отмечено, что после определенных способов лечения рака, в частности, лечения с использованием препаратов, которые повреждают иммунную систему, вскоре после лечения в течение периода, когда пациенты, как правило, восстанавливаются после лечения, качество полученных Т-клеток может быть оптимальным или их способность к пролиферации в условиях *ex vivo* может быть улучшена. Аналогичным образом, после манипуляции в условиях *ex vivo* с использованием способов, описанных в настоящем документе, указанные клетки могут быть в предпочтительном состоянии для усиления приживания и пролиферации в условиях *in vivo*. Следовательно, применительно к настоящему изобретению предусмотрен сбор клеток крови, включая Т-клетки, дендритные клетки или другие клетки ростка кроветворения во время данной фазы восстановления. Кроме того, согласно некоторым аспектам настоящего изобретения мобилизацию (например, мобилизацию с

использованием ГМ-КСФ) и схемы кондиционирования можно применять для создания состояния у субъекта, которое является благоприятным для репопуляции, рециркуляции, регенерации и/или пролиферации конкретных типов клеток, особенно во время определенного промежутка времени после терапии. Иллюстративные типы клеток включают Т-клетки, В-клетки, дендритные клетки и другие клетки иммунной системы.

### **Активация и пролиферация Т-клеток**

[000275] Т-клетки могут быть активированы и размножены с использованием способов, описанных, например, в патентах США №№6352694; 6534055; 6905680; 6692964; 5858358; 6887466; 6905681; 7144575; 7067318; 7172869; 7232566; 7175843; 5883223; 6905874; 6797514; 6867041; и в публикации заявки на патент США 20060121005.

[000276] Как правило, Т-клетки согласно настоящему изобретению могут быть размножены за счет контакта с поверхностью, содержащей присоединенный к ней агент, который стимулирует передачу сигнала, связанного с комплексом CD3/TCR, и лиганд, который стимулирует костимулирующую молекулу на поверхности Т-клеток. В частности, Т-клеточные популяции могут быть стимулированы, как описано в настоящем документе, например, путем контакта с антителом к CD3, или его антигенсвязывающим фрагментом, или антителом к CD2, иммобилизованным на поверхности, или путем контакта с активатором протеинкиназы С (например, бриостатином) в комбинации с кальциевым ионофором. Для костимуляции вспомогательной молекулы на поверхности Т-клетки используют лиганд, который связывается со вспомогательной молекулой. Например, популяция Т-клеток может быть приведена в контакт с антителом к CD3 и антителом к CD28 в условиях, подходящих для стимуляции пролиферации Т-клеток. Для того чтобы стимулировать пролиферацию CD4<sup>+</sup> Т-клеток или CD8<sup>+</sup> Т-клеток используют антитело к CD3 и антитело к CD28. Примеры антитела к CD28 включают 9.3, В-Т3, XR-CD28 (Diaclone, Безансон, Франция), также могут быть использованы другие способы, широко известные в данной области техники (Berg et al., *Transplant Proc.* 30(8):3975-3977, 1998; Naanen et al., *J. Exp. Med.* 190(9):1319-1328, 1999; Garland et al., *J. Immunol. Meth.* 227(1-2):53-63, 1999).

[000277] Т-клетки, которые подверглись воздействию в течение различных периодов времени, могут иметь различные характеристики. Например, типичные клетки крови или продуктов афереза мононуклеарных клеток периферической крови содержат популяцию хелперных Т-клеток (ТН, CD4<sup>+</sup>), которая превышает популяцию цитотоксических или супрессорных Т-клеток (ТС, CD8<sup>+</sup>). Пролиферация Т-клеток в условиях *ex vivo* путем стимуляции рецепторов CD3 и CD28 позволяет получить популяцию Т-клеток, которая приблизительно за 8-9 дней до этого состояла преимущественно из ТН клеток, в то время

как приблизительно через 8-9 дней популяция Т-клеток содержит увеличивающуюся популяцию ТС клеток. Соответственно, в зависимости от цели лечения, инфузия субъекту популяции Т-клеток, содержащей преимущественно ТН-клетки, может обеспечить преимущества. Аналогичным образом, если была выделена антигенспецифичная подгруппа ТС-клеток, то более интенсивная пролиферация указанной подгруппы может обеспечить преимущества.

[000278] Помимо этого, в дополнение к маркерам CD4 и CD8, экспрессия других фенотипических маркеров значительно различается во время пролиферации клеток, однако в значительной степени является воспроизводимой. Следовательно, подобная воспроизводимость дает возможность адаптировать продукт активированных Т-клеток для конкретных целей.

[000279] После конструирования CD19-связывающего или ВСМА-связывающего TFP различные количественные исследования могут быть использованы для оценки активности молекулы, такой как, но не ограничиваясь этим, способность к пролиферации Т-клеток после антигенной стимуляции, поддержание пролиферации Т-клеток при отсутствии повторной стимуляции, а также различных видов противораковой активности в соответствующих моделях *in vitro* и животных моделях. Количественные исследования для оценки действия CD19-связывающих или ВСМА-связывающих TFP более подробно описаны ниже.

[000280] Исследование экспрессии TFP в первичных Т-клетках с помощью вестерн-блоттинга можно использовать для детектирования присутствия мономеров и димеров (см., например, Milone et al., Molecular Therapy 17(8): 1453-1464 (2009)). В общих чертах, Т-клетки (смесь CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток в соотношении 1:1), экспрессирующих TFP, размножали в условиях *in vitro* в течение более чем 10 дней с последующим лизисом, и проводили электрофорез в ДСН-ПААГ в восстанавливающих условиях. TFP детектировали с помощью вестерн-блоттинга с использованием антитела к цепи TCR. Аналогичные подгруппы Т-клеток используют для электрофореза в ДСН-ПААГ в невосстанавливающих условиях, чтобы оценить образование ковалентного димера.

[000281] Пролиферацию TFP<sup>+</sup> Т-клеток после стимуляции антигеном в условиях *in vitro* можно измерить с помощью проточной цитометрии. Например, смесь CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток стимулируют  $\alpha$ -CD3/ $\alpha$ -CD28 и АПК с последующей трансдукцией лентивирусными векторами, экспрессирующими GFP под контролем промоторов, которые будут исследованы. Типичные промоторы включают промоторы генов немедленного раннего ответа ЦМВ, EF-1 $\alpha$ , убиквитина С или фосфоглицерокиназы (PGK). Флуоресценцию GFP оценивали на 6-й день культивирования в подгруппах CD4<sup>+</sup>

и/или CD8<sup>+</sup> Т-клеток с помощью проточной цитометрии (см., например, Milone et al., *Molecular Therapy* 17(8): 1453-1464 (2009)). В другом варианте, смесь CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток стимулируют на 0-й день с использованием магнитных гранул, покрытых  $\alpha$ -CD3/ $\alpha$ -CD28, и трансдуцируют TFP на 1-й день с использованием бицистронного лентивирусного вектора, экспрессирующего TFP наряду с EGFP, используя последовательность проскока рибосомы 2A. Культуры повторно стимулируют клетками CD19<sup>+</sup> K562 (K562-CD19), клетками K562 дикого типа (K562 дикого типа) или клетками K562, экспрессирующими hCD32 и 4-1BBL, в присутствии антитела к CD3 и антитела к CD28 (K562-BBL-3/28) после промывки. Экзогенный ИЛ-2 добавляют к культурам каждый день в концентрации 100 МЕ/мл. GFP<sup>+</sup> Т-клетки подсчитывают с помощью проточной цитометрии с использованием подсчета на основе гранул (см., например, Milone et al., *Molecular Therapy* 17(8): 1453-1464 (2009)).

[000282] Устойчивая пролиферация TFP<sup>+</sup> Т-клеток в отсутствие повторной стимуляции также может быть измерена (см., например, Milone et al., *Molecular Therapy* 17(8): 1453-1464 (2009)). В общих чертах, средний объем Т-клетки (фемтолитры (fl)) измеряют на 8-й день культивирования с использованием счетчика частиц Coulter Multisizer III после стимуляции магнитными гранулами, покрытыми  $\alpha$ -CD3/ $\alpha$ -CD28, на 0-й день и трансдукции указанным TFP на 1-й день.

[000283] Животные модели также могут быть использованы для измерения активности TFP-Т-клеток. Например, ксенотрансплантатная модель с использованием TFP<sup>+</sup> Т-клеток, специфичных в отношении CD19 человека, может быть использована для лечения первичного пре-В-ALL человека у мышей с ослабленным иммунитетом (см., например, Milone et al., *Molecular Therapy* 17(8): 1453-1464 (2009)). В общих чертах, после формирования ALL мышей случайным образом распределяют по группам лечения. Различное количество модифицированных Т-клеток совместно инъецируют в соотношении 1:1 мышам линии NOD/SCID/ $\gamma$ <sup>-/-</sup>, несущим В-ALL. Количество копий каждого вектора в ДНК из селезенки мышей оценивают в различные моменты времени после инъекции Т-клеток. У животных еженедельно оценивают степень тяжести лейкоза. Количество CD19<sup>+</sup> В-ALL бластных клеток в периферической крови измеряют у мышей, получавших инъекции  $\alpha$ -CD19-дзета TFP<sup>+</sup> Т-клеток, или Т-клеток, трансдуцированных контрольной конструкцией. Кривые выживаемости для групп сравнивают с помощью логарифмического рангового критерия. Также может быть проанализировано абсолютное количество CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток периферической крови через 4 недели после инъекции Т-клеток мышам NOD/SCID/ $\gamma$ <sup>-/-</sup>. Мышам инъецируют лейкозные клетки и через 3 недели инъецируют Т-клетки, модифицированные для экспрессии TFP с помощью бицистронного

лентивирусного вектора, который кодирует TFP, связанный с eGFP. Т-клетки нормируют до 45-50% внесенных GFP<sup>+</sup> Т-клеток путем смешивания с Т-клетками, трансдуцированными контрольной конструкцией, перед инъекцией, и подтверждают методом проточной цитометрии. Животных еженедельно обследуют для оценки признаков лейкоза. Кривые выживаемости для групп TFP<sup>+</sup> Т-клеток сравнивают с помощью логарифмического рангового критерия.

[000284] Может быть проведена оценка дозозависимого ответа на лечение с использованием TFP (см., например, Milone et al., *Molecular Therapy* 17(8): 1453-1464 (2009)). Например, периферическую кровь получают через 35-70 дней после развития лейкоза у мышей, которым на 21-й день вводили TFP-Т-клетки, эквивалентное количество Т-клеток, трансдуцированных контрольной конструкцией, или не вводили Т-клетки. У мышей из каждой группы случайным образом брали кровь для определения количества CD19<sup>+</sup> В-ALL бластных клеток периферической крови и затем умерщвляли на 35 и 49 день. Остальных животных оценивали на 57 и 70 день.

[000285] Оценка клеточной пролиферации и продукции цитокинов была описана ранее, например, в Milone et al., *Molecular Therapy* 17(8): 1453-1464 (2009). В общих чертах, оценку TFP-опосредованной пролиферации проводят в планшетах для микротитрования путем смешивания промытых Т-клеток с клетками K562, экспрессирующими CD19 (K19) или CD32 и CD137 (KT32-BBL), чтобы получить окончательное соотношение Т-клетки:K562 равное 2:1. Клетки K562 облучают гамма-излучением перед использованием. Моноклональные антитела к CD3 (клон ОКТ3) и к CD28 (клон 9.3) добавляют к культурам с клетками KT32-BBL для использования в качестве положительного контроля для стимуляции пролиферации Т-клеток, поскольку эти сигналы поддерживают длительную пролиферацию CD8<sup>+</sup> Т-клеток в условиях *ex vivo*. Т-клетки подсчитывают в культурах с использованием флуоресцентных гранул CountBright™ (Invitrogen) и проточной цитометрии, как описано производителем. TFP<sup>+</sup> Т-клетки идентифицируют по экспрессии GFP, используя Т-клетки, которые модифицированы с использованием EGFP-2A-соединенных TFP-экспрессирующих лентивирусных векторов. Для TFP<sup>+</sup> Т-клеток, не экспрессирующих GFP, TFP<sup>+</sup> Т-клетки детектируют с использованием биотинилированного рекомбинантного белка CD19 и вторичного конъюгата авидин-фикоэритрин. Экспрессию CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> на Т-клетках также одновременно детектируют с использованием специфичных моноклональных антител (BD Biosciences). Измерения цитокинов выполняют в супернатантах, собранных через 24 часа после повторной стимуляции с использованием набора для цитометрического определения цитокинов на основе гранул, специфичных в отношении



TH1/TH2 человека (BD Biosciences) в соответствии с инструкциями изготовителя. Флуоресценцию оценивают с помощью проточного цитометра FACSCalibur, и данные анализируют в соответствии с инструкциями изготовителя.

[000286] Цитотоксичность можно оценить с помощью стандартного количественного исследования высвобождения изотопа  $^{51}\text{Cr}$  (см., например, Milone et al., *Molecular Therapy* 17(8): 1453-1464 (2009)). В общих чертах, клетки-мишени (линии K562 и первичные про-B-ALL клетки) загружают  $^{51}\text{Cr}$  (в виде  $\text{NaCrO}_4$ , New England Nuclear) при  $37^\circ\text{C}$  в течение 2 ч при частом перемешивании, дважды промывают в полной среде RPMI и высевают на планшеты для микротитрования. Эффекторныe T-клетки смешивают с клетками-мишенями в лунках в полной среде RPMI при различных соотношениях эффекторные клетки:клетки-мишени (E:T). Также готовят дополнительные лунки, содержащие только среду (спонтанное высвобождение, SR) или 1% раствор детергента тритон X100 (общее высвобождение, TR). После 4 часов инкубации при  $37^\circ\text{C}$  супернатант из каждой лунки собирают. Высвобожденный  $^{51}\text{Cr}$  затем измеряют с помощью счетчика гамма-частиц (Packard Instrument Co., Волтем, Массачусетс, США). Эксперименты при каждом условии выполняют по меньшей мере три раза, и процент лизиса вычисляют по следующей формуле: % лизиса =  $(\text{ER} - \text{SR}) / (\text{TR} - \text{SR})$ , где ER представляет собой среднее количество высвобожденного  $^{51}\text{Cr}$  для каждого экспериментального условия.

[000287] Визуализирующие технологии могут быть использованы для оценки специфичного перемещения и распространения TFP в животных моделях, несущих опухоли. Такие количественные исследования были описаны, например, в Barrett et al., *Human Gene Therapy* 22:1575-1586 (2011). В общих чертах, мышам NOD/SCID/ $\gamma\text{c}^-/-$  (NSG) вводят внутривенно клетки Nalm-6 и через 7 дней вводят T-клетки, которые за 4 часа перед введением подвергают электропорации конструкциями TFP. T-клетки, стабильно трансфицированные лентивирусной конструкцией для экспрессии люциферазы светлячка, и мышей подвергают визуализирующим методам исследований для оценки биолюминесценции. В другом варианте, терапевтическую эффективность и специфичность однократной инъекции TFP+ T-клеток в ксенотрансплантатной модели NALM-6 можно измерить следующим образом: мышам линии NSG вводят NALM-6, трансдуцированные для стабильной экспрессии люциферазы светлячка, и затем через 7 дней в хвостовую вену вводят однократную инъекцию T-клеток после электропорации CD19 TFP. Животных подвергают визуализирующим методам исследований в различные моменты времени после инъекции. Например, у типичных мышей могут быть получены тепловые карты плотности фотонов лейкоза, положительного на наличие люциферазы светлячка, на 5-й день (за 2 дня до лечения) и 8-й день (24 ч после введения TFP + PBL).

[000288] Другие количественные исследования, включая те, которые описаны в разделе примеров в настоящем документе, а также те, которые известны в данной области техники, также могут быть использованы для оценки CD19-связывающей или ВСМА-связывающей конструкции TFP согласно настоящему изобретению.

### **Способы терапевтического применения**

#### **Заболевания и/или расстройства, связанные с CD19 или ВСМА**

[000289] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложены способы лечения заболевания, связанного с экспрессией CD19 или ВСМА. Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложены способы лечения заболевания, в котором часть опухоли не экспрессирует CD19 или ВСМА, и часть опухоли экспрессирует CD19 или ВСМА. Например, TFP согласно настоящему изобретению можно применять для лечения субъектов, которые получали лечение заболевания, связанного с повышенным уровнем экспрессии CD19 или ВСМА, причем субъект, который получал лечение повышенных уровней CD19 или ВСМА, имеет заболевание, связанное с повышенным уровнем CD19 или ВСМА.

[000290] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложен вектор, содержащий CD19-связывающий или ВСМА-связывающий TFP, функционально связанный с промотором для экспрессии в Т-клетках млекопитающих. Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложена рекомбинантная Т-клетка, экспрессирующая CD19 или ВСМА TFP, для использования в лечении CD19- или ВСМА-экспрессирующих опухолей, причем указанная рекомбинантная Т-клетка, экспрессирующая CD19 или ВСМА TFP, называется CD19 или ВСМА TFP-Т. Согласно одному аспекту CD19 или ВСМА TFP-Т согласно настоящему изобретению способна вступать в контакт с клеткой опухоли посредством по меньшей мере одного из CD19-связывающего или ВСМА-связывающего TFP согласно настоящему изобретению, экспрессирующегося на ее поверхности так, что TFP-Т нацелена на клетку опухоли и рост опухоли ингибируется.

[000291] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложен способ ингибирования роста CD19- или ВСМА-экспрессирующей опухолевой клетки, включающий приведение клетки опухоли в контакт с CD19 или ВСМА TFP Т-клеткой согласно настоящему изобретению так, что TFP-Т активируется в ответ на антиген и нацелено воздействует на раковую клетку, при этом рост опухоли ингибируется.

[000292] Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложен способ лечения рака у субъекта. Способ включает введение субъекту CD19 или ВСМА TFP Т-клетки согласно настоящему изобретению так, что у субъекта излечивается рак. Пример

рака, который поддается лечению с помощью CD19 или BCMA TFP T-клетки согласно настоящему изобретению, включает рак, связанный с экспрессией CD19 или BCMA. Согласно одному аспекту настоящего изобретения рак, связанный с экспрессией CD19 или BCMA, представляет собой гематологический рак. Согласно одному аспекту гематологический рак представляет собой лейкоз или лимфу. Согласно одному аспекту рак, связанный с экспрессией CD19, включает разные виды рака и злокачественные опухоли, включая, но не ограничиваясь ими, например, один или более видов острых лейкозов, включая, но не ограничиваясь ими, например, острый В-клеточный лимфобластный лейкоз («B-ALL»), острый Т-клеточный лимфобластный лейкоз («T-ALL»), острый лимфобластный лейкоз (ALL); один или более видов хронического лейкоза, включая, но не ограничиваясь ими, хронический миелобластный лейкоз (CML), хронический лимфобластный лейкоз (CLL). Дополнительные виды гематологических раковых заболеваний или гематологических состояний, связанных с экспрессией CD19 или BCMA, включают, но не ограничиваются ими, пролимфоцитарный В-клеточный лейкоз, новообразование бластных плазмацитоидных дендритных клеток, лимфому Беркитта, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому, фолликулярную лимфому, лейкоз ворсистых клеток, мелкоклеточную и крупноклеточную фолликулярную лимфому, злокачественные лимфопролиферативные состояния, лимфому MALT-типа, лимфому из клеток мантийной зоны, лимфому из клеток маргинальной зоны, множественную миелому, миелодисплазию, миелодиспластический синдром, неходжкинскую лимфому, плазмобластную лимфому, новообразование плазмацитоидных дендритных клеток, макроглобулинемию Вальденстрема и «прелейкоз», которые представляют собой разнородную совокупность гематологических состояний, общим признаком которых является неэффективная выработка (или дисплазия) миелоидных клеток крови, и т.п. Помимо этого заболевание, связанное с экспрессией CD19 или BCMA, включает, но не ограничивается ими, например, атипичные и/или неклассические виды рака, злокачественные опухоли, предраковые состояния или пролиферативные заболевания, связанные с экспрессией CD19 или BCMA.

[000293] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения рак, который можно лечить с использованием CD19 или BCMA TFP, например, описанный в настоящем документе, представляет собой множественную миелому. Множественная миелома представляет собой рак крови, характеризующийся накоплением клона плазматических клеток в костном мозге. Современные способы лечения множественной миеломы включают, но не ограничиваются ими, лечение с использованием леналидомида, который является аналогом талидомида. Леналидомид имеет несколько видов активности,

которые включают противоопухолевую активность, ингибирование ангиогенеза и иммуномодуляцию. Как правило, клетки миеломы, как полагают, являются отрицательными в отношении экспрессии CD19 или BCMA, согласно результатам проточной цитометрии. Настоящее изобретение основывается на том факте, что небольшой процент опухолевых клеток миеломы экспрессирует CD19 или BCMA. Следовательно, в некоторых вариантах реализации, CD19 или BCMA TFP, например, описанные в настоящем документе, могут быть использованы для нацеливания на клетки-мишени миеломы. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения терапия с применением CD19 или BCMA TFP может быть использована в комбинации с одним или более дополнительными способами терапии, например, лечением с использованием леналидомида.

[000294] В настоящем изобретении предложен тип клеточной терапии, при которой Т-клетки генетически модифицированы для экспрессии TFP, и указанные TFP-экспрессирующие Т-клетки вводят реципиенту, нуждающемуся в этом. Введенная клетка способна вызывать гибель опухолевых клеток реципиента. В отличие от терапии антителами TFP-экспрессирующие Т-клетки способны к репликации в условиях *in vivo*, это приводит к их долговременному сохранению, что может обеспечить устойчивый контроль опухоли. В различных аспектах Т-клетки, введенные пациенту, или их потомство, сохраняются в организме пациента в течение по меньшей мере четырех месяцев, пяти месяцев, шести месяцев, семи месяцев, восьми месяцев, девяти месяцев, десяти месяцев, одиннадцати месяцев, двенадцати месяцев, тринадцати месяцев, четырнадцати месяцев, пятнадцати месяцев, шестнадцати месяцев, семнадцати месяцев, восемнадцати месяцев, девятнадцати месяцев, двадцати месяцев, двадцати одного месяца, двадцати двух месяцев, двадцати трех месяцев, двух лет, трех лет, четырех лет или пяти лет после введения Т-клетки пациенту.

[000295] В настоящем изобретении также предложен тип клеточной терапии, при которой Т-клетки модифицированы, например, с помощью транскрибируемой в условиях *in vitro* РНК для кратковременной экспрессии TFP, и TFP-экспрессирующие Т-клетки вводят путем инфузии реципиенту, нуждающемуся в этом. Введенная путем инфузии клетка способна вызвать гибель опухолевых клеток реципиента. Следовательно, в различных аспектах Т-клетки, введенные пациенту, присутствуют в течение менее чем одного месяца, например, в течение трех недель, двух недель или одной недели, после введения Т-клетки пациенту.

[000296] Не желая быть связанными соответствием какой-либо конкретной теории, авторы настоящего изобретения полагают, что противоопухолевый иммунный ответ,

вызванный TFP-экспрессирующими T-клетками, может представлять собой активный или пассивный иммунный ответ, или, в другом варианте, может быть связан с соотношением непосредственного иммунного ответа и косвенного иммунного ответа. Согласно одному аспекту TFP-трансдуцированные T-клетки проявляют специфичную секрецию провоспалительных цитокинов и сильную цитолитическую активность в ответ на раковые клетки человека, экспрессирующие антиген CD19 или BCMA, являются резистентными к ингибированию растворимым CD19 или BCMA, опосредуют неспецифичный цитолиз и опосредуют регрессию установленной опухоли человека. Например, не содержащие антиген опухолевые клетки в гетерогенной области CD19-экспрессирующей или BCMA-экспрессирующей опухоли могут быть восприимчивы к косвенному разрушению под действием CD19-перенаправленных или BCMA-перенаправленных T-клеток, которые ранее взаимодействовали с соседними антигенположительными раковыми клетками.

[000297] Согласно одному аспекту настоящего изобретения TFP-модифицированные T-клетки человека согласно настоящему изобретению могут представлять собой тип вакцины для иммунизации в условиях *ex vivo* и/или терапии в условиях *in vivo* у млекопитающих. Согласно одному аспекту млекопитающее представляет собой человека.

[000298] При иммунизации в условиях *ex vivo* перед введением клетки млекопитающему по меньшей мере один из указанных этапов осуществляют в условиях *in vitro*: i) пролиферацию клеток, ii) введение нуклеиновой кислоты, кодирующей TFP, в клетки, или iii) криоконсервацию клеток.

[000299] Процедуры в условиях *ex vivo* хорошо известны в данной области техники и более подробно обсуждаются ниже. В общих чертах, клетки выделяют у млекопитающего (например, человека) и генетически модифицируют (т.е., трансдуцируют или трансфецируют в условиях *in vitro*) с помощью вектора экспрессии TFP, описанного в настоящем документе. TFP-модифицированные клетки могут быть введены млекопитающему-реципиенту, чтобы обеспечить терапевтическое действие. Млекопитающее-реципиент может представлять собой человека, и TFP-модифицированные клетки могут быть аутологичными по отношению к реципиенту. В другом варианте, клетки могут быть аллогенными, сингенными или ксеногенными по отношению к реципиенту.

[000300] Процедуру пролиферации гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественников в условиях *ex vivo*, описанную в патенте США №5199942, включенном в настоящую заявку посредством ссылки, можно применять в отношении клеток согласно настоящему изобретению. Другие подходящие способы известны в данной области техники, в этой связи настоящее изобретение не ограничивается каким-либо конкретным

способом пролиферации клеток в условиях *ex vivo*. В общих чертах, способы культивирования в условиях *ex vivo* и пролиферации Т-клеток включают: (1) сбор CD34+ гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественников из образцов периферической крови или эксплантов костного мозга млекопитающего; и (2) пролиферацию указанных клеток в условиях *ex vivo*. В дополнение к клеточным факторам роста, описанным в патенте США № 5199942, для культивирования и пролиферации клеток могут быть использованы другие факторы, такие как flt3-L, ИЛ-1, ИЛ-3 и лиганд c-kit.

[000301] Помимо использования вакцины на основе клеток, применительно к иммунизации в условиях *ex vivo*, в настоящем изобретении также предложены композиции и способы иммунизации в условиях *in vivo*, чтобы вызывать у пациента иммунный ответ на антиген.

[000302] Как правило, клетки, активированные и размноженные, как описано в настоящем документе, могут быть использованы в лечении и предотвращении заболеваний, которые возникают у индивидуумов с ослабленным иммунитетом. В частности, TFP-модифицированные Т-клетки согласно настоящему изобретению применяют в лечении заболеваний, расстройств и состояний, связанных с экспрессией CD19 или ВСМА. В некоторых аспектах клетки согласно настоящему изобретению применяют в лечении пациентов с риском развития заболеваний, расстройств и состояний, связанных с экспрессией CD19 или ВСМА. Следовательно, в настоящем изобретении предложены способы лечения или предотвращения заболеваний, расстройств и состояний, связанных с экспрессией CD19 или ВСМА, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества TFP-модифицированных Т-клеток согласно настоящему изобретению.

[000303] Согласно одному аспекту настоящего изобретения TFP-Т-клетки согласно настоящему изобретению можно применять для лечения пролиферативного заболевания, такого как рак или злокачественная опухоль, или предракового состояния, такого как миелодисплазия, MDS или прелейкоз. Согласно одному аспекту рак представляет собой гематологический рак. Согласно одному аспекту гематологический рак представляет собой лейкоз или лимфому. Согласно одному аспекту TFP-Т-клетки согласно настоящему изобретению можно применять для лечения рака и злокачественных опухолей, таких как, но не ограничиваясь ими, острые лейкозы, включая, но не ограничиваясь ими, например, острый В-клеточный лимфобластный лейкоз («В-ALL»), острый Т-клеточный лимфобластный лейкоз («Т-ALL»), острый лимфобластный лейкоз (ALL); один или более видов хронического лейкоза, включая, но не ограничиваясь ими, хронический

миелобластный лейкоз (СМL), хронический лимфобластный лейкоз (СLЛ); дополнительных видов гематологических раковых заболеваний или гематологических состояний, включая, но не ограничиваясь ими, пролимфоцитарный В-клеточный лейкоз, новообразование бластных плазмацитоидных дендритных клеток, лимфому Беркитта, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому, фолликулярную лимфому, лейкоз ворсистых клеток, мелкоклеточную и крупноклеточную фолликулярную лимфому, злокачественные лимфопролиферативные состояния, лимфому MALT-типа, лимфому из клеток мантийной зоны, лимфому из клеток маргинальной зоны, множественную миелому, миелодисплазию, миелодиспластический синдром, неходжкинскую лимфому, плазмобластическую лимфому, новообразование плазмацитоидных дендритных клеток, макроглобулинемию Вальденстрема и прелейкоз, которые представляют собой разнородную совокупность гематологических состояний, общим признаком которых является неэффективная выработка (или дисплазия) миелоидных клеток крови, и т.п. Помимо этого заболевание, связанное с экспрессией CD19 или ВСМА, включает, но не ограничивается ими, например, атипичные и/или неклассические виды рака, злокачественные опухоли, предраковые состояния или пролиферативные заболевания, связанные с экспрессией CD19 или ВСМА. Показания, не относящиеся к раку, связанные с экспрессией CD19 или ВСМА, включают, но не ограничиваются ими, например, аутоиммунное заболевание (например, волчанку), воспалительные заболевания (аллергию и астму) и трансплантацию.

[000304] ТFP-модифицированные Т-клетки согласно настоящему изобретению могут быть введены по отдельности или в виде фармацевтической композиции в комбинации с разбавителями и/или с другими компонентами, такими как ИЛ-2 или другие цитокины, или популяции клеток.

### **Гематологический рак**

[000305] Гематологические раковые состояния включают такие виды рака как лейкоз и злокачественные лимфопролиферативные состояния, которые влияют на кровь, костный мозг и лимфатическую систему.

[000306] Лейкоз может быть классифицирован как острый лейкоз и хронический лейкоз. Острый лейкоз может быть дополнительно классифицирован как острый миелобластный лейкоз (AML) и острый лимфобластный лейкоз (ALL). Хронический лейкоз включает хронический миелобластный лейкоз (СМL) и хронический лимфобластный лейкоз (СLЛ). Другие связанные состояния включают миелодиспластический синдром (MDS, ранее известный как «прелейкоз»), которые представляют собой разнородную совокупность гематологических состояний, общим

признаком которых является неэффективная выработка (или дисплазия) миелоидных клеток крови и риск трансформации в AML.

[000307] В настоящем изобретении предложены композиции и способы лечения рака. Согласно одному аспекту рак представляет собой гематологический рак, включая, но не ограничиваясь ими, лейкоз или лимфому. Согласно одному аспекту TFP-T-клетки согласно настоящему изобретению можно применять для лечения различных видов рака и злокачественных опухолей, таких как, но не ограничиваясь ими, например, острые лейкозы, включая, но не ограничиваясь ими, например, острый В-клеточный лимфобластный лейкоз («B-ALL»), острый Т-клеточный лимфобластный лейкоз («T-ALL»), острый лимфобластный лейкоз (ALL); один или более видов хронического лейкоза, включая, но не ограничиваясь ими, хронический миелобластный лейкоз (CML), хронический лимфобластный лейкоз (CLL); дополнительных видов гематологических раковых заболеваний или гематологических состояний, включая, но не ограничиваясь ими, пролимфоцитарный В-клеточный лейкоз, новообразование бластных плазмацитоидных дендритных клеток, лимфому Беркитта, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому, фолликулярную лимфому, лейкоз ворсистых клеток, мелкоклеточную или крупноклеточную фолликулярную лимфому, злокачественные лимфопролиферативные состояния, лимфому MALT-типа, лимфому из клеток мантийной зоны, лимфому из клеток маргинальной зоны, множественную миелому, миелодисплазию, миелодиспластический синдром, неходжкинскую лимфому, плазмобластическую лимфому, новообразование плазмацитоидных дендритных клеток, макроглобулинемию Вальденстрема и прелейкоз, которые представляют собой разнородную совокупность гематологических состояний, общим признаком которых является неэффективная выработка (или дисплазия) миелоидных клеток крови и т.п. Помимо этого заболевание, связанное с экспрессией CD19 или BCMA, включает, но не ограничивается ими, например, атипичные и/или неклассические виды рака, злокачественные опухоли, предраковые состояния или пролиферативные заболевания, связанные с экспрессией CD19 или BCMA.

[000308] В настоящем изобретении также предложены способы ингибирования пролиферации или уменьшения популяции CD19- или BCMA-экспрессирующих клеток, включающие приведение популяции клеток, содержащих CD19- или BCMA-экспрессирующую клетку, в контакт с CD19-связывающей или BCMA-связывающей TFP-T-клеткой согласно настоящему изобретению, которая связывается с CD19- или BCMA-экспрессирующей клеткой. Согласно конкретному аспекту в настоящем изобретении предложены способы ингибирования пролиферации или уменьшения популяции раковых



клеток, экспрессирующих CD19 или ВСМА, включающие приведение популяции CD19- или ВСМА-экспрессирующих раковых клеток в контакт с CD19-связывающей или ВСМА-связывающей TFP-T-клеткой согласно настоящему изобретению, которая связывается с CD19- или ВСМА-экспрессирующей клеткой. Согласно одному аспекту в настоящем изобретении предложены способы ингибирования пролиферации или уменьшения популяции раковых клеток, экспрессирующих CD19 или ВСМА, включающие приведение популяции CD19- или ВСМА-экспрессирующих раковых клеток в контакт с CD19-связывающей или ВСМА-связывающей TFP-T-клеткой согласно настоящему изобретению, которая связывается с CD19- или ВСМА-экспрессирующей клеткой. Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения CD19-связывающая или ВСМА-связывающая TFP-T-клетка согласно настоящему изобретению уменьшает долю, число, количество или процент клеток и/или раковых клеток по меньшей мере на 25%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 95% или по меньшей мере на 99% у субъекта, который страдает миелоидным лейкозом или другим видом рака, связанного с CD19- или ВСМА-экспрессирующими клетками, или в животной модели указанных заболеваний, по сравнению с отрицательным контролем. Согласно одному аспекту настоящего изобретения субъект представляет собой человека.

[000309] В настоящем изобретении также предложены способы предотвращения, лечения и/или контроля заболевания, связанного с CD19- или ВСМА-экспрессирующими клетками (например, гематологического рака или атипичного рака, экспрессирующего CD19 или ВСМА), включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, CD19-связывающей или ВСМА-связывающей TFP-T-клетки согласно настоящему изобретению, которая связывается с CD19- или ВСМА-экспрессирующей клеткой. Согласно одному аспекту реализации настоящего изобретения субъект представляет собой человека. Неограничивающие примеры расстройств, связанных с CD19- или ВСМА-экспрессирующими клетками, включают аутоиммунные заболевания (такие как волчанка), воспалительные заболевания (такие как аллергии и астма) и различные виды рака (такие как различные виды гематологического рака или атипичные виды рака, экспрессирующие CD19 или ВСМА).

[000310] В настоящем изобретении также предложены способы предотвращения, лечения и/или контроля заболевания, связанного с CD19- или ВСМА-экспрессирующими клетками, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, CD19-связывающей или ВСМА-связывающей TFP-T-клетки согласно настоящему изобретению, которая

связывается с CD19- или ВСМА-экспрессирующей клеткой. Согласно одному аспекту настоящего изобретения субъект представляет собой человека.

[000311] В настоящем изобретении предложены способы предотвращения рецидива рака, связанного с CD19- или ВСМА-экспрессирующими клетками, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, CD19-связывающей или ВСМА-связывающей TFP-T-клетки согласно настоящему изобретению, которая связывается с CD19- или ВСМА-экспрессирующей клеткой. Согласно одному аспекту настоящего изобретения способы включают введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества CD19-связывающей или ВСМА-связывающей TFP-T-клетки согласно настоящему изобретению, которая связывается с CD19- или ВСМА-экспрессирующей клеткой, в комбинации с эффективным количеством другой терапии.

### **Комбинированные способы лечения**

[000312] TFP-экспрессирующая клетка, описанная в настоящем документе, может быть использована в комбинации с другими известными агентами и способами лечения. В настоящей заявке введение «в комбинации» означает, что два (или более) различных способа лечения доставляют субъекту в то время, когда указанный субъект страдает от расстройства, например, два или более способов лечения доставляют после того, как у субъекта был поставлен диагноз расстройства, и до того, как расстройство было излечено или устранено, или лечение было прекращено по другим причинам. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения один способ лечения продолжают доставлять в тот момент, когда начинается доставка второго способа лечения, так, что курсы введения перекрываются. Такую ситуацию иногда называют в данном документе как «одновременная доставка» или «совпадающая по времени доставка». Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения доставка одного способа лечения заканчивается до начала доставки другого способа лечения. Согласно некоторым вариантам реализации любого из указанных случаев лечение является более эффективным благодаря комбинированному введению. Например, второй способ лечения является более эффективным, например, эквивалентный эффект наблюдают при меньшей интенсивности второго способа лечения, или второй способ лечения снижает симптомы в большей степени, чем можно было бы наблюдать при введении второго способа лечения в отсутствие первого способа лечения, или аналогичную ситуацию наблюдают при применении первого способа лечения. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения доставку осуществляют так, что уменьшение симптома или другой параметр, связанный с расстройством, больше, чем можно было бы наблюдать при использовании одного способа лечения, доставленного в отсутствие другого. Действие

двух способов лечения может быть частично аддитивным, полностью аддитивным или более чем аддитивным. Доставка может быть осуществлена так, что действие первого доставленного способа лечения по-прежнему детектируется во время доставки второго способа лечения.

[000313] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения «по меньшей мере один дополнительный терапевтический агент» включает TFP-экспрессирующую клетку. В настоящем изобретении также предложены Т-клетки, которые экспрессируют несколько TFP, которые связываются с одинаковыми или различными антигенами-мишенями, или одинаковыми или различными эпитопами на одном и том же антигене-мишени. В настоящем изобретении также предложены популяции Т-клеток, в которых первая подгруппа Т-клеток экспрессирует первый TFP, и вторая подгруппа Т-клеток экспрессирует второй TFP.

[000314] TFP-экспрессирующие клетки, описанные в настоящем документе, и по меньшей мере один дополнительный терапевтический агент можно вводить одновременно, в составе одной и той же композиции или в виде отдельных композиций, или последовательно. В случае последовательного введения TFP-экспрессирующую клетку, описанную в настоящем документе, можно вводить первой, и дополнительный агент может быть введен вторым, или порядок введения может быть обратным.

[000315] В других аспектах, TFP-экспрессирующая клетка, описанная в настоящем документе, может быть использована в схеме лечения в комбинации с хирургическим вмешательством, химиотерапией, облучением, иммуносупрессивными агентами, такими как циклоспорин, азатиоприн, метотрексат, мофетил и FK506, антителами или другими иммунодеструктивными агентами, такими как CAMPATH, антителами к CD3 или другими видами терапии на основе антител, цитоксином, флударабином, циклоспорином, FK506, рапамицином, микофенольной кислотой, стероидами, FR901228, цитокинами и облучением, пептидной вакциной, например, описанной в Izumoto et al. 2008 J Neurosurg 108:963-971.

[000316] Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения субъекту может быть введен агент, который уменьшает или улучшает побочный эффект, связанный с введением TFP-экспрессирующей клетки. Побочные эффекты, связанные с введением TFP-экспрессирующей клетки, включают, но не ограничиваются ими, синдром высвобождения цитокинов (CRS) и гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (HLH), также называемый синдром активации макрофагов (MAS). Симптомы CRS включают высокую температуру, тошноту, преходящую гипотензию, гипоксию и т.п. Соответственно, способы, описанные в настоящем документе, могут включать введение субъекту TFP-

экспрессирующей клетки согласно настоящему изобретению и последующее введение агента для контроля повышенных уровней растворимого фактора, который высвобождается в результате лечения с использованием TFP-экспрессирующей клетки. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения растворимый фактор, уровень которого повышен у субъекта, представляет собой один или более из ИФН- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-2 и ИЛ-6. Следовательно, агент, введенный для лечения указанного побочного эффекта, может быть агентом, который нейтрализует один или более из указанных растворимых факторов. Такие агенты включают, но не ограничиваются ими, стероид, ингибитор ФНО- $\alpha$  и ингибитор ИЛ-6. Пример ингибитора ФНО включает этанерцепт. Пример ингибитора ИЛ-6 включает тоцилизумаб (toc).

[000317] Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения субъекту может быть введен агент, который усиливает активность TFP-экспрессирующей клетки. Например, в одном варианте реализации, агент может являться агентом, который ингибирует ингибирующую молекулу. Ингибирующая молекула, например, белок запрограммированной гибели 1 (PD1), может, в некоторых вариантах реализации, уменьшать способность TFP-экспрессирующей клетки индуцировать иммунный эффекторный ответ. Примеры ингибирующих молекул включают PD1, PD-L1, CTLA4, TIM3, LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 и TGFR-бета. Ингибирование ингибирующей молекулы, например, путем ингибирования на уровне ДНК, РНК или белка, может оптимизировать функциональную активность TFP-экспрессирующей клетки. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения ингибиторная нуклеиновая кислота, например, дцРНК, например, миРНК или кшРНК, может быть использована для ингибирования экспрессии ингибиторной молекулы в TFP-экспрессирующей клетке. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения ингибитор представляет собой кшРНК. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения ингибирующая молекула оказывает ингибиторное действие в TFP-экспрессирующей клетке. В указанных вариантах реализации молекула дцРНК, которая ингибирует экспрессию ингибирующей молекулы, связана с нуклеиновой кислотой, которая кодирует компонент, например, все из компонентов, TFP. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения ингибитор ингибиторного сигнала может представлять собой, например, антитело или фрагмент антитела, который связывается с ингибирующей молекулой. Например, агент может представлять собой антитело или фрагмент антитела, который связывается с PD1, PD-L1, PD-L2 или CTLA4 (например, ипилимумаб (также упоминаемый как MDX-010 и MDX-101, который доступен коммерчески как ервой (Yervoy™); Bristol-Myers Squibb; тремелимумаб

(моноклональное антитело IgG2, доступное от Pfizer, ранее известное как тицилимумаб, CP-675206)). Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения агент представляет собой антитело или фрагмент антитела, который связывается с TIM3. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения агент представляет собой антитело или фрагмент антитела, который связывается с LAG3.

[000318] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения агент, который усиливает активность TFP-экспрессирующей клетки, может представлять собой, например, гибридный белок, содержащий первый домен и второй домен, причем указанный первый домен представляет собой ингибирующую молекулу или ее фрагмент, и указанный второй домен представляет собой полипептид, который связан с положительным сигналом, например, полипептид, содержащий внутриклеточный сигнальный домен, описанный в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения полипептид, который связан с положительным сигналом, может содержать костимулирующий домен CD28, CD27, ICOS, например, внутриклеточный сигнальный домен CD28, CD27 и/или ICOS, и/или первичный сигнальный домен, например, CD3-дзета, например, описанный в настоящем документе. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения гибридный белок экспрессируется той же клеткой, которая экспрессирует TFP. Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения гибридный белок экспрессируется клеткой, например, Т-клеткой, которая не экспрессирует CD19-связывающий TFP.

#### **Фармацевтические композиции**

[000319] Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению могут содержать TFP-экспрессирующую клетку, например, множество TFP-экспрессирующих клеток, описанных в настоящем документе, в комбинации с одним или более фармацевтически или физиологически приемлемыми носителями, разбавителями или вспомогательными веществами. Подходящие композиции могут содержать буферы, такие как нейтральный буферный солевой раствор, забуференный фосфатом физиологический раствор и т.п.; углеводы, такие как глюкоза, манноза, сахароза или декстраны, маннит; белки; полипептиды или аминокислоты, такие как глицин; антиоксиданты; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА или глутатион; адъюванты (например, гидроксид алюминия); и консерванты. Согласно одному аспекту композиции согласно настоящему изобретению изготовлены для внутривенного введения.

[000320] Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению могут быть введены способом, который является подходящим для заболевания, которое лечат (или предотвращают). Количество и частота введения будет определяться такими

факторами, как состояние пациента, а также тип и степень тяжести заболевания пациента, тем не менее, соответствующие дозировки могут быть определены с помощью клинических исследований.

[000321] Согласно одному варианту реализации фармацевтическая композиция по существу не содержит примеси, например, отсутствуют детектируемые уровни примеси, например, выбранной из группы, состоящей из эндотоксина, микоплазмы, компетентного по репликации лентивируса (RCL), p24, нуклеиновой кислоты VSV-G, gag ВИЧ, остаточных гранул, покрытых антителом к CD3/CD28, мышинных антител, объединенной сыворотки крови человека, бычьего сывороточного альбумина, бычьей сыворотки, компонентов культуральных сред, клеток-упаковщиков вектора или компонентов плазмид, бактерии и грибка. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения бактерия представляет собой по меньшей мере одну бактерию, выбранную из группы, состоящей из *Alcaligenes faecalis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* и *Streptococcus pyogenes* группы А.

[000322] Если указано «иммунологически эффективное количество», «противоопухолевое эффективное количество», «ингибирующее опухоль эффективное количество» или «терапевтическое количество», точное количество композиций согласно настоящему изобретению, подлежащее введению, может быть определено врачом с учетом индивидуальных различий в возрасте, массе, размере опухоли, степени инфицирования или метастазов, и состояния пациента (субъекта). Как правило, можно утверждать, что фармацевтическая композиция, содержащая Т-клетки, описанные в настоящем документе, может быть введена в дозировке от  $10^4$  до  $10^9$  клеток/кг массы тела, в некоторых случаях от  $10^5$  до  $10^6$  клеток/кг массы тела, включая все целые значения в пределах указанных диапазонов. Композиции Т-клеток также можно вводить несколько раз в указанных дозировках. Клетки могут быть введены с помощью методик инфузии, которые обычно известны в иммунотерапии (см., например, Rosenberg et al., New Eng. J. of Med. 319:1676, 1988).

[000323] Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения желательным может быть введение активированных Т-клеток субъекту с последующим повторным отбором крови (или проведением афереза), активация Т-клеток в образце в соответствии с настоящим изобретением, и повторная инфузия активированных и размноженных Т-клеток пациенту. Указанный способ можно осуществлять несколько раз каждые несколько недель. Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения Т-клетки могут быть активированы из образцов крови объемом от  $10\text{ см}^3$  до  $400\text{ см}^3$ . Согласно некоторым

аспектам настоящего изобретения Т-клетки активируют из образцов крови объемом 20 см<sup>3</sup>, 30 см<sup>3</sup>, 40 см<sup>3</sup>, 50 см<sup>3</sup>, 60 см<sup>3</sup>, 70 см<sup>3</sup>, 80 см<sup>3</sup>, 90 см<sup>3</sup> или 100 см<sup>3</sup>.

[000324] Введение субъектам композиций можно осуществлять любым удобным способом, включая аэрозольную ингаляцию, инъекцию, прием внутрь, переливание, имплантацию или трансплантацию. Композиции, описанные в настоящем документе, могут быть введены пациенту трансартериально, подкожно, внутривожно, внутривохолево, интранодально, интрамедуллярно, внутримышечно, путем внутривенной (в/в) инъекции или внутривошинно. Согласно одному аспекту композиции Т-клеток согласно настоящему изобретению вводят пациенту с помощью внутривожной или подкожной инъекции. Согласно одному аспекту композиции Т-клеток согласно настоящему изобретению вводят путем внутривенной инъекции. Композиции Т-клеток могут быть введены непосредственно в опухоль, лимфатический узел или очаг инфекции.

[000325] В конкретном иллюстративном аспекте субъекты могут подвергаться лейкоферезу, при котором лейкоциты собирают, обогащают или обедняют в условиях *ex vivo* для отбора и/или выделения клеток, представляющих интерес, например, Т-клеток. Подходящие выделенные Т-клетки могут быть размножены с помощью способов, известных в данной области техники, и обработаны так, что может быть введена одна или более конструкций TFP согласно настоящему изобретению, создавая тем самым TFP-экспрессирующую Т-клетку согласно настоящему изобретению. Субъекты, нуждающиеся в этом, впоследствии могут пройти стандартное лечение с использованием высоких доз химиотерапии с последующей трансплантацией стволовых клеток периферической крови. Согласно некоторым аспектам настоящего изобретения, после или одновременно с введением трансплантата, субъектам путем инфузии вводят размноженные TFP Т-клетки согласно настоящему изобретению. В дополнительном аспекте размноженные клетки вводят до или после хирургического вмешательства.

[000326] Дозировка вышеуказанных способов лечения, которую будут вводить пациенту, будет варьироваться в зависимости от точного характера состояния, подлежащего лечению, и реципиента указанного способа лечения. Масштабирование доз для введения человеку может быть выполнено в соответствии с практикой, принятой в данной области техники. Доза для САМРАТН, например, как правило, будет находиться в диапазоне от 1 до приблизительно 100 мг для взрослого пациента, как правило, при ежедневном введении в течение периода от 1 до 30 дней. Предпочтительная суточная доза составляет от 1 до 10 мг/сутки, хотя в некоторых случаях могут быть использованы более высокие дозы до 40 мг/сутки (описанные в патенте США №6120766).

[000327] Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения TFP вводят в Т-клетки, например, с использованием транскрипции в условиях *in vitro*, и субъект (например, человек) получает начальное введение TFP Т-клеток согласно настоящему изобретению, и одно или более последующих введений TFP Т-клеток согласно настоящему изобретению, причем одно или более последующих введений осуществляют менее чем через 15 дней, например, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или через 2 дня после предыдущего введения. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения субъекту (например, человеку) вводят TFP Т-клетки согласно настоящему изобретению чаще, чем один раз в неделю, например, TFP Т-клетки согласно настоящему изобретению вводят 2, 3 или 4 раза в неделю. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения субъекту (например, человеку) вводят TFP Т-клетки чаще одного раза в неделю (например, 2, 3 или 4 введения в неделю) (также упоминается в настоящем документе как цикл), в течение последующей недели TFP Т-клетки не вводят, и затем осуществляют одно или более дополнительных введений TFP Т-клеток (например, более одного введения TFP Т-клеток в неделю) субъекту. Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения субъект (например, человек) получает более одного цикла TFP Т-клеток, и промежутки времени между каждым циклом составляют менее 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 или 3 дней. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения TFP Т-клетки вводят через день, чтобы достичь 3-х введений в неделю. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения TFP Т-клетки согласно настоящему изобретению вводят в течение по меньшей мере двух, трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми или более недель.

[000328] Согласно одному аспекту CD19 TFP Т-клетки получают с использованием лентивирусных векторов, таких как лентивирус. TFP-Т-клетки, полученные с помощью указанного способа, будут иметь стабильную экспрессию TFP.

[000329] Согласно одному аспекту TFP Т-клетки кратковременно экспрессируют векторы TFP в течение 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 дней после трансдукции. Кратковременная экспрессия TFP может быть осуществлена путем доставки вектора РНК TFP. Согласно одному аспекту настоящего изобретения РНК TFP трансдуцируют в Т-клетку путем электропорации.

[000330] Потенциальная проблема, которая может возникнуть у пациентов, которых лечат с использованием кратковременно экспрессирующих TFP Т-клеток (в частности, TFP Т-клеток, несущих scFv мыши), заключается в анафилактической реакции после многократных обработок.



[000331] Не желая быть связанными соответствием какой-либо конкретной теории, авторы настоящего изобретения полагают, что такая анафилактическая реакция может быть вызвана развитием у пациента гуморального ответа на TFP, т.е. антител к TFP, имеющих изотип IgE. Считается, что вырабатывающие антитело клетки пациента претерпевают переключение класса от изотипа IgG (который не вызывает анафилактической реакции) к изотипу IgE, если перерыв в воздействии антигена составляет десять-четырнадцать дней.

[000332] Если пациент имеет высокий риск выработки антител к TFP в течение кратковременной терапии с использованием TFP (например, тех, которые получают с помощью РНК-трансдукции), то перерывы между инфузиями TFP Т-клеток не должны длиться более чем от десяти до четырнадцати дней.

### **ПРИМЕРЫ**

[000333] Настоящее изобретение будет более подробно описано ниже со ссылкой на следующие экспериментальные примеры. Данные примеры приведены исключительно с целью иллюстрации и не предназначены для ограничения настоящего изобретения, если не указано иное. Следовательно, настоящее изобретение никоим образом не должно быть истолковано как ограниченное нижеследующими примерами, и подразумевает включение любых и всех вариантов, которые стали очевидными в результате изложения идей, предусмотренных в настоящем документе. Полагают, что обычный специалист в данной области техники может, используя предшествующее описание и следующие иллюстративные примеры, получить и использовать соединения согласно настоящему изобретению и осуществить заявленные способы без подробного описания. Следующие рабочие примеры конкретно указывают на различные аспекты настоящего изобретения и не должны быть истолкованы, как ограничивающие каким-либо образом остальную часть описания.

#### **Пример 1: Конструкции TFP**

[000334] CD19-связывающие конструкции TFP конструировали путем клонирования фрагмента ДНК CD19-связывающего scFv, соединенного с фрагментом ДНК CD3 или TCR с помощью последовательности ДНК, кодирующей короткий линкер (SL): AAAGGGGSGGGGSGGGGSLE (SEQ ID NO: 5) или длинный линкер (LL): AAAIEVMYPPPYLGGGGSGGGGSGGGGSLE (SEQ ID NO: 6), в вектор P510 (System Biosciences (SBI)) в сайтах XbaI и EcoRI.

[000335] Полученные конструкции CD19-связывающих TRuC включали p510\_antiCD19\_LL\_TCR $\alpha$  (анти-CD19-scFv-длинный линкер-полноразмерная  $\alpha$ -цепь Т-клеточного рецептора человека;), p510\_antiCD19\_LL\_TCR  $\alpha$ C (анти-CD19-scFv-длинный

линкер-константная область  $\alpha$ -цепи Т-клеточного рецептора человека), p510\_antiCD19\_LL\_TCR $\beta$  (анти-CD19-scFv-длинный линкер-полноразмерная бета-цепь Т-клеточного рецептора человека), p510\_antiCD19\_LL\_TCR $\beta$ C (анти-CD19-scFv-длинный линкер-константная область бета-цепи Т-клеточного рецептора человека), p510\_antiCD19\_LL\_CD3 $\gamma$  (анти-CD19-scFv-длинный линкер-цепь CD3 $\gamma$  человека), p510\_antiCD19\_LL\_CD3 $\delta$  (анти-CD19-scFv-длинный линкер-цепь CD3 $\delta$  человека), p510\_antiCD19\_LL\_CD3 $\epsilon$  (анти-CD19-scFv-длинный линкер-цепь CD3 $\epsilon$  человека), p510\_antiCD19\_SL\_TCR $\beta$  (анти-CD19-scFv-короткий линкер-полноразмерная  $\beta$ -цепь Т-клеточного рецептора человека), p510\_antiCD19\_SL\_CD3 $\gamma$  (анти-CD19-scFv-короткий линкер-цепь CD3 $\gamma$  человека), p510\_antiCD19\_SL\_CD3 $\delta$  (анти-CD19-scFv-короткий линкер-цепь CD3 $\delta$  человека), p510\_antiCD19\_SL\_CD3 $\epsilon$  (анти-CD19-scFv-короткий линкер-цепь CD3 $\epsilon$  человека).

[000336] Конструкцию CD19-связывающего CAR, p510\_antiCD19\_28 $\zeta$ , получали путем клонирования синтезированной ДНК, кодирующей CD19-связывающий фрагмент, частичный внеклеточный домен CD28, трансмембранный домен CD28, внутриклеточный домен CD28 и CD3-дзета, в вектор p510 в сайтах XbaI и EcoRI.

[000337] Конструкции ВСМА-связывающих TFP получали путем клонирования фрагмента ДНК ВСМА-связывающего scFv, соединенного с фрагментом ДНК CD3 с помощью последовательности ДНК, кодирующей линкер: GGGGSGGGGSGGGGSLE (SEQ ID NO: 7), в вектор p510 (SBI) в сайтах XbaI и EcoRI. Полученные конструкции ВСМА-связывающих TFP включали p510\_antiBCMA\_CD3 $\gamma$  (анти-BCMA-scFv-линкер-цепь CD3 $\gamma$  человека) и p510\_antiBCMA\_CD3 $\epsilon$  (анти-BCMA-scFv-линкер-цепь CD3 $\epsilon$  человека).

[000338] Полноразмерный ВСМА синтезировали и клонировали в p514 (SBI) в сайтах BamHI и NheI, чтобы получить конструкцию p514\_BCMA, использованную для получения стабильных линий клеток-мишеней.

[000339] Конструкции TFP, нацеленные к белку активации фибробластов (FAP) и карбоангидразе-9 (CAIX), получали путем клонирования фрагмента ДНК scFv, нацеленного к FAP или CAIX, соединенного с фрагментом ДНК CD3 с помощью последовательности ДНК, кодирующей линкер: GGGGSGGGGSGGGGSLE (SEQ ID NO: 7), в вектор p510 (SBI) в сайтах XbaI и EcoRI. Конструкции TFP, нацеленных к FAP или CAIX, которые могут быть получены, включают p510\_anti FAP\_CD3 $\gamma$  (анти-FAP scFv-линкер-цепь CD3 $\gamma$  человека) и p510\_antiFAP\_CD3 $\epsilon$  (анти-FAP scFv-линкер-цепь CD3 $\epsilon$  человека) и p510\_antiCAIX\_CD3 $\gamma$  (анти-CAIX scFv-линкер-цепь CD3 $\gamma$  человека) и p510\_antiCAIX\_CD3 $\epsilon$  (анти CAIX scFv-линкер-цепь CD3 $\epsilon$  человека).

[000340] Полноразмерные FAP и CAIX могут быть синтезированы и клонированы в p514 (SBI) в сайтах BamHI и NheI, чтобы получить конструкции p514\_FAP и p514\_CAIX, которые могут быть использованы для создания стабильных линий клеток-мишеней.

[000341] Примеры последовательностей конструкций представлены ниже:

### **ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ КОНСТРУКЦИЙ**

#### **Целевая конструкция**

#### ***P514\_VСМА* (SEQ ID NO: 8)**

```

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca
61 acatgcotta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgccga ttggtggaag taaggtggtg
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacataa acgggtctct
241 ctggttagac cagatctgag cctgggagct ctctggctaa ctagggaacc cactgcttaa
301 gcctcaataa agcttgocct gagtgcttca agtagtgtgt gcccgctctgt tgtgtgactc
361 tggtaactag agatccctca gaccctttta gtcagtgtgg aaaatctcta gcagtggcgc
421 ccgaacaggg acctgaaagc gaaagggaaa ccagagctct ctcgacgcag gactcggcct
481 gctgaagcgc gcacggcaag aggcgagggg cggcgactgg tgagtacgcc aaaaattttg
541 actagcggag gctagaagga gagagatggg tgcgagagcg tcagtattaa gcgggggaga
601 attagatcgc gatgggaaaa aattcggtta aggccagggg gaaagaaaa atataaatta
661 aaacatatag tatgggcaag caggagacta gaacgattcg cagttaatcc tggcctgtta
721 gaaacatcag aaggctgtag acaatactg ggacagctac aaccatccct tcagacagga
781 tcagaagaac ttagatcatt atataataca gtagcaacc tctatttgtg gcatcaaagg
841 atagagataa aagacacca ggaagcttta gacaagatag aggaagagca aaacaaaagt
901 aagaccaccg cacagcaagc ggccactgat cttcagacct ggaggaggag atatgagggg
961 caattggaga agtgaattat ataatataa agtagtaaaa attgaacct taggagtagc
1021 acccaccag gcaaagagaa gagggtgca gagagaaaa agagcagtgg gaataggagc
1081 tttgttcctt gggttcttgg gacgacagg aagcactatg ggcgacgct caatgacgct
1141 gacggtacag gccagacaat tattgtctgg tatagtgcag cagcagaaca atttgctgag
1201 ggctattgag gcgcaacagc atctgttga actcacagtc tggggcatca agcagctcca
1261 ggcaagaatc ctggctgtgg aaagatacct aaaggatcaa cagctcctgg ggatttgggg
1321 ttgctctgga aaactcattt gcaccactgc tgtgccttgg aatgctagtt ggagtaataa
1381 atctctgga cagatttga atcacagac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga
1501 acaagaatta ttggaattag ataatgggc aagtttggg aattggtta acataacaa
1561 ttggctgtgg tatataaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat

```

1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt  
1681 tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt  
1801 aactttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat  
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatfff  
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ctttatggga ctttcctact tggcagtaca  
1981 tctacgtatt agtcatcgc attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc  
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga  
2101 gtttgttttg gcacaaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat  
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag  
2221 tgaaccgtca gatcgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct  
2281 agagctagcg ccgccaccat gctccagatg gctggccagt gcagccagaa cgagtacttc  
2341 gacagcctgc tgcaagcctg catcccttgc cagctgcggt gcagcagcaa caccaccacc  
2401 ctgacctgcc agcggtagct caacgccagc gtgaccaaca gcgtgaaggc caccaacgcc  
2461 atcctgtgga cctgcctggg cctgagcctg atcatcagcc tggccgtgtt cgtgctgatg  
2521 ttctgtctgc ggaagatcaa cagcgagccc ctgaaggacg agttcaagaa caccggcagc  
2581 ggctgtctgg gcatggccaa catcgacctg gaaaagagcc ggaccggcga cgagatcatc  
2641 ctgcccagag gcctggagta caccgtggaa gagtgtacct gcgaggactg catcaagagc  
2701 aagcccaagg tggacagcga cactgcttc cctctgcccg ccatggaaga gggcgccacc  
2761 atcctggtga caacaaagac caacgactac tgcaagagcc tgctgcccgc cctgagcgcc  
2821 accgagatcg agaagtccat cagcgccaga tgaggatccg cggccgcaag gatctgcgat  
2881 cgctccggtg cccgtcagtg ggcagagcgc acatcgcca cagtccccga gaagttgggg  
2941 ggaggggctg gcaattgaac ggggtgcctag agaaggtggc gcggggtaaa ctgggaaagt  
3001 gatgtcgtgt actggctccg ctttttccc gaggggtggg gagaaccgta tataagtga  
3061 gtagtcgccg tgaacgttct ttttcgcaac gggtttgccg ccagaacaca gctgaagctt  
3121 cgaggggctc gcatctctcc ttacgcgccc cgcggcccta cctgaggccg ccatccacgc  
3181 cggttgagtc gcgttctgcc gcctccogcc tgtggtgcct cctgaactgc gtccgctgc  
3241 taggtaagtt taaagctcag gtcgagaccg ggcctttgct cggcgctccc ttggagccta  
3301 cctagactca gccggctctc cacgctttgc ctgacctgc ttgctcaact ctacgtcttt  
3361 gtttcgtttt ctgttctgcg ccgttacaga tccaagctgt gaccggcgc tacgtcgaga  
3421 tgattgaaca agatggattg cacgcagggt ctccggccgc ttgggtggag aggctattcg  
3481 gctatgactg ggcacaacag acaatcgct gctctgatgc cgcctgttc cggctgtcag  
3541 cgcaggggcg cccggttctt tttgtcaaga ccgacctgc cggtgccctg aatgaactgc  
3601 aggacgaggc agcgcggcta tcgtggctgg ccgcgacggg cgttccttgc gcagctgtgc

3661 tcgacgttgt cactgaagcg ggaaggact ggctgctatt gggcgaagt cggggcagg  
3721 atctoctgtc atctcacctt gctcctgcoo agaaagtatc catcatggct gatgcaatgc  
3781 ggcggctgca tacgcttgat ccggctacct gccattcga ccaccaagcg aaacatcgca  
3841 tcgagcgagc acgtactcgg atggaagcog gtcttgcga tcaggatgat ctggacgaag  
3901 agcatcaggg gctcgcgcca gccgaactgt tcgccaggct caaggcgcgc atgcccagc  
3961 gcgaggatct cgtcgtgacc catggcgatg cctgcttgc gaatatcatg gtgaaaaatg  
4021 gccgcttttc tggattcatc gactgtggcc ggctgggtgt ggcggaccgc tatcaggaca  
4081 tagcgttggc taccogtgat attgctgaag agcttggcgg cgaatgggct gaccgcttcc  
4141 tcgtgcttta cggtatcgcc gctcccgatt cgcagcgcac cgccttctat cgccttctg  
4201 acgagttctt ctgactcgac aatcaacctc tggattaca aatttgtgaa agattgactg  
4261 gtattcttaa ctatgttgc cttttacgc tatgtggata cgctgcttta atgccttgt  
4321 atcatgctat tgcttccgt atggctttca ttttctctc cttgtataaa tcttggttc  
4381 tgtctcttta tgaggagtg tggcccgtt tcaggcaacg tggcgtggtg tgcactgtgt  
4441 ttgctgacgc aacccccact ggttggggca ttgccaccac ctgtcagctc ctttccggga  
4501 ctttgcctt cccctccct attgccacgg cggaaactcat cgcgcctgc cttgcccgct  
4561 gctggacagg ggctcggctg ttggcactg acaattcctg ggtgttgcg gggaaatcat  
4621 cgtcctttcc ttggctgctc gcctgtgtt ccacctggat tctgcgcggg acgtccttct  
4681 gctacgtccc ttcggccctc aatccagcgg accttcttc ccgcggcctg ctgccggctc  
4741 tgcggcctct tccgcgtctt cgccttcgcc ctcagacgag tcggatctcc ctttgggccc  
4801 cctccccgcc tggtaacctt aagaccaatg acttacaagg cagctgtaga tcttagccac  
4861 tttttaaag aaaagggggg actggaagg ctaattcact cccaacgaag ataagatctg  
4921 ctttttgctt gtactgggtc tctctggtta gaccagatct gagcctggga gctctctggc  
4981 taactaggga acccactgct taagcctcaa taaagcttgc cttgagtgtc toaagtagtg  
5041 tgtgcccgtc tgttgtgtga ctctggtaac tagagatccc tcagaccctt ttagtcagtg  
5101 tggaaaatct ctagcagtag tagttcatgt catcttatta ttcagtattt ataacttgca  
5161 aagaaatgaa tatcagagag tgagaggaac ttgtttattg cagcttataa tggttacaaa  
5221 taaagcaata gcatcacaaa tttcacaaat aaagcatttt tttcactgca ttctagttgt  
5281 ggtttgtcca aactcatcaa tgtatcttat catgtctggc tctagctatc ccgcccctaa  
5341 ctccgcccat ccgccccta actccgcca gttccgcca ttctccgcc catggctgac  
5401 taattttttt tatttatgca gaggccgagg ccgcctcggc ctctgagcta ttccagaagt  
5461 agtgaggagg cttttttgga ggcctagact tttgcagaga cggcccaat tcgtaatcat  
5521 ggtoatagct gtttctgtg tgaattgtt atccgctcac aattccacac aacatacgag  
5581 ccggaagcat aaagtgtaaa gcctgggtg cctaagagt gagctaactc acattaattg  
5641 cgttgcgctc actgcccgtt ttccagtcgg gaaacctgtc gtgccagctg cattaatgaa

5701 tcggccaacg cgcggggaga ggcggtttgc gtattgggcg ctcttccgct tctctgctca  
5761 ctgactcgct gcgctcggtc gttcggctgc ggcgagcggc atcagctcac tcaaaggcgg  
5821 taatacggtt atccacagaa tcaggggata acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaaggcc  
5881 agcaaaaaggc caggaaccgt aaaaaggcgg cgttgctggc gtttttccat aggctccgcc  
5941 cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgct caagtcagag gtggcgaaac cgcacaggac  
6001 tataaagata ccaggcggtt ccccttgaa gctccctcgt gcgctctcct gttccgacct  
6061 tgccgcttac cggatacctg tccgcctttc tcccttcggg aagcgtggcg cttttctata  
6121 gctcacgctg taggtatctc agttcgggtg aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc  
6181 acgaaccccc cgttcagccc gaccgctggc ctttatccgg taactatcgt cttgagtcca  
6241 acccggttaag acacgactta tcgccactgg cagcagccac tggtaacagg attagcagag  
6301 cgaggatatgt aggcggtgct acagagttct tgaagtggg gcctaactac ggctacacta  
6361 gaaggacagt atttggatc tgcgctctgc tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg  
6421 gtagctcttg atccggcaaa caaaccaccg ctggtagcgg tggttttttt gtttgcaagc  
6481 agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc tttgatcttt tctacggggt  
6541 ctgacgctca gtggaacgaa aactcacgtt aagggatitg ggtcatgaga ttatcaaaaa  
6601 ggatcttcac ctagatcctt ttaaattaa aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat  
6661 atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag tgaggcacct atctcagcga  
6721 tctgtctatt tcgttcatcc atagttgctt gactccccgt cgtgtagata actacgatac  
6781 gggagggcct accatctggc cccagtctg caatgatacc gcgagacca cgtcaccgg  
6841 ctccagattt atcagcaata aaccagccag ccggaagggc cgagcgcaga agtggctctg  
6901 caactttatc cgcctcatc cagtctatta attggtgccc ggaagctaga gtaagtagtt  
6961 cgccagttaa tagtttgcgc aacgttggtt ccattgctac aggcacgtg gtgtcacgct  
7021 cgtogtttgg tatggottca ttcagctcgg gttcccaac atcaaggcga gttacatgat  
7081 ccccatggtt gtgcaaaaaa gcggttagct ccttcggctc tccgatcgtt gtcagaagta  
7141 agttggccgc agtgttatca ctcatggta tggcagcaat gcataattct cttactgtca  
7201 tgccatccgt aagatgcttt tctgtgactg gtgagtactc aaccaagtca ttctgagaat  
7261 agtgtatgcg gcgaccgagt tgctcttggc cggcgtcaat acgggataat accgcgccac  
7321 atagcagaac tttaaaagtg ctcatcattg gaaaacgttc ttcggggcga aaacttcaa  
7381 ggatcttacc gctgttgaga tccagttoga tgtaaccac tcgtgcacc aactgatctt  
7441 cagcatcttt tactttcacc agcgtttctg ggtgagcaaa aacaggaagg caaaatgccg  
7501 caaaaaaggg aataaggcgc acacggaaat gttgaatact catactcttc ctttttcaat  
7561 attattgaag catttatcag gttattgtc tcatgagcgg atacatattt gaatgtattt  
7621 agaaaaataa acaaataggg gttccgcgca catttccccg aaaagtgcc cctgacgtct  
7681 aagaaacat tattatcatg acattaacct ataaaaatag gcgtatcac aggcctttc

7741 gtctcgcgcg tttcggatgat gacggtgaaa acctctgaca catgcagctc ccgagacgg  
7801 tcacagcttg tctgtaagcg gatgccggga gcagacaagc ccgtcagggc gcgtcagcgg  
7861 gtgttgccgg gtgtcggggc tggcttaact atgcggcatc agagcagatt gtactgagag  
7921 tgcaccatat gcggtgtgaa ataccgcaca gatgcgtaag gagaaaatac cgcacagcgc  
7981 gccattcgcc attcaggctg cgcaactggt gggaagggcg atcgggtcgg gcctcttcgc  
8041 tattacgcca gctggcgaaa ggggatgtg ctgcaaggcg attaagttgg gtaacgccag  
8101 ggttttccca gtcacgacgt tgtaaaacga cggccagtgc caagctg.

### Конструкции CAR

*p510\_antiCD19\_28z* (SEQ ID NO: 9)

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca  
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcacgcca ttggtggaag taaggtgcta  
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga  
181 attgccgat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc  
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccaactgctta  
301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact  
361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg  
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct  
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt  
541 gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agogggggag  
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt  
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt  
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcacaaag  
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag  
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg  
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
1021 caccaccaa ggcaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
1081 ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgagcc tcaatgacgc  
1141 tgacgttaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga  
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc  
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa  
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga

1501 acaagaatta ttggaattag ataatgggc aagtttggg aattggtta acataacaaa  
1561 ttggctgtgg tatataaat tattcataat gatagtagga ggcttgtag gtttaagaat  
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt  
1681 tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattog attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt  
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtga ggggaaagaa tagtagacat  
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt  
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga cttatggga ctttctact tggcagtaca  
1981 tctacgtatt agtcatcgtt attaccatgg tgatgcgggt ttggcagtac atcaatgggc  
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga  
2101 gtttgttttg gcacaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat  
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag  
2221 tgaaccgtca gatcgcttg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct  
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca  
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct  
2401 ctgggagaca gagtccatc cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat  
2461 tggatcagc agaaaccaga tggaactggt aaactcctga tctaccatac atcaagatta  
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc  
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt  
2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc  
2701 aagcccgat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct  
2761 ggcttggtgg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta  
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgcag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga  
2881 gtaatattgg gtagtgaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc  
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagtttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac  
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac  
3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggcog caattgaagt tatgtatcct  
3121 cctccttacc tagacaatga gaagagcaat ggaaccatta tccatgtgaa agggaaacac  
3181 ctttgtccaa gtcccctatt tcccggacct tctaagccct tttgggtgct ggtggtggtt  
3241 gggggagtcc tggcttgcta tagcttgcta gtaacagtgg cttttattat tttctgggtg  
3301 aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgcccggcc  
3361 gggcccaccg gcaagcatta ccagccctat gcccaccac gcgacttcgc agcctatcgc  
3421 tccagagtga agttcagcag gagcgcagac gccccgcgt accagcaggg ccagaaccag  
3481 ctctataacg agctcaatct aggacgaaga gaggagtac atgttttggg caagagacgt



3541 ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg agaaggaaga accctcagga aggcctgtac  
3601 aatgaactgc agaaagataa gatggcggag gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag  
3661 cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt taccagggtc tcagtacagc caccaaggac  
3721 acctacgacg cccttcacat gcaggccctg ccccctcgtc aagaattcgg atccgcggcc  
3781 gogaaggatc tgcgatcgtc ccggtgcccg tcagtgggca gagcgacat cggccacagt  
3841 ccccgagaag ttggggggag gggtcggcaa ttgaacgggt gcctagagaa ggtggcggg  
3901 ggtaaactgg gaaagtgatg tcgtgtactg gctccgcctt tttcccgagg gtgggggaga  
3961 accgtatata agtgcagtag tcgccgtgaa cgttcttttt cgcaacgggt ttgccgccag  
4021 aacacagctg aagcttcgag gggctcgcac ctctccttca cgcgcccgcc gccctacctg  
4081 aggccgccat ccacgccggt tgagtcgctg tctgccgcct cccgcctgtg gtgcctcctg  
4141 aactgctcc gccgtctagg taagttaaa gctcaggtcg agaccgggcc tttgtccggc  
4201 gctcccttgg agcctaccta gactcagccg gctctccacg ctttgccctga ccctgcttgc  
4261 tcaactctac gtctttgttt cgttttctgt tctgcccgtg tacagatcca agctgtgacc  
4321 ggccgctacg ctagatgacc gagtacaagc ccacgggtcg cctcgccacc cgcgacgacg  
4381 tcccagggc cgtacgcacc ctccgcccgc cgttccgcca ctaccccgcc acgcgccaca  
4441 ccgtcgatcc ggaccgccac atcgagcggg tcaccgagct gcaagaactc ttctcagc  
4501 gcgtcgggct cgacatcggc aaggtgtggg tcgcccagca cggcggcccg gtggcggctt  
4561 ggaccacgcc ggagagcgtc gaagcggggg cgggtgttcg cgagatcggc ccgcccagtg  
4621 ccgagttgag cggttcccgg ctggcccgcg agcaacagat ggaaggcctc ctggcggccg  
4681 accggcccaa ggagcccgcg tggttcctgg ccaccgtcgg cgtctcgccc gaccaccagg  
4741 gcaagggctt gggcagcgcc gtcgtgctc ccggagtgga ggcggccgag cgcgcccggg  
4801 tgcccgcctt cctggagacc tccgcccgcc gcaacctccc cttctacgag cggctcggct  
4861 tcaccgtcac cgcgacgctc gaggtgcccg aaggaccgcg cacctggtgc atgaccgca  
4921 agcccgggtg ctgagtgcac aatcaacctc tggattaca aatttgtgaa agattgactg  
4981 gtattcttaa ctatgttctt cttttacgc tatgtggata cgctgcttta atgcctttgt  
5041 atcatgctat tgcttcccgt atggctttca ttttctctc cttgtataaa tcttggttgc  
5101 tgtctcttta tgaggagttg tggcccgttg tcaggcaacg tggcgtggtg tgcactgtgt  
5161 ttgctgacgc aacccccact ggttggggca ttgccaccac ctgtcagctc ctttccggga  
5221 ctttogcttt ccccctccct attgccacgg cggaaactca cgcgcccctg cttgcccgt  
5281 gctggacagg ggctcggctg ttggcactg acaattccgt ggtgttctg gggaaatcat  
5341 cgtcctttcc ttggctgctc gcctgtgttg ccacctggat tctgcccggg acgtccttct  
5401 gctacgtccc ttcggccctc aatccagcgg accttcttc cgcgcccctg ctgcccgtc  
5461 tgcggcctct tccgcgtctt cgccttcgoc ctacagcagc tcggatctcc ctttggccc  
5521 cctccccgcc tggtaacctt aagaccaatg acttacaagg cagctgtaga tcttagccac

5581 tttttaaaag aaaagggggg actggaaggg ctaattcact cccaacgaaa ataagatctg  
5641 ctttttgctt gtactgggtc tctctgggta gaccagatct gagcctggga gctctctggc  
5701 taactaggga acccactgct taagcctcaa taaagcttgc cttgagtgc tcaagtagtg  
5761 tgtgcccgtc tgttgtgtga ctctggtaac tagagatccc tcagaccctt ttagtcagtg  
5821 tggaaaatct ctagcagtag tagttcatgt catcttatta ttcagtattt ataacttgca  
5881 aagaaatgaa tatcagagag tgagaggaac ttgtttattg cagcttataa tggttacaaa  
5941 taaagcaata gcatcacaaa tttcacaaat aaagcatttt tttcactgca ttctagttgt  
6001 ggtttgtcca aactcatcaa tgtatcttat catgtctggc tctagctatc cggcccctaa  
6061 ctccgccag ttccgccat tctccgccc atggctgact aatTTTTTTT atttatgcag  
6121 aggccgaggc cgcctcggcc tctgagctat tccagaagta gtgaggaggc ttttttgag  
6181 gcctagactt ttgcagagac ggcccaaatt cgtaatcatg gtcatagctg tttcctgtgt  
6241 gaaattgtta tccgctcaca attccacaca acatacgagc cggaagcata aagtgtaaag  
6301 cctgggggtgc ctaatgagtg agctaactca cattaattgc gttgcgctca ctgcccgtt  
6361 tccagtcggg aaacctgtcg tgccagctgc attaatgaat cggccaacgc gcggggagag  
6421 gcggtttgcg tattgggcgc tcttccgctt cctcgctcac tgactcgctg cgctcggctg  
6481 ttcggctgcg gcgagcggta tcagctcact caaaggcggg aatacggta tccacagaat  
6541 caggggataa cgcaggaaag aacatgtgag caaaaggcca gcaaaaggcc aggaaccgta  
6601 aaaaggccgc gttgctggcg tttttccata ggctccgccc ccctgacgag catcacaaaa  
6661 atcgacgctc aagtcagagg tggcgaacc cgacaggact ataaagatac caggcgtttc  
6721 cccctggaag ctccctcgtg cgctctcctg ttccgaccct gccgcttacc ggatacctgt  
6781 ccgcctttct ccctcggga agcgtggcgc tttctcatag ctcacgctgt aggtatctca  
6841 gttcgggtgta ggtcgttcgc tccaagctgg gctgtgtgca cgaaccccc gttcagcccg  
6901 accgctgcbc cttatccggt aactatcgtc ttgagtcaa cccggtaga cagcattat  
6961 cgccactggc agcagocact ggtaacagga ttagcagagc gaggtatgta ggoggtgcta  
7021 cagagttctt gaagtgggtg cctaactacg gctacactag aaggacagta tttggtatct  
7081 gcgctctgct gaagccagtt acctcggaa aaagagttgg tagctcttga tccggcaaac  
7141 aaaccaccgc tggtagcggg gtttttttg tttgcaagca gcagattacg cgcagaaaaa  
7201 aaggatctca agaagatcct ttgatcttt ctacggggtc tgacgctcag tggaacgaaa  
7261 actcacgtta agggattttg gtcatgagat tatcaaaaag gatcttcacc tagatccttt  
7321 taaattaaaa atgaagtttt aatcaatct aaagtatata tgagtaaact tggcttgaca  
7381 gttaccaatg cttaatcagt gaggcaccta tctcagcgat ctgtctattt cgttcatcca  
7441 tagttgcctg actccccgtc gtgtagataa ctacgatacg ggagggtta ccatctggcc  
7501 ccagtgcctg aatgataccg cgagaccac gctcaccgac tccagattta tcagcaataa  
7561 accagccagc cggaagggcc gagcgcagaa gtggtcctgc aactttatcc gcctccatcc

7621 agtctattaa ttgttgccgg gaagctagag taagtagttc gccagttaat agtttgcgca  
 7681 acgttgttgc cattgtaca ggcacgtgg tgtcacgctc gtcgtttggt atggcttcat  
 7741 tcagctccgg ttccaacga tcaaggcgag ttacatgac ccccatgttg tgcaaaaaag  
 7801 cggttagctc cttcggctct ccgatcgttg tcagaagtaa gttggccgca gtgttatcac  
 7861 tcatggttat ggcagcactg cataattctc ttactgtcat gccatccgta agatgctttt  
 7921 ctgtgactgg tgagtactca accaagtcac tctgagaata gtgtatgagg cgaccgagtt  
 7981 gctottgccc ggcgtaata cgggataata ccgcgccaca tagcagaact ttaaaagtgc  
 8041 tcatcattgg aaaacgttct tcggggcgaa aactctcaag gatcttaccg ctgttgagat  
 8101 ccagttcgat gtaaccact cgtgcacca actgatcttc agcatctttt actttcacca  
 8161 gcgtttctgg gtgagcaaaa acaggaaggc aaaatgccgc aaaaaagga ataagggcga  
 8221 cacggaaatg ttgaatactc atactcttc ttttcaata ttattgaagc atttatcagg  
 8281 gttattgtct catgagcggg tacatatttg aatgtattta gaaaaataa caaatagggg  
 8341 ttccgcgcac atttccccga aaagtccac ctgacgtcta agaaaccatt attatcatga  
 8401 cattaacctt taaaatagg cgtatcacga ggccctttcg tctcgcgctt ttcggtgatg  
 8461 acggtgaaaa cctctgacac atgcagctcc cggagacggt cacagcttgt ctgtaagcgg  
 8521 atgccgggag cagacaagcc cgtcagggcg cgtcagcggg tgttgccggg tgtcggggct  
 8581 ggcttaacta tgcggcatca gagcagattg tactgagagt gcaccatag cgggtgtgaa  
 8641 taccgcacag atgcgtaagg agaaaatacc gcacagggcg ccattcgcca ttcaggctgc  
 8701 gcaactgttg ggaagggcga tcggtgcggg cctcttcgct attacgccag ctggcgaaag  
 8761 ggggatgtgc tgcaaggcga ttaagttggg taacgccagg gtttccag tcacgacgtt  
 8821 gtaaaacgac ggccagtgcc aagctg.

***p526A\_19BBZ*** (SEQ ID NO: 10)

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca  
 61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcacgcca ttggtggaag taaggtggtg  
 121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga  
 181 attgcgcac tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct ogatacaata aacgggtctc  
 241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac cactgctta  
 301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact  
 361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg  
 421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaaggga accagagctc tctcagcga ggactcggct  
 481 tgcgtaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt  
 541 gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag  
 601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaagaaaa aatataaatt  
 661 aaaacatata gtatgggcaa gcaggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt

721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaag  
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag  
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg  
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
1021 caccacacaa ggcaaagaga agagtgggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
1081 ctttgttctc tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcg tcaatgacgc  
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtga gcagcagaac aatttgctga  
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc  
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
1381 aatctctgga acagatttgg aatcacacga cctggatgga gtgggacaga gaaattaaca  
1441 attacacaag cttataacac tccttaattg aagaatcgca aaaccagcaa gaaaagaatg  
1501 aacaagaatt attggaatta gataaatggg caagtttgtg gaattggttt aacataacaa  
1561 attggctgtg gtatataaaa ttattcataa tgatagtagg aggcttgta ggtttaagaa  
1621 tagtttttgc tgtactttct atagtgaata gagttaggca gggatattca ccattatcgt  
1681 ttcagacca cctccaacc cggaggggac ccgacaggcc cgaaggaata gaagaagaag  
1741 gtggagagag agacagagac agatccattc gattagtga cggatctcga cggtatcggg  
1801 taacttttaa aagaaaaggg gggattgggg ggtacagtgc aggggaaaga atagtagaca  
1861 taatagcaac agacatacaa actaaagaat tacaanaaca aattacaaa ttcaaaattt  
1921 tatogatact agtggatctg cgatcgctcc ggtgcccgtc agtgggcaga gcgcacatcg  
1981 cccacagtcc ccgagaagtt ggggggaggg gtcggcaatt gaacgggtgc ctagagaagg  
2041 tggcgcgggg taaactggga aagtgatgtc gtgtactggc tccgcctttt tccgagggt  
2101 gggggagaac cgtatataag tgcaagtagc gccgtgaacg ttctttttcg caacgggttt  
2161 gccgccagaa cacagctgaa gcttcgaggg gctcgcactc ctcttcacg cggccgccgc  
2221 cctacctgag gccgccatcc acgccggtg agtcgcgttc tgccgcctcc cgcctgtggt  
2281 gcctoctgaa ctgcgtccgc cgtctagta agtttaaagc tcaggtcgag accgggcctt  
2341 tgtccggcgc tcccttgag cctacctaga ctacgccgc tctccacgt ttgcctgacc  
2401 ctgcttgctc aactctactc ctttgtttog ttttctgtc tgccgcgta cagatccaag  
2461 ctgtgaccgg cgcctactct agagccgcca ccatggccct gcctgtgaca gctctgctgc  
2521 tgccctggc cctgctgctc catgccgcca gaccgatat ccagatgacc cagaccacca  
2581 gcagcctgag cgcagcctg ggcgatagag tgaccatcag ctgccgggc agccaggaca  
2641 tcagcaagta cctgaactgg tatcagcaga aaccgacgg caccgtgaag ctgctgatct  
2701 accacaccag cagactgcac agcggcgtgc ccagcagatt ttctggcagc ggctccggca

2761 ccgactacag cctgaccatc tccaacctgg aacaggaaga tatcgctacc tacttctgtc  
 2821 agcaaggcaa caccctgccc tacaccttog gcggaggcac caagctggaa atcacaggcg  
 2881 gcggaggatc tggcggaggt ggaagtggcg gaggcggcag cgaagtgaaa ctgcaggaaa  
 2941 gcggccctgg cctgggtggc ctttctcagt ctctgtccgt gacctgtacc gtgtccggcg  
 3001 tgtccctgcc cgattatggc gtgtcctgga tccggcagcc tcccagaaag ggcctggaat  
 3061 ggctgggctg gatctggggc agcgagacaa cctactacaa cagcggcctg aagtcccggc  
 3121 tgaccatcat caaggacaac tccaagagcc aggtgttcct gaagatgaac agcctgcaga  
 3181 ccgaogacac cgccatctac tactgcgcca agcactacta ctacggcggc agctacgcca  
 3241 tggactactg gggccagggc accagcgtga ccgtgtctag cacaaccacc cctgcccccta  
 3301 gacctccac cccagcccca acaattgcca gccagcctct gtctctgagg cccgaagctt  
 3361 gtagacctgc tgccggcgga gccgtgcaca ccagaggact ggatttcgcc tgcgacatct  
 3421 acatctgggc ccctctggcc ggcacatgtg gcgtgctgct cctcagcctg gtcacaccc  
 3481 tgtactgcaa gcggggcaga aagaaactgc tctacatctt caagcagccc ttcacgaggc  
 3541 ccgtgcagac cacacaggaa gaggacggct gctcctgcag attccccgag gaagaagaag  
 3601 gcggctgcga gctgagagtg aagttcagca gatccgcca cgcccctgcc taccagcagg  
 3661 gacagaacca gctgtacaac gagctgaacc tgggcagacg ggaagagtac gacgtgctgg  
 3721 acaagcggag aggcagagat cccgagatgg gcggcaagcc cagacggaag aatccccagg  
 3781 aaggcctgta taacgaactg cagaaagaca agatggccga ggcctacagc gagatcggaa  
 3841 tgaagggcga gcggagaaga ggcaagggcc acgatggcct gtaccagggc ctgagcaccg  
 3901 ccaccaagga cacctacgat gccctgcaca tgcaggccct gccaccaga gaattcgaag  
 3961 gatccgaggc cgctgagggc agaggaagtc ttctaactg cggtgacgtg gaggagaatc  
 4021 ccggcccttc cggaatggag agcgacgaga gcggcctgcc cgccatggag atcgagtgcc  
 4081 gcatcaccgg caccctgaac ggctgtggagt tcgagctggt gggcggcgga gagggcaccc  
 4141 ccaagcaggc ccgcatgacc aacaagatga agagcaccaa aggcggcctg accttcagcc  
 4201 cctacctgct gagccacgtg atgggctacg gcttctacca cttcggcacc taccacagc  
 4261 gctacgagaa ccccttctg cagccatca acaacggcgg ctacaccaac acccgcatcg  
 4321 agaagtacga ggacggcggc gtgctgcaog tgagcttcag ctaccgctac gaggccggcc  
 4381 gcgtgatcgg cgacttcaag gtggtgggca ccggcttccc cgaggacagc gtgatcttca  
 4441 ccgacaagat catccgcagc aacgccaccg tggagcacct gcaccccatg ggcgataacg  
 4501 tgctggtggg cagcttcgcc cgcacctca gcctgogcga cggcggctac tacagcttcg  
 4561 tgggtggacag ccacatgcac ttcaagagcg ccatccacc cagcatcctg cagaacgggg  
 4621 gccccatgtt cgcttcgcgc cgcgtggagg agctgcacag caacaccgag ctgggcatcg  
 4681 tggagtacca gcacgocctc aagaccccca tcgccttcgc cagatcccgc gctcagtcgt  
 4741 ccaattctgc cgtggacggc accgccggac ccggctccac cggatctcgc tagagctgaa

4801 tctaagtcca caatcaacct ctggattaca aaatttga aagattgact ggtattctta  
4861 actatgttgc tccttttaag ctatgtgat acgctgcttt aatgcctttg tatcatgcta  
4921 ttgcttcccg tatggctttc attttctoct ccttgtataa atcctgggtg ctgtctcttt  
4981 atgaggagt gtggccggt gtcaggcaac gtggcgtggt gtgcaactgt tttgctgacg  
5041 caacccccac tggttggggc attgccacca cctgtcagct cctttccggg actttcgctt  
5101 tccccctccc tattgccacg gcggaactca tcgccgctg ccttgcccgc tgctggacag  
5161 gggctcggct gttgggcaact gacaattcog tgggtttgtc ggggaaatca togtcctttc  
5221 cttggctgct cgctgtgtt gccacctgga ttctgocggg gacgtccttc tgctacgtcc  
5281 cttggccct caatccagcg gaccttctt cccgocggct gctgocggct ctgocggcctc  
5341 ttccgctct tcgcttccg cctcagacga gtcggatctc cctttgggccc gctccccgc  
5401 ctggtacct taagaccaat gacttacaag gcagctgtag atcttagcca ctttttaaaa  
5461 gaaaaggggg gactggaagg gctaattcac tcccaacgaa aataagatct gctttttgct  
5521 tgtactgggt ctctctggt agaccagatc tgagcctggg agctctctgg ctaactaggg  
5581 aaccactgc ttaagcctca ataaagctt ccttgagtgc ttcaagtagt gtgtgcccgt  
5641 ctgtttgtg actctggtta ctagagatcc ctgagaccct tttagtcagt gtggaaaatc  
5701 tctagcagta gtagttcatg tcacttatt attcagtatt tataacttgc aaagaaatga  
5761 atatcagaga gtgagaggaa cttgtttatt gcagcttata atggttaca ataaagcaat  
5821 agcatcacia atttcacia taaagcattt ttttactgc attctagttg tggtttctcc  
5881 aaactcatca atgtatctta tcatgtctg ctctagctat cccgccccta actccgccc  
5941 gttccgccc ttctccgccc catggctgac taatttttt tatttatgca gaggccgagg  
6001 ccgctcggc ctctgagcta ttccagaagt agtgaggagg cttttttgga ggcctagact  
6061 tttgagaga cggcccaaat tcgtaatcat ggtcatagct gtttctgtg tgaattgtt  
6121 atccgctcac aattccacac aacatacag cgggaagcat aaagtgtaaa gctgggggtg  
6181 cctaatgagt gagctaactc acattaattg cgttgcgctc actgcccgtt ttccagtcgg  
6241 gaaacctgtc gtgccagctg cattaatgaa tcggccaacg cgcggggaga ggcggtttgc  
6301 gtattgggcg ctctccgct tcctcgtca ctgactcgtc gcgctcggc gttcggctgc  
6361 ggcgagcgg atcagctcac tcaaaggcgg taatacgggt atccacagaa tcaggggata  
6421 acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg  
6481 cgttgcctgc gttttccat aggctccgccc cccctgacga gcatcaciaa aatcgacgt  
6541 caagtcagag gtggcgaac ccgacaggac tataaagata ccaggcgtt ccccctggaa  
6601 gctcccctgt gcgctctct gttccgaccc tgccgcttac cggatacctg tccgcctttc  
6661 tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc agttcgggtg  
6721 aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgcg  
6781 ccttatccgg taactatcgt cttgagtcca acccgtaag acacgactta tcgccactgg

6841 cagcagccac tgtaacagg attagcagag cgaggtatgt aggcggtgct acagagttct  
 6901 tgaagtgggtg gcctaactac ggctacacta gaaggacagt atttggatc tgcgctctgc  
 6961 tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg atccggcaaa caaaccaccg  
 7021 ctggtagcgg tggttttttt gtttgcaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc  
 7081 aagaagatcc tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca gtggaacgaa aactcacgtt  
 7141 aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctagatcctt ttaaattaa  
 7201 aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat  
 7261 gcttaatcag tgaggcacct atctcagoga tctgtctatt tcgttcatcc atagttgcct  
 7321 gactccccgt cgtgtagata actacgatac gggagggtt accatctggc cccagtgtg  
 7381 caatgatacc gcgagacca cgctcaccgg ctccagattt atcagcaata aaccagccag  
 7441 ccggaagggc cgagcgcaga agtggtcctg caactttatc cgcctccatc cagtctatta  
 7501 attgttgccg ggaagctaga gtaagtagtt cgccagttaa tagtttgccg aacgttggtg  
 7561 ccattgctac aggcatcgtg gtgtcacgct cgtcgtttgg tatggcttca ttcagctccg  
 7621 gttcccaacg atcaaggcga gttacatgat ccccatggt gtgcaaaaaa gcggttagct  
 7681 ccttcgggtcc tccgatcgtt gtcagaagta agttggccgc agtgttatca ctcatggta  
 7741 tggcagcact gcataattct cttactgtca tgccatccgt aagatgcttt tctgtgactg  
 7801 gtgagtactc aaccaagtca ttctgagaat agtgtatgcg gcgaccgagt tgctcttgcc  
 7861 cggcgtcaat acgggataat accgcgccac atagcagaac tttaaaagtg ctcatcattg  
 7921 gaaaacgttc ttcggggcga aaactctcaa ggatcttacc gctgttgaga tccagttcga  
 7981 tgtaaccac tcgtgcacc aactgatctt cagcatcttt tactttcacc agcgtttctg  
 8041 ggtgagcaaa aacaggaagg caaatgccg caaaaaagg aataaggcg acacggaaat  
 8101 gttgaatact catactcttc ctttttcaat attattgaag catttatcag gttattgtc  
 8161 tcatgagcgg atacatattt gaatgtattt agaaaaataa acaaataggg gttccgcgca  
 8221 catttccccg aaaagtcca cctgacgtct aagaaacct tattatcatg acattaacct  
 8281 ataaaaatag gcgtatcacg aggccctttc gtctcgcgcg tttcggatg gacggtgaaa  
 8341 acctctgaca catgcagctc ccggagacgg tcacagcttg tctgtaagcg gatgccggga  
 8401 gcagacaagc ccgtcagggc gcgtcagcgg gtgttgccgg gtgtcggggc tggcttaact  
 8461 atgcggcatc agagcagatt gtactgagag tgcaccatat gcggtgtgaa ataccgcaca  
 8521 gatgcgtaag gagaaaatac cgcatcagc gccattcgcc attcaggctg cgcaactgtt  
 8581 gggaagggcg atcgggtcgg gcctcttgcg tattacgcca gctggcgaaa ggggatgtg  
 8641 ctgcaaggcg attaagttgg gtaacgccag gtttttcca gtcacgacgt tgtaaacga  
 8701 cggccagtgc caagctg.

### Конструкции TFP (TRuC)

*p510\_antiCD19\_LL\_TCRalpha* (SEQ ID NO: 11)

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca  
61 acatgcotta caaggagaga aaaagcacog tgcattgccga ttggtggaag taaggtggtg  
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga  
181 attgcogcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc  
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccaactgctta  
301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgttc aagtagtggtg tgcccgtctg ttgtgtgact  
361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg  
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaaggga accagagctc tctcgacgca ggactcggct  
481 tgcgtaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt  
541 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag  
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt  
661 aaaacatata gtatgggcaa gcaggagctc agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt  
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcattcaag  
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag  
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatattgagg  
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
1021 caccaccaa ggcaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
1081 ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgagcc tcaatgacgc  
1141 tgacgttaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtcca gcagcagaac aatttctgta  
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcctc aagcagctcc  
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa  
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga  
1501 acaagaatta ttggaattag ataatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa  
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat  
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt  
1681 tcagaccacac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt  
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtcca ggggaaagaa tagtagacat  
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt  
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca  
1981 tctacgtatt agtcacgctc attaccatgg tgatgcgggtt ttggcagtac atcaatgggc



2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga  
2101 gtttgttttg gcacaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat  
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag  
2221 tgaaccgtca gatcgctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct  
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca  
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct  
2401 ctgggagaca gagtcccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat  
2461 tggatcagc agaaaccaga tggaaactgt aaactcctga tctaccatac atcaagatta  
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc  
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt  
2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc  
2701 aagcccgat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct  
2761 ggctgtgtg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta  
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgcag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga  
2881 gtaatattgg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc  
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagtttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac  
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacgggtg gtagctatgc tatggactac  
3061 tgggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggcog caattgaagt tatgtatctt  
3121 cctccttacc taggtggcgg cgttctggt ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc  
3181 gaggtgaatg gagagaatgt ggagcagcat cttcaacc tgagtgtcca ggaggagac  
3241 agcgtgtta tcaagtgtac ttattcagac agtgcctcaa actacttccc ttggtataag  
3301 caagaacttg gaaaaagacc tcagcttatt atagacattc gttcaaatgt ggcgaaaag  
3361 aaagaccaac gaattgctgt tacattgaac aagacagcca aacatttctc cctgcacatc  
3421 acagagaccc aacctgaaga ctcggctgtc tacttctgtg cagcaagtag gaaggactct  
3481 gggggttacc agaaagttac ctttgaact ggaacaaagc tccaagtcat cccaaatatac  
3541 cagaaccctg accctgocgt gtaccagctg agagactcta aatccagtga caagtctgtc  
3601 tgctattca ccgattttga ttctcaaaca aatgtgtcac aaagtaagga ttctgatgtg  
3661 tatatcacag acaaaactgt gctagacatg aggtctatgg acttcaagag caacagtgtc  
3721 gtggcctgga gcaacaaatc tgactttgca tgtgcaaagc cttcaacaa cagcattatt  
3781 ccagaagaca ctttctccc cagcccagaa agttcctgtg atgtcaagct ggtcgagaaa  
3841 agctttgaaa cagatacga cctaaacttt caaacctgt cagtgattgg gttccgaatc  
3901 ctctctctga aagtggcgg gtttaatotg ctcatgacgc tgcggctgtg gtccagctga  
3961 taagaattcg atccgoggcc gcgaaggatc tgcgatcgt ccggtgccc tcagtgggca  
4021 gagcgcacat cgcacacagt ccccgagaag ttggggggag ggtcggcaa ttgaacgggt

4081 gcctagagaa ggtggcgcgg ggtaaactgg gaaagtgatg tcgtgtactg gctccgcctt  
4141 tttcccaggg gtgggggaga accgtatata agtgcagtag tcgccgtgaa cgtttttttt  
4201 cgcaacgggt ttgccgccag aacacagctg aagcttcgag gggctcgcac ctctccttca  
4261 cgcgcccgcc gccctacctg aggccgccat ccacgccggt tgagtgcgct tctgccgcct  
4321 ccgcctgtg gtgcctctg aactgcgtcc gccgtctagg taagtttaaa gctcaggtcg  
4381 agaccgggcc tttgtccggc gctcccctgg agcctaccta gactcagccg gctctccacg  
4441 ctttgccctga ccctgcttgc tcaactctac gtctttgttt cgttttctgt tctgcccgt  
4501 tacagatcca agctgtgacc ggcgccctag ctagatgacc gagtacaagc ccacgggtgcg  
4561 cctcgcacc cgcgacgacg tccccagggc cgtacgcacc ctccgcccg cgttcgccga  
4621 ctaccccgcc acgcgccaca ccgtcgatcc ggaccgccac atcgagcggg tcaccgagct  
4681 gcaagaactc ttctcaagc gcgtcgggct cgacatcggc aaggtgtggg tcgcccagca  
4741 cggcgcgcgc gtggcggctt ggaccacgcc ggagagcgtc gaagcggggg cgggtttcgc  
4801 cgagatcggc ccgcgcatgg ccgagttgag cggttcccgg ctggccgcgc agcaacagat  
4861 ggaaggcctc ctggcggcgc accggcccaa ggagcccgcg tggttcctgg ccaccgtcgg  
4921 cgtctcggcc gaccaccagg gcaagggtct gggcagcgcg gtcgtgctcc ccggagtgga  
4981 ggccggccgag cgcgcccggg tgcccgcctt cctggagacc tccgcgcccc gcaacctccc  
5041 cttctacgag cggctcggct tcaccgtcac cgcggacgtc gaggtgcccg aaggaccgcg  
5101 cacctggtgc atgaccgca agcccgggtc ctgagtcgac aatcaacctc tggattacaa  
5161 aatttgtgaa agattgactg gtattcttaa ctatgttctt ctttttacgc tatgtggata  
5221 cgctgcttta atgcctttgt atcatgctat tgcttcccgt atggctttca ttttctctc  
5281 cttgtataaa tcctggttgc tgtctcttta tgaggagttg tggcccgttg tcaggcaacg  
5341 tggcgtggtg tgcaactgtg ttgctgacgc aacccccact ggttggggca ttgccaccac  
5401 ctgtcagctc ctttcggga ctttcgctt cccctccct attgccacgg cggaaactcat  
5461 cgcgcctgc cttgccgct gctggacagg ggctcggctg ttgggactg acaattcgt  
5521 ggtgttctg gggaaatcat cgtcctttcc ttggctgctc gcctgtgttg ccacctggat  
5581 tctgcgcggg acgtccttct gctacgtccc ttcggccctc aatccagcgg accttcctc  
5641 ccgcggcctg ctgcggctc tgcggcctct tccgctctt cgccttcgcc ctccagacgag  
5701 tcggatctcc ctttggccg cctcccgcc tggctacctt aagaccaatg acttacaagg  
5761 cagctgtaga tcttagccac ttttaaaaag aaaagggggg actggaaggg ctaattcact  
5821 cccaacgaaa ataagatctg ctttttgctt gtactgggct tctctggta gaccagatct  
5881 gagcctggga gctctctggc taactagga acccactgct taagcctcaa taaagcttgc  
5941 cttgagtgct tcaagtagt tgtgccgctc tgttgtgta ctctggtaac tagagatccc  
6001 tcagaccctt ttagtcagtg tggaaaatct ctagcagtag tagttcatgt catcttatta  
6061 ttcagtattt ataacttga aagaaatgaa tatcagagag tgagaggaac ttgtttattg

6121 cagcttataa tggttacaaa taaagcaata gcatcacaaa tttcacaat aaagcatttt  
6181 tttcaactgca ttctagttgt ggtttgtoca aactcatcaa tgtatcttat catgtctggc  
6241 tctagctatc ccgcccctaa ctccgcccag ttccgcccac tctccgcccc atggctgact  
6301 aatTTTTTTTT atttatgcag aggccgaggc cgcctcggcc tctgagctat tccagaagta  
6361 gtgaggaggc ttttttggag gcctagactt ttgcagagac ggcccaaatt cgtaatcatg  
6421 gtcatagctg tttcctgtgt gaaattgtta tccgctcaca attccacaca acatacgagc  
6481 cggaaagcata aagtgtaaag cctgggggtgc ctaatgagtg agctaactca cattaattgc  
6541 gttgogctca ctgcccgtt tccagtcggg aaacctgtcg tgccagctgc attaataat  
6601 cggccaacgc gcggggagag gcggtttgog tattgggogc tcttccgctt cctcgtctac  
6661 tgactcgtcg cgctcggctg ttcggctcgc gcgagcggta tcagctcact caaaggcgg  
6721 aatacggtta tccacagaat caggggataa cgcaggaaag aacatgtgag caaaaggcca  
6781 gcaaaaggcc aggaaccgta aaaaggccgc gttgctggcg tttttcata ggctccgccc  
6841 ccctgacgag catcacaaaa atcgacgctc aagtcagagg tggcgaacc cgacaggact  
6901 ataaagatac caggcgtttc cccctggaag ctccctcgtg cgctctcctg ttccgacct  
6961 gccgcttacc ggatacctgt ccgctttct cccctcggga agcgtggcgc tttctcatag  
7021 ctcaagctgt aggtatctca gttcgggtga ggtcgttcgc tccaagctgg gctgtgtgca  
7081 cgaaccccc gttcagccc accgctcgc cttatccgg aactatcgtc ttgagtcaa  
7141 ccogtaaga cagacttat cgcactggc agcagccact ggtaacagga ttagcagagc  
7201 gaggtatgta ggcggtgcta cagagtctt gaagtgtgg cctaactac gctacactag  
7261 aaggacagta tttggtatct gcgctctgct gaagccagt accttcggaa aaagagttg  
7321 tagctcttga tccggcaaac aaaccaccgc tggtagcggg ggttttttg tttgcaagca  
7381 gcagattacg cgcagaaaaa aaggatctca agaagatcct ttgatcttt ctacggggc  
7441 tgacgctcag tggaacgaaa actcacgta agggattttg gtcagagat tatcaaaaag  
7501 gatcttcacc tagatcttt taaattaa atgaagttt aatcaatct aaagtatata  
7561 tgagtaaact tggctgaca gttaccaatg cttaatcagt gaggcaccta tctcagcgt  
7621 ctgtctatct cgttcacca tagttgctg actccccgc gtgtagataa ctacgatac  
7681 ggagggtta ccatctggcc ccagtctgc aatgataccg cgagaccac gctcaccggc  
7741 tccagattta tcagcaataa accagccagc cggaaaggcc gagcgagaa gtggtcctgc  
7801 aactttatcc gcctccatcc agtctattaa ttgttccgg gaagctagag taagtagttc  
7861 gccagttaat agtttgcga acgttgttc cattgctaca ggcatcgtg gtgcagctc  
7921 gtcgtttggt atggctcat tcagctccg ttccaacga tcaaggcgag ttacatgatc  
7981 cccatggtg tgcaaaaaag cgttagctc cttcgtctc ccgatcgtt tcagaagtaa  
8041 gttggccgca gtgtatcac tcatggtat ggcagcactg cataattctc ttactgtcat  
8101 gccatccgta agatgctttt ctgtgactgg tgagtactca accaagtcac tctgagaata

8161 gtgtatgCGG cgaccgagtt gctcttgccc ggcgtcaata cgggataata cgcgcccaca  
 8221 tagcagaact ttaaaagtgc tcatcattgg aaaacgttct tcggggcgaa aactctcaag  
 8281 gatcttaccg ctgttgagat ccagttcgat gtaaccact cgtgcacca actgatcttc  
 8341 agcatctttt actttcacca gcgtttctgg gtgagcaaaa acaggaaggc aaaatgccgc  
 8401 aaaaaaggga ataaggcgca cacggaaatg ttgaatactc atactcttcc tttttcaata  
 8461 ttattgaagc atttatcagg gttattgtct catgagcggg tacatatttg aatgtattta  
 8521 gaaaaataaa caaatagggg ttccgcgcac atttccccga aaagtgccac ctgacgtcta  
 8581 agaaaccatt attatcatga cattaaccta taaaaatagg cgtatcacga ggocctttcg  
 8641 tctcgcgcgt ttccgtgatg acggtgaaaa cctctgacac atgcagctcc cggagacggt  
 8701 cacagcttgt ctgtaagcgg atgccgggag cagacaagcc cgtcagggcg cgtcagcggg  
 8761 tgttgccggg tgcggggct ggcttaacta tgcggcatca gagcagattg tactgagagt  
 8821 gcaccatatg cgggtgtgaaa taccgcacag atgcgtaagg agaaaatacc gcatcaggcg  
 8881 ccattcgcca ttcaggctgc gcaactgttg ggaaggcgca tcgggtcggg cctcttcgct  
 8941 attacgccag ctggcgaag ggggatgtgc tgcaaggcga ttaagttggg taacgccagg  
 9001 gttttccag tcacgacgtt gtaaacgcac ggccagtgcc aagctg.

***p510\_antiCD19\_LL\_TCRalphaC*** (SEQ ID NO: 12)

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca  
 61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattccga ttggtggaag taagggtgta  
 121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga  
 181 attgcccat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc  
 241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccaactgctta  
 301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgcctc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact  
 361 ctggttaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg  
 421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaaggga accagagctc tctcgacgca ggactcggct  
 481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatfff  
 541 gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agogggggag  
 601 aattagatcg cgtgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt  
 661 aaaacatata gtatgggcaa gcaggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt  
 721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
 781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcattcaag  
 841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag  
 901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatattgagg  
 961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
 1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag

1081 ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgagcc tcaatgacgc  
1141 tgacgttaca ggcagacaa ttattgtctg gtatagtca gcagcagaac aatttgtga  
1201 gggctattga ggcgaacag catctgttg aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc  
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
1321 gttgctcttg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa  
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga  
1501 acaagaatta ttggaattag ataatgggc aagtttgttg aattggttta acataacaaa  
1561 ttggctgttg tatataaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat  
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt  
1681 tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt  
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtca ggggaaagaa tagtagacat  
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaat tcaaaatttt  
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact tggcagtaca  
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc  
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga  
2101 gtttgttttg gcacaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat  
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag  
2221 tgaaccgtca gatcgcttg agacgccatc cacgctgttt tgacctcat agaagattct  
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca  
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct  
2401 ctgggagaca gagtccatc cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat  
2461 tggatcagc agaaaccaga tggaactggt aaactcctga tctaccatac atcaagatta  
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc  
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt  
2641 cgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc  
2701 aagcccgat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct  
2761 ggcctggttg cgcctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta  
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattgccag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga  
2881 gtaatattggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc  
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagtttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac  
3001 acagocattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac  
3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcgccg caattgaagt tatgtatcct

3121 cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcggcgggt ctggtggcgg cggttctctc  
3181 gagccaaata tccagaacco tgacctgcc gtgtaccagc tgagagactc taaatccagt  
3241 gacaagtctg tctgcctatt caccgatttt gattctcaaa caaatgtgtc acaaagtaag  
3301 gattctgatg tgtatatcac agacaaaact gtgctagaca tgaggtctat ggacttcaag  
3361 agcaacagtg ctgtggcctg gagcaacaaa tctgactttg catgtgcaaa cgccttcaac  
3421 aacagcatta ttccagaaga caccttcttc cccagcccag aaagttcctg tgatgtcaag  
3481 ctggtcgaga aaagctttga aacagatacg aacctaaact ttcaaacct gtcagtgatt  
3541 gggttccgaa tctcctcct gaaagtggcc gggtttaatc tgctcatgac gctgcccgtg  
3601 tggtcagct gataagaatt cgatccggg ccgcaagga tctgcatcg ctccgggtgcc  
3661 cgtcagtggg cagagcgcac atcgcccaca gtccccgaga agttgggggg aggggtcggc  
3721 aattgaacgg gtgcctagag aaggtggcgc ggggtaaact gggaaagtga tgtcgtgtac  
3781 tggctccgcc ttttcccgga ggggtggggga gaaccgtata taagtgcagt agtcgccgtg  
3841 aacgttcttt ttcgcaacgg gtttccgcc agaacacagc tgaagcttcg aggggctcgc  
3901 atctctcctt cacgcgcccg ccgcccacc tgaggccgcc atccacgcc gttgagtcgc  
3961 gttctgccgc ctcccgcctg tggtcctcc tgaactgctt ccgccccta ggtaagttta  
4021 aagctcaggt cgagaccggg ctttgtccg gcgctccctt ggagcctacc tagactcagc  
4081 cggctctcca cgctttgcct gacctgctt gctcaactct acgtctttgt ttcgttttct  
4141 gttctgccgc gttacagatc caagctgtga ccggcgccta cgctagatga ccgagtacaa  
4201 gccacaggtg cgcctcgcca cccgcgacga cgtcccagg gccgtacgca ccctcgccgc  
4261 cgcgttcgcc gactaccccg ccacgcgcca caccgtgat ccggaccgcc acatcgagcg  
4321 ggtcaccgag ctgcaagaac tcttctcac gcgcgtcggg ctcgacatcg gcaaggtgtg  
4381 ggtcgaggac gacggcgcg cgggtggcgt ctggaccacg ccggagagcg tcgaagcggg  
4441 ggcggtgttc gccgagatcg gcccgcat ggccgagttg agcggttccc ggctggccgc  
4501 gcagcaacag atggaaggcc tcttggcgc gcaccggccc aaggagccc cgtggttctt  
4561 ggccaccgtc ggcgtctcgc ccgaccacca gggcaagggt ctgggcagcg ccgtcgtgct  
4621 ccccgagtg gaggcggccg agcgcgccg ggtgcccgc ttctggaga cctccgcgcc  
4681 ccgcaacctc cccttctacg agcggctcgg cttaccgtc accgcccagc togaggtgcc  
4741 cgaaggaccg cgcacctggt gcatgaccg caagcccgtt gcctgagtcg acaatcaacc  
4801 tctggattac aaaatttgtg aaagattgac tggattctt aactatgttg ctocctttac  
4861 gctatgtgga tacgtgctt taatgcctt gtatcatgct attgcttccc gtatggcttt  
4921 cattttctcc tcttgtata aatcctggtt gctgtctctt tatgaggagt tgtggcccgt  
4981 tgtcaggcaa cgtggcgtg tgtgcaactg gtttctgac gcaaccccca ctggttggg  
5041 cattgccacc acctgtcagc tctttccgg gactttcgt ttccccctc ctattgccac  
5101 ggcggaactc atcgccgct gccttggccg ctgctggaca ggggctcggc tgttgggcac

5161 tgacaattcc gtggtgttgt cggggaaatc atcgtccttt ccttggctgc tcgcctgtgt  
5221 tgccacctgg attctgogcg ggacgtcctt ctgctacgtc ccttcggccc tcaatccagc  
5281 ggaccttctt tcccggggcc tgctgccggc tctgccgcct cttccgctc ttcgccttcg  
5341 ccctcagacg agtcggatct ccctttgggc cgcctccccg cctggtacct ttaagaccaa  
5401 tgacttaciaa ggcagctgta gatcttagcc actttttaaa agaaaagggg ggactggaag  
5461 ggctaattca ctccaacga aaataagatc tgccttttgc ttgtactggg tctctctggt  
5521 tagaccagat ctgagcctgg gagctctctg gctaactagg gaaccactg ctttaagcctc  
5581 aataaagctt gccttgagtg cttcaagtag tgtgtgcccg tctgttgtgt gactctggta  
5641 actagagatc cctcagaccc ttttagtcag tgtggaaaat ctctagcagt agtagttcat  
5701 gtcactttat tattcagtat ttataacttg caaagaaatg aatatcagag agtgagagga  
5761 acttgtttat tgcagcttat aatggttaca aataaagcaa tagcatcaca aatttcacia  
5821 ataaagcatt ttttccactg cattctagtt gtggtttgtc caaactcatc aatgtatctt  
5881 atcatgtctg gctctagcta tcccggccct aactccggcc agttccggcc attctccggc  
5941 ccattggctga ctaatttttt ttatttatgc agaggccgag gccgcctcgg cctctgagct  
6001 attccagaag tagtgaggag gcttttttgg aggccctagac ttttgagag acggcccaaa  
6061 ttcgtaatca tggctatagc tgtttcctgt gtgaaattgt tatccgctca caattccaca  
6121 caacatacga gccggaagca taaagtgtaa agcctggggg gcctaagtag tgagctaact  
6181 cacattaatt gcgttgogct cactgcccgc tttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagct  
6241 gcattaatga atcggccaac gcgcggggag aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc  
6301 ttctctgctc actgactcgc tgcgctcggg cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca  
6361 ctcaaaggcg gtaatacggg tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg  
6421 agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca  
6481 taggctccgc ccccctgacg agcatcacia aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa  
6541 cccgacagga ctataaagat accaggcgtt tcccctgga agctccctcg tgogctctcc  
6601 tgttccgacc ctgccgctta ccggatacct gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc  
6661 gcttttctcat agctcagct gtaggtatct cagttcgggt taggtcgttc gctccaagct  
6721 gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg  
6781 tcttgagtcc aaccggtaa gacacgactt atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag  
6841 gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc tacagagttc ttgaagtggg ggcoctaacta  
6901 cggctacact agaaggacag tatttggat ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg  
6961 aaaaagagtt gtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt  
7021 tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt  
7081 ttctacgggg tctgacgctc agtggaaacga aaactcacgt taagggattt tggctatgag  
7141 attatcaaaa aggatcttca cctagatcct tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat

7201 ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc  
 7261 tatctcagcg atctgtctat ttcgttcato catagttgcc tgactccccg togtgtagat  
 7321 aactacgata cgggagggct taccatctgg cccagtgct gcaatgatac cgcgagaccc  
 7381 acgctcaccg gctccagatt tatcagcaat aaaccagcca gccggaaggg ccgagcgcag  
 7441 aagtggctct gcaactttat ccgcctccat ccagctctatt aattgttgcc gggaagctag  
 7501 agtaagtagt tcgccagtta atagtttgog caacgttggt gccattgcta caggcatcgt  
 7561 ggtgtcacgc tcgtcgtttg gtatggcttc attcagctcc ggttcccaac gatcaaggcg  
 7621 agttacatga tccccatgt tgtgcaaaaa agcggttagc tccttcggtc ctccgatcgt  
 7681 tgtcagaagt aagtggccg cagtgttato actcatgggt atggcagcac tgcataatc  
 7741 tcttactgtc atgccatccg taagatgctt ttctgtgact ggtgagtact caaccaagtc  
 7801 attctgagaa tagtgtatgc ggcgaccgag ttgctcttgc ccggcgtcaa tacgggataa  
 7861 taccgcgcca catagcagaa ctttaaaagt gctcatcatt ggaaaacgtt cttcggggcg  
 7921 aaaactctca aggatcttac cgctgttgag atccagttcg atgtaacca ctctgtcacc  
 7981 caactgatct tcagcatctt ttactttcac cagcgtttct gggtagcaa aaacaggaag  
 8041 gcaaaatgcc gcaaaaaagg gaataagggc gacacggaaa tgttgaatac tcatactctt  
 8101 cctttttcaa tattattgaa gcattatca gggttattgt ctcatgagcg gatacatatt  
 8161 tgaatgtatt tagaaaaata acaaatagg ggttccgcgc acatttccc gaaaagtgcc  
 8221 acctgacgtc taagaaacca ttattatcat gacattaacc tataaaaata ggcgtatcac  
 8281 gaggcccttt cgtctcgcgc gtttcgggta tgacgggtaa aacctctgac acatgcagct  
 8341 cccggagacg gtcacagctt gtctgtaagc ggatgccggg agcagacaag cccgtcaggg  
 8401 cgcgtcagcg ggtgttgccg ggtgtcgggg ctggcttaac tatgcggcat cagagcagat  
 8461 tgtactgaga gtgcaccata tgcggtgtga aataccgcac agatgcgtaa ggagaaaata  
 8521 ccgcatcagg cgcattcgc cattcaggct gcgcaactgt tgggaagggc gatcgggtgc  
 8581 ggctcttcg ctattaogcc agctggcgaa aggggatgt gctgcaaggc gattaagttg  
 8641 ggtaacgcca ggttttccc agtcacgacg ttgtaaaacg acggccagtg ccaagctg.

*p510\_antiCD19\_LL\_TCRbeta* (SEQ ID NO: 13)

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca  
 61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattccga ttggtggaag taaggtggta  
 121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga  
 181 attgccgat tcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc  
 241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccaactgctta  
 301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact  
 361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgig gaaaatctct agcagtgggc  
 421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct



481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatfff  
541 gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcggggggg  
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaa aatataaatt  
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgff  
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaag  
841 gatagagata aaagacacca aggaagctff agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag  
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg  
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtggfgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
1081 cttfgttccf tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgagcc tcaatgagc  
1141 tgacggtaca ggcagacaa ttattgtctg gtatagtga gcagcagaac aatttgcfga  
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgtfgc aactcacagf ctggggcacf aagcagctcc  
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagf tggagtaata  
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa  
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga  
1501 acaagaatta ttggaattag ataatgggc aagtttgtgg aattggfffa acataacaaa  
1561 ttggctgtgg tatataaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat  
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtf  
1681 tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggff  
1801 aactfftaaa agaaaagggg gattggggg gtacagfga ggggaaagaa tagtagacat  
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaat tcaaaatff  
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact tggcagfaca  
1981 tctacgtatt agfcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagfag atcaatgggc  
2041 gtggatagcg gttfagfca cggggatttc caagtctcca cccattgac gfcaatggga  
2101 gtttgtfftg gcacaaaat caacgggact ttcaaaatg tcfgaacaac tccgccccat  
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggtffa tataagcaga gctcgtffag  
2221 tgaaccgtca gatcgcttg agacgccatc cacgctgff tgaacctcaf agaagattct  
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggfaca agccttctgc tctgtgagff accacaccca  
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gctgcctct  
2401 ctgggagaca gagfcaacct cagffgcagg gcaagfcaag acattagfca atatffaat  
2461 tggfatacgc agaaaccaga tggaaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta

2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc  
 2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt  
 2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc  
 2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct  
 2761 ggcttgggtg cgcctcaca gacctgtoc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta  
 2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcggcag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga  
 2881 gtaatattggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc  
 2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac  
 3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac  
 3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggcgg caattgaagt tatgtatcct  
 3121 cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcgggcggtt ctggtggcgg cggttctctc  
 3181 gagctgggag caggcccagt ggattctgga gtcacacaaa ccccaaagca cctgatcaca  
 3241 gcaactggac agcgagtgac gctgagatgc tcccctaggt ctggagacct ctctgtgtca  
 3301 tggtagcaac agagcctgga ccagggcctc cagttcctca ttcagtatta taatggagaa  
 3361 gagagagcaa aaggaaacat tcttgaacga ttctccgac aacagttccc tgacttgac  
 3421 tctgaactaa acctgagctc tctggagctg ggggactcag ctttgtattt ctgtgccagc  
 3481 agcccccgga caggcctgaa cactgaagct ttctttggac aaggcaccag actcaccagt  
 3541 gtagaggacc tgaacaaggt gttcccaccc gaggtcgtg tgtttgagcc atcagaagca  
 3601 gagatctccc acacccaaaa ggccacactg gtgtgcctgg ccacaggctt cttccccgac  
 3661 cacgtggagc tgagctggtg ggtgaatggg aaggaggtgc acagtggggt cagcacggac  
 3721 ccgcagcccc tcaaggagca gcccgccctc aatgactcca gatactgcct gagcagccgc  
 3781 ctgagggtct cggccacctt ctggcagaac ccccgcaacc acttccgctg tcaagtccag  
 3841 ttctacgggc tctcggagaa tgacgagtgg acccaggata gggccaaacc cgtcaccag  
 3901 atcgtcagcg ccgaggcctg gggtagagca gactgtggct ttacctcggg gtocctaccag  
 3961 caaggggtcc tgtctgccac catcctctat gagatcctgc tagggaaggc caccctgtat  
 4021 gctgtgctgg tcagcgcctt tgtgttgatg gccatggtca agagaaagga tttctgataa  
 4081 gaattcgatc cgcggccgcg aaggatctgc gatcgtcog gtgcccgtca gtgggcagag  
 4141 cgcacatcgc ccacagtccc cgagaagttg gggggagggg tcggcaattg aacgggtgcc  
 4201 tagagaaggt ggcgcggggt aaactgggaa agtgatgtcg tgtactggct ccgccttttt  
 4261 cccgagggtg ggggagaacc gtatataagt gcagtagtgc ccgtgaacgt tctttttcgc  
 4321 aacgggtttg ccgccagaac acagctgaag cttcgagggg ctcgcatctc tcccttcacgc  
 4381 gccgcgcccc ctacctgagg ccgccatcca cgcgggtga gtcgcgttct gccgcctccc  
 4441 gcctgtggtg cctcctgaac tgctccgoc gtctaggtaa gtttaaagct caggtcgaga  
 4501 ccgggccttt gtccggcgtc cccttggagc ctacctagac tcagccggct ctccacgctt

4561 tgccctgacc tgcttgctca actctacgtc tttgtttcgt tttctgttct ggcgcttac  
4621 agatccaagc tgtgaccggc gcctacgcta gatgaccgag tacaagccca cgggtgcgct  
4681 cgccacccgc gacgacgtcc ccagggcctg acgcaccctc gccgcccgtg tcgccgacta  
4741 ccccgccacg cgccacaccg tcgatccgga ccgccacatc gagcgggtca ccgagctgca  
4801 agaactcttc ctacgcgcg tcgggctoga catcggaag gtgtgggtcg cggacgacgg  
4861 cgccgcggtg gcggtctgga ccacgccgga gagcgtcga gcgggggcgg tgttcgccga  
4921 gatcggcccg cgcattggccg agttgagcgg ttcccggctg gccgcgcagc aacagatgga  
4981 aggcctcctg gcgcccacc ggcccaggga gcccgctgg ttcttgcca cgtcggcgt  
5041 ctgcgccgac caccagggca aggtctggg cagcgcctc gtgctcccc gagtgaggc  
5101 ggccgagcgc gccgggtgc ccgcttct ggagacctc gcgccccga acctcccctt  
5161 ctacgagcgg ctggcttca ccgtaccgc cgacgtcag gtgcccgaag gaccgcgcac  
5221 ctggtgcatg acccgaagc ccggtgcctg agtcgacaat caacctctg attacaaat  
5281 ttgtgaaaga ttgactgta ttcttaacta tttgtctct tttacgtat gtgatacgc  
5341 tgctttaatg cctttgtatc atgctattgc ttccgtatg gctttcattt tctcctcctt  
5401 gtataaatcc tggttgctgt ctctttatga ggagttgtg cccgttgta ggcaacgtg  
5461 cgtggtgtgc actgtgtttg ctgacgaac cccactggt tggggcattg ccaccactg  
5521 tcagctcctt tccgggactt tcgctttcc cctccctatt gccacggcgg aactcatgc  
5581 cgctgcctt gcccgctgct ggacagggc tcggctgtg ggcactgaca attcgtggt  
5641 gttgtcggg aatcatcgt ctttccttg gctgctgcc tgtgttgcca cctggattct  
5701 gcgcgggacg tcctctgct acgtccctc ggccctcaat ccagcggacc ttcttccc  
5761 cggcctgctg ccggtctgc gccctctc gcgtcttcgc cttgccctc agacgagtc  
5821 gatctccctt tggccgcct cccgcctgg tacctttaag accaatgact tacaaggcag  
5881 ctgtagatct tagccactt taaaagaaa aggggggact ggaagggcta attcactcc  
5941 aacgaaaata agatctgct tttgcttga ctgggtctc ctggttagac cagatctgag  
6001 cctgggagct ctctggctaa ctaggaacc cactgctaa gcctcaata agcttgcctt  
6061 gagtgcttca agtagtgtg gccgctctg tgtgtgactc tggtaactag agatccctca  
6121 gaccctttta gtcagtgtg aaaatctcta gcagtagtag ttcatgtcat cttattatc  
6181 agtatttata acttgcaaag aatgaatat cagagagtga gaggaactg tttattgcag  
6241 cttataatgg ttacaaata agcaatagca tcacaaattt cacaaataa gcatttttt  
6301 cactgcattc tagttgtggt ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatcat gtctggctct  
6361 agctatcccg cccctaactc cgcccagttc cgccattct ccgccccatg gctgactaat  
6421 tttttttatt tatgcagagg ccgaggcgc ctcgccctc gagctattcc agaagtagtg  
6481 aggaggcttt tttggaggcc tagactttg cagagacggc ccaaattcgt aatcatggtc  
6541 atagctgttt cctgtgtgaa attgttatcc gctcacaatt ccacacaaca tacgagccgg

6601 aagcataaag tgtaaagcct ggggtgccta atgagtgagc taactcacat taattgcgtt  
6661 gcgctcactg cccgctttcc agtcgggaaa cctgtcgtgc cagctgcatt aatgaatcgg  
6721 ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct tccgcttcc tccgctcactga  
6781 ctcgctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca gctcactcaa aggccgtaat  
6841 acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac atgtgagcaa aaggccagca  
6901 aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcggt gctggcggtt ttccataggc tccgcccccc  
6961 tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg cgaaaccoga caggactata  
7021 aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc tctcctgttc cgaccctgcc  
7081 gottaccgga tacctgtccg cttttctccc ttccgggaagc gtggcgcttt ctcatagctc  
7141 acgctgtagg tatctcagtt cgggttaggt cgttcgtcc aagctgggct gtgtgcacga  
7201 accccccgtt cagcccagacc gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg agtccaaccc  
7261 ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt aacaggatta gcagagcgag  
7321 gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct aactacggct aactagaag  
7381 gacagtatth ggtatctcgc ctctcgtgaa gccagttacc ttccggaaaa gagttgtag  
7441 ctcttgatcc ggcaaaaaa ccaccgctgg tagcgggtgt tttttgttt gcaagcagca  
7501 gattacgcgc agaaaaaag gatctcaaga agatccttg atcttttcta cggggtctga  
7561 cgctcagtgg aacgaaaact cacgtaagg gattttggtc atgagattat caaaaaggat  
7621 cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa tcaatctaaa gtatatatga  
7681 gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag gcacctatct cagcgatctg  
7741 tctatthcgt tcatccatag ttgcctgact ccccgctcgt tagataacta cgatacggga  
7801 gggccttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgca gaccacgct caccggctcc  
7861 agatthtca gcaataaacc agccagccgg aaggcccgag cgcagaagtg gtccctgcaac  
7921 tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa gctagagtaa gtagttgcc  
7981 agttaatagt ttgcgaacg ttgttccat tgctacaggc atcgtggtgt cacgctcgtc  
8041 gtttggtatg gcttcattca gctccggttc ccaacgatca aggcgagta catgatcccc  
8101 catgttgtgc aaaaaagcg ttagctcctt cggctcctcc atcgttgtca gaagtaagtt  
8161 ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat aattctctta ctgtcatgcc  
8221 atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc aagtcattct gagaatagtg  
8281 tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg gataataccg cgccacatag  
8341 cagaacttta aaagtgtca tcattgaaa acgttcttcg gggcgaaaac tctcaaggat  
8401 cttaccgctg ttgagatcca gttcgtatga acccactcgt gcaccaact gatcttcagc  
8461 atctthtact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaa ggaaggcaaa atgccgcaaa  
8521 aaagggaata agggcgacac gaaatgttg aatactcata ctcttcttt ttcaatatta  
8581 ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac atatthgat gtatthtaga

8641 aaataaacia ataggggttc cgcgcacatt tccccgaaa gtgccacctg acgtctaaga  
 8701 aaccattatt atcatgacat taacctataa aaataggcgt atcacgaggc cctttcgtct  
 8761 cgcgcgtttc ggtgatgacg gtgaaaacct ctgacacatg cagctcccgg agacgggtcac  
 8821 agcttgtctg taagcggatg ccgggagcag acaagcccgt cagggcgcgt cagcgggtgt  
 8881 tggcgggtgt cggggctggc ttaactatgc ggcacagag cagattgtac tgagagtga  
 8941 ccatatgagg tgtgaaatac cgcacagatg cgtaaggaga aaataccgca tcaggcgcca  
 9001 ttgccattc aggctgcgca actgttggga agggcgatcg gtgcgggcct cttcgtctatt  
 9061 acgocagctg gcgaaagggg gatgtgctgc aaggcgatta agttgggtaa cgccagggtt  
 9121 ttccagtcga cgacgttgta aaacgacggc cagtgccaaag ctg

*p510\_antiCD19\_LL\_TCRbetaC* (SEQ ID NO: 14)

1 acgogttag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca  
 61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcacgccga ttggtggaag taaggtggtg  
 121 ccatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga  
 181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc  
 241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccaactgctta  
 301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact  
 361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg  
 421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcagcga ggactcggct  
 481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt  
 541 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag  
 601 aattagatcg ccatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaa aatataaatt  
 661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt  
 721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
 781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcacaaag  
 841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag  
 901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg  
 961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
 1021 caccaccaa ggcaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
 1081 ctttgttctc tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc  
 1141 tgacgttaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtga gcagcagaac aatttctga  
 1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcctc aagcagctcc  
 1261 aggaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
 1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
 1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacia

1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga  
1501 acaagaatta ttggaattag ataatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa  
1561 ttggctgtgg tatataaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat  
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt  
1681 tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattog attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt  
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtga ggggaaagaa tagtagacat  
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatfff  
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ctttatggga ctttctact tggcagtaca  
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc  
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga  
2101 gtttgttttg gcacaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat  
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag  
2221 tgaaccgtca gatgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctcat agaagattct  
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca  
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct  
2401 ctgggagaca gagtcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat  
2461 tggatcagc agaaaccaga tggaactggt aaactcctga tctaccatac atcaagatta  
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc  
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt  
2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc  
2701 aagcccgat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct  
2761 ggctggtgg cgcctcaca gagcctgtoc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta  
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattgccag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga  
2881 gtaatattggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc  
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac  
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac  
3061 tggggtaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcgccg caattgaagt tatgtatcct  
3121 cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggccggcggtt ctggtggcgg cggttctctc  
3181 gaggaggacc tgaacaaggt gttcccaccc gaggtcgtg tgtttgagcc atcagaagca  
3241 gagatctccc acacccaaaa ggccacactg gtgtgcctgg ccacaggctt cttccccgac  
3301 cacgtggagc tgagctggtg ggtgaatggg aaggaggtgc acagtggggt cagcacagac  
3361 ccgcagcccc tcaaggagca gcccgccctc aatgactcca gatactgcct gagcagccgc  
3421 ctgagggtct cggccacctt ctggcagaac ccccgcaacc acttccgctg tcaagtccag

3481 ttctacgggc tctcggagaa tgacgagtgg acccaggata gggccaaacc cgtcaccag  
3541 atogtcagcg ccgaggcctg gggtagagca gactgtggct ttacctcggg gtoctaccag  
3601 caaggggtcc tgtctgccac catcctctat gagatcctgc tagggaaggc caccctgtat  
3661 gctgtgctgg tcagcgcctt tgtgttgatg gccatggtca agagaaagga tttctgataa  
3721 gaattcgatc cgcggccgcg aaggatctgc gatcgctccg gtgcccgtca gtgggcagag  
3781 cgcacatcgc ccacagtccc cgagaagtgg gggggagggg tcggcaattg aacgggtgcc  
3841 tagagaaggt ggcgcggggt aaactgggaa agtgatgtcg tgtactggct ccgccttttt  
3901 cccgaggggtg ggggagaacc gtatataagt gcagtagtgc ccgtgaacgt tttttttcgc  
3961 aacgggtttg ccgccagaac acagctgaag cttcgagggg ctgcgatctc tcttccacgc  
4021 gcccgccgccc ctacctgagg ccgccatcca cgcgggttga gtcgcgttct gccgcctccc  
4081 gcctgtggtg cctcctgaac tgcgtccgcc gtctaggtaa gtttaagct caggtcgaga  
4141 ccgggccttt gtccggcgct cccttggagc ctacctagac tcagccggct ctccacgctt  
4201 tgcctgacct tgcttgctca actctacgtc tttgtttcgt tttctgttct gcgcccgttac  
4261 agatccaagc tgtgaccggc gcctacgcta gatgaccgag tacaagcca cggtgccgct  
4321 cgccacccgc gacgacgtcc ccagggcctg acgcaccctc gccgcccgtg togccgacta  
4381 ccccgccacg cgcacaccg tcgatccgga ccgccacatc gagcgggtca ccgagctgca  
4441 agaactcttc ctacgcgcg tcgggctoga catcggcaag gtgtgggtcg cggacgacgg  
4501 cgcgcgggtg gcggtctgga ccacgcgga gagcgtcgaa gcggggggcg tgttcgccga  
4561 gatcggcccg cgcattggcg agttgagcgg ttcccggctg gccgcgcagc aacagatgga  
4621 aggcctcctg gcgcccacc ggcccgaagga gcccgctgg ttcttgcca ccgtcggcgt  
4681 ctgcccgcac caccaggga agggtctggg cagcgcctc gtgctccccg gaggggaggc  
4741 ggccgagcgc gccggggtgc ccgccttct ggagacctc gcgccccgca acctcccctt  
4801 ctacgagcgg ctcggttca ccgtaccgc cgacgtcgag gtgcccgaag gaccgcgcac  
4861 ctggtgcatg acccgcaagc ccggtgcctg agtcgacaat caacctctgg attacaaaat  
4921 ttgtgaaaga ttgactggtg ttcttaacta tgttgctcct tttacgtat gtggatacgc  
4981 tgctttaatg cctttgtatc atgctattgc ttcccgtatg gctttcattt tctcctcctt  
5041 gtataaatcc tggttgctgt ctctttatga ggagttgtgg cccgttgtca ggcaacgtgg  
5101 cgtggtgtgc actgtgtttg ctgacgaac cccactggt tggggcattg ccaccacctg  
5161 tcagctcctt tccgggactt tcgctttccc cctccctatt gccacggcgg aactcatcgc  
5221 cgctgcctt gcccgctgct ggacaggggc tcggctgttg ggcactgaca attccgtggt  
5281 gttgtcgggg aatcatcgt cctttccttg gctgctcgc tgtgttgcca cctggattct  
5341 gcgcccagc tcctctgct acgtccctc ggccctcaat ccagcggacc ttccttccc  
5401 cggcctgctg ccggtctgc ggctcttcc gcgtcttcgc cttcgccctc agacgagtcg  
5461 gatctccctt tgggcccct cccgcctgg tacctttaag accaatgact tacaaggcag

5521 ctgtagatct tagccacttt ttaaaagaaa aggggggact ggaagggcta attcactccc  
5581 aacgaaaata agatctgctt tttgcttgta ctgggtctct ctggttagac cagatctgag  
5641 cctgggagct ctctggctaa ctagggaacc cactgcttaa gcctcaataa agcttgcctt  
5701 gagtgcctca agtagtgtgt gcccgctctgt tgtgtgactc tggtaactag agatccctca  
5761 gaccctttta gtcagtgtgg aaaatctcta gcagtagtag ttcattgtcat ottattattc  
5821 agtatttata acttgcaaag aatgaatat cagagagtga gaggaacttg tttattgcag  
5881 cttataatgg ttacaaataa agcaatagca tcacaaattt cacaaataaa gcattttttt  
5941 cactgcattc tagttgtggt ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatcat gtctggctct  
6001 agctatcccg cccctaactc cgcccagttc cgcccattct cgcgcccatg gctgactaat  
6061 tttttttatt tatgcagagg ccgaggccgc ctccggcctct gagctattcc agaagtagtg  
6121 aggaggcttt tttggaggcc tagacttttg cagagacggc ccaaattcgt aatcatggtc  
6181 atagctgttt cctgtgtgaa attgttatcc gtcacaatt ccacacaaca tacgagccgg  
6241 aagcataaag tgtaaagcct ggggtgccta atgagtgagc taactcacat taattgcgtt  
6301 gcgctcactg cccgctttcc agtcgggaaa cctgtcgtgc cagctgcatt aatgaatcgg  
6361 ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct tccgcttcc tgcctcactga  
6421 ctgctgctgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca gctcactcaa aggcggtaat  
6481 acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaaagaac atgtgagcaa aaggccagca  
6541 aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcggt gctggcgttt ttccataggc tccgcccccc  
6601 tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg cgaaaccgga caggactata  
6661 aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgctc tctcctgttc cgaccctgcc  
6721 gottaccgga tacctgtccg cttttctccc ttccgggaagc gtggcgcttt ctcatagctc  
6781 acgctgtagg tatctcagtt cgggttaggt cgttcgctcc aagctgggct gtgtgcacga  
6841 accccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg agtccaacc  
6901 ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt aacaggatta gcagagcgag  
6961 gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct aactacggct aactagaag  
7021 gacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc ttcggaaaaa gatttgtag  
7081 ctcttgatcc ggcaaaaaa ccaccgctgg tagcgggtgt tttttgttt gcaagcagca  
7141 gattacgctc agaaaaaag gatctcaaga agatccttg atcttttcta cggggtctga  
7201 cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc atgagattat caaaaaggat  
7261 ctacacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa tcaatctaaa gtatatatga  
7321 gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagttag gcacctatct cagcgatctg  
7381 tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact ccccgctgtg tagataacta cgatacggga  
7441 gggcttacca tctggoccca gtgctgcaat gataccgca gaccacgct caccggctcc  
7501 agatttatca gcaataaacc agccagccgg aaggccgag cgcagaagtg gtctgcaac



7561 tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa gctagagtaa gtagttcgcc  
 7621 agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc atcgtggtgt caogctcgtc  
 7681 gtttggtatg gcttcattca gctccggttc ccaacgatca aggcgagta catgatcccc  
 7741 catgtttgtg aaaaaagcgg ttagctcctt cggctcctccg atcgtttgtca gaagtaagtt  
 7801 ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat aattctctta ctgtcatgcc  
 7861 atccgtaaga tgcttttctg tgactgggta gtactcaacc aagtcattct gagaatagtg  
 7921 tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg gataataccg cggcacatag  
 7981 cagaacttta aaagtgtca tcattggaaa acgttcttcg gggcgaaaac totcaaggat  
 8041 cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt gcaccaact gatcttcagc  
 8101 atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca ggaaggcaaa atgccgcaaa  
 8161 aaaggaata agggcgacac ggaaatgtg aatactcata ctcttcttt ttcaatatta  
 8221 ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac atatttgaat gtatttagaa  
 8281 aaataaacia ataggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa gtgccacctg acgtctaaga  
 8341 aaccattatt atcatgacat taacctataa aaataggcgt atcacgaggc cctttcgtct  
 8401 cgcgcgtttc ggtgatgacg gtgaaaacct ctgacacatg cagctcccgg agacggtcac  
 8461 agcttgtctg taagcggatg ccgggagcag acaagcccgt cagggcgcgt cagcgggtgt  
 8521 tggcgggtgt cggggctggc ttaactatgc ggcatcagag cagattgtac tgagagtga  
 8581 ccatatgcgg tgtgaaatac cgcacagatg cgtaaggaga aaataccgca tcaggcgcca  
 8641 ttcgccattc aggtcgcga actgttggga agggcgatcg gtgcgggcct cttcgtatt  
 8701 acgccagctg gcgaaagggg gatgtgctgc aaggcgatta agttgggtaa cggcagggtt  
 8761 ttcccagtca cgacgttgta aaacgacggc cagtccaag ctg.

***p510\_antiCD19\_LL\_CD3gamma*** (SEQ ID NO: 15)

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca  
 61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggtg  
 121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga  
 181 attgcgcgat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct ogatacaata aacgggtctc  
 241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac cactgctta  
 301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgcctc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact  
 361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg  
 421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaaggga accagagctc tctcgacgca ggactcggct  
 481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg cggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt  
 541 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag  
 601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaagaaaa aatataaatt  
 661 aaaacatata gtatgggcaa gcaggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt

721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaag  
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag  
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg  
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
1081 ctttgttctc tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc  
1141 tgacgttaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtga gcagcagaac aatttgctga  
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc  
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa  
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga  
1501 acaagaatta ttggaattag ataatgggc aagtttggg aattggtta acataacaaa  
1561 ttggctgtgg tatataaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat  
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt  
1681 tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattog attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt  
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtga ggggaaagaa tagtagacat  
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaat tcaaaatttt  
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga cttatggga ctttcctact tggcagtaca  
1981 totacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc  
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga  
2101 gtttgttttg gcacaaaat caacgggact ttcaaaatg tcgtaacaac tocgcccat  
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggtta tataagcaga gctcgtttag  
2221 tgaaccgtca gatcgcttg agacccatc cacgctgttt tgacctcat agaagattct  
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca  
2341 gcattcctcc tgatccaga catccagatg acacagacta catcctcct gtctgcctct  
2401 ctgggagaca gagtccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat  
2461 tggatcagc agaaaccaga tggaactggt aaactcctga tctaccatac atcaagatta  
2521 cactcaggag tccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc  
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacagg taatacgctt  
2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc  
2701 aagcccgat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct

2761 ggctgttg cgccctcaca ggcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta  
 2821 ccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga  
 2881 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc  
 2941 atcaaggaca actccaagag ccaagtttcc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac  
 3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacgggtg gtagctatgc tatggactac  
 3061 tggggcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggcgg caattgaagt tatgtatcct  
 3121 cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcggcgggt ctggtggcgg cggttctctc  
 3181 gagcagtcaa tcaaaggaac ccacttgggt aagggtgatg actatcaaga agatggttcg  
 3241 gtacttctga cttgtgatgc agaagccaaa aatatcacat ggtttaaaga tgggaagatg  
 3301 atcggcttcc taactgaaga taaaaaaaaa tggaaatctgg gaagtaatgc caaggacca  
 3361 cgagggatgt atcagtgtaa aggatcacag aacaagtcaa aaccactcca agtgtattac  
 3421 agaatgtgtc agaactgcat tgaactaaat gcagccacca tatctggctt tctctttgct  
 3481 gaaatcgtca gcattttcgt ccttctgttt ggggtctact tcattgctgg acaggatgga  
 3541 gttcgccagt cgagagcttc agacaagcag actctgttgc ccaatgacca gctctaccag  
 3601 cccctcaagg atcgagaaga tgaccagtac agccaccttc aaggaaacca gttgaggagg  
 3661 aattgataag aattcgatcc gcggccgcca aggatctgca atcgctccgg tgcccgtcag  
 3721 tgggcagagc gcacatcgcc cacagtcccc gagaagttgg ggggaggggt cggcaattga  
 3781 acgggtgcct agagaaggtg gcgcgggta aactgggaaa gtgatgtcgt gtactggctc  
 3841 cgcctttttc ccgagggtgg gggagaaccg tatataagtg cagtagtgcg cgtgaacgtt  
 3901 ctttttcgca acgggtttgc cgccagaaca cagctgaagc ttcgaggggc tcgcatctct  
 3961 ccttcacgcg cccgccgccc tacctgaggc cgccatccac gccggttagg tcgcttctg  
 4021 ccgcctcccg cctgtggtgc ctctgaact gcgtccgccc tctaggtaag tttaaagctc  
 4081 aggtcgagac cgggcctttg tccggcgtc ctttgagcc tacctagact cagccggctc  
 4141 tccaocgctt gcctgaccct gcttgcctaa ctctacgtct ttgtttcgtt ttctgttctg  
 4201 cgccgttaca gatccaagct gtgaccggcg cctacgctag atgaccgagt acaagcccac  
 4261 ggtgcgcctc gccaccgcg acgacgtccc cagggccgta cgcaccctcg ccgcccgtt  
 4321 cgccgactac cccgccacgc gccacaccgt cgatccggac cgcacatcg agcgggtcac  
 4381 cgagctgcaa gaactcttcc tcacgcgct cgggctcgac atcggcaagg tgtgggtcgc  
 4441 ggacgacggc gccgcggtg cggtctggac cacgccggag agcgtcgaag cggggcggt  
 4501 gttcgccgag atcggcccgc gcatggccga gttgagcgg tcccggtg cgcgcagca  
 4561 acagatgga ggcctcctgg cgccgcaccg gcccaaggag cccgctggt tcttgccac  
 4621 cgtggcgtc tcgcccagc accagggcaa ggtctgggc agcgcctcg tgctccccg  
 4681 agtggaggcg gccgagcgc cgggggtgc cgccttctg gagacctccg cgcgccgca  
 4741 cctccccttc tacgagcggc tcggcttcc cgtcaccgcc gacgtcgagg tgcccgaagg

4801 accgcgcacc tggatcatga cccgcaagcc cggatgcctga gtcgacaatc aacctctgga  
4861 ttacaaaatt tgtgaaagat tgactggat tcttaactat gttgctcctt ttacgctatg  
4921 tggatacgct gctttaatgc ctttgatca tgctattgct tcccgatgg ctttcatttt  
4981 ctctccttg tataaatcct gtttgctgto tctttatgag gagttgtggc ccgttgtcag  
5041 gcaacgtggc gtgggtgca ctgtgtttgc tgacgcaacc cccactggtt ggggcattgc  
5101 caccacctgt cagctccttt ccgggacttt cgctttcccc ctccctattg ccacggcgga  
5161 actcatcgcc gcctgccttg cccgctgctg gacaggggct cggctgttgg gcaactgaaa  
5221 ttccgtggtg ttgtcgggga aatcatcgto ctttccttgg ctgctcgctt gtgttgccac  
5281 ctggattctg cgcgggagct ctttctgta cgtcccttcc gccctcaatc cagcggacct  
5341 tccttcccgc ggctgctgc cggctctgog gcctcttccg cgtcttccgc ttccgacctca  
5401 gacgagtcgg atctcccttt gggccgcctc cccgcctggt acctttaaga ccaatgactt  
5461 acaaggcagc tgtagatctt agccactttt taaaagaaa ggggggactg gaagggctaa  
5521 ttactccca acgaaaataa gatctgcttt ttgcttctac tgggtctctc tggttagacc  
5581 agatctgagc ctgggagctc tctggctaac tagggaacct actgcttaag cctcaataaa  
5641 gottgccttg agtgctcaa gtagtgtgtg cccgtctgtt gtgtgactct ggtaactaga  
5701 gatccctcag acccttttag tcagtgtgga aaatctctag cagtagtagt tcatgtcatc  
5761 ttattattca gtattataa cttgcaaaga aatgaatata agagagttag aggaacttgt  
5821 ttattgcagc ttataatggt tacaataaa gcaatagcat cacaaatttc acaataaag  
5881 ctttttttc actgcattct agttgtggtt tgtccaaact catcaatgta tcttatcatg  
5941 tctggctcta gctatcccgc ccctaactcc gccagttcc gccattctc cgccttctc  
6001 ctgactaatt tttttattt atgcagaggc cgaggccgcc tcggcctctg agctattcca  
6061 gaagtagtga ggaggctttt ttggaggcct agacttttgc agagacggcc caaattcgtg  
6121 atcatggtca tagctgtttc ctgtgtgaaa ttgttatccg ctcaaatc cacacaacat  
6181 acgagccgga agcataaagt gtaaagcctg gggatgcctaa tgagttagct aactcacatt  
6241 aattgcgttg cgtcactgc ccgctttcca gtcgggaaac ctgtcgtgcc agctgcatta  
6301 atgaatcggc caacgcgcgg ggagaggcgg tttgcgtatt gggcgtctt ccgcttctc  
6361 gctcactgac tcgtcgctc cggctgttcc gctgcggcga gcggtatcag ctactcaaa  
6421 ggcgtaata cgttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa  
6481 agccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct  
6541 ccgccccct gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaaccgac  
6601 aggactataa agataccagg cgtttcccc tggagctcc ctctgctgct ctctgttcc  
6661 gacctgccc cttaccgat acctgtccgc ctttctccct tcgggaagcg tggcgtttc  
6721 tcatagctca cgtgttaggt atctcagttc ggtgttagtc gttcgtcca agctgggctg  
6781 tgtgcacgaa cccccgttc agcccgacc ctgcgcctta tccgtaact atcgtcttga

6841 gtccaacccg gtaagacacg acttatoGCC actggcagca gccactggta acaggattag  
 6901 cagagcgagg tatgtaggcg gtgctacaga gttcttgaag tggtagccta actacggcta  
 6961 cactagaagg acagtatttg gtatctgcgc tctgctgaag ccagttacct tcggaaaaag  
 7021 agttggtagc tcttgatccg gcaaaaaaac caccgctggt agcggtaggt tttttgttg  
 7081 caagcagcag attacgcgca gaaaaaaagg atctcaagaa gatcctttga tcttttctac  
 7141 ggggtctgac gctcagtgga acgaaaactc acgttaaggg attttggta tgagattatc  
 7201 aaaaaggatc ttcacctaga tccttttaa ttaaaaatga agttttaat caatctaaag  
 7261 tatatatgag taaacttggc ctgacagtta ccaatgctta atcagtgagg caoctatctc  
 7321 agcgatctgt ctatttcggt catccatagt tgctgactc cccgtcgtgt agataactac  
 7381 gatacgggag ggcttaccat ctggcccag tgctgcaatg ataccgcgag acccagctc  
 7441 accggtcca gatttatcag caataaacca gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg  
 7501 tctgcaact ttatccgct ccatccagtc tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag  
 7561 tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt tgttgccatt gctacaggca tcgtggtgtc  
 7621 acgctcgtcg tttggtatgg ctccattcag ctccggtcc caacgatcaa ggcgagttac  
 7681 atgatcccc atgttgca aaaaagcgg tagctcctc ggtcctccga tcgttgcag  
 7741 aagtaagttg gccgcagtgt tatcactcat gtttatggca gcactgcata attctcttac  
 7801 tgcatgcca tccgtaagat gctttctgt gactggtgag tactcaacca agtcattctg  
 7861 agaatagtgt atgcggcagc cgagttgctc ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc  
 7921 gccacatagc agaacttta aagtgcctat catttgaaa cgttcttcgg ggcgaaaact  
 7981 ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag ttcgatgtaa cccactcgtg caccactg  
 8041 atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa  
 8101 tgccgcaaaa aagggaataa gggcgacacg gaaatgtga atactcatac tcttcctttt  
 8161 tcaatattat tgaagcattt atcagggtta ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg  
 8221 tatttagaaa aataacaaa taggggttc gcgcacattt cccgaaaag tgccacctga  
 8281 cgtctaagaa accattatta tcatgacatt aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc  
 8341 ctttcgtctc gcgcgtttcg gtgatgacgg tgaaaacctc tgacacatgc agctcccga  
 8401 gaaggtcaca gcttgtctgt aagcggatgc cgggagcaga caagcccgtc agggcgcgtc  
 8461 agcgggtggt ggcgggtgct ggggctggct taactatgcg gcatcagagc agattgtact  
 8521 gagagtgcac catatgcggt gtgaaatacc gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat  
 8581 caggcgccat tcgccattca ggctgcgcaa ctgttgggaa gggcgatcgg tgccggcctc  
 8641 ttcgctatta cgcagctgg cgaaggggg atgtgctgca aggcgattaa gttgggtaac  
 8701 gccagggttt tcccagtcac gacgtttaa aacgacggcc agtgccaagc tg.

*p510\_antiCD19\_LL\_CD3delta* (SEQ ID NO: 16)

1 acgctgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca

61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgcca ttggtggaag taaggtgta  
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga  
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc  
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccaactgctta  
301 agcctcaata aagcttgcoct tgagtgttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact  
361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg  
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaaggga accagagctc tctcgacgca ggactcggct  
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcgcgactg gtgagtacgc caaaaatttt  
541 gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag  
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaa aatataaatt  
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt  
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaag  
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaa  
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatattgagg  
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
1081 ctttgttctc tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc  
1141 tgacgttaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtcca gcagcagaac aatttctgta  
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcctc aagcagctcc  
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa  
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga  
1501 acaagaatta ttggaattag ataatgggc aagtttgtgg aattggtta acataacaaa  
1561 ttggctgtgg tatataaat tattcataat gatagtagga ggcttgtag gtttaagaat  
1621 agtttttctg tacttttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt  
1681 tcagaccac ctccaacc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt  
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtcca ggggaaagaa tagtagacat  
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaat tcaaaatttt  
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga cttatggga ctttctact tggcagtaca  
1981 tctacgtatt agtcacgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc  
2041 gtggatagcg gtttactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga

2101 gtttgTTTTg gcacaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat  
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtaoagt gggaggTTta tataagcaga gctcgtttag  
2221 tgaaccgtca gatcgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct  
2281 agagccgccca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca  
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct  
2401 ctgggagaca gagtcccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttAAat  
2461 tggatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta  
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc  
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt  
2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc  
2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggTga aactgcagga gtcaggacct  
2761 ggctggtgg cgcctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta  
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcggcag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga  
2881 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc  
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagtttcc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac  
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac  
3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggcgg caattgaagt tatgtatcct  
3121 cctccttacc tagtgggcgg cgttctggt ggcggcggtt ctggtggcgg cggttctctc  
3181 gagttcaaga tacctataga ggaacttgag gacagagtgt ttgtgaattg caataccagc  
3241 atcacatggg tagaggaac ggtgggaaca ctgctctcag acattacaag actggacctg  
3301 ggaaaacgca tcctggacc cagaggaata tataggtgta atgggacaga tatatacaag  
3361 gacaaagaat ctaccgtgca agttcattat cgaatgtgcc agagctgtgt ggagctggat  
3421 ccagccaccg tggctggcat cattgtcact gatgtcattg ccactctgct ccttgctttg  
3481 ggagtcttct gctttgctgg acatgagact ggaaggctgt ctggggctgc cgacacacaa  
3541 gctctgttga ggaatgacca ggtctatcag cccctccgag atcgagatga tgctcagtac  
3601 agccaccttg gaggaaactg ggctcggaac aagtgataag aattcgatcc gcggccgca  
3661 aggatctgcg atcgtccgg tgcccgtcag tgggcagagc gcacatcgcc cacagtcccc  
3721 gagaagttgg ggggaggggt cggcaattga acgggtgcct agagaagggt gcgcggggta  
3781 aactgggaaa gtgatgtcgt gtactggctc cgccttttcc cagagggtgg gggagaaccg  
3841 tatataagtg cagtagtcgc cgtgaacgtt ctttttcgca acgggtttgc cgcagaaca  
3901 cagctgaagc ttcgaggggc tcgcatctct ccttcacgcg cccgccgcc tacctgaggc  
3961 cgccatccac gccggttgag tcgcgtctg ccgcctccc cctgtggtgc ctctgaact  
4021 gcgtccgccc tctaggtaa tttaaagctc aggtcgagac cgggcctttg tccggcgctc  
4081 ccttgagacc tacctagact cagccggctc tccacgctt gcctgaccct gcttgctcaa

4141 ctctacgtct ttgtttcgtt ttctgttctg cgccgttaca gatccaagct gtgaccggcg  
4201 cctacgctag atgaccgagt acaagcccac ggtgcgctc gccaccgcg acgacgtccc  
4261 cagggccgta cgcaccctcg ccgcccgtt cgccgactac cccgccacgc gccacaccgt  
4321 cgatccggac cgccacatcg agcgggtcac cgagctgcaa gaactcttcc tcacgcgcgt  
4381 cgggctcgac atcgcaagg tgtgggtgc ggacgacggc gccgcggtgg cggctctggac  
4441 cacgccggag agcgtogaag cggggcggt gttcgccgag atcggcccgc gcatggccga  
4501 gttgagcggg tcccggctgg ccgcccagca acagatggaa ggcctcctgg cggcgcaccg  
4561 gcccaaggag cccgcgtggt tcctggccac cgtcggcgtc tcgcccgacc accagggcaa  
4621 gggctctggc agcgcctcg tgctccccgg agtggaggcg gccgagcgcg ccgggggtgc  
4681 cgccttctg gagacctcg cgcgccgcaa cctcccctc tacgagcggc tcggcttcac  
4741 cgtcaccgcc gacgtcgagg tgcccgaagg accgcgcacc tggatgatga cccgaagcc  
4801 cgggtgcctga gtcgacaatc aacctctgga ttacaaaatt tgtgaaagat tgactggtat  
4861 tottaactat gttgctcctt ttacgtatg tggatacgt gctttaatgc ctttgtatca  
4921 tgctattgct tcccgatgg ctttcattt ctctccttg tataaatcct ggttgctgtc  
4981 totttatgag gaggttggc ccgttgcag gcaacgtggc gtggtgtgca ctgtgtttgc  
5041 tgacgcaacc cccactggtt ggggcattgc caccacctgt cagctcctt cggggacttt  
5101 cgctttcccc ctccctattg ccacggcgga actcatcgc gcctgccttg cccgctgctg  
5161 gacaggggct cggctgttgg gcactgacaa ttccgtggtg ttgtcgggga aatcatcgtc  
5221 ctttccttgg ctgctgcct gtgttgccac ctggattctg cgcgggacgt cttctgcta  
5281 cgtcccttcg gccctcaatc cagcggacct tccttcccgc ggcctgctgc cggctctgcg  
5341 gcctcttccg cgtcttcgcc ttgccctca gacgagtcgg atctccctt gggccgcctc  
5401 cccgcctggt accttaaga ccaatgactt acaaggcagc tgtagatctt agccactttt  
5461 taaaagaaaa ggggggactg gaagggctaa ttactccca acgaaaataa gatctgcttt  
5521 ttgottgtac tgggtctctc tggtagacc agatctgagc ctgggagctc totggctaac  
5581 tagggaacc actgcttaag cctcaataaa gcttgccctg agtgcttcaa gtagtgtgtg  
5641 cccgtctggt gtgtgactct ggtaactaga gatccctcag acccttttag tcagtgtgga  
5701 aaatctctag cagtagtagt tcatgtcatc ttattattca gtatttataa cttgcaaaga  
5761 aatgaatatc agagagtgag aggaacttgt ttattgcagc ttataatgt tacaataaa  
5821 gcaatagcat cacaaattc acaataaag cttttttc actgcattct agttgtggtt  
5881 tgtccaaact catcaatgta tttatcatg tctggctcta gctatcccgc cctaactcc  
5941 gccagttcc gccattctc cgcgccatgg ctgactaatt tttttattt atgcagaggc  
6001 cgaggccgcc tcggcctctg agctattcca gaagtagtga ggaggctttt ttggaggcct  
6061 agacttttgc agagacggcc caaatcgtg atcatggtca tagctgttcc ctgtgtgaaa  
6121 ttgttatccg ctcaaatc cacacaacat acgagccgga agcataaagt gtaaagcctg



6181 ggggtgcctaa tgagtgagct aactcacatt aattgcgttg cgctcactgc cgcgtttcca  
6241 gtogggaaac ctgtogtgcc agctgcatta atgaatcggc caacgcgcgg ggagaggcgg  
6301 tttgcgtatt gggcgccttt ccgcttctc gctcactgac tcgctgcgct cggctcgttcg  
6361 gctgcggcga gcggtatcag ctactcaaaa ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg  
6421 ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa  
6481 ggccgcgctt ctggcgtttt tccataggct ccgccccct gacgagcatc acaaaaatcg  
6541 acgctcaagt cagaggtggc gaaaccgac aggactataa agataccagg cgtttcccc  
6601 tggaagctcc ctctgogct ctctgttcc gaccctgccg cttaccggat acctgtccgc  
6661 ctttctccct tcgggaagcg tggcgcttcc tcatagctca cgctgtaggt atctcagttc  
6721 ggtgtaggtc gttcgtcca agctgggctg tgtgcacgaa cccccgctc agcccgaccg  
6781 ctgcgcctta tccgtaact atcgtcttga gtccaaccg gtaagacacg acttatcgcc  
6841 actggcagca gccactggta acaggattag cagagcgagg tatgtaggcg gtgctacaga  
6901 gttcttgaag tggtagccta actacggcta cactagaagg acagtatttg gtatctgcgc  
6961 tctgctgaag ccagttacct tcggaaaaag agttgtagc tcttgatccg gcaaacaaa  
7021 caccgctggt agcgggtggt ttttgtttg caagcagcag attacgcgca gaaaaaagg  
7081 atctcaagaa gatccttga tctttctac ggggtctgac gctcagtga acgaaaactc  
7141 acgttaaggg attttggta tgagattatc aaaaaggatc ttcacctaga tctttttaa  
7201 ttaaaaatga agttttaa atcaatctaaag tatatatgag taaacttggc ctgacagtta  
7261 ccaatgctta atcagtggc cacctatctc agcgatctgt ctatttcgtt catccatagt  
7321 tgcctgactc ccgctcgtg agataactac gatacgggag ggcttaccat ctggccccag  
7381 tgctgcaatg ataccgcgag acccacgctc accggctcca gatttatcag caataaacca  
7441 gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg tcttgcaact ttatccgctt ccatccagtc  
7501 tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt  
7561 tgttgccatt gctacaggca tcgtggtgac acgctcgtc tttggtatgg cttcattcag  
7621 ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac atgatcccc atgttgctga aaaaagcgtt  
7681 tagctccttc ggtcctccga tcgttgcag aagtaagttg gccgcagtgt tatcactcat  
7741 ggttatggca gcaactgcata attctcttac tgtcatgcca tccgtaagat gcttttctgt  
7801 gactggtgag tactcaacca agtcattctg agaatagtgt atgcggcgac cgagttgctc  
7861 ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc gccacatagc agaactttaa aagtgctcat  
7921 cattgaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag  
7981 ttcgatgtaa cccactcgtg caccctcagc atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt  
8041 ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa tgccgcaaaa aagggaataa gggcgacacg  
8101 gaaatgttga atactcatac tcttctttt tcaatattat tgaagcattt atcagggtta  
8161 ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg tatttagaaa aataaacaaa taggggttcc

8221 ggcacattt cccgaaaag tgccacctga cgtctaagaa accattatta tcatgacatt  
8281 aacctataaa aataggogta tcacgaggcc ctttcgtctc ggcggtttcg gtgatgacgg  
8341 tgaaaacctc tgacacatgc agctcccgga gacggtcaca gcttgtctgt aagcggatgc  
8401 cgggagcaga caagccogtc agggcgcgtc agcgggtgtt ggccgggtgc gggctggct  
8461 taactatgcg gcatcagagc agattgtact gagagtgcac catatgcggt gtgaaatacc  
8521 gcacagatgc gtaaggagaa aataccgat caggcgccat tcgccattca ggctgcgcaa  
8581 ctgttgggaa gggcgatcgg tgcgggcctc ttcgctatta cggcagctgg cgaaggggg  
8641 atgtgctgca aggcgattaa gttgggtaac gccagggtt tccagtcac gaogttgtaa  
8701 aacgacggcc agtgccaagc tg.

*p510\_antiCD19\_LL\_CD3epsilon* (SEQ ID NO: 17)

1 acgogttag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca  
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattccga ttggtggaag taaggtgta  
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaacctgta  
181 attgccgat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc  
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac cactgctta  
301 agcctcaata aagcttgctc tgagtcttc aagtagtggtg tgcccgtctg ttgtgtgact  
361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg  
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaggga accagagctc tctcgacgca ggactcggct  
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaattt  
541 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag  
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaa aatataaatt  
661 aaaacatata gtatgggcaa gcaggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt  
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaag  
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag  
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg  
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
1081 ctttgttctc tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc  
1141 tgacgttaca gccagacaa ttattgtctg gtatagtga gcagcagaac aatttctga  
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcctc aagcagctcc  
1261 aggaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa

1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga  
1501 acaagaatta ttggaattag ataatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa  
1561 ttggctgtgg tatataaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat  
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcggt  
1681 tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt  
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtga ggggaaagaa tagtagacat  
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatfff  
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ctttatggga ctttctact tggcagtaca  
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcgggt ttggcagtac atcaatgggc  
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga  
2101 gtttgttttg gcacaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat  
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggagggtta tataagcaga gctcgtttag  
2221 tgaaccgtca gatgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctcat agaagattct  
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca  
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctcct gtctgcctct  
2401 ctgggagaca gagtcaccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat  
2461 tggatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta  
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc  
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt  
2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc  
2701 aagcccgat ctggcgaggg atccaccaag ggcgagggtga aactgcagga gtcaggacct  
2761 ggctgtgtg cgccctcaca gagcctgtoc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta  
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcggcag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga  
2881 gtaatattggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc  
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac  
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac  
3061 tggggtaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcgccg caattgaagt tatgtatcct  
3121 cctccttacc taggtggcgg cggttctggt ggcgggcgggt ctggtggcgg cggttctctc  
3181 gaggatggtg atgaagaaat ggtgtgtatt acacagacac catataaagt ctccatctct  
3241 ggaaccacag taatattgac atgccctcag tatcctggat ctgaaatact atggcaacac  
3301 aatgataaaa acataggcgg tgatgaggat gataaaaaca taggcagtga tgaggatcac  
3361 ctgtcactga aggaatfff cagaattggag caaagtgggt attatgtctg ctaccccaga  
3421 ggaagcaaac cagaagatgc gaacttttat ctctacctga gggcaagagt gtgtgagaac

3481 tgcattgaga tggatgtgat gtcggtggcc acaattgtca tagtggacat ctgcatcact  
3541 gggggccttg tgctgctggt ttactactgg agcaagaata gaaaggccaa ggccaagcct  
3601 gtgacacgag gagcgggtgc tggcggcagg caaaggggac aaaacaagga gaggccacca  
3661 cctgttccca acccagacta tgagcccato cggaaaggcc agcgggacct gtattctggc  
3721 ctgaatcaga gacgcatctg ataagaattc gatccgcggc cgcaaggat ctgcatcgc  
3781 tccggtgccc gtcagtgggc agagcgcaca tcgcccacag tccccgagaa gttgggggga  
3841 ggggtcggca attgaacggg tgcctagaga aggtggcgcg gggtaaactg ggaaagtgat  
3901 gtcgtgtact ggctccgcct ttttccgag ggtgggggag aaccgtatat aagtgcagta  
3961 gtcgccgtga acgttctttt tcgcaacggg tttgccgcca gaacacagct gaagcttcca  
4021 ggggctcgca tctctccttc acgcgcccgc cgccctacct gaggccgcca tccacgccgg  
4081 ttgagtcgcg ttctgccgc tcccgcctgt ggtgcctcct gaactgcgtc cgccgtctag  
4141 gtaagtttaa agctcaggtc gagaccgggc ctttgcctgg cgctcccttg gaccctacct  
4201 agactcagcc ggctctccac gctttgcctg accctgcttg ctcaactcta cgtctttgtt  
4261 tcgttttctg ttctgcgccg ttacagatcc aagctgtgac cggcgcctac gctagatgac  
4321 cgagtacaag cccacgggtgc gcctgccac ccgacgacgac gtccccaggg ccgtacgcac  
4381 cctgcgccgc gcgttcgccg actaccocgc cacgcgccac accgtcgatc cggaccgcca  
4441 catcgagcgg gtcaccgagc tgcaagaact cttcctcacg cgcgtcgggc tcgacatcgg  
4501 caaggtgtgg gtcgcggagc acggcgcgcg ggtggcggtc tggaccacgc cggagagcgt  
4561 cgaagcgggg gcggtgttcg ccgagatcgg cccgcgcgat gccgagttga gcggttccg  
4621 gctggccgcg cagcaacaga tggaaggcct cctggcgcgc caccggccca aggagcccgc  
4681 gtggttctct gccaccgtcg gcgtctcgcg cgaccaccag ggcaagggtc tgggcagcgc  
4741 cgtcgtgctc cccggagtgg aggcggccga gcgcgcggg gtgcccgcct tcttgagac  
4801 ctccgcgcc cgcaacctcc ctttctacga gcggtcggc ttcaccgtca ccgccgacct  
4861 cgaggtgccc gaaggaccgc gcacctggtg catgaccgc aagcccgtg cctgagtcga  
4921 caatcaacct ctggattaca aaattgtga aagattgact ggtattctta actatgttgc  
4981 tctttttacg ctatgtgat acgctgcttt aatgcctttg tatcatgcta ttgcttccg  
5041 tatggctttc attttctct ccttgataa atcctggttg ctgtctcttt atgaggagtt  
5101 gtggcccgtt gtcaggcaac gtggcgtggt gtgcactgtg tttgctgac caacccccac  
5161 tggttggggc attgccacca cctgtcagct ctttccggg actttcgctt tccccctccc  
5221 tattgccacg gcggaactca tcgccgcctg ctttgcgccg tgctggacag gggctcggct  
5281 gttgggcaact gacaattccg tgggtgtgtc ggggaaatca tcgtcctttc cttggctgct  
5341 gcctgtgtt gccacctgga ttctgcggg gacgtccttc tgctacgtcc cttcggccct  
5401 caatccagcg gaccttctt cccgcggcct gctgccggct ctgcggcctc ttccgcgtct  
5461 tcgccttcgc cctcagacga gtcggatctc ctttggggc gcctccccgc ctggtacctt

5521 taagaccaat gacttacaag gcagctgtag atcttagcca ctttttaaaa gaaaaggggg  
5581 gactggaagg gctaattcac tcccaacgaa aataagatct gctttttgct tgtactgggt  
5641 ctctctggtt agaccagatc tgagcctggg agctctctgg ctaactaggg aaccactgc  
5701 ttaagcctca ataaagcttg ccttgagtgc ttcaagtagt gtgtgcccgct ctgttgtgtg  
5761 actctggtaa ctagagatcc ctgagacct tttagtcagt gtggaaaatc tctagcagta  
5821 gtagttcatg tcatottatt attcagtatt tataacttgc aaagaaatga atatcagaga  
5881 gtgagaggaa ctgttttatt gcagcttata atggttacia ataaagcaat agcatcacia  
5941 atttcacaaa taaagcattt ttttactgc attctagtgt tggtttgtcc aaactcatca  
6001 atgtatctta tcatgtctgg ctctagctat cccgccccta actccgccc gttccgccc  
6061 ttctccgccc catggctgac taatTTTTT tatttatgca gaggccgagg ccgctcggc  
6121 ctctgagcta ttccagaagt agtgaggagg cttttttgga ggcctagact tttgcagaga  
6181 cggcccaaat tcgtaatcat ggtcatagct gtttcctgtg tgaattgtt atccgctcac  
6241 aattccacac aacatacag cgggaagcat aaagtgtaaa gcctgggggtg cctaattgagt  
6301 gagctaactc acattaattg cgttgccctc actgcccgtt ttccagtcgg gaaacctgtc  
6361 gtgccagctg cattaatgaa tcggccaacg cgcggggaga ggcggtttgc gtattgggcg  
6421 ctcttccgct tctctgctca ctgactcgtc gcgctcggtc gttcggctgc ggcgagcgg  
6481 atcagctcac tcaaaggcgg taatacgggt atccacagaa tcaggggata acgcaggaaa  
6541 gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg cgttgctggc  
6601 gtttttccat aggtccgccc cccctgacga gcatcacia aatcgacgt caagtcagag  
6661 gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcgtt cccctggaa gctccctcgt  
6721 gcgctctcct gttccgacc tgccgcttac cggatacctg tccgccttc tccctcggg  
6781 aagcgtggcg ctttctcata gctcacgctg taggtatctc agttcgggtg aggtcgttcg  
6841 ctccaagctg ggctgtgtgc acgaacccc cgttcagccc gaccgctgcg ctttatccg  
6901 taactatcgt cttgagtcca acccgtaag acacgactta tcgccactgg cagcagccac  
6961 tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt aggcgggtgct acagagttct tgaagtgggt  
7021 gcctaactac ggctacacta gaaggacagt atttggtatc tgcgctctgc tgaagccagt  
7081 taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg atccggcaaa caaaccaccg ctggtagcgg  
7141 tggTTTTTT gtttcaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc  
7201 tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca gtggaacgaa aactcacgtt aagggatttt  
7261 ggtoatgaga ttatcaaaaa ggatcttcc ctagatcctt ttaaattaa aatgaagttt  
7321 taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag  
7381 tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt tcgttcatcc atagttgcct gactccccgt  
7441 cgtgtagata actacgatac gggaggcctt accatctggc cccagtgctg caatgatacc  
7501 gcgagaccca cgctcaccgg ctccagattt atcagcaata aaccagccag ccggaagggc

7561 cgagcgcaga agtggctctg caactttatc cgcctccatc cagtctatta attgttgccg  
 7621 ggaagctaga gtaagtagtt cgccagttaa tagtttgccg aacgttggtg ccattgctac  
 7681 aggcacgtg gtgtcacgct cgtcgtttgg tatggcttca ttcagctccg gttcccaacg  
 7741 atcaaggcga gttacatgat cccccatggt gtgcaaaaaa gcggttagct ccttcggctc  
 7801 tccgatcgtt gtcagaagta agttggccgc agtgttatca ctcatggta tggcagcact  
 7861 gcataattct cttactgtca tgccatccgt aagatgcitt tctgtgactg gtgagtactc  
 7921 aaccaagtca ttctgagaat agtgatgcg gcgaccgagt tgctcttgcc cggcgtcaat  
 7981 acgggataat accgcgocac atagcagaac tttaaaagtg ctcatcattg gaaaacgttc  
 8041 ttcggggcga aaactctcaa ggatcttacc gctgttgaga tccagttcga tgtaaccac  
 8101 tcgtgcaccc aactgatctt cagcatcttt tactttcacc agcgtttctg ggtgagcaaa  
 8161 aacaggaagg caaatgccg caaaaaaggg aataaggcg acacggaaat gttgaatact  
 8221 catactcttc ctttttcaat attattgaag catttatcag ggttattgtc tcatgagcgg  
 8281 atacatattt gaatgtattt agaaaaataa acaaataggg gttccgcgca catttccccg  
 8341 aaaagtcca cctgacgtct aagaaacct tattatcatg acattaacct ataaaaatag  
 8401 gcgtatcacg aggccctttc gtctcgcgog tttcgggat gacggtgaaa acctctgaca  
 8461 catgcagctc ccggagacgg tcacagctt tctgtaagcg gatgccggga gcagacaagc  
 8521 ccgtcagggc gcgtcagcgg gtgttgccgg gtgtcggggc tggcttaact atgcggcatc  
 8581 agagcagatt gtactgagag tgcaccatat gcggtgtgaa ataccgcaca gatgcgtaag  
 8641 gagaaaatac cgcacaggc gccattgcc attcaggctg cgcaactgtt gggaaggcgc  
 8701 atcgggtcgg gcctcttcgc tattacgcca gctggcga ggggatgtg ctgcaaggcg  
 8761 attaagttg gtaacgccag gttttccca gtcacgacgt tgtaaacga cggccagtgc  
 8821 caagctg.

***p510\_antiCD19\_SL\_CD3epsilon*** (SEQ ID NO: 18)

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca  
 61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcacgcca ttggtggaag taaggtgta  
 121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac ggtctgaca tggattggac gaaccactga  
 181 attgcccat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc  
 241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac cactgctta  
 301 agcctcaata aagcttgct tgagtcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact  
 361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg  
 421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaaggga accagagctc tctcgacgca ggactcggct  
 481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggc gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt  
 541 gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag  
 601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt

661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt  
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatacaag  
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaaag  
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg  
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
1081 ctttgttcct tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc  
1141 tgacgtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtga gcagcagaac aatttgctga  
1201 gggctattga ggcgaacag catctgttc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc  
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa  
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga  
1501 acaagaatta ttggaattag ataatgggc aagtttggg aattggttta acataacaaa  
1561 ttggctgtgg tatataaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat  
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt  
1681 tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt  
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtga ggggaaagaa tagtagacat  
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt  
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca  
1981 tctacgtatt agtcatcgt attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc  
2041 gtggatagcg gttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga  
2101 gtttgttttg gcacaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat  
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag  
2221 tgaacgtca gatgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct  
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca  
2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct  
2401 ctgggagaca gagtccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat  
2461 tggatcagc agaaaccaga tggaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta  
2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc  
2581 attagcaacc tgggcaaga agatattgoc acttactttt gccaacaggg taatacgctt  
2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc

2701 aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct  
2761 ggcttgggtg cgcctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta  
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga  
2881 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc  
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac  
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacgggtg gtagctatgc tatggactac  
3061 tgggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caggtggcgg cggttctggt  
3121 ggcggcgggt ctggtggcgg cggttctctc gaggatggta atgaagaaat ggggtgtatt  
3181 acacagacac catataaagt ctccatctct ggaaccacag taatattgac atgccctcag  
3241 tatcctggat ctgaaatact atggcaacac aatgataaaa acataggcgg tgatgaggat  
3301 gataaaaaca taggcagtga tgaggatcac ctgtcactga aggaattttc agaattggag  
3361 caaagtgggt attatgtctg ctaccccaga ggaagcaaac cagaagatgc gaacttttat  
3421 ctctacctga gggcaagagt gtgtgagaac tgcattggaga tggatgtgat gtcggtggcc  
3481 acaattgtca tagtggacat ctgcatcact gggggcttgc tgctgctggt ttactactgg  
3541 agcaagaata gaaaggccaa ggccaagcct gtgacacgag gagcgggtgc tggcggcagg  
3601 caaaggggac aaaacaagga gaggccacca cctgttcca acccagacta tgagcccatc  
3661 cggaaaggcc agcgggacct gtattctggc ctgaatcaga gacgcatctg ataagaattc  
3721 gatccgcggc cgcgaaggat ctgcgatgc tccggtgccc gtcagtgggc agagcgcaca  
3781 tcgccacag tcccagagaa gttgggggga ggggtcggca attgaacggg tgcctagaga  
3841 aggtggcgcg gggtaaaactg ggaaagtgat gtcgtgtact ggctccgct ttttcccag  
3901 ggtgggggag aaccgtatat aagtgcagta gtcgccgtga acgttctttt tcgcaacggg  
3961 tttgccgcca gaacacagct gaagcttoga ggggctcga tctctcctc acgcgcccgc  
4021 cgcctacct gaggcgcga tccacgcgg ttgagtcgag ttctgccgc tccgcctgt  
4081 ggtgocctct gaactgogtc cgcctctag gtaagttaa agctcaggtc gagaccgggc  
4141 ctttgtccgg cgtcccttg gagcctacct agactcagcc ggctctccac gctttgctg  
4201 accctgcttg ctcaactcta cgtctttgtt tcgtttctg ttctgcgccg ttacagatcc  
4261 aagctgtgac cggcgcctac gctagatgac cgagtacaag cccacggtgc gcctcgccac  
4321 ccgcgacgac gtcccaggg ccgtacgac cctcgccgc gcgttcgccg actaccccgc  
4381 cacgcgccac accgtgatc cggaccgcca catcgagcgg gtcaccgagc tgcaagaact  
4441 cttoctcag cgcgtogggc tcgacatgg caaggtgtgg gtcgcgagc acggcgccgc  
4501 ggtggcggtc tggaccacgc cggagagcgt cgaagcggg gcggtgttcg ccgagatcgg  
4561 cccgcgcatg gccgagttga gcggttccg gctggccgcg cagcaacaga tggaaggcct  
4621 cctggcgcg caccggocca aggagcccgc gtggttctg gccaccgtc gogtctcgc  
4681 cgaccaccag ggcaagggtc tgggcagcgc cgtcgtgctc cccggagtgg aggcggccga



4741 gcgcgcccggg gtgcccgcct tcctggagac ctccgcgccc cgcaacctcc ccttctacga  
4801 gcggctcggc ttcaccgtca ccgccgacgt cgaggtgccc gaaggaccgc gcacctggtg  
4861 catgaccocgc aagcccgggtg cctgagtoga caatcaacct ctggattaca aaatttgtga  
4921 aagattgact ggtattotta actatgttgc tccttttacg ctatgtggat acgctgcttt  
4981 aatgcctttg tatcatgcta ttgcttcccg tatggctttc attttctcct ccttgtataa  
5041 atcctggttg ctgtctcttt atgaggagtt gtggcccgtt gtcaggcaac gtggcgtggt  
5101 gtgcaactgtg tttgctgacg caacccccac tggttggggc attgccacca cctgtcagct  
5161 cctttccggg actttogctt tccccctccc tattgccacg gcggaactca togccgcctg  
5221 ccttgcccgc tgctggacag gggctcggct gttgggcaact gacaattccg tgggtttgtc  
5281 ggggaaatca tcgtcctttc cttggctgct cgcctgtgtt gccacctgga ttctgcgcg  
5341 gacgtccttc tgctacgtcc cttcggccct caatccagcg gaccttcctt cccgcggcct  
5401 gctgccggct ctgcggcctc ttccgcgtct tcgccttcgc cctcagacga gtcggatctc  
5461 cctttgggcc gcctccccgc ctggtacctt taagaccaat gacttacaag gcagctgtag  
5521 atottagcca ctttttaaaa gaaaaggggg gactggaagg gctaattcac toccaacgaa  
5581 aataagatct gctttttgct tgtactgggt ctctctggtt agaccagatc tgagcctggg  
5641 agctctctgg ctaactaggg aaccactgc ttaagcctca ataaagcttg ccttgagtgc  
5701 ttcaagtagt gtgtgccgt ctgttgtgtg actctggtaa ctagagatcc ctcagaccct  
5761 tttagttagt gtggaaaatc tctagcagta gtagttcatg tcatcttatt attcagtatt  
5821 tataacttgc aaagaaatga atatcagaga gtgagaggaa cttgtttatt gcagcttata  
5881 atggttacia ataaagcaat agcatcacia atttcaciaa taaagcattt ttttactgc  
5941 attctagttg tggtttgtcc aaactcatca atgtatctta tcatgtctgg ctctagctat  
6001 cccgccccta actccgcccga gttccgcccga ttctccgccc catggctgac taatttttt  
6061 tatttatgca gaggccgagg ccgcctcggc ctctgagcta ttccagaagt agtgaggagg  
6121 cttttttgga ggcttagact tttgcagaga cggcccaaat tcgtaatcat ggtcatagct  
6181 gtttctctgt tgaattgtt atccgctcac aattccacac aacatacgag ccggaagcat  
6241 aaagtgtaaa gcctggggtg cctaatgagt gagctaactc acattaattg cgttgcgctc  
6301 actgcccgtt ttccagtgg gaaacctgtc gtgccagctg cattaatgaa toggccaacg  
6361 cgcggggaga ggcggtttgc gtattggcg ctcttccgct tcctcgtca ctgactcgtc  
6421 gcgctcggtc gttcggctgc ggcgagcgt atcagctcac tcaaaggcgg taatacgtt  
6481 atccacagaa tcaggggata acgcaggaaa gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc  
6541 caggaaccgt aaaaaggccg cgttctgtgc gtttttccat aggctccgcc cccctgacga  
6601 gcatcacaaa aatcgacgct caagtcagag gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata  
6661 ccaggcgttt ccccttgaa gctccctogt gcgctctcct gttccgacct tgccgcttac  
6721 cggatacctg tccgcctttc tcccttcggg aagcgtggcg ctttctcata gctcagctg

6781 taggtatctc agttcgggtg aggtcgttcg ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc  
6841 cgttcagccc gaccgctgcg cttatccgg taactatcgt cttgagtcca acccggtaa  
6901 acacgactta tcgccactgg cagcagccac tggtaacagg attagcagag cgaggatgt  
6961 aggcgggtgct acagagttct tgaagtggg gcctaactac ggctacacta gaaggacagt  
7021 atttggtatc tgcgctctgc tgaagccagt taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg  
7081 atccggcaaaa caaaccaccg ctggtagcgg tggttttttt gtttgcaagc agcagattac  
7141 gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca  
7201 gtggaacgaa aactcaogtt aagggatttt ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac  
7261 ctagatcctt ttaaattaa aatgaagttt taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac  
7321 ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt  
7381 tcgttcaccc atagttgctt gactccccgt cgtgtagata actacgatac gggagggctt  
7441 accatctggc cccagtgctg caatgatacc gcgagacca cgctcaccgg ctccagattt  
7501 atcagcaata aaccagccag ccggaagggc cgagcgcaga agtggtcctg caactttatc  
7561 cgctccatc cagtctatta attggtgccc ggaagctaga gtaagtagtt cgccagttaa  
7621 tagtttgccg aacgttggtt ccattgctac aggcacgtg gtgtcacgct cgtcgtttgg  
7681 tatggcttca ttcagctccg gttcccaacg atcaaggcga gttacatgat ccccatggt  
7741 gtgcaaaaaa gcggttagct ccttcggctc tccgatcgtt gtcagaagta agttggccgc  
7801 agtgttatca ctcatggtta tggcagcact gcataattct cttactgtca tgccatccgt  
7861 aagatgcttt tctgtgactg gtgagtactc aaccaagtca ttctgagaat agtgtatgcg  
7921 gcgaccgagt tgctcttgcc cggcgtcaat acgggataat accgcgccac atagcagaac  
7981 tttaaaagtg ctcatcattg gaaaacgtt ttcggggcga aaactctcaa ggatcttacc  
8041 gctggttgaga tccagttcga tgtaaccac tcgtgcacc aactgatctt cagcatcttt  
8101 tactttcacc agcgtttctg ggtgagcaaa aacaggaagg caaatgccg caaaaaagg  
8161 aataagggcg acacggaaat gttgaatact catactcttc ctttttcaat attattgaag  
8221 catttatcag gttattgtc tcatgagcgg atacatattt gaatgtattt agaaaaataa  
8281 acaaataggg gttccgcgca cattccccg aaaagtcca cctgacgtct aagaaacct  
8341 tattatcatg acattaacct ataaaaatag gcgtatcaog aggcctttc gtctcgcg  
8401 tttcgggtgat gacggtgaaa acctctgaca catgcagctc ccggagacgg tcacagcttg  
8461 tctgtaagcg gatgccggga gcagacaagc ccgtcagggc gcgtcagcgg gtgttgccgg  
8521 gtgtcggggc tggcttaact atgcggcatc agagcagatt gtactgagag tgcaccatat  
8581 gcggtgtgaa ataccgcaca gatgcgtaag gagaaaatac cgcatcaggg gccattcgcc  
8641 attcaggctg cgcaactggt gggaagggcg atcggtgccg gcctcttcgc tattacgcca  
8701 gctggcgaaa ggggatgtg ctgcaaggcg attaagttgg gtaacgccag ggttttcca  
8761 gtcacgacgt tgtaaaacga cggccagtgc caagctg.

*p510\_antiCD19\_SL\_CD3gamma* (SEQ ID NO: 19)

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca  
61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgccga ttggtggaag taaggtggta  
121 cगतogtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaacctgta  
181 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc  
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccaactgctta  
301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgttc aagtagtgtg tgccctctg ttgtgtgact  
361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg  
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct  
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatfff  
541 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag  
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcggtt aaggccaggg ggaaagaaa aatataaatt  
661 aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgff  
721 agaaacatca gaaggctgta gacaaact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaag  
841 gatagagata aaagacacca aggaagctff agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag  
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg  
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtgggfc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
1081 ctttgttctc tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc  
1141 tgacgttaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttctgta  
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcctc aagcagctcc  
1261 aggaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa  
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga  
1501 acaagaatta ttggaattag ataatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa  
1561 ttggctgttg tatataaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat  
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt  
1681 tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggff  
1801 aacttttaaa agaaaagggg gattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat  
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaat tcaaaatfff  
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ctttatggga ctttctact tggcagtaca

1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc  
 2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga  
 2101 gtttgttttg gcacaaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat  
 2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag  
 2221 tgaaccgtca gatgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctcat agaagattct  
 2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca  
 2341 gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct  
 2401 ctgggagaca gagtcaocat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat  
 2461 tggatcagc agaaaccaga tggaactggt aaactcctga tctaccatac atcaagatta  
 2521 cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc  
 2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt  
 2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc  
 2701 aagcccgat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct  
 2761 ggctgttg cgccctcaca gacctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta  
 2821 cccgactatg gtglaagctg gattcgccag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga  
 2881 gtaatattgg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc  
 2941 atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac  
 3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac  
 3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggcgg caggtggcgg cggttctggt  
 3121 ggcggcgggt ctggtggcgg cggttctctc gagcagtcaa tcaaaggaaa ccacttggtt  
 3181 aaggtgtatg actatcaaga agatggttcg gtacttctga cttgtgatgc agaagccaaa  
 3241 aatatcacat gttttaaaga tgggaagatg atcggcttcc taactgaaga taaaaaaaaa  
 3301 tggaatctgg gaagtaatgc caaggacca cgagggatgt atcagtgtaa aggatcacag  
 3361 aacaagtcaa aacctcca agtgtattac agaatgtgc agaactgcat tgaactaaat  
 3421 gcagccacca tatctggctt tctctttgct gaaatcgtca gcattttcgt ccttgctggt  
 3481 ggggtctact tcattgctgg acaggatgga gttcgccagt cgagagcttc agacaagcag  
 3541 actctgttgc ccaatgacca gctctaccag ccctcaagg atcgagaaga tgaccagtac  
 3601 agccaccttc aaggaaacca gttgaggagg aattgataag aattcgatcc gcggccgca  
 3661 aggatctgcg atcgtccgg tgcccgtcag tgggcagagc gcacatgcc cacagtcccc  
 3721 gagaagttgg ggggaggggt cggcaattga acgggtgcct agagaaggtg gcgcggggta  
 3781 aactgggaaa gtgatgtcgt gtactggctc cgcctttttc ccgagggtgg gggagaaccg  
 3841 tatataagtg cagtagtcgc cgtgaacgtt ctttttcgca acgggtttgc cgcagaaca  
 3901 cagctgaagc ttcgaggggc tcgcatctct ccttcacgcg cccgcccgcc tacctgaggc  
 3961 cgccatccac gccggttgag tcgcgttctg ccgcctccc cctgtgtgc ctctgaact

4021 gcgtccgccc tctaggtaag tttaaagctc aggtcgagac cgggcctttg tccggcgcctc  
 4081 ccttgagacc tacctagact cagccggctc tccacgcttt gcctgaccct gcttgctcaa  
 4141 ctctacgtct ttgtttcgtt ttctgttctg cgcggttaca gatccaagct gtgaccggcg  
 4201 cctacgctag atgaccgagt acaagcccac ggtgcgctc gccaccgcg acgacgtccc  
 4261 cagggccgta cgcaccctcg ccgcccggtt cgccgactac cccgccacgc gccacaccgt  
 4321 cgatccggac cgccacatcg agcgggtcac cgagctgcaa gaactcttcc tcacgcgcgt  
 4381 cgggctcgac atcggcaagg tgtgggtgc ggacgacggc gccgcggtgg cggctctggac  
 4441 cacgocggag agcgtogaag cggggcggtt gttcgccgag atcggcccgc gcattggccga  
 4501 gttgagcggg tcccggctgg ccgcgacgca acagatggaa ggctctctgg cgcgcaccg  
 4561 gcccaaggag cccgcgtggt tcctggccac cgtcggcgtc tcgcccgacc accagggcaa  
 4621 gggctctggc agcgcctcg tgctccccgg agtggaggcg gccgagcgcg ccggggtgcc  
 4681 cgcttctctg gagacctccg cgcgccgcaa cctccccttc tacgagcggc tcggcttcac  
 4741 cgtcaccgcc gacgtcgagg tgcccgaagg accgcgcacc tggatgatga cccgcaagcc  
 4801 cgggtgcctga gtcgacaatc aacctctgga ttacaaaatt tgtgaaagat tgactggtat  
 4861 tottaactat gttgctcctt ttacgtatg tggatacgt gctttaatgc ctttgatca  
 4921 tgctattgct tcccgatgg ctttcatttt ctctccttg tataaatcct ggttgctgtc  
 4981 tctttatgag gaggttggc ccggtgtcag gcaacgtggc gtggtgtgca ctgtgtttgc  
 5041 tgacgaacc cccactggtt ggggcattgc caccacctgt cagctccttt ccgggacttt  
 5101 cgctttcccc ctccctattg ccacggcgga actcatgcc gcctgccttg cccgctgctg  
 5161 gacaggggct cggctgttgg gcaactgaaa ttccgtggtg ttgtcgggga aatcatcgtc  
 5221 ctttcttgg ctgctgcct gtgttgccac ctgattctg cgcgggacgt ccttctgcta  
 5281 cgtcccctcg gccctcaatc cagcggacct tccttccgc gccctgctgc cggctctgcb  
 5341 gcctcttccg cgtcttccg ttccgacctc gacgagtcgg atctcccttt gggccgcctc  
 5401 cccgctggt accttaaga ccaatgactt acaaggcagc tgtagatctt agccactttt  
 5461 taaaagaaaa ggggggactg gaagggctaa ttactccca acgaaaataa gatctgcttt  
 5521 ttgcttgtag tgggtctctc tggtagacc agatctgagc ctgggagctc tctggctaac  
 5581 tagggaacc actgcttaag cctcaataaa gcttgccctg agtgcttcaa gtatgtgtg  
 5641 cccgtctggt gtgtgactct ggtaactaga gatccctcag acccttttag tcagtgtgga  
 5701 aaatctctag cagtagtagt tcatgtcatc ttattattca gtattataa cttgcaaaga  
 5761 aatgaatata agagagtgag aggaacttgt ttattgcagc ttataatgt tacaataaa  
 5821 gcaatagcat cacaaatttc acaataaag catttttttc actgcattct agttgtggtt  
 5881 tgtcaaaact catcaatgta tcttatcatg tctggctcta gctatcccgc cctaactcc  
 5941 gccagttcc gccattctc cgcgccatgg ctgactaatt tttttattt atgcagaggc  
 6001 cgaggccgcc tcggcctctg agctattcca gaagtagtga ggaggctttt ttggaggcct

6061 agacttttgc agagacggcc caaatcogta atcatggtca tagctgtttc ctgtgtgaaa  
6121 ttgttatccg ctcaacaattc cacacaacat acgagccgga agcataaagt gtaaagcctg  
6181 ggggtgcctaa tgagtgagct aactcacatt aattgcgttg cgctcactgc cgcctttcca  
6241 gtcgggaaaac ctgtcgtgcc agctgcatta atgaatcggc caacgcgcgg ggagaggcgg  
6301 tttgcgtatt gggcgtctt cgccttctc gctcactgac tcgctgcgct cggctgttcg  
6361 gctgcggcga gcggtatcag ctactcaaaa ggcgtaata cggttatcca cagaatcagg  
6421 ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa  
6481 ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct ccgccccct gacgagcatc acaaaaatcg  
6541 acgctcaagt cagagggtgc gaaaccgac aggactataa agataccagg cgtttcccc  
6601 tggaaagctcc ctctgcgct ctctgttcc gaccctgccg cttaccggat acctgtccgc  
6661 ctttctccct tcgggaagcg tggcgtttc tcatagctca cgctgtaggt atctcagttc  
6721 ggtgtaggtc gttcgtcca agctgggctg tgtgcacgaa cccccgttc agcccgaccg  
6781 ctgcgcctta tccgtaact atcgtcttga gtccaaccg gtaagacacg acttatcgcc  
6841 actggcagca gccactggta acaggattag cagagcgagg tatgtaggcg gtgctacaga  
6901 gttcttgaag tggtagccta actacggcta cactagaagg acagtattg gtatctgcgc  
6961 tctgctgaag ccagttacct tcggaaaaag agttggtagc tcttgatccg gcaaaaaac  
7021 caccgctggt agcgggtggt tttttgttg caagcagcag attacgcgca gaaaaaagg  
7081 atctcaagaa gatcctttga tctttctac ggggtctgac gctcagtgga acgaaaactc  
7141 acgttaaggg attttggtca tgagattatc aaaaaggatc ttcacctaga tccttttaa  
7201 ttaaaaatga agttttaa atcaatctaaag tatatatgag taaacttggg ctgacagtta  
7261 ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc agcgatctgt ctatttcgtt catccatagt  
7321 tgctgactc cccgtcgtgt agataactac gatacgggag ggcttaccat ctggccccag  
7381 tgctgcaatg ataccgcgag acccacgctc accggctcca gatttatcag caataaacca  
7441 gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg tcctgcaact ttatccgctt coatccagtc  
7501 tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt  
7561 tgttgccatt gctacaggca tcgtggtgtc acgctcgtcg tttggtatgg cttcattcag  
7621 ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac atgatcccc atgtttgtgca aaaaagcgg  
7681 tagctccttc ggtcctccga tcgttgcag aagtaagttg gccgcagtgt taccactcat  
7741 ggttatggca gcaactgcata attctcttac tgtcatgcca tccgtaagat gcttttctgt  
7801 gactggtgag tactcaacca agtcattctg agaatagtgt atgcggcgac cgagttgctc  
7861 ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc gccacatagc agaactttaa aagtgtctcat  
7921 cattgaaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag  
7981 ttcgatgtaa cccactogtg cacccaactg atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt  
8041 ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa tgccgcaaaa aagggaataa gggcgacacg

8101 gaaatgttga atactcatac tcttcctttt tcaatattat tgaagcattt atcagggtta  
 8161 ttgtotcatg agcggataca tatttgaatg tatttagaaa aataaaciaa taggggttcc  
 8221 gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga cgtctaagaa accattatta tcatgacatt  
 8281 aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc ctttcgtctc gcgcgtttcg gtgatgacgg  
 8341 tgaaaacctc tgacacatgc agctcccgga gacggtcaca gcttgtctgt aagcggatgc  
 8401 cgggagcaga caagcccgtc agggcgcgtc agcgggtgtt ggccgggtgc ggggctggct  
 8461 taactatgcg gcatcagagc agattgtact gagagtgcac catatgcggt gtgaaatacc  
 8521 gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat caggcgccat tcgccattca ggctgcgcaa  
 8581 ctgttgggaa gggcgatcgg tgcgggctc ttcgctatta cggcagctgg cgaaaggggg  
 8641 atgtgctgca aggcgattaa gttgggtaac gccagggttt tccagtcac gacgttghaa  
 8701 aacgacggcc agtgccaagc tg.

*p510\_antiCD19\_SL\_CD3delta* (SEQ ID NO: 20)

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca  
 61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattccga ttggtggaag taaggtgta  
 121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga  
 181 attgccgcat tgcaagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc  
 241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccaactgctta  
 301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgtctc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact  
 361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg  
 421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct  
 481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt  
 541 gactagcggga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcggggggag  
 601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt  
 661 aaaacatata gtatgggcaa gcaggagctc agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt  
 721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
 781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcattcaaag  
 841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaaag  
 901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatattgaggg  
 961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
 1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
 1081 ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgagcc tcaatgacgc  
 1141 tgacgttaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttctgta  
 1201 gggctattga ggcgaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcctc aagcagctcc  
 1261 aggaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg

1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa  
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga  
1501 acaagaatta ttggaattag ataatgggc aagtttgttg aattggttta acataacaaa  
1561 ttggctgttg tatataaat tattcataat gatagtagga ggcttgtag gttaagaat  
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt  
1681 tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattog attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt  
1801 aacttttaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtga ggggaaagaa tagtagacat  
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt  
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttctact tggcagtaca  
1981 tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc  
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga  
2101 gtttgttttg gcacaaaat caacgggact ttcaaaaatg tcgtaacaac tccgccccat  
2161 tgacgcaaat ggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag  
2221 tgaaccgtca gatcgcttg agacgccatc cacgctgttt tgacctcat agaagattct  
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca  
2341 gcattctcc tgatccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct  
2401 ctgggagaca gagtccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat  
2461 tggatcagc agaaaccaga tggaactggt aaactcctga tctaccatac atcaagatta  
2521 cactcaggag tccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc  
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt  
2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc  
2701 aagcccgat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggatga aactgcagga gtcaggacct  
2761 ggcttggttg cgcctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta  
2821 cccgactatg gtgtaagctg gattgccag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga  
2881 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc  
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagtttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac  
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac  
3061 tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcgccg caggtggcgg cggttctggt  
3121 ggcgcggtt ctggtggcgg cggttctctc gagttcaaga tacctataga ggaacttgag  
3181 gacagagtgt ttgtgaattg caataccagc atcacatggg tagaggaac ggtgggaaca  
3241 ctgctctcag acattacaag actggacctg ggaaaacgca tcctggacct acgaggaata  
3301 tataggtgta atgggacaga tatatacaag gacaaagaat ctaccgtgca agttcattat



3361 cgaatgtgcc agagctgtgt ggagctggat ccagccaccg tggctggcat cattgtcact  
3421 gatgtcattg ccaactctgct ccttgctttg ggagtcttct gctttgctgg acatgagact  
3481 ggaaggctgt ctggggctgc cgacacacaa gctctgttga ggaatgacca ggtctatcag  
3541 cccctccgag atcgagatga tgctcagtac agccaccttg gaggaactg ggctcggaac  
3601 aagtgataag aattogatcc gcggccgoga aggatctgog atcgctccgg tgcccgtcag  
3661 tgggcagagc gcacatcgcc cacagtcccc gagaagttgg ggggaggggt cggcaattga  
3721 acgggtgcct agagaaggtg gcgcggggta aactgggaaa gtgatgtcgt gtactggctc  
3781 cgcctttttc ccgaggggtg gggagaacog tatataagtg cagtagtcgc cgtgaacgtt  
3841 ctttttcgca acgggtttgc cgccagaaca cagctgaagc ttcgaggggc tcgcatctct  
3901 ccttcacgcg cccgccgccc tacctgaggc cgccatccac gccggttag cgcggttctg  
3961 ccgcctcccg cctgtggtgc ctctgaact gcgtccgccc tctaggtaag tttaaagctc  
4021 aggtcgagac cgggcctttg tccggcgctc ccttgagacc tacctagact cagccggctc  
4081 tccacgcttt gcctgaccct gcttgcctca ctctacgtct ttgtttcgtt ttctgttctg  
4141 cgcggttaca gatccaagct gtgaccggcg cctacgctag atgaccgagt acaagcccac  
4201 ggtgcgcctc gccaccocg acgacgtccc cagggccgta cgcaccctcg ccgcccgtt  
4261 cgcgactac cccgccacgc gccacaccgt cgatccggac cgcacatcg agcgggtcac  
4321 cgagctgcaa gaactcttcc tcacgcgctg cgggctcgac atcggcaagg tgtgggtcgc  
4381 ggacgacggc gccgcggtg cggctctggac cacgccggag agcgtcgaag cggggcggtt  
4441 gttcgccgag atcggcccgc gcatggccga gttgagcgt tcccggctgg ccgcgagca  
4501 acagatgaa ggcctcctgg cgcgcaccg gcccaaggag cccgctggt tcttgccac  
4561 cgtcggcgtc tcgcccgacc accagggcaa gggctctggc agcgcctcg tgctccccgg  
4621 agtggaggcg gccgagcgc cgggggtgcc cgccttctg gagacctcg cgcgccgcaa  
4681 cctccccttc tacgagcggc tcggcttacc cgtcaccgcc gacgtcgagg tgcccgaagg  
4741 accgogcacc tggatcatga cccgaagoc cggctcctga gtcgacaatc aacctctgga  
4801 ttacaaaatt tgtgaaagat tgactggtat tcttaactat gttgctcctt ttacgctatg  
4861 tggatacgct gctttaatgc ctttgatca tgctattgct tccgctatgg ctttcatttt  
4921 ctctccttg tataaatcct ggttgctgct tctttatgag gatttgtggc ccggtgtcag  
4981 gcaacgtggc gtggtgtgca ctgtgtttgc tgacgcaacc cccactggt ggggcattgc  
5041 caccacctgt cagctccttt ccgggacttt cgctttcccc ctccctattg ccacggcgga  
5101 actcatcgcc gcctgccttg cccgctgctg gacaggggt cggctggttg gcaactgaaa  
5161 ttccgtggtg ttgctgggga aatcatcgct ctttccttg ctgctcgct gtgttgccac  
5221 ctggattctg cgcgggacgt cttctgcta cgtccctcg gccctcaatc cagcggacct  
5281 tccttcccgc ggctgctgc cggctctgog gcctcttccg cgtcttcgcc ttogccctca  
5341 gacgagtcgg atctcccttt gggccgcctc cccgcctggt accttaaga ccaatgactt

5401 acaaggcagc thtagatcct agccactttt taaaagaaaa ggggggactg gaagggctaa  
5461 ttcactccca acgaaaataa gatctgcttt ttgcttgtag tgggtctctc tggtagacc  
5521 agatctgagc ctgggagctc tctggctaac tagggaacc actgcttaag cctcaataaa  
5581 gcttgccctg agtgcttcaa gtagtgtgtg cccgtctgtt gtgtgactct ggtaactaga  
5641 gatccctcag acccttttag tcagtgtgga aaatctctag cagtagtagt tcoatgcatc  
5701 ttattattca gtatttataa cttgcaaaga aatgaatatac agagagttag aggaacttgt  
5761 ttattgcagc ttataatggt tacaataaa gcaatagcat cacaaattc acaataaag  
5821 catttttttc actgcattct agttgtggtt tgtccaaact catcaatgta tottatcatg  
5881 tctggctcta gctatccgc ccctaactcc gccagttcc gccattctc gccccatgg  
5941 ctgactaatt tttttatatt atgcagaggc cgaggccgcc tcggcctctg agctattcca  
6001 gaagtagtga ggaggctttt ttggaggcct agacttttgc agagacggcc caaattcgta  
6061 atcatggtca tagctgtttc ctgtgtgaaa ttgttatccg ctcaaatc cacacaacat  
6121 acgagccgga agcataaagt gtaaagcctg ggggtgcctaa tgagttagct aactcacatt  
6181 aattgcgttg cgctcactgc ccgctttcca gtcgggaaac ctgtcgtgcc agctgcatta  
6241 atgaatcggc caacgcgcgg ggagaggcgg tttgcgtatt gggcgtctt cgccttctc  
6301 gctcactgac tcgctgcgct cggctgttcg gctgcggcga gcggtatcag ctactcaaa  
6361 ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa  
6421 aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct  
6481 ccgccccct gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaaccgac  
6541 aggactataa agataccagg cgtttcccc tggaagctcc ctctgctgct ctctgttcc  
6601 gaccctgccg cttaccgat acctgtccgc ctttctccct tcgggaagcg tggcgctttc  
6661 tcatagctca cgctgtaggt atctcagttc ggtgtaggtc gttcgtcca agctgggctg  
6721 tgtgcacgaa cccccgttc agcccagcc ctgcgcctta tccggtact atcgtcttga  
6781 gtccaaccg gtaagacacg acttatcgc actggcagca gccactggt acaggattag  
6841 cagagcgagg tatgtaggcg gtgctacaga gttcttgaag tgggtgccta actacggcta  
6901 cactagaagg acagtatttg gtatctgcgc tctgctgaag ccagttacct tcggaaaaag  
6961 agttggtagc tcttgatccg gcaaaaaaac caccgctggt agcgggtggt tttttgttg  
7021 caagcagcag attacgcgca gaaaaaagg atctcaagaa gatccttga tcttttctac  
7081 ggggtctgac gctcagtgga acgaaaactc acgttaaggg attttggta tgagattatc  
7141 aaaaaggatc ttcacctaga tctttttaa ttaaaaatga agttttaat caatctaaag  
7201 tatatatgag taaacttggc ctgacagtta ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc  
7261 agcgatctgt ctatttcgtt catccatagt tgcctgactc cccgtcgtg agataactac  
7321 gatacgggag ggcttaocat ctggccccag tgctgcaatg ataccgcgag acccagctc  
7381 accggtcca gatttatcag caataaacca gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg

7441 tcctgcaact ttatccgcct ccatccagtc tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag  
 7501 tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt tgttgccatt gctacaggca togtggtgtc  
 7561 acgctcgtcg tttggtatgg ctccattcag ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac  
 7621 atgatcccc atgttgca aaaaagcgg tagctccttc ggtcctccga togttgctag  
 7681 aagtaagttg gccgcagtgt tatcactcat gtttatggca gcactgcata attctcttac  
 7741 tgtcatgcca tccgtaagat gcttttctgt gactggtgag tactcaacca agtcattctg  
 7801 agaatagtgt atgcccgcac cgagttgctc ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc  
 7861 gccacatagc agaactttaa aagtgcocat cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact  
 7921 ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag ttgatgtaa cccactcgtg caccacactg  
 7981 atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa  
 8041 tgccgcaaaa aagggaataa gggcgacacg gaaatgtga atactcatac tcttctttt  
 8101 tcaatattat tgaagcattt atcagggtta ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg  
 8161 tatttagaaa aataaaciaa taggggttcc gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga  
 8221 cgtctaagaa accattatta tcatgacatt aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc  
 8281 ctttcgtctc gcgcgtttcg gtgatgacgg tgaaaacctc tgacacatgc agtcccggga  
 8341 gacggtcaca gcttgtctgt aagcggatgc cgggagcaga caagcccgtc agggcgctc  
 8401 agcgggtggt ggcgggtgtc ggggctggct taactatgcg gcatcagagc agattgtact  
 8461 gagagtgcac catatgoggt gtgaaatacc gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat  
 8521 caggcgccat tcgccattca ggctgcgcaa ctgttgggaa gggcgatcgg tgcgggcctc  
 8581 ttcgctatta cgccagctgg cgaaaggggg atgtgctgca aggcgattaa gttgggtaac  
 8641 gccagggttt tcccagtcac gacgttgtaa aacgacggcc agtgccaagc tg.

***p510\_antiCD19\_SL\_TCRbeta*** (SEQ ID NO: 21)

1 acgctgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca  
 61 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgcca ttggtggaag taaggtggtgta  
 121 cgatogtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga  
 181 attgocgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct ogatacaata aacgggtctc  
 241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac cactgctta  
 301 agcctcaata aagcttgctt tgagtgcctc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact  
 361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg  
 421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaaggga accagagctc tctcgacgca ggactcggct  
 481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgagg ggcggcactg gtgagtacgc caaaaatttt  
 541 gactagcggga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag  
 601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt  
 661 aaaacatata gtatgggcaa gcaggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt

721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaag  
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag  
901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg  
961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
1021 caccacacaa ggcaaagaga agagtgggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
1081 ctttgttctc tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc  
1141 tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtga gcagcagaac aatttgctga  
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc  
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa  
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga  
1501 acaagaatta ttggaattag ataatgggc aagtttggg aattggtta acataacaaa  
1561 ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat  
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt  
1681 tcagaccacac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattog attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt  
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtga ggggaaagaa tagtagacat  
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt  
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga cttatggga ctttcctact tggcagtaca  
1981 totacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc  
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga  
2101 gtttgttttg gcacaaaat caacgggact ttcaaaatg tcgtaacaac tocgcccat  
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggtta tataagcaga gctcgtttag  
2221 tgaaccgtca gatcgcttg agacccatc cacgctgttt tgacctcat agaagattct  
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca  
2341 gcattcctcc tgatccaga catccagatg acacagacta catcctcct gtctgcctct  
2401 ctgggagaca gagtccat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atatttaaat  
2461 tggatcagc agaaaccaga tggaactggt aaactcctga tctaccatac atcaagatta  
2521 cactcaggag tccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc  
2581 attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacagg taatacgctt  
2641 ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc  
2701 aagcccgat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct

2761 ggctgttg cgccctcaca gacctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta  
2821 ccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga  
2881 gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc  
2941 atcaaggaca actccaagag ccaagtttcc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac  
3001 acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac  
3061 tgggtcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caggctggcg cggttctggt  
3121 ggccggcgtt ctggtgccg cggttctctc gagctgggag caggcccagt ggattctgga  
3181 gtcacacaaa ccccaaagca cctgatcaca gcaactggac agcgagtgc gctgagatgc  
3241 tcccctaggt ctggagacct ctctgtgtca tggtagcaac agagcctgga ccagggcctc  
3301 cagttcctca ttcagtatta taatggagaa gagagagcaa aaggaaacat tcttgaacga  
3361 ttctccgcac aacagttccc tgacttgac tctgaactaa acctgagctc tctggagctg  
3421 ggggactcag ctttgtattt ctgtgccagc agccccgga caggcctgaa cactgaagct  
3481 ttctttggac aaggcaccag actcacagtt gtagaggacc tgaacaaggt gttcccacc  
3541 gaggtcgtg tgttgagcc atcagaagca gagatctccc acacccaaaa ggccacactg  
3601 gtgtgcctgg ccacaggctt cttcccgcac cacgtggagc tgagctggtg ggtgaatggg  
3661 aaggaggtgc acagtggggt cagcacggac ccgcagcccc tcaaggagca gcccgccctc  
3721 aatgactcca gatactgcct gagcagccgc ctgagggtct cggccacctt ctggcagaac  
3781 ccccgcaacc acttccgctg tcaagtccag ttctacgggc tctcggagaa tgacgagtgg  
3841 acccaggata gggccaaacc cgtcaccag atcgtcagcg ccgaggcctg gggtagagca  
3901 gactgtggct ttacctcgtt gtctaccag caaggggtcc tgtctgccac catcctctat  
3961 gagatcctgc tagggaaggc caccctgtat gctgtgctgg tcagcgcctt tgtgttgatg  
4021 gccatggtca agagaaagga tttctgataa gaattcgate cgcggccgcg aaggatctgc  
4081 gatcgtccg gtgcccgtca gtgggcagag cgcacatcgc ccacagtccc cgagaagttg  
4141 gggggagggg tcggcaattg aacgggtgoc tagagaaggt ggccgggggt aaactgggaa  
4201 agtgatgtcg tgaactggct ccgcctttt cccgagggtg ggggagaacc gtatataagt  
4261 gcagtagtgc ccgtgaacgt tctttttcgc aacgggtttg ccgccagaac acagctgaag  
4321 cttagagggg ctgcgctctc tcttcaagc gcccgccgc ctacctgagg ccgccatcca  
4381 ccgaggttga gtcgcttct gccgcctccc gcctgtggtg cctcctgaac tgcgtccgcc  
4441 gtctaggtaa gtttaaagct caggtcagaa ccgggccttt gtccggcgtc cccttgagc  
4501 ctacctagac tcagccggtc ctccagcgtt tgctgacctg gcttctca actctacgtc  
4561 tttgtttcgt tttctgttct gcgcccgttac agatccaagc tgtgaccggc gcctacgcta  
4621 gatgaccgag tacaagccca cgggtgcgct cggcaccgc gacgacgtcc ccagggccgt  
4681 acgcaccctc gccgcccgtc tcgcccacta ccccgccacg ccgccacacc togatccgga  
4741 ccgccacatc gagcgggtca ccgagctgca agaactctc ctcacgcgcg tcgggctcga

4801 catcggcaag gtgtgggtcg cggacgacgg cgccgcggtg gcggtctgga ccacgccgga  
4861 gagcgtcga gggggggcgg ttttcgcca gatcggcccg cgcattggccg agttgagcgg  
4921 ttcccggctg gccgcgcagc aacagatgga aggcctcctg gcgccgcacc ggcccgaagga  
4981 gcccgcgtgg ttcttgcca ccgtcggcgt ctgcgccgac caccagggca agggctctggg  
5041 cagcgcctgc gtgtccccg gagtggaggc ggccgagcgc gccggggtgc ccgcttctct  
5101 ggagacctcc gcgccccgca acctcccctt ctacgagcgg ctcggcttca ccgtcaccgc  
5161 cgacgtcag gtgccgaag gaccgcgcac ctggtgcatg acccgcaagc ccggtgcctg  
5221 agtogacaat caacctctgg attacaaaat ttgtgaaaga ttgactggta ttcttaacta  
5281 tgttctcct ttaagctat gtggatacgc tgccttaatg cctttgtatc atgctattgc  
5341 ttcccgatg gctttcattt tctcctcctt gtataaatcc tggttgctgt ctctttatga  
5401 ggagttgtgg ccggttgca ggcaacgtgg cgtggtgtgc actgtgtttg ctgacgcaac  
5461 cccactggt tggggcattg ccaccacctg tcagctcctt tccgggactt tcgctttccc  
5521 cctccctatt gccacggcgg aactcatcgc cgcctgcctt gcccgctgct ggacagggggc  
5581 tcggctgttg ggactgaca attccgtggt gttgtcgggg aaatcatcgt cctttccttg  
5641 gctgctcgc tgtttgcca cctggattct gcgcgggacg tccttctgct acgtcccttc  
5701 ggccctcaat ccagcggacc ttcttcccg cggcctgctg ccggctctgc ggctcttcc  
5761 gcgtcttcgc cttcgcctc agacgagtcg gatctccctt tgggccgctt ccccgctgg  
5821 tacctttaag accaatgact tacaaggcag ctgtagatct tagccacttt taaaagaaa  
5881 aggggggact ggaagggcta attcactccc aacgaaaata agatctgctt tttgcttgta  
5941 ctgggtctct ctggttagac cagatctgag cctgggagct ctctggctaa ctagggaacc  
6001 cactgcttaa gcctcaataa agcttgctt gagtgcttca agtagtgtgt gcccgctctgt  
6061 tgtgtgactc tggtaactag agatccctca gaccctttta gtcagtgtgg aaaatctcta  
6121 gcagtagtag ttcatgtcat cttattatc agtatttata acttgcaaag aatgaatat  
6181 cagagagtga gaggaacttg tttattgcag cttataatgg ttacaaataa agcaatagca  
6241 tcacaaattt cacaaataaa gcattttttt cactgcattc tagttgtggt ttgtccaaac  
6301 tcatcaatgt atcttatcat gtctggctct agctatcccg cccctaactc cggccagttc  
6361 cgcctattct ccgcccctg gctgactaat tttttttatt tatgcagagg ccgaggccgc  
6421 ctccgctct gagctattcc agaagtagtg aggaggcttt tttggaggcc tagacttttg  
6481 cagagacggc ccaaattcgt aatcatggtc atagctgttt cctgtgtgaa attgttatcc  
6541 gtcacaatt ccacacaaca tacgagccgg aagcataaag tgtaaagcct ggggtgccta  
6601 atgagtgagc taactcacat taattgcgtt gcgctcactg cccgctttcc agtcgggaaa  
6661 cctgtcgtgc cagctgcatt aatgaatgg ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat  
6721 tggcgctct tccgcttct cgctcactga ctgcctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg  
6781 agcggtatca gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc

6841 aggaaagaac atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcggt  
6901 gctggcggtt ttccataggc tccgcccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag  
6961 tcagaggtgg cgaaccgca caggactata aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc  
7021 cctcgtgcgc tctcctgttc cgacctgcc gcttaccgga tacctgtccg cttttctccc  
7081 ttcggaagc gtggcgctt ctcatagctc acgctgtagg tatctcagtt oggtgtaggt  
7141 cgttcgctcc aagctgggct gtgtgcacga accccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt  
7201 atccggtaac tatcgtcttg agtccaacc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc  
7261 agccactggt aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttctttaa  
7321 gtggtgccct aactaggct acactagaag gacagtattt ggtatctgcg ctctgcttaa  
7381 gccagttacc ttcgaaaaa gagttgtag ctcttgatcc ggcaaaaaa ccaccgctgg  
7441 tagcgggtgt tttttgtt gcaagcagca gattacgagc agaaaaaag gatctcaaga  
7501 agatcctttg atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg  
7561 gattttggtc atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg  
7621 aagttttaa tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt  
7681 aatcagtgag gcacctatct cagcgatctg tctatttctg tcatccatag ttgcctgact  
7741 ccccgctcgt tagataacta cgatacggga gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat  
7801 gataccgca gaccacgct caccggctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg  
7861 aaggccgag cgcagaagtg gtctgcaac tttatccgcc tccatccagt ctattaattg  
7921 ttgccgggaa gctagagtaa gtagttgcc agttaatagt ttgcgcaac ttgttgccat  
7981 tgctacaggc atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg gcttcattca gctccggtc  
8041 ccaacgatca agcgagtta catgatcccc catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt  
8101 cggctctccg atcgttgtca gaagtaagt ggccgcagt ttatcactca tggttatggc  
8161 agcactgcat aattcttta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga  
8221 gtactcaacc aagtcattct gagaatagtg tatgcccga ccgagttgct cttgccggc  
8281 gtcaatacgg gataataccg cgccacatag cagaactta aaagtgtca tcattgaaa  
8341 acgttcttcg gggcgaaac tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta  
8401 acccactcgt gcacccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg  
8461 agcaaaaaca ggaaggcaaa atgccgcaaa aaagggaata agggcgacac gaaatgttg  
8521 aatactcata ctcttcttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat  
8581 gagcggatac atatttgaat gtatttagaa aaataaaca ataggggttc cgcgcacatt  
8641 tccccgaaaa gtgccacctg acgtctaaga aaccattatt atcatgacat taacctataa  
8701 aataggcgt atcacgaggc ctttctgtc cgcgcttcc ggtgatgac gtgaaaacct  
8761 ctgacacatg cagctcccgg agacggtcac agcttgtctg taagcggatg ccgggagcag  
8821 acaagcccgt caggcgcgt cagcgggtgt tggcgggtgt cggggctggc ttaactatgc

8881 ggcatcagag cagattgtac tgagagtgca ccatatgctg tgtgaaatac cgcacagatg  
8941 cgtaaggaga aaataccgca tcaggcgcca ttcccatc aggctgcgca actgttggga  
9001 agggcgatcg gtgcgggct cttcgctatt acgccagctg gcgaaaggg gatgtgctgc  
9061 aaggcgatta agttggtaa cgccagggtt ttcccagtc aacgacggc  
9121 cagtccaag ctg.

*p510\_antiBCMA\_CD3epsilon* (SEQ ID NO: 22)

1 acgctgtag tcttatgca tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca  
61 acatgcotta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgcca ttggtggaag taaggtgga  
121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga  
181 attgocgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc  
241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac cactgctta  
301 agcctcaata aagcttgct tgagtgttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact  
361 ctgtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg  
421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct  
481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgagg ggcgactg gtgagtacgc caaaaatctt  
541 gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag  
601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaa aatataaatt  
661 aaaacatata gtatgggcaa gcaggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt  
721 agaaacatca gaaggctgta gacaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaag  
841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag  
901 taagaccacc gcacagcaag cggcactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg  
961 acaattggag aagtaatta tataaatata aagtagtaa aattgaacca ttaggagtag  
1021 caccaccaa ggcaagaga agagtgggca agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
1081 cttgttctc tgggttctt ggagcagcag gaagcactat gggcgagcc tcaatgacgc  
1141 tgacgttaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtga gcagcagaac aatttgctga  
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcctc aagcagctcc  
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatac taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa  
1441 ttacacaagc ttaatacact ctttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga  
1501 acaagaatta ttggaattag ataatgggc aagtttggg aattggtta acataacaaa  
1561 ttggctgtgg tatataaat tattcataat gatagtagga ggcttggtg gtttaagaat  
1621 agtttttct gactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt



1681 tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattog attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt  
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtga ggggaaagaa tagtagacat  
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaaaca attacaaaat tcaaaatttt  
1921 atogatacta gtattatgcc cagtacatga cttatggga ctttctact tggcagtaca  
1981 totacgtatt agtcatogct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc  
2041 gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga  
2101 gtttgttttg gcacaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tocgcccat  
2161 tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag  
2221 tgaaccgtca gatcgctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctcat agaagattct  
2281 agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca  
2341 gcattcctcc tgatcccaca ggtgcagctg gtgcagagcg gcgcggaagt gaaaaaacg  
2401 ggcgcgagcg tgaagttag ctgcaaagcg agcggctata gctttccgga ttattatatt  
2461 aactgggtgc gccaggcgcc gggccagggc ctggaatgga tgggctggat ttattttgcg  
2521 agcggcaaca gcgaatataa ccagaaattt accggccgcg tgacctgac cgcgatacc  
2581 agcagcagca ccgctatat ggaactgagc agcctgcgca gcgaagatac cgcggtgtat  
2641 ttttgcgca gcctgtatga ttatgattgg tattttgatg tgtggggcca gggcaccatg  
2701 gtgaccgtga gcagcggcgg cggcggcagc ggcggcggcg gcagcggcgg cggcggcagc  
2761 gatattgtga tgaccagac cccgctgagc ctgagcgtga ccccgggcga accggcgagc  
2821 attagctgca aaagcagcca gagcctggtg catagcaacg gcaacaccta tctgcattgg  
2881 tatctgcaga aaccgggcca gagcccagc ctgctgattt ataaagttag caaccgcttt  
2941 agcggcgtgc cggatcgctt tagcggcagc ggcagcggcg cggattttac cctgaaaatt  
3001 agcgcgctgg aagcgaaga tgtggcgtg tattattgcg cggaaaccag coatgtgccg  
3061 tggacctttg gccagggcac caaactggaa attaaaagcg gtggcggcgg ttctggtggc  
3121 ggcggttctg gtggcggcgg ttctctcgag gatgtaatg aagaaatggg tggattaca  
3181 cagacacat ataaagtctc catctctgga accacagtaa tattgacatg ccctcagtat  
3241 cctggatctg aaatactatg gcaacacaat gataaaaaca taggcggtga tgaggatgat  
3301 aaaaacatag gcagtgatga ggatcacctg tcaactgaag aattttcaga attggagcaa  
3361 agtggttatt atgtctgcta cccagagga agcaaaccag aagatgcgaa cttttatctc  
3421 tacctgaggg caagagtgtg tgagaactgc atggagatgg atgtgatgc ggtggccaca  
3481 attgtcatag tggacatctg catcaactgg ggcttgctgc tgctggttta ctactggagc  
3541 aagaatagaa aggccaaggc caagcctgtg acacgaggag cgggtgctgg cggcaggcaa  
3601 aggggacaaa acaaggagag gccaccacct gttccaacc cagactatga gocatccgg  
3661 aaaggccagc gggacctgta ttctggcctg aatcagagac gcatctgata agaattcgg

3721 tccgcggccg cgaaggatct gcgatcgtc cggtgcccgt cagtgggcag agcgcacatc  
3781 gcccacagtc cccgagaagt tggggggagg ggtcggcaat tgaacgggtg octagagaag  
3841 gtggcgcggg gtaaactggg aaagtgatgt cgtgtactgg ctccgccttt ttcccgaggg  
3901 tgggggagaa ccgtatataa gtgcagtagt cgccgtgaac gttctttttc gcaacggggt  
3961 tgccgccaga acacagctga agcttcgagg ggctcgcato tctccttcac gogcccggc  
4021 ccctacctga ggccgccatc cacgccggtt gagtcgcgtt ctgccgcctc ccgcctgtgg  
4081 tgccctctga actgcgtccg ccgtctaggt aagtttaaag ctcaggtcga gaccgggctt  
4141 ttgtocggcg ctcccttggg gcctacctag actcagccgg ctctccacgc tttgcctgac  
4201 cctgcttgct caactctacg tctttgtttc gttttctgtt ctgcgccgtt acagatccaa  
4261 gctgtgaccg gcgcctacgc tagatgaccg agtacaagcc cacggtgcgc ctgccaccc  
4321 gcgacgacgt ccccagggcc gtacgcaccc tcgccccgc gttcggcgcac taccocgcca  
4381 cgcgccacac cgtcgatccg gaccgccaca tcgagcgggt caccgagctg caagaactct  
4441 tcctcacgcg cgtcgggctc gacatcggca aggtgtgggt cgcggacgac ggcccgcg  
4501 tggcggctctg gaccacgccg gagagcgtcg aagcgggggc ggtgttcgcc gagatcggcc  
4561 cgcgcatggc cgagttgagc gttcccggc tggccgcgca gcaacagatg gaaggcctcc  
4621 tggcggcgca ccggcccaag gagcccgcgt gttcctggc caccgtcggc gtctcggccg  
4681 accaccaggg caaggtctg ggcagcgcg tcgtgtccc cggagtggag gcggccgagc  
4741 gcgcgggggt gcccgccttc ctggagacct ccgcgcccog caacctcccc ttctacgagc  
4801 ggctcggctt caccgtcacc gccgacgtcg aggtgcccga aggaccgcgc acctggtgca  
4861 tgaccgcaa gcccggtgcc tgagtcgaca atcaacctct ggattacaaa atttgtgaaa  
4921 gattgactgg tattottaac tatgttctc cttttacgt atgttgatac gctgctttaa  
4981 tgcccttgta tcatgtatt gcttccgta tggctttcat tttctcctcc ttgtataaat  
5041 cctggttgct gtctctttat gaggagtgt ggcccgtgt caggcaactg ggctgtgtgt  
5101 gcaactgtgtt tgctgaogca acccccactg gttggggcat tgccaccacc tgtcagctcc  
5161 tttccgggac tttcgctttc cccctcccta ttgccacggc ggaactcacc gccgcctgcc  
5221 ttgcccgctg ctggacaggg gctcggctgt tgggactga caattccgtg gtgttgcgg  
5281 ggaaatcacc gtcccttctc tggctctog cctgtgtgc cacctggatt ctgcgcggga  
5341 cgtccttctg ctacgtccct tcggccctca atccagcga cttccttcc cgcggcctgc  
5401 tgccggctct gcggcctctt ccgcgtcttc gccttcgcc tcagacgagt cggatctccc  
5461 tttgggcccgc ctccccgct ggtacctta agaccaatga cttacaaggc agctgtagat  
5521 cttagccact ttttaaaaga aaagggggga ctggaaggc taattcactc ccaacgaaaa  
5581 taagatctgc tttttgctt tactgggtct ctctggttag accagatctg agcctgggag  
5641 ctctctggct aactagggaa cccactgctt aagcctcaat aaagcttgc ttgagtgtt  
5701 caagtagtgt gtgccgtct gttgtgtgac tctgtaact agagatccct cagacccttt

5761 tagtcagtgt ggaaaatctc tagcagtagt agttcatgtc atcttattat tcagtattta  
5821 taacttgcaa agaaatgaat atcagagagt gagaggaact tgtttattgc agcttataat  
5881 ggttacaaat aaagcaatag catcacaat ttcacaaata aagcattttt ttcactgcat  
5941 tctagttgtg gtttgtocaa actcatcaat gtatcttata atgtctggct ctagctatcc  
6001 cgcccctaac tccgccagc tccgccatt ctccgcccc tggctgacta atttttttta  
6061 tttatgcaga ggccgaggcc gcctcggcct ctgagctatt ccagaagtag tgaggaggct  
6121 tttttggagg cctagacttt tgcagagacg gcccaaattc gtaatcatgg toatagctgt  
6181 ttctgtgtg aaattgttat ccgctcaca ttccacaca catacgagcc ggaagcataa  
6241 agtgtaaagc ctggggtgcc taatgagtga gctaactcac attaattgag ttgcgctcac  
6301 tgcccgcttt ccagtcggga aacctgtcgt gccagctgca ttaatgaatc ggccaacgag  
6361 cggggagagg cggtttgct attggcgct cttccgctc ctgctcact gactcgtgc  
6421 gctcggctgt tcggctgcgg cgagcggat cagctcactc aaaggcggta atacggttat  
6481 ccacagaatc aggggataac gcaggaaaga acatgtgagc aaaaggccag caaaaggcca  
6541 ggaaccgtaa aaaggccgag ttgctggcgt ttttccatag gctccgccc cctgacgagc  
6601 atcacaaaaa tcgacgctca agtcagaggt ggcgaaacc gacaggacta taaagatacc  
6661 aggggtttcc ccctggaagc tccctcgtgc gctctcctgt tccgaccctg ccgcttaccg  
6721 gatacctgtc cgcttttctc ccttcgggaa gcgtggcgt ttctcatagc tcacgctgta  
6781 ggtatctcag ttcgggtgtag gtcgttgcct ccaagctggg ctgtgtgac gaacccccg  
6841 ttcagcccga ccgctgcgcc ttatccgta actatcgtct tgagtccaac ccgtaagac  
6901 acgacttata gccactggca gcagccactg gtaacaggat tagcagagcg aggtatgtag  
6961 gcggtgctac agagtcttg aagtggggc ctaactacgg ctacactaga aggacagtat  
7021 ttggtatctg cgctcgtcgt aagccagta ccttcggaaa aagagttggt agctcttgat  
7081 ccggcaaaaa aaccaccgct ggtagcggg gttttttgt ttgcaagcag cagattacgc  
7141 gcagaaaaaa aggatctcaa gaagatcctt tgatctttc tacggggtct gacgctcagt  
7201 ggaacgaaaa ctacgtaa gggatttgg tcatgagatt atcaaaaagg atcttcacct  
7261 agatcctttt aaattaaaa tgaagttta aatcaatcta aagtataat gagtaactt  
7321 ggtctgacag ttaccaatgc ttaatcagtg aggcacctat ctacagcagc tgtctatttc  
7381 gttcatccat agttgcctga ctcccgtcgt ttagataac tacgatacgg gagggcttac  
7441 catctggccc cagtctgca atgataccgc gagaccacg ctaccggct ccagatttat  
7501 cagcaataaa ccagccagcc ggaaggggc agcgcagaag tggctcctgca actttatccg  
7561 cctccatcca gtctattaat tgttccggg aagctagagt aagtagttcg ccagttata  
7621 gtttgcgcaa cgttgtgccc attgctacag gcatcgtggt gtcacgctc togtttgta  
7681 tggcttcatt cagctcggg tccaacgat caaggcagat tacatgatcc cccatgttgt  
7741 gcaaaaaagc ggttagctcc ttcggtcctc cgatcgttgt cagaagtaag ttggccgag

7801 tgttatcact catggttatg gcagcaactgc ataattctct tactgtcatg ccatccgtaa  
 7861 gatgcttttc tgtgactggt gactactcaa ccaagtcatt ctgagaatag tgtatgcggc  
 7921 gaccgagttg ctcttgcccg gcgtcaatac gggataatac cgcgccacat agcagaactt  
 7981 taaaagtgct catcattgga aaacgttctt cggggcgaaa actctcaagg atcttaccgc  
 8041 tgttgagatc cagttogatg taaccoactc gtgcacccaa ctgatcttca gcatctttta  
 8101 ctttcaccag cgtttctggg tgagcaaaaa caggaaggca aaatgccgca aaaaaggaa  
 8161 taagggcgac acggaaatgt tgaatactca tactcttctt ttttcaatat tattgaagca  
 8221 tttatcaggg ttattgtctc atgagcggat acatatttga atgtatttag aaaaataaac  
 8281 aaataggggt tccgcgcaca tttcccga aagtgccacc tgacgtctaa gaaaccatta  
 8341 ttatcatgac attaacctat aaaaatagc gtatcacgag gccctttctg ctccgcggtt  
 8401 tcggtgatga cggtgaaaac ctctgacaca tgcagctccc ggagacggtc acagcttgtc  
 8461 tgtaagcgga tgccgggagc agacaagccc gtcagggcgc gtcagcgggt gttggcgggt  
 8521 gtcggggctg gcttaactat gcggcatcag agcagattgt actgagagtg caccatattg  
 8581 ggtgtgaaat accgcacaga tgcgtaagga gaaaataccg catcagcgc cattcgccat  
 8641 tcaggctgcg caactgttgg gaagggcgat cggcgggc ctcttcgcta ttaccgagc  
 8701 tggcgaaagg gggatgtgct gcaaggcgat taagttgggt aacgccaggg tttcccagt  
 8761 cacgacgttg taaaacgacg gccagtgcc agctg

***p510\_antiBCMA\_CD3gamma*** (SEQ ID NO: 23)

1 acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca  
 61 acatgcotta caaggagaga aaaagcacgc tgcatgccga ttggtggaag taaggtggtg  
 121 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga  
 181 attgccgat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc  
 241 tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac cactgctta  
 301 agcctcaata aagcttgctt tgagtcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact  
 361 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg  
 421 cccgaacagg gacctgaaag cgaaaggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct  
 481 tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt  
 541 gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgagagagc gtcagtatta agcgggggag  
 601 aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaa aatataaatt  
 661 aaaacatata gtatgggcaa gcaggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctgtt  
 721 agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg  
 781 atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctatttg tgcataaag  
 841 gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag  
 901 taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg

961 acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag  
1021 caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtgc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag  
1081 ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgagcc tcaatgacgc  
1141 tgacgttaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtga gcagcagaac aatttgctga  
1201 gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc  
1261 aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg  
1321 gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata  
1381 aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa  
1441 ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga  
1501 acaagaatta ttggaattag ataatgggc aagtttggg aattggttta acataacaaa  
1561 ttggctgtgg tatataaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat  
1621 agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt  
1681 tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg  
1741 tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt  
1801 aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtga ggggaaagaa tagtagacat  
1861 aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatttt  
1921 atcgatacta gtattatgcc cagtacatga cttatggga ctttctact tggcagtaca  
1981 tctacgtatt agtcatogct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc  
2041 gtggatagcg gttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga  
2101 gtttgttttg gcacaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat  
2161 tgacgcaaat ggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag  
2221 tgaaccgtca gatcgcttg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct  
2281 agagccgcca ccatgottct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca  
2341 gcattcctcc tgatcccaca ggtgcagctg gtgcagagcg gcgcggaagt gaaaaaacg  
2401 ggcgcgagcg tgaagtgag ctgcaaagcg agcggctata gctttccgga ttattatatt  
2461 aactgggtgc gccaggcgcc gggccagggc ctggaatgga tgggctggat ttattttgcg  
2521 agcggcaaca gcgaatataa ccagaaatth accggccgog tgacctgac ccgcgatacc  
2581 agcagcagca ccgcgtatat ggaactgagc agcctgcga gcgaagatac cgcggtgtat  
2641 ttttgcgca gcctgtatga ttatgattgg tattttgatg tgtggggcca gggcaccatg  
2701 gtgaccgtga gcagcggcgg cggcggcagc ggcggcggcg gcagcggcgg cggcggcagc  
2761 gatattgtga tgaccagac cccgctgagc ctgagcgtga ccccgggcga accggcagc  
2821 attagctgca aaagcagcca gagcctggtg catagcaac gcaaacaccta tctgcattgg  
2881 tatctgcaga aaccgggcca gagcccagc ctgctgattt ataaagtgag caaccgcttt  
2941 agcggcgtgc cggatcgctt tagcggcagc ggcagcggcg cggattttac cctgaaaatt

3001 agccgcgtgg aagcgggaaga tgtgggcgtg tattattgcg cggaaaccag ccatgtgccg  
3061 tggacctttg gccagggcac caaactggaa attaaaagcg gtggcggcgg ttctggtggc  
3121 ggcggttctg gtggcggcgg ttctctcgag cagtcaatca aaggaaacca cttggttaag  
3181 gtgtatgact atcaagaaga tggttcggta cttctgactt gtgatgcaga agccaaaaat  
3241 atcacatggt ttaaagatgg gaagatgac ggcttcctaa ctgaagataa aaaaaaatgg  
3301 aatctgggaa gtaatgcaa ggaccacga gggatgtac agtgtaaagg atcacagaac  
3361 aagtcaaaac cactccaagt gtattacaga atgtgtcaga actgcattga actaaatgca  
3421 gccaccatat ctggctttct ctttctgaa atcgtcagca ttttctcct tgctgttggg  
3481 gtctacttca ttgtggaca ggatggagt cgcagtcga gagcttcaga caagcagact  
3541 ctgttgccca atgaccagct ctaccagccc ctcaaggatc gagaagatga ccagtacagc  
3601 caccttcaag gaaaccagtt gaggaggaat tgataagaat tcggatccgc ggccgcgaag  
3661 gatctgcgat cgctccggtg cccgtcagtg ggcagagcgc acatcgccca cagtccccga  
3721 gaagttgggg ggaggggtcg gcaattgaac ggggtgcctag agaaggtggc gcggggtaaa  
3781 ctgggaaagt gatgtogtgt actggctcog ctttttccc gaggggtggg gagaaccgta  
3841 tataagtgca gtagtcgccc tgaacgttct ttttcgcaac gggtttgccg ccagaacaca  
3901 gctgaagctt cgaggggctc gcatctctcc ttcacgcgcc cgcggcccta cctgaggccg  
3961 ccatccacgc cggttgagtc gcgttctgcc gcctcccgcc tgtggtgcct cctgaactgc  
4021 gtccgcgctc taggtaagtt taaagctcag gtcgagacog ggcctttgtc cggcgtccc  
4081 ttggagccta cctagactca gccggctctc cacgcttgc ctgaccctgc ttgctcaact  
4141 ctacgtcttt gtttcgtttt ctgttctgcg ccgttacaga tccaagctgt gaccggcgcc  
4201 tacgctagat gaccgagtac aagcccacgg tgcgcctcgc caccgcgac gacgtccca  
4261 gggccgtacg caccctcgcc gccgcgttcg ccgactacc cgcacgcgc cacaccgtcg  
4321 atccggaccg ccacatcgag cgggtcaccg agctgcaaga actcttctc acgcgcgtcg  
4381 ggctogacat cggcaaggtg tgggtcggg acgacggcgc cgcggtggcg gtctggacca  
4441 cgcggagag cgtcgaagcg gggcggtgt tcgccgagat cggcccgcgc atggccgagt  
4501 tgagcggttc ccggtggcc gcgcagcaac agatggaagg cctcctggcg ccgcaccggc  
4561 ccaaggagcc cgcgtggttc ctggccaccg tcggcgtctc gcccgaccac cagggcaagg  
4621 gtctgggcag cgcctcgtg ctccccggag tggaggcggc cgagcgcgcc ggggtgccc  
4681 ccttctgga gacctcgcg ccccgaacc tccccttcta cgagcggctc ggcttcaccg  
4741 tcaccgccga cgtcaggtg cccgaaggac cgcgcacctg gtgcatgacc cgcaagccc  
4801 gtgcctgagt cgacaatcaa cctctggatt acaaaattg tgaaagatt actggtattc  
4861 ttaactatgt tgctcctttt acgctatgtg gatacgtgc tttaatgcct ttgtatcatg  
4921 ctattgcttc ccglatggct ttcatthct cctccttcta taaatcctgg ttgctgtctc  
4981 tttatgagga gttgtggccc gttgtcaggc aacgtggcgt ggtgtgcaact gtgtttgctg

5041 acgcaacccc cactggttgg ggcattgcca ccacctgtca gtcctttcc gggactttcg  
5101 ctttcccct ccctattgcc acggcggaac tcatcgccgc ctgccttgcc cgctgctgga  
5161 caggggctcg gctgttgggc actgacaatt ccgtggtgtt gtcgggaaa tcatcgtcct  
5221 ttctttggct gctgcctgt gttgccacct ggattctgcg cgggacgtcc ttctgctacg  
5281 tcccttcggc cctcaatcca gcggaccttc cttcccgagg cctgctgccc gctctgcggc  
5341 ctcttcgcg tcttcgctt cgccctcaga cgagtcggat ctccctttgg gccgcctccc  
5401 cgcttggtac cttaagacc aatgacttac aaggcagctg tagatcttag ccacttttta  
5461 aaagaaaagg ggggactgga agggctaatt cactcccaac gaaaataaga totgcttttt  
5521 gcttgctactg ggtctctctg gttagaccag atctgagcct gggagctctc tggctaacta  
5581 gggaaccac tgcttaagcc tcaataaagc ttgccttgag tgcttcaagt agtgtgtgcc  
5641 cgtctgttgt gtgactctgg taactagaga tccctcagac ctttttagtc agtgtggaaa  
5701 atctctagca gtagtagttc atgtcatctt attattcagt atttataact tgcaaagaaa  
5761 tgaatatcag agagtgagag gaacttgitt attgcagctt ataatggtta caaataaagc  
5821 aatagcatca caaatccac aaataaagca ttttttcac tgcattctag ttgtggtttg  
5881 tccaaactca tcaatgtatc ttatcatgtc tggctctagc tatcccgccc ctaactccgc  
5941 ccagttccgc ccattctccg ccccatggct gactaatfff ttttattat gcagaggccg  
6001 aggcgcctc ggctctgag ctattccaga agtagtgagg aggctttttt ggaggcctag  
6061 acttttgag agacggcca aattcgtaat catggtcata gctgtttcct gtgtgaaatt  
6121 gttatccgct cacaattcca cacaacatac gagccggaag cataaagtgt aaagcctggg  
6181 gtgcctaatg agtgagctaa ctcacattaa ttgcgttgcg ctactgccc gctttccagt  
6241 cgggaaacct gtctgccag ctgcattaat gaatcgcca acgcgcgggg agaggcggtt  
6301 tgcgtattgg gcgctcttcc gcttctcgc tcaactgactc gctgcgctcg gtcgttcggc  
6361 tgcggcgagc ggtatcagct cactcaaagg cggtataacg gttatccaca gaatcagggg  
6421 ataacgcagg aaagaacatg tgagcaaaag gccagcaaaa ggccaggaac cgtaaaaagg  
6481 ccgcgttgct ggcgtttttc cataggctcc gccccctga cgagcatcac aaaaatcgac  
6541 gctcaagtca gaggtggcga aaccgacag gactataaag ataccaggcg tttcccctg  
6601 gaagctccct cgtgcgctct cctgttcoga ccctgccgct taccggatac ctgtccgct  
6661 ttctcccttc gggaagcgtg gcgctttctc atagctcagc ctgtaggtat ctgagttcgg  
6721 tgtaggtcgt tcgctccaag ctgggctgtg tgcacgaacc cccgcttcag cccgaccgct  
6781 gcgccttatc cgtaactat cgtcttgagt ccaaccggt aagacacgac ttatcgccac  
6841 tggcagcagc cactggtaac aggattagca gagcgaggta tgtaggcggt gctacagagt  
6901 tcttgaaagt gtggcctaac tacggctaca ctagaaggac agtatttgggt atctgcgctc  
6961 tgctgaagcc agttacctc ggaaaaagag ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca  
7021 ccgctggtag cgggtggttt tttgtttgca agcagcagat tacgcgcaga aaaaaaggat

7081 ctcaagaaga tcctttgatc ttttctacgg ggtctgacgc tcagtggaac gaaaactcac  
 7141 gttaagggat tttggatcag agattatcaa aaaggatcct cacctagatc cttttaaatt  
 7201 aaaaatgaag ttttaaatca atctaaagta tatatgagta aacttggctc gacagttacc  
 7261 aatgcttaat cagtgaggca cctatctcag cgatctgtct atttcgttca tccatagttg  
 7321 cctgactccc cgctgtgtag ataactacga tacgggaggg cttaccatct ggccccagtg  
 7381 ctgcaatgat accgcgagac ccacgctcac cggctccaga tttatcagca ataaaccagc  
 7441 cagccggaag ggccgagcgc agaagtggtc ctgcaacttt atccgcctcc atccagtcta  
 7501 ttaattgttg ccgggaagct agagtaagta gttcgccagt taatagtttg cgcaacgttg  
 7561 ttgccattgc tacaggcatc gtgggtgcac gctcgtcgtt tggtatggct tcattcagct  
 7621 ccggttccca acgatcaagg cgagttacat gatccccat gttgtgcaaa aaagcggtta  
 7681 gtccttcgg tcctccgatc gttgtcagaa gtaagttggc cgcagtgta tcaactcatgg  
 7741 ttatggcagc actgcataat tctcttactg tcatgccatc cgtaagatgc ttttctgtga  
 7801 ctggtgagta ctcaaccaag tcattctgag aatagtgtat gcggcgaccg agttgctcct  
 7861 gccggcgctc aatacgggat aataccgcgc cacatagcag aactttaaaa gtgctcatca  
 7921 ttggaaaacg ttcttcgggg cgaaaactct caaggatcct accgctgttg agatccagtt  
 7981 cgatgtaacc cactcgtgca cccaactgat cttcagcatc ttttactttc accagcgttt  
 8041 ctgggtgagc aaaaacagga aggcaaatg ccgcaaaaaa gggaataagg gcgacacgga  
 8101 aatgttgaat actcatactc ttctttttc aatattattg aagcatttat cagggttatt  
 8161 gtctcatgag cggatacata tttgaatgta tttagaaaaa taaacaataa ggggttccgc  
 8221 gcacatttcc ccgaaaagtg ccacctgacg tctaagaaac cattattatc atgacattaa  
 8281 cctataaaaa taggcgtatc acgaggcctt ttcgtctcgc gcgtttcggg gatgacggtg  
 8341 aaaaacctctg acacatgcag ctcccggaga cggtcacagc ttgtctgtaa gcggatgccg  
 8401 ggagcagaca agccgctcag ggcgctcag cgggtgttgg cgggtgtcgg ggctggctta  
 8461 actatgcggc atcagagcag attgtactga gagtgcacca tatgcgggtg gaaataccgc  
 8521 acagatgcgt aaggagaaaa taccgatca ggcgccattc gccattcagg ctgcgcaact  
 8581 gttgggaagg gcgatcggtg cgggcctctt cgctattacg ccagctggcg aaagggggat  
 8641 gtgctgcaag gcgattaagt tgggtaacgc cagggttttc ccagtcacga cgttgtaaaa  
 8701 cgacggccag tgccaagctg.

## **Пример 2: Последовательности антител**

### *Создание последовательностей антител*

[000342] Каноническая последовательность полипептида CD19 человека представляет собой последовательность под номером доступа UniProt P15391 (или P15391-1). Каноническая последовательность полипептида ВСМА человека представляет



собой последовательность под номером доступа UniProt Q02223 (или Q02223-1). В настоящем изобретении предложены полипептиды антител, которые способны специфично связываться с полипептидом CD19 человека или полипептидом ВСМА человека, или полипептидом FAP человека, или полипептидом ВСМА человека, и их фрагменты или домены. Антитела к CD19, FAP, CAIX и ВСМА могут быть получены с использованием различных технологий (см., например, (Nicholson et al, 1997). В указанной работе мышинные антитела к CD19, FAP, CAIX или ВСМА используют в качестве исходного материала, гуманизация мышинных антител к CD19, FAP, CAIX или ВСМА является желательной для клинических условий, при которых специфичные для мышцы остатки могут индуцировать антигенный ответ у человека, направленный против антител мышцы (НАМА), у субъектов, получающих лечение с использованием гибридного белка (TFP) Т-клеточных рецепторов (TCR), то есть лечение с использованием Т-клеток, трансдуцированных конструкцией TFP.CD19, TFP.FAP, TFP.CAIX или TFP.ВСМА. Гуманизацию осуществляют путем прививки областей CDR из мышинового антитела к CD19, FAP, CAIX или ВСМА на соответствующие акцепторные каркасные участки зародышевой линии человека, необязательно содержащие другие модификации CDR и/или каркасных участков. В настоящем изобретении нумерация остатков антител и фрагментов антитела указана в соответствии с системой Кабат (Kabat) (Kabat E. A. et al, 1991; Chothia et al, 1987).

### ***Создание scFv***

[000343] Гуманизированные IgG или IgG человека к CD19, FAP, CAIX или ВСМА используют для создания последовательностей scFv для конструкций TFP. Получают последовательности ДНК, кодирующие домены  $V_L$  и  $V_H$  человека или гуманизированные домены  $V_L$  и  $V_H$ , и кодоны для конструкций необязательно оптимизируют для экспрессии в клетках из *Homo sapiens*. Порядок, в котором домены  $V_L$  и  $V_H$  появляются в scFv, варьируется (т.е., возможна ориентация  $V_L$ - $V_H$  или  $V_H$ - $V_L$ ), и три копии субъединицы «G4S» или «G<sub>4</sub>S» (G<sub>4</sub>S)<sub>3</sub> соединяют переменные домены с получением домена scFv. Плазмидные конструкции, содержащие scFv к CD19, FAP, CAIX и ВСМА, необязательно могут содержать метки Flag, His или другие аффинные метки, и могут быть введены путем электропорации в клетки линии НЕК293 или другие пригодные линии клеток человека или млекопитающих, и очищены. Подтверждающие количественные исследования включают исследование связывания методом проточной цитометрии, кинетический анализ с использованием Proteon и окрашивание CD19-экспрессирующих клеток.

[000344] Примеры CD19-связывающих или ВСМА-связывающих CDR из доменов V<sub>L</sub> и V<sub>H</sub> и нуклеотидные последовательности, кодирующие их, соответственно, представлены ниже:

***CD19-связывающий домен***

[000345] CDR1 легкой цепи, нацеленный к CD19

*Кодирующая последовательность:* AGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAA (SEQ ID NO: 24).

*Аминокислотная последовательность:* RASQDISK (SEQ ID NO: 25).

[000346] CDR2 легкой цепи, нацеленный к CD19

*Кодирующая последовательность:* ATCTACCATACATCAAGATTA (SEQ ID NO: 26).

*Аминокислотная последовательность:* IYHTSRL (SEQ ID NO: 27).

[000347] CDR3 легкой цепи, нацеленный к CD19

*Кодирующая последовательность:* CAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACG (SEQ ID NO: 28).

*Аминокислотная последовательность:* QQGNTLPYT (SEQ ID NO: 29).

[000348] CDR1 тяжелой цепи, нацеленный к CD19

*Кодирующая последовательность:* GGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAGC (SEQ ID NO: 30).

*Аминокислотная последовательность:* GVSLPDYGVV (SEQ ID NO: 31).

[000349] CDR2 тяжелой цепи, нацеленный к CD19

*Кодирующая последовательность:* GTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTC (SEQ ID NO: 32).

*Аминокислотная последовательность:* VIWGSETTYNSAL (SEQ ID NO: 33).

[000350] CDR3 тяжелой цепи, нацеленный к CD19

*Кодирующая последовательность:* CATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTAC (SEQ ID NO: 34).

*Аминокислотная последовательность:* HYYYGGSYAMDY (SEQ ID NO: 35).

***ВСМА-связывающий домен***

[000351] CDR1 легкой цепи, нацеленный к ВСМА

*Кодирующая последовательность:* AAAAGCAGCCAGAGCCTGGTGCATAGCAACGGCAACACCTATCTGCAT (SEQ ID NO: 36).

*Аминокислотная последовательность:* KSSQSLVHSNGNTYLH (SEQ ID NO: 37).

[000352] CDR2 легкой цепи, нацеленный к ВСМА

*Кодирующая последовательность:* AAAGTGAGCAACCGCTTTAGC (SEQ ID NO: 38).

*Аминокислотная последовательность:* KVSNRFS (SEQ ID NO: 39).

[000353] CDR3 легкой цепи, нацеленный к ВСМА

*Кодирующая последовательность:* GCGGAAACCAGCCATGTGCCGTGGACC (SEQ ID NO: 40).

*Аминокислотная последовательность:* AETSHVPWT (SEQ ID NO: 41).

[000354] CDR1 тяжелой цепи, нацеленный к ВСМА

*Кодирующая последовательность:*  
AAAGCGAGCGGCTATAGCTTTCCGGATTATTATATTAAC (SEQ ID NO: 42).

*Аминокислотная последовательность:* KASGYSFPDYIN (SEQ ID NO: 43).

[000355] CDR2 тяжелой цепи, нацеленный к ВСМА

*Кодирующая последовательность:*  
TGGATTTATTTTGCAGCGGCAACAGCGAATATAACCAGAAATTTACCGGC (SEQ ID NO: 44)

*Аминокислотная последовательность:* WIYFASGNSEYNQKFTG (SEQ ID NO: 45).

[000356] CDR3 тяжелой цепи, нацеленный к ВСМА

*Кодирующая последовательность:* CTGTATGATTATGATTGGTATTTTGATGTG (SEQ ID NO: 46).

*Аминокислотная последовательность:* LYDYDWYFDV (SEQ ID NO: 47).

[000357] Вариабельная область легкой цепи антитела к CD19

*Кодирующая последовательность:*

GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTC  
ACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCA  
GAAACCAGATGGAACCTGTAAACTCCTGATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGG  
AGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAG  
CAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCC  
GTACACGTTCCGAGGGGGGACTAAGTTGGAAATAACA (SEQ ID NO: 48).

*Аминокислотная последовательность:*

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPS  
RFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEIT (SEQ ID NO: 49).

[000358] Вариабельная область тяжелой цепи антитела к CD19

*Кодирующая последовательность:*

GAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTC  
CGTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAGCTGGATTCC  
CCAGCCTCCACGAAAGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCA  
CATACTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAACCTCCAAGA

GCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACCTGATGACACAGCCATTTACTACT  
GTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAA  
CCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 50).

*Аминокислотная последовательность:*

EVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVWVWSETTY  
NSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDITAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSTV  
VSS (SEQ ID NO: 51).

[000359] Вариабельная область легкой цепи антитела к ВСМА

*Кодирующая последовательность:*

GATATTGTGATGACCCAGACCCCGCTGAGCCTGAGCGTGACCCCGGGCGAACCGGC  
GAGCATTAGCTGCAAAGCAGCCAGAGCCTGGTGCATAGCAACGGCAACACCTATC  
TGCATTGGTATCTGCAGAAACCGGGCCAGAGCCCGCAGCTGCTGATTTATAAAGTG  
AGCAACCGCTTTAGCGGCGTGCCGGATCGCTTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCGCGGA  
TTTTACCCTGAAAATTAGCCGCGTGGAAGCGGAAGATGTGGGCGTGTATTATTGCGC  
GGAAACCAGCCATGTGCCGTGGACCTTTGGCCAGGGCACCAAACCTGGAAATTA  
AAA GC (SEQ ID NO: 52).

*Аминокислотная последовательность:*

DIVMTQTPLSLSVTPGEPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVS  
NRFSGVPDRFSGSGSGADFTLKISRVEAEDVGVVYCAETSHVPTFGQGTKLEIKS  
(SEQ ID NO: 53).

[000360] Вариабельная область тяжелой цепи антитела к ВСМА

*Кодирующая последовательность:*

CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAACCGGGCGCGAGCGTGA  
AAGTGAGCTGCAAAGCGAGCGGCTATAGCTTTCCGGATTATTATATTA  
ACTGGGTGC GCCAGGCGCCGGGCCAGGGCCTGGAATGGATGGGCTGGATTTATTTT  
GCGAGCGGC AACAGCGAATATAACCAGAAATTTACCGGCCGCGTGACCATGACCC  
GCGATACCAG CAGCAGCACCGCGTATATGGA  
ACTGAGCAGCCTGCGCAGCGAAGATACCGCGGTGT ATTTTTGCGCGAGCCTGTAT  
GATTATGATTGGTATTTTGATGTGTGGGGCCAGGGCA CCATGGTGACCGTGAGCAGC  
(SEQ ID NO: 54).

*Аминокислотная последовательность:*

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFPDYINWVRQAPGQGLEWMGWYIFASGN  
SEYNQ KFTGRVTMTRDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASLYDYDWFVWGQGMVTVSS  
(SEQ ID NO: 55).

*Источник субъединиц TCR*

[000361] Все субъединицы комплекса Т-клеточного рецептора (TCR) человека содержат внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен. Комплекс TCR человека содержит полипептид CD3-эпсилон, полипептид CD3-гамма, полипептид CD3-дельта, полипептид CD3-дзета, полипептид альфа-цепи TCR и полипептид бета-цепи TCR. Каноническая последовательность полипептида CD3-эпсилон человека может быть найдена в базе данных UniProt под номером доступа P07766. Каноническая последовательность полипептида CD3-гамма человека может быть найдена в базе данных UniProt под номером доступа P09693. Каноническая последовательность полипептида CD3-дельта человека может быть найдена в базе данных UniProt под номером доступа P043234. Каноническая последовательность полипептида CD3-дзета человека может быть найдена в базе данных UniProt под номером доступа P20963. Каноническая последовательность альфа-цепи TCR человека может быть найдена в базе данных UniProt под номером доступа Q6ISU1. Каноническая последовательность С-области бета-цепи TCR человека может быть найдена в базе данных UniProt под номером доступа P01850, последовательность V области бета-цепи TCR человека может быть найдена в базе данных UniProt под номером доступа P04435.

[000362] Каноническая последовательность полипептида CD3-эпсилон человека: MQSGTHWRVLGLCLLSVGVWGQDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDMVMSVATIVIVDITGGLLLL VYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERPPPPVNPDPYEPYRKGQRDL YSGLNQRRI (SEQ ID NO: 56)

[000363] Каноническая последовательность полипептида CD3-гамма человека: MEQGKGLAVLILAILLQGTLAQSIKGNHLVKVYDYQEDGSVLLTCDAEAKNITWFKDGMIGFLTEDKKKWNLGSNAKDPRGMYQCKGSQNKSKPLQVYYRMCQNCIELNAATISGFLFAEIVSIFVLA VGVYFIAGQDGVQRASDKQTLLPNDQLYQPLKDREDDQYSHLQGNQLRRN (SEQ ID NO: 57).

[000364] Каноническая последовательность полипептида CD3-дельта человека: MEHSTFLSGLVLATLLSQVSPFKIPIEELEDVRFVNCNTSITWVEGTVGTTLSDITRLDLGKRILDPRGIYRCNGTDIYKDKESTVQVHYRMCQSCVELDPATVAGIIVTDVIATLLLALGVFCFAGHETGRLSGAADTQALLRNDQVYQPLRDRDDAQYSHLGGNWARNK (SEQ ID NO: 58).

[000365] Каноническая последовательность полипептида CD3-дзета человека: MKWKALFTAAILQAQLPITEAQSFGLLDPKLCYLLDGILFIYGVILTALFLRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLKRRGRDPGEMGGKPQRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO: 59).

[000366] Каноническая последовательность альфа-цепи TCR человека:  
 MAGTWLLLLALGCPALPTGVGGTPFPSLAPPIMLLVDGKQQM VVCLVLDVAPPGLD  
 SPIWFSAGNGSALDAFTYGPSPATDGTWTNLAHLSLPSEELASWEPLVCHTGP  
 GAEGHS RSTQPMHLSGEASTARTCPQEPLRGTPGGALWLGVLRLLLFKLLFDLL  
 L TCSCLCDPA GPLPSPATTTLRALGSHRLHPATETGGREATSSPRPQPRDRR  
 WGDTPPGRKPGSPVWG EGSYLSSYPTCPAQAWCSRSALRAPSSSLGAFFAGDLPPPLQAGAA (SEQ ID NO: 60).

[000367] Каноническая последовательность С-области альфа-цепи TCR человека:  
 PNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFK  
 SNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNL  
 SVIG FRILLK VAGFNLLMTLRLWSS (SEQ ID NO: 61).

[000368] Каноническая последовательность V области CTL-L17 альфа-цепи TCR человека:  
 MAMLLGASVLILWLQPDWVNSQQKNDDQQVKQNSPSLSVQEGRISILNCDYTNSMFDY  
 FLWYKKYPAEGPTFLISSIKDKNEDGRFTVFLNKS AKHLSLHIVPSQPGDSAVYFCAAK  
 GAGTASKLTFGTGTRLQVTL (SEQ ID NO: 62)

[000369] Каноническая последовательность С-области бета-цепи TCR человека:  
 EDLNKVFPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTD  
 PQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNP RNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPV  
 TQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLV SALVLMAMVKRK  
 DF (SEQ ID NO: 63).

[000370] Каноническая последовательность V-области CTL-L17 бета-цепи TCR человека:  
 MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQNP RHNITKRGQNVTFRCDP ISEHNRLYWYRQT  
 LGQGPEFLTYFQNEA QLEKSRLLSDRFSAERP KGSFSTLEIQ RTEQGDSAMYLCASSLAG  
 LNQPQHFGDGTRLSIL (SEQ ID NO: 64)

[000371] Каноническая последовательность V-области YT35 бета-цепи TCR человека:  
 MDSWTFCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPISGHNSLFWYRQTM  
 MRGLELLIYFN NNVPIDDSGMPEDRFS AKMPNASFSTLKIQPSEPRDSAVYFCASSFSTCS  
 ANYGYTFGSGTRLT VV (SEQ ID NO: 65).

[000372] Пример последовательности тяжелой цепи анти-BCMA:

***Создание TFP из доменов TCR и scFv***

[000373] CD19 или BCMA scFv рекомбинантно соединены с CD3-эпсилон или другими субъединицами TCR (см. 1С) с использованием линкерной последовательности, такой как G<sub>4</sub>S, (G<sub>4</sub>S)<sub>2</sub>, (G<sub>4</sub>S)<sub>3</sub> или (G<sub>4</sub>S)<sub>4</sub>. В настоящем изобретении используют различные линкеры и конфигурации scFv. Альфа-цепь TCR и бета-цепь TCR использовали для

создания TFP в виде полноразмерных полипептидов или только их константных доменов. Любая вариабельная последовательность альфа-цепи TCR и бета-цепи TCR пригодна для изготовления TFP.

### ***Векторы экспрессии TFP***

[000374] В настоящем изобретении предложены векторы экспрессии, содержащие: промотор (энхансер-промотор цитомегаловируса (ЦМВ)), сигнальную последовательность, чтобы обеспечить секрецию, сигнал полиаденилирования и терминатор транскрипции (ген бычьего гормона роста (BGH)), элемент, обеспечивающий эписомную репликацию и репликацию у прокариот (например, точка начала репликации SV40 и ColE1 или другие, известные в данной области техники), и элементы, обеспечивающие отбор (ген устойчивости к ампициллину и селективный маркер зеоцин).

[000375] Предпочтительно конструкцию нуклеиновой кислоты, кодирующей TFP, клонируют в лентивирусный вектор экспрессии, и экспрессию подтверждают на основании количества и качества ответа эффекторных Т-клеток, трансдуцированных TFP.CD19 («CD19.TFP» или «CD19.TFP Т-клетки», или «TFP.CD19», или «TFP.CD19 Т-клетки») в ответ на CD19+ клетки-мишени, TFP.FAP-трансдуцированных Т-клеток («FAP.TFP» или «FAP.TFP Т-клетки», или «TFP.FAP», или «TFP.FAP Т-клетки») в ответ на FAP+ клетки-мишени, TFP.CAIX-трансдуцированных Т-клеток («CAIX.TFP» или «CAIX.TFP Т-клетки», или «TFP.CAIX», или «TFP.CAIX Т-клетки») в ответ на CAIX+ клетки-мишени, или TFP.BCMA-трансдуцированных Т-клеток («BCMA.TFP» или «BCMA.TFP Т-клетки», или «TFP.BCMA», или «TFP.BCMA Т-клетки») в ответ на BCMA+ клетки-мишени. Ответы эффекторных Т-клеток включают, но не ограничиваются ими, размножение, пролиферацию и удвоение клеток, выработку цитокинов и лизис клеток-мишеней или цитолитическую активность (т.е. дегрануляцию).

[000376] Лентивирусные векторы-переносчики TFP.CD19, TFP.FAP, TFP.CAIX или TFP.BCMA используют для получения геномного материала, упакованного в VSVg-псевдотипированные лентивирусные частицы. ДНК лентивирусного вектора-переносчика смешивают с тремя компонентами для упаковки вируса VSVg, gag/pol и rev в комбинации с реагентом для трансфекции Lipofectamine™ для их переноса в клетки 293. Через 24 и 48 часов среды собирают, фильтруют и концентрируют с помощью ультрацентрифугирования. Полученный вирусный препарат хранят при -80 °С. Количество трансдуцирующих единиц определяют титрованием на клетках SupT1. Перенаправленные Т-клетки TFP.CD19, TFP.FAP, TFP.CAIX или TFP.BCMA получают путем активации свежих наивных Т-клеток с использованием гранул, покрытых антителом к CD3 $\alpha$  и CD28, в течение 24 часов и затем добавляют соответствующее

количество трансдуцирующих единиц, чтобы получить желаемую долю трансдуцированных Т-клеток. Полученные модифицированные Т-клетки размножают, до достижения состояния покоя и уменьшения в размере, после чего их замораживают для последующего анализа. Количество и размеры клеток измеряют с использованием Multisizer III (Beckman Coulter). Перед криоконсервацией процент трансдуцированных клеток (экспрессирующих TFP.CD19, TFP.FAP, TFP.CAIX или TFP.BCMA на клеточной поверхности) и относительную интенсивность флуоресценции в результате экспрессии определяют методом проточной цитометрии. На основании данных гистограммы оценивают относительные уровни экспрессии TFP путем сравнения процента трансдуцированных клеток с относительной интенсивностью флуоресценции для указанных клеток.

[000377] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения несколько TFP вводят с помощью трансдукции Т-клеток несколькими вирусными векторами.

***Оценка цитолитической активности, способности к пролиферации и секреции цитокинов перенаправленных Т-клеток, несущих гуманизированный TFP***

[000378] Функциональные способности TFP.CD19, TFP.FAP, TFP.CAIX или TFP.BCMA Т-клеток вырабатывать TFP, которые экспрессируются на клеточной поверхности, и вызывать гибель опухолевых клеток-мишеней, пролиферировать и секретировать цитокины определяли с помощью количественных исследований, известных в данной области техники.

[000379] МКПК человека (например, кровь после афереза у нормального донора, наивные Т-клетки которого получают путем отрицательной селекции в отношении Т-клеток, CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> лимфоцитов) обрабатывают интерлейкином-2 (ИЛ-2) человека, и затем активируют гранулами, покрытыми антителами к CD3 $\alpha$  и CD28, например, в 10% RPMI при 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> перед проведением трансдукции с использованием TFP-кодирующих лентивирусных векторов. Количественные исследования методом проточной цитометрии используют, чтобы подтвердить присутствие TFP на поверхности клеток, например, с помощью антитела к FLAG или антитела к вариабельной области мыши. Выработку цитокинов (например, ИФН- $\gamma$ ) измеряют с помощью ИФА или других количественных способов исследований.

**Пример 3: Эффективность TFP Т-клеток человека в мышинной модели ALL человека**

[000380] Первичные клетки ALL человека могут быть выращены у мышей с ослабленным иммунитетом (например, NSG или NOD) без их культивирования в условиях *in vitro*. Аналогичным образом, культивируемые линии клеток ALL человека могут



индуцировать лейкоз у таких мышей. Мышей, несущих ALL, можно использовать для проверки эффективности Т-клеток человека TFP.CD19, TFP.FAP, TFP.CAIX или TFP.BCMA, например, в модели HALLX5447. Исследуемым показателем в указанной модели является выживание мышей после внутривенной (в/в) инфузии клеток ALL в отсутствие и в присутствии внутривенно введенных Т-клеток человека TFP.CD19, TFP.FAP, TFP.CAIX или TFP.BCMA.

**Пример 4: Лечение с использованием TFP Т-клеток человека в ксенотрансплантатной мышинной модели солидных опухолей в условиях *in vivo***

[000381] Эффективность Т-клеток человека TFP.CD19 или TFP.BCMA также может быть проверена в мышинных моделях с ослабленным иммунитетом, несущих подкожные солидные опухоли, полученные из CD19- или BCMA-экспрессирующих клеток ALL человека, линий клеток CLL или НХЛ человека. Сжатие опухоли в ответ на лечение с использованием Т-клеток человека TFP.CD19, TFP.FAP, TFP.CAIX или TFP.BCMA можно оценить путем измерения размера опухоли штангенциркулем или путем регистрации интенсивности сигнала флуоресценции GFP, испускаемого GFP-экспрессирующими опухолевыми клетками.

[000382] Первичные клетки солидной опухоли человека могут быть выращены у мышей с ослабленным иммунитетом без культивирования в условиях *in vitro*. Примеры клеток солидных опухолей включают линии клеток солидных опухолей, такие как линии, доступные в Атласе генома рака (TCGA) и/или Общей энциклопедии линий раковых клеток (CCLE см. Barretina et al., Nature 483:603 (2012)). Примеры клеток солидных опухолей включают первичные опухолевые клетки, выделенные из карциномы почек, рака молочной железы, рака легких, рака яичников, рака предстательной железы, рака толстой кишки, рака шейки матки, рака мозга, рака печени, рака поджелудочной железы, рака почек или рака желудка. Такие мыши могут быть использованы для проверки эффективности Т-клеток TFP.CD19, TFP.FAP, TFP.CAIX или TFP.BCMA в ксенотрансплантатных моделях опухолей человека (см., например, Morton et al., Nat. Protocol. 2:247 (2007)). После имплантации или подкожной инъекции  $1 \times 10^6$ - $1 \times 10^7$  первичных клеток (обработанные коллагеназой общие суспензии опухолей в материале внеклеточного матрикса) или фрагментов опухоли (фрагменты первичной опухоли в материале внеклеточного матрикса), опухолям обеспечивали время для роста до 200-500 мм<sup>3</sup> перед началом лечения.

**Пример 5: Демонстрация мультиплексных полипептидов TFP и применение мультиплексных перенаправленных Т-клеток, несущих гуманизированный TFP**

[000383] Полипептиды TFP, представленные в настоящем документе, способны функционально связываться с эндогенными полипептидами субъединиц TCR с образованием функциональных комплексов TCR. В настоящем документе множество TFP в лентивирусных векторах используют для трансдукции T-клеток, чтобы создать функциональный, мультиплексный рекомбинантный комплекс TCR. Например, в настоящем изобретении предложена T-клетка, содержащая: i) первый TFP, содержащий внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен из полипептида CD3-дзета, и фрагмент антитела scFv, специфичный в отношении CD19, FAP, CAIX или BCMA, и ii) второй TFP, содержащий внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен из полипептида CD3-гамма, и фрагмент антитела, специфичный в отношении CD19, FAP, CAIX или BCMA. Первый TFP и второй TFP способны взаимодействовать друг с другом и с полипептидами эндогенных субъединиц TCR, образуя тем самым функциональный комплекс TCR.

[000384] Применение указанных T-клеток, несущих мультиплексный гуманизированный TFP.CD19, TFP.FAP, TFP.CAIX или TFP.BCMA, продемонстрировано в гемобластозах и солидных опухолях, как это описано в примерах 2 и 3 выше.

#### **Пример 6: Получение T-клеток, трансдуцированных TFP**

##### ***Получение лентивирусов***

[000385] Лентивирус, кодирующий соответствующие конструкции, получали следующим образом.  $5 \times 10^6$  НЕК293FT-клеток высевали в чашку диаметром 100 мм и размножали до достижения 70-90% конfluenceности в течение ночи. По 2,5 мкг ДНК указанных плазмид и 20 мкл смеси для упаковки лентивируса (ALSTEM, каталожный номер VP100, см. Приложение В3) разводили в 0,5 мл DMEM или среды OPTI-MEM I без сыворотки и осторожно перемешивали. В отдельной пробирке 30 мкл реагента для трансфекции NanoFect (ALSTEM, каталожный номер NF100) разводили в 0,5 мл DMEM или среды OPTI-MEM I без сыворотки и осторожно перемешивали. Растворы NanoFect/DMEM и ДНК/DMEM смешивали и встряхивали в течение 10-15 секунд перед инкубацией смеси DMEM-плазида-NanoFect при комнатной температуре в течение 15 минут. Полный комплекс для трансфекции, полученный на предыдущем этапе, добавляли по каплям к планшету с клетками и покачивали, чтобы равномерно диспергировать комплекс для трансфекции в планшете. Затем планшет инкубировали в течение ночи при 37 °C в инкубаторе в увлажненной атмосфере с 5% CO<sub>2</sub>. На следующий день супернатант заменяли 10 мл свежей среды, и вносили 20 мкл ViralBoost (500x, ALSTEM, каталожный номер VB100). Затем планшеты инкубировали при 37 °C еще в течение 24 часов. Супернатант, содержащий лентивирусы, затем собирали в 50 мл стерильную коническую

центрифужную пробирку с крышкой и помещали на лед. После центрифугирования при 3000 об./мин в течение 15 минут при 4 °С очищенный супернатант фильтровали с использованием стерильного фильтра с размером пор 0,45 мкм с низким связыванием белка, и вирус затем выделяли путем ультрацентрифугирования при 25000 об./мин (Beckmann, L8-70M) в течение 1,5 часов при 4 °С. Осадок удаляли и повторно суспендировали в средах DMEM, и концентрации/титры лентивирусов определяли с помощью количественной ОТ-ПЦР с использованием набора Lenti-X qRT-PCR Titration (Clontech; каталожный номер 631235). Любую остаточную плазмидную ДНК удаляли путем обработки ДНКазой I. Исходный препарат вируса немедленно использовали для инфицирования или распределяли на аликвоты и хранили при - 80 °С для последующего использования.

[000386] Аналогичные эксперименты можно осуществлять с конструкциями FAP.TFP и CAIX.TFP.

### ***Выделение МКПК***

[000387] Мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК) получали из цельной крови или лейкоцитарной пленки. Цельную кровь собирали в 10 мл вакуумный контейнер с гепарином и обрабатывали немедленно или хранили в течение ночи при 4 °С. Приблизительно 10 мл цельной антикоагулированной крови смешивали со стерильным забуференным фосфатом физиологическим раствором (ФСБ), чтобы получить общий объем 20 мл в конической центрифужной пробирке объемом 50 мл (ФСБ, pH=7,4, без  $Ca^{2+}/Mg^{2+}$ ). 20 мл смеси кровь/ФСБ затем осторожно наслаивали на поверхность 15 мл Ficoll-Paque PLUS (GE Healthcare, 17-1440-03) перед центрифугированием при 400g в течение 30-40 мин при комнатной температуре без применения тормоза.

[000388] Лейкоцитарную пленку получали от Research Blood Components (Бостон, Массачусетс, США). Пробирки Leucoser (Greiner bio-one) подготавливали путем добавления 15 мл Ficoll-Paque (GE Health Care) и центрифугировали при 1000 g в течение 1 минуты. Лейкоцитарную пленку разводили в ФСБ в соотношении 1:3 (pH=7,4, без  $Ca^{2+}$  или  $Mg^{2+}$ ). Разведенную лейкоцитарную пленку переносили в пробирку Leucoser™ и центрифугировали при 1000 g в течение 15 минут без применения тормоза. Слой клеток, содержащих мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК), которые можно наблюдать на границе раздела разбавленная плазма/Ficoll, осторожно удаляли, чтобы свести к минимуму загрязнения Ficoll. Остаточный Ficoll, тромбоциты и белки плазмы затем удаляли путем промывки МНПК три раза в 40 мл ФСБ и центрифугирования при 200 g в течение 10 мин при комнатной температуре. Затем клетки подсчитывали с помощью гемоцитометра. Промытые МКПК промывали еще один раз средами CAR-T

(AIM V-AlbuMAX (BCA) (Life Technologies) с добавлением 5% сыворотки АВ и 1,25 мкг/мл амфотерицина В (Gemini Bioproducts, Вудланд, Калифорния, США), 100 ед./мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина). В другом варианте, промытые МКПК переносили в изотермические флаконы и замораживали при  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 24 ч перед хранением в жидком азоте для последующего использования.

[000389] Аналогичные эксперименты можно осуществлять с конструкциями FAP.TFP и CAIX.TFP.

#### ***Активация Т-клеток***

[000390] Мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК), полученные из цельной крови или лейкоцитарной пленки, стимулировали с использованием магнитных гранул, конъюгированных с антителами к CD28 и CD3 человека, в течение 24 часов перед вирусной трансдукцией. Свежевыделенные МКПК промывали один раз в средах CAR-T (AIM V-AlbuMAX (BCA) (Life Technologies) с добавлением 5% сыворотки АВ и 1,25 мкг/мл амфотерицина В (Gemini Bioproducts), 100 ед./мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина) без huИЛ-2, перед повторным суспендированием до конечной концентрации  $1 \times 10^6$  клеток/мл в средах CAR-T с добавлением 300 МЕ/мл ИЛ-2 человека (из  $1000\times$  исходного раствора; Invitrogen). Если МНПК ранее были заморожены, то их оттаивали и повторно суспендировали в концентрации  $1 \times 10^7$  клеток/мл в 9 мл подогретой ( $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) среды DMEM (Life Technologies) в присутствии 10% ФБС, 100 ед./мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина, при концентрации  $1 \times 10^6$  клеток/мл перед еще одной промывкой в среде CART с повторным суспендированием, чтобы получить концентрацию  $1 \times 10^6$  клеток/мл в среде CAR-T, после этого добавляли ИЛ-2, как описано выше.

[000391] Перед активацией магнитные гранулы, конъюгированные с антителами к CD28 и CD3 человека, (Invitrogen), промывали три раза в 1 мл стерильного ФСБ ( $1\times$ ), pH=7,4, с использованием магнитной стойки, чтобы выделить гранулы из раствора, перед повторным суспендированием в среде CAR-T с добавлением 300 МЕ/мл ИЛ-2 человека до конечной концентрации  $4 \times 10^7$  гранул/мл. МКПК и гранулы затем смешивали в соотношении 1:1 гранулы/клетки путем перенесения 25 мкл ( $1 \times 10^6$  гранул) гранул в 1 мл МКПК. Желаемое число аликвот затем распределяли в одиночные лунки 12-луночного планшета для культивирования клеток с низкой адгезией или необработанного планшета для культивирования клеток, и инкубировал при  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  в атмосфере 5%  $\text{CO}_2$  в течение 24 часов перед вирусной трансдукцией.

[000392] Аналогичные эксперименты можно осуществлять с конструкциями FAP.TFP и CAIX.TFP.

#### ***Трансдукция/трансфекция и пролиферация Т-клеток***

[000393] После активации МКПК инкубировали в течение 24 ч при 37 °С, 5% CO<sub>2</sub>. Лентивирус оттаивали на льду, и 5×10<sup>6</sup> лентивирусных частиц вместе с 2 мкл Transplus (Alstem) на 1 мл сред (конечное разведение 1:500) добавляли в каждую лунку к 1×10<sup>6</sup> клеток. Клетки инкубировали в течение еще 24 ч перед повторным добавлением вируса. В другом варианте, лентивирус оттаивали на льду, и соответствующий вирус добавляли при 5 или 50 MOI в присутствии 5 мкг/мл полибрена (Sigma). Клетки инокулировали путем осаждения при 100 g в течение 100 мин при комнатной температуре. Затем клетки размножали в присутствии 300 МЕ/мл ИЛ-2 человека в течение 6-14 дней (общее время инкубации зависит от конечного числа необходимых CAR-T-клеток). Концентрации клеток исследовали каждые 2-3 дня, в это же время добавляли среды для поддержания клеточной суспензии в плотности 1×10<sup>6</sup> клеток/мл.

[000394] В некоторых случаях активированные МКПК подвергали электропорации транскрибируемой в условиях *in vitro* (IVT) иРНК (Фиг. 14). МКПК человека стимулировали с помощью гранул Dynabeads (ThermoFisher) в соотношении 1:1 в течение 3 дней в присутствии 300 МЕ/мл рекомбинантного ИЛ-2 человека (R&D System). Гранулы удаляли перед электропорацией. Клетки промывали и повторно суспендировали в среде OPTI-MEM (ThermoFisher) в концентрации 2,5×10<sup>7</sup> клеток/мл. По 200 мкм суспензии клеток (5×10<sup>6</sup> клеток) переносили в кюветы с 2 мм зазором Electroporation Cuvettes Plus™ (Harvard Apparatus BTH) и предварительно охлаждали на льду. 10 мкг IVT иРНК TFP добавляли к суспензии клеток. Смесь иРНК/клетка затем подвергали электропорации при 200 В в течение 20 мс с использованием системы для электропорации ECM830 Square Wave (Harvard Apparatus BTH). Сразу после электропорации клетки переносили в свежую среду для культивирования клеток (не содержащая сыворотки среда AIM V AlbuMAX (BCA) + 5% сыворотки АВ человека + 300 МЕ/мл ИЛ-2) и инкубировали при 37 °С.

[000395] Аналогичные эксперименты можно осуществлять с конструкциями FAP.TFP и CAIX.TFP.

#### **Подтверждение экспрессии TFP с помощью окрашивания клеток**

[000396] После лентивирусной трансдукции или электропорации иРНК экспрессию анти-CD19, анти-FAP, анти-CAIX и анти-BCMA CAR и TFP подтверждали с помощью проточной цитометрии с использованием антитела к Fab мыши для детектирования мышиного анти-CD19, анти-FAP, анти-CAIX или анти-BCMA scFv. Т-клетки промывали три раза в 3 мл буфера для окрашивания (ФСБ, 4% БСА) и повторно суспендировали в ФСБ до достижения концентрации 1×10<sup>6</sup> клеток на лунку. Для исключения мертвых клеток клетки инкубировали с Live dead aqua (Invitrogen) в течение 30 мин на льду. Клетки дважды промывали в ФСБ и повторно суспендировали в 50 мкл буфера для окрашивания.

Чтобы блокировать рецепторы Fc 1 мкл нормального козьего IgG, разбавленного в соотношении 1:100 (Life Technologies), добавляли в каждую пробирку и инкубировали на льду в течение 10 мин. По 1 мл буфера для проточной цитометрии добавляли в каждую пробирку, хорошо перемешивали, и клетки осаждали центрифугированием при 300 g в течение 5 мин. Поверхностную экспрессию scFv TFP детектировали с использованием меченых биотином нормальных поликлональных антител козы к F(ab)<sub>2</sub> антитела мыши (Life Technologies), при этом меченые биотином нормальные поликлональные антитела IgG козы (Life Technologies) использовали в качестве контроля изотипа. Оба антитела добавляли в концентрации 10 мкг/мл в реакционном объеме 100 мкл. Клетки затем инкубировали при 4 °C в течение 45 мин, промывали один раз, повторно суспендировали в буфере для проточной цитометрии, и блокировали с использованием нормального IgG мыши (Invitrogen) путем добавления 100 мкл нормального IgG мыши, разбавленного в соотношении 1:1000, в каждую пробирку. Затем клетки инкубировали на льду в течение 10 мин, промывали буфером для окрашивания и повторно суспендировали в 100 мкл буфера для окрашивания. Затем клетки окрашивали путем добавления 1,0 мкл меченого фикоэритрином (PE) стрептавидина (BD Biosciences), и APC-конъюгированное антитело к CD3 человека (клон-UCHT1, BD Biosciences), PerCP/Cy5.5-конъюгированное антитело к CD8 человека (клон-SK1, BD Biosciences) и Pacific Blue-конъюгированное антитело к CD4 человека (клон-RPA-T4 BD Biosciences) добавляли в каждую пробирку. Проточную цитометрию проводили с использованием LSRFortessa™ X20 (BD Biosciences), и данные получали с использованием программного обеспечения FACS diva и анализировали с помощью FlowJo (Treestar, Inc., Ашланд, Орегон, США). От 20% до 40% трансдуцированных Т-клеток экспрессировали CD19-связывающий CAR, CD19-связывающий LL TFP, CD19-связывающий SL TFP или BCMA-связывающий TFP, что указывает на сопоставимые уровни трансдукции и поверхностной экспрессии конструкций CAR и TFP (Фиг. 5-7).

[000397] Аналогичные эксперименты можно осуществлять с конструкциями FAP.TFP и CAIX.TFP.

**Пример 7: Количественное исследование цитотоксичности методом проточной цитометрии**

[000398] Клетки-мишени, которые были положительными или отрицательными в отношении соответствующих мишеней CD19, FAP, CAIX или BCMA, помечали с помощью флуоресцентного красителя, сукцинимидилового эфира карбоксифлуоресцеина (CFSE). Указанные клетки-мишени смешивали с эффекторными Т-клетками, которые представляли собой нетрансдуцированные клетки, трансдуцированные контрольными

конструкциями CAR-T клетки или клетки, трансдуцированные TFP. После указанного периода инкубации процент мертвых или живых CFSE-меченых клеток-мишеней и клеток-мишеней для отрицательного контроля определяли для каждой культуры эффектор/клетка-мишень с помощью проточной цитометрии. Процент выживаемости клеток-мишеней в каждой культуре Т-клетка + клетка-мишень рассчитывали по отношению к лункам, содержащим только клетки-мишени.

[000399] Цитотоксическую активность эффекторных Т-клеток измеряли методом проточной цитометрии путем сравнения количества выживших клеток-мишеней в отсутствие или в присутствии эффекторных Т-клеток после совместной инкубации эффекторных клеток и клеток-мишеней. В экспериментах с использованием CD19 TFP или CAR-T-клеток клетки-мишени представляли собой CD19-положительные клетки лимфомы Беркитта линии Raji (ATCC, CCL-86), в то время как клетки, используемые в качестве отрицательного контроля, представляли собой CD19-отрицательные клетки линии K562 (ATCC, CCL-243). В экспериментах с использованием ВСМА TFP Т-клеток клетки-мишени представляли собой ВСМА-положительные RPMI-8226 плазмацитомные/миеломные клетки (ATCC, CCL-155), в то время как клетки, используемые в качестве отрицательного контроля, представляли собой ВСМА-отрицательные клетки лимфомы Беркитта линии Raji (ATCC, CCL-86).

[000400] Клетки-мишени промывали один раз и повторно суспендировали в ФСБ до конечной концентрации  $1 \times 10^6$  клеток/мл. Флуоресцентный краситель, сукцинимидиловый эфир карбоксифлуоресцеина (CFSE) (ThermoFisher), добавляли к суспензии клеток в концентрации 0,03 мкМ, и клетки инкубировали в течение 20 мин при комнатной температуре. Реакцию мечения останавливали путем добавления к суспензии клеток полноценной культуральной среды (RPMI-1640 + 10% HI-FBS) в объеме, который в 5 раз превышал реакционный объем, и клетки инкубировали в течение еще 2 мин при комнатной температуре. Клетки осаждали центрифугированием и повторно суспендировали в среде для оценки цитотоксичности (не содержащая фенолового красного среда RPMI1640 (Invitrogen) с добавлением 5% сыворотки АВ (Gemini Bioproducts) до конечной концентрации  $2 \times 10^5$  клеток/мл. Пятьдесят микролитров суспензии клеток-мишеней, меченых CFSE (эквивалентно 10000 клеток), добавляли в каждую лунку 96-луночного планшета с U-образным дном (Corning).

[000401] Эффекторные Т-клетки трансдуцированные конструкциями ВСМА TFP, совместно с нетрансдуцированными Т-клетками в качестве отрицательного контроля, промывали и суспендировали до конечной концентрации  $2 \times 10^6$  клеток/мл или  $1 \times 10^6$  клеток/мл в среде для оценки цитотоксичности. По 50 мкл суспензий эффекторных Т-

клеток (эквивалентно 100000 или 50000 клеток) добавляли к высаженным клеткам-мишеням, чтобы получить соотношение эффекторные клетки:клетки-мишени 10:1 или 5:1, соответственно, в общем объеме 100 мкл. Культуры затем смешивали, осаждали и инкубировали в течение 4 часов при 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>. Немедленно после указанной инкубации 7AAD (7-аминоактиномицин D) (BioLegend) добавляли к культуре клеток, как рекомендовано изготовителем, и исследование методом проточной цитометрии проводили с помощью BD Fortessa X-20 (BD Biosciences). Анализ данных проточной цитометрии проводили с использованием программного обеспечения FlowJo (TreeStar, Inc).

[000402] Процент выживания для клеток-мишеней RPMI-8226 рассчитывали путем деления числа живых клеток-мишеней RPMI-8226 (CFSE+ 7-AAD) в образце, содержащем эффекторные Т-клетки и клетки-мишени, на количество живых клеток RPMI-8226 (CFSE+ 7-AAD) в образце, содержащем только клетки-мишени. Цитотоксичность для эффекторных клеток рассчитывали как процент гибели клеток для RPMI-8226=100% - процент выживания для клеток RPMI-8226.

[000403] Как было описано ранее, Т-клетки, трансдуцированные анти-CD19-28 $\zeta$  конструкцией CAR, проявляли цитотоксичность в отношении CD19-экспрессирующих В-клеток Raji, по сравнению с Т-клетками, которые не были трансдуцированы или были трансдуцированы контрольной конструкцией CAR, не обладающей специфичностью в отношении CD19 (Фиг. 8). Однако Т-клетки, трансдуцированные анти-CD19-CD3 $\epsilon$ , более эффективно индуцировали цитотоксичность в отношении мишеней Raji, чем CD19-связывающая контрольная конструкция CAR, при всех проверенных соотношениях эффектор:мишень. Анти-CD19-CD3 $\gamma$  TFP также вызывали устойчивую цитотоксичность, которая превышала цитотоксичность, наблюдаемую при использовании CD19-связывающих CAR, при соотношениях эффектор:мишень от 5 до 10:1 (Фиг. 8). Некоторую степень цитотоксичности наблюдали при использовании CD19-связывающего TCR $\alpha$  TFP и CD19-связывающего TCR $\beta$  TFP. Аналогичные результаты были получены при использовании CD19-связывающего TFP, который был сконструирован с другой шарнирной областью. Аналогичным образом, цитотоксичность в отношении CD19-экспрессирующих клеток-мишеней Raji была больше при использовании Т-клеток, трансдуцированных CD19-связывающим CD3 $\epsilon$  TFP или CD19-связывающим CD3 $\gamma$  TFP, чем цитотоксичность, наблюдаемая для Т-клеток, трансдуцированных CD19-связывающим CAR.

[000404] Т-клетки, которые подвергали электропорации с использованием иРНК, кодирующей TFP, специфичные в отношении CD19, также проявляли устойчивую цитотоксичность в отношении CD19-экспрессирующих В-клеток Raji, тогда как при



использовании контрольной конструкции или конструкций CD19-связывающих TRuC не было обнаружено существенной гибели CD19-отрицательных клеток K562, CD19-специфичную гибель клеток Raji наблюдали при использовании Т-клеток, трансдуцированных анти-CD19-CD3 $\epsilon$  SL или анти-CD19-CD3 $\gamma$  SL TRuC (Фиг. 14).

[000405] Т-клетки, трансдуцированные TFP, специфичным в отношении В-клеточного антигена созревания (BCMA), также проявляли устойчивую цитотоксичность в отношении BCMA-экспрессирующих клеток RPMI8226. Т-клетки, трансдуцированные анти-BCMA-CD3 $\epsilon$  или анти-BCMA-CD3 $\gamma$  TFP, эффективно индуцировали цитотоксичность в отношении BCMA-экспрессирующих клеток-мишеней RPMI8226. При соотношении эффекторных клеток:клетки-мишени 10:1 почти 100% клеток-мишеней подвергались цитолизу (Фиг. 9).

[000406] Аналогичные эксперименты можно осуществлять с конструкциями FAP.TFP и CAIX.TFP.

**Пример 8: Оценка цитотоксичности с помощью количественного исследования цитотоксичности в режиме реального времени**

[000407] CD19-связывающие и BCMA-связывающие TFP также проявляли превосходную цитотоксичность по сравнению с CD19-связывающими CAR в формате количественного исследования цитотоксичности в режиме реального времени (RTCA). Количественное исследование RTCA позволяет измерить электрическое сопротивление прикрепленного монослоя клеток-мишеней в каждой лунке специализированного 96-луночного планшета в режиме реального времени и позволяет получить окончательный показатель в виде значения, которое называется клеточный индекс. Изменения клеточного индекса указывают на разрушение монослоя клеток-мишеней в результате гибели клеток-мишеней при совместной инкубации с эффекторными Т-клетками. Следовательно, цитотоксичность эффекторных Т-клеток может быть оценена как изменение клеточного индекса лунок, содержащих клетки-мишени и эффекторные Т-клетки, по сравнению с лунками, содержащими только клетки-мишени.

[000408] Клетки-мишени для RTCA представляли собой клетки линии HeLa, экспрессирующие CD19 (CD19-HeLa) или BCMA (BCMA-HeLa), при этом исходные нетрансдуцированные клетки линии HeLa использовали в качестве отрицательного контроля. ДНК, кодирующую полноразмерный CD19 человека или BCMA человека, синтезировали в GeneArt (ThermoFisher) и встраивали в сайт множественного клонирования лентивирусного вектора с двумя промоторами, pCDH514B (System Bioscience), несущего неомицин в качестве селективного маркера, под контролем промотора EF1 $\alpha$ . Лентивирус, несущий вектор, кодирующий CD19, или вектор,

кодирующий ВСМА, затем упаковывали. Клетки линии HeLa трансдуцировали с использованием лентивирусов, несущих CD19 или ВСМА, в течение 24 часов и затем отбирали в присутствии G418 (1 мг/мл). Экспрессию CD19 или ВСМА трансдуцированными клетками CD19-HeLa или ВСМА-HeLa подтверждали методом проточной цитометрии с использованием антител к CD19 человека или к ВСМА человека (BioLegend, клон 19A2; Miltenyi, клон REA315).

[000409] Прикрепленные клетки-мишени культивировали в среде DMEM с добавлением 10% ФБС, 1% смеси антибиотиков и противогрибковых агентов (Life Technologies). Чтобы получить RTCA 50 мкл среды RPMI добавляли в соответствующие лунки Е-планшета (ACEA Biosciences, Inc., каталожный номер JL-10-156010-1A). Затем планшет помещали в прибор RTCA MP (ACEA Biosciences, Inc.), и соответствующий макет планшета и график количественного исследования вводили в программу RTCA 2.0, как описано в руководстве производителя. Измерение в начальных условиях проводили каждые 15 мин, чтобы получить 100 измерений. Затем к каждой исследуемой лунке добавляли  $1 \times 10^4$  клеток-мишеней в объеме 100 мкл, и клетки оставляли в покое для осаждения в течение 15 минут. Планшет возвращали в считывающее устройство и возобновляли регистрацию показаний.

[000410] На следующий день эффекторные Т-клетки промывали и повторно суспендировали в среде для исследования цитотоксичности (не содержащая фенолового красного среда RPMI1640 (Invitrogen) с добавлением 5% сыворотки АВ (Gemini Bioproducts; 100-318)). Планшет затем извлекали из прибора, и эффекторные Т-клетки, суспендированные в среде для оценки цитотоксичности (не содержащая фенолового красного среда RPMI1640 (Invitrogen) с добавлением 5% сыворотки АВ), добавляли в каждую лунку в количестве 100000 клеток или 50000 клеток, чтобы достичь соотношения эффекторные клетки:клетки-мишени 10:1 или 5:1, соответственно. Планшет затем помещали обратно в прибор. Измерение проводили каждые 2 мин для получения 100 измерений и затем через каждые 15 мин для получения 1000 измерений.

[000411] В количественном исследовании RTCA гибель CD19-трансдуцированных клеток линии HeLa наблюдали при использовании Т-клеток, трансдуцированных анти-CD19-28 $\zeta$  CAR, о чем свидетельствовало уменьшение клеточного индекса в зависимости от времени после добавления эффекторных клеток, по сравнению с клетками линии HeLa по отдельности или клетками линии HeLa, которые инкубировали совместно с Т-клетками, трансдуцированными контрольной конструкцией CAR (Фиг. 11). Однако гибель клеток-мишеней под действием Т-клеток, экспрессирующих анти-CD19-CD3 $\epsilon$  TFP или анти-ВСМА-CD3 $\gamma$  TFP, была более выраженной и быстрой, чем та, которую наблюдали

при использовании CD19-связывающего CAR. Например, в течение 4 часов после добавления Т-клеток, трансдуцированных анти-CD19-CD3ε TFP, наблюдали почти полную гибель CD19-экспрессирующих клеток-мишеней. При использовании Т-клеток, трансдуцированных рядом конструкций TFP, содержащих другие CD3 и TCR, наблюдали незначительную гибель клеток-мишеней или гибель клеток отсутствовала. Аналогичные результаты были получены при действии CD19-связывающих TFP, сконструированных с использованием другой шарнирной области. Цитотоксичность в отношении CD19-трансдуцированных клеток-мишеней линии HeLa также была выше для Т-клеток, трансдуцированных анти-CD19-CD3ε TFP или анти-CD19-CD3γ TFP, чем при использовании Т-клеток, трансдуцированных CD19-связывающим CAR.

[000412] Т-клетки, трансдуцированные ВСМА-связывающими TFP, также проявляли устойчивую цитотоксичность в отношении ВСМА-экспрессирующих клеток RPMI8226. Как показано на Фиг. 9, Т-клетки, трансдуцированные анти-ВСМА-CD3ε TFP или анти-ВСМА-CD3γ TFP, эффективно индуцировали цитотоксичность в отношении ВСМА-экспрессирующих клеток-мишеней RPMI8226. При соотношении эффекторных клетки:клетки-мишени 10:1 почти 100% клеток-мишеней подвергались цитолизу (Фиг. 12).

[000413] Цитотоксическая активность TFP-трансдуцированных Т-клеток зависела от дозы по отношению к количеству вируса (MOI), использованному для трансдукции. Увеличение степени гибели клеток CD19-HeLa наблюдали при увеличении MOI лентивирусов, несущих анти-CD19-CD3ε TFP, дополнительно усиливая взаимосвязь между трансдукцией TFP и цитотоксической активностью (Фиг. 13).

[000414] Аналогичные эксперименты можно осуществлять с конструкциями FAP.TFP и CAIX.TFP.

#### **Пример 9: Исследование секреции ИЛ-2 и ИФН-γ методом ИФА**

[000415] Другой мерой активации и пролиферации эффекторных Т-клеток, связанной с распознаванием клеток, несущих родственный антиген, является выработка эффекторных цитокинов, таких как интерлейкин-2 (ИЛ-2) и интерферон-гамма (ИФН-γ).

[000416] Количественные исследования методом ИФА для определения ИЛ-2 человека (каталожный номер EH2IL2, Thermo Scientific) и ИФН-γ (каталожный номер KHC4012, Invitrogen) осуществляли, как описано в листках-вкладышах. В общих чертах, по 50 мкл разведенных стандартов или образцов в двух повторах добавляли в каждую лунку 96-луночного планшета и затем вносили по 50 мкл биотинилированного антитела. Образцы смешивали, осторожно постукивая планшет несколько раз. По 50 мкл стандартного раствора для разведения затем добавляли во все лунки, которые не

содержали стандартов или образцов, и планшет тщательно запечатывали клейкой крышкой планшета перед инкубацией в течение 3 часов при комнатной температуре (20-25 °С). Крышку планшета затем удаляли, содержимое планшетов также удаляли, и каждую лунку заполняли промывочным буфером. Процедуру промывки повторяли в общей сложности 3 раза, и планшет переносили на бумажные полотенца или другой абсорбирующий материал. По 100 мкл приготовленного раствора стрептавидин-ПХ добавляли в каждую лунку, и закрывали новой крышкой планшета перед инкубацией в течение 30 минут при комнатной температуре. Крышку планшета затем удаляли, содержимое планшетов также удаляли, и в каждую лунку добавляли по 100 мкл раствора субстрата ТМВ. Реакционную смесь оставляли на 30 мин для проявления окрашивания при комнатной температуре в темноте, после чего в каждую лунку добавляли по 100 мкл раствора для остановки реакции. Проводили измерение оптической плотности в планшете. Оптическую плотность измеряли в течение 30 минут после остановки реакции на планшет-ридере для ИФА при длине волны 450 нм и 550 нм. Значения, полученные при регистрации при 550 нм, вычитали из значений, полученных при регистрации при 450 нм, и количество ИЛ-2 в неизвестных образцах рассчитывали по отношению к значениям, полученным из стандартной кривой ИЛ-2.

[000417] В другом варианте, количественные исследования в формате 2-Plex проводили с использованием набора Human Cytokine Magnetic Buffer Reagent (Invitrogen, LNB0001M), набора Human IL-2 Magnetic Bead (Invitrogen, LHC0021M) и набора Human IFN- $\gamma$  Magnetic Bead (Invitrogen, LHC4031M). В общих чертах, по 25 мкл гранул, конъюгированных с антителом к ИЛ-2 человека, и гранул, конъюгированных с антителом к ИФН- $\gamma$ , добавляли в каждую лунку 96-луночного планшета и промывали, используя следующие рекомендации: две промывки с использованием 200 мкл 1 $\times$  промывочного раствора, приведение планшета в контакт с магнитным сепаратором для 96-луночного планшета (Invitrogen, A14179), инкубация гранул в течение 1 мин для осаждения и декантирование жидкости. Затем 50 мкл инкубационного буфера добавляли в каждую лунку планшета, содержащую 100 мкл разведенных стандартов в двух повторах, или 50 мкл образцов (супернатантов из количественных исследований цитотоксичности) и 50 мкл раствора для разведения для количественного исследования в трех повторах в общем объеме 150 мкл. Образцы смешивали в темноте при 600 об./мин с использованием орбитального шейкера с орбитальным радиусом 3 мм в течение 2 часов при комнатной температуре. Планшет промывали в соответствии с вышеупомянутыми принципами промывки, и в каждую лунку добавляли 100 мкл биотинилированного детектирующего антитела к ИЛ-2 и антитела к ИФН- $\gamma$ . Образцы смешивали в темноте при 600 об./мин с

использованием орбитального шейкера с орбитальным радиусом 3 мм в течение 1 часа при комнатной температуре. Планшет промывали в соответствии с вышеупомянутыми принципами промывки, и в каждую лунку добавляли по 100 мкл стрептавидина-R-фикоэритрина. Образцы смешивали в темноте при 600 об./мин с использованием орбитального шейкера с орбитальным радиусом 3 мм в течение 30 мин при комнатной температуре. Планшет промывали 3 раза в соответствии с вышеупомянутыми принципами промывки, и после декантирования жидкости образцы повторно суспендировали в 150 мкл 1× промывочного раствора. Образцы смешивали в темноте при 600 об./мин с использованием орбитального шейкера с орбитальным радиусом 3 мм в течение 3 мин и хранили в течение ночи при 4 °С. После этого планшет промывали в соответствии с вышеупомянутыми принципами промывки, и образцы повторно суспендировали в 150 мкл 1× промывочного раствора.

[000418] Планшет считывали с использованием системы MAGPIX (Luminex) и программного обеспечения xPONENT. Анализ полученных данных проводили с использованием аналитического программного обеспечения MILLIPLEX, которое обеспечивает стандартную кривую и концентрации цитокинов.

[000419] На Фиг. 15 показано, что, по сравнению с нетрансдуцированными клетками, или Т-клетками, трансдуцированными контрольным CAR, Т-клетки, трансдуцированные CD19-связывающим TFP, вырабатывают более высокие уровни ИЛ-2 и ИФН- $\gamma$  при совместном культивировании с клетками Raji, которые эндогенно экспрессируют CD19, или с CD19-трансдуцированными клетками линии HeLa. Напротив, совместное культивирование с CD19-отрицательными клетками K562 или нетрансдуцированными клетками HeLa приводит к незначительному высвобождению цитокинов из TFP-трансдуцированных Т-клеток или вообще не сопровождается выработкой цитокинов. В соответствии с предыдущими данными по цитотоксичности CD19-связывающие TFP, сконструированные с использованием другой шарнирной области, обеспечивают аналогичные результаты при совместном культивировании с клетками-мишенями, несущими CD19 (Фиг. 16).

[000420] В соответствии с предыдущими данными по цитотоксичности анти-CD19-CD3 $\epsilon$  и анти-CD19-CD3 $\gamma$  обеспечивают самые высокие уровни ИЛ-2 и ИФН- $\gamma$  из всех конструкций TFP (Фиг. 15 и 16). Однако выработка цитокинов Т-клетками, трансдуцированными анти-CD19-CD3 $\epsilon$  TFP и анти-CD19-CD3 $\gamma$  TFP, была сопоставима с таковой для Т-клеток, экспрессирующих анти-CD19 28 $\zeta$  CAR, несмотря на TFP, демонстрирующие намного более высокие уровни лизиса клеток-мишеней (Фиг. 8 и 11). Возможность того, что TFP могут более эффективно лизировать клетки-мишени, чем

CAR, но при этом высвобождают сопоставимые или более низкие уровни провоспалительных цитокинов, представляет собой потенциальное преимущество TFR по сравнению с CAR, поскольку повышенные уровни указанных цитокинов были связаны с ограничивающей дозой токсичностью для различных способов адоптивной терапии с применением CAR-T.

[000421] Т-клетки, трансдуцированные анти-BCMA-CD3 $\epsilon$  TFR или анти-BCMA-CD3 $\gamma$  TFR, также вырабатывали ИЛ-2 и ИФН- $\gamma$  при совместном культивировании с клетками BCMA-HeLa, но не контрольными клетками линии HeLa, которые не экспрессируют BCMA (Фиг. 17).

[000422] Аналогичные эксперименты можно осуществлять с конструкциями FAP.TFR и CAIX.TFR.

**Пример 10: Исследование поверхностного экспонирования CD107a методом проточной цитометрии**

[000423] Дополнительный количественный способ исследования активации Т-клеток заключается в оценке поверхностного экспонирования CD107a, связанного с лизосомами мембранного белка (LAMP-1), который расположен в мембране цитоплазматических цитолитических гранул покоящихся клеток. Дегрануляция эффекторных Т-клеток, которая является необходимым условием для цитолитической активности, приводит к мобилизации CD107a к поверхности клетки после индуцированного активацией экзоцитоза гранул. Следовательно, поверхностное экспонирование CD107a обеспечивает дополнительную меру активации Т-клеток, помимо выработки цитокинов, которая сильно коррелирует с цитотоксичностью.

[000424] Клетки-мишени и эффекторные клетки промывали по отдельности и повторно суспендировали в среде для оценки цитотоксичности (RPMI + 5% сыворотки АВ человека + 1% смеси антибиотиков и противогрибковых агентов). Количественное исследование проводили путем комбинирования  $2 \times 10^5$  эффекторных клеток с  $2 \times 10^5$  клеток-мишеней в 100 мкл конечного объема в 96-луночных планшетах с U-образным дном (Corning) в присутствии 0,5 мкл/лунку PE/Cy7-меченого антитела к CD107a человека (LAMP-1) (клон H4A3, BD Biosciences). Культуры затем инкубировали в течение 1 часа при 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>. Немедленно после инкубации 10 мкл ингибитора секреции монензина, разбавленного в соотношении 1:10 (1000 $\times$  раствор, BD GolgiStop<sup>TM</sup>), осторожно добавляли в каждую лунку, не затрагивая клетки. Затем планшеты инкубировали в течение еще 2,5 часов при 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>. После указанной инкубации клетки окрашивали APC-конъюгированным антителом к CD3 человека (клон UCHT1, BD Biosciences), PerCP/Cy5.5-конъюгированным антителом к CD8 человека (клон SK1, BD Biosciences) и

меченым Pacific Blue антителом к CD4 человека (клон RPA-T4, BD Biosciences), и затем инкубировали в течение 30 минут при 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>. Клетки затем промывали 2 раза буфером для проточной цитометрии и ресуспендировали в 100 мкл буфера для проточной цитометрии и в 100 мкл буфера IC fix перед проведением исследования.

[000425] Экспонирование CD107a на поверхности Т-клеток определяли методом проточной цитометрии. Проточную цитометрию проводили на приборе LSRFortessa™ X20 (BD Biosciences), и анализ данных проточной цитометрии выполняли с использованием программного обеспечения FlowJo (Treestar, Inc., Эшланд, Орегон, США). Процент эффекторных клеток CD8<sup>+</sup> в пропущенной популяции CD3, которые были CD107<sup>+</sup>ve, определяли для каждой культуры эффекторные клетки/клетки-мишени.

[000426] В соответствии с предыдущими данными по цитотоксичности и высвобождению цитокинов совместное культивирование CD19-экспрессирующих клеток-мишеней, таких как клетки Raji или Nalm-6, с эффекторными Т-клетками, трансдуцированными анти-CD19 28ζ CAR, индуцировало увеличение поверхностного экспонирования CD107a в 3-5 раз, по сравнению с действием эффекторных клеток, инкубированных с CD19-ve клетками-мишенями (Фиг. 18). Для сравнения, в тех же условиях анти-CD19-CD3ε LL или анти-CD19-CD3γ LL TFP-экспрессирующие эффекторные клетки индуцировали поверхностное экспонирование CD107a в 5-7 раз сильнее. CD19-связывающие TFP, сконструированные с использованием другой шарнирной области, оказывали аналогичное действие после совместного культивирования с клетками-мишенями, несущими CD19.

[000427] По сравнению с нетрансдуцированными Т-клетками, клетки, трансдуцированные анти-BCMA-CD3ε или анти-BCMA-CD3γ TFP, также увеличивали поверхностное экспонирование CD107a при совместном культивировании с клетками BCMA<sup>+</sup>ve RPMI8226 (Фиг. 19). Полученные результаты указывают на то, что TFP-трансдуцированные эффекторные Т-клетки активируются и подвергаются дегрануляции при воздействии клеток-мишеней, экспрессирующих когнатный антиген.

[000428] Аналогичные эксперименты можно осуществлять с конструкциями FAP.TFP и CAIX.TFP.

### **Пример 11: Исследования эффективности у мышей в условиях *in vivo***

[000429] Чтобы оценить способность эффекторных Т-клеток, трансдуцированных CD19-связывающими TFP, вызывать противоопухолевые ответы в условиях *in vivo*, эффекторные Т-клетки, трансдуцированные анти-CD19-28ζ CAR, анти-CD19-CD3ε LL TFP или анти-CD19-CD3γ LL TFP, адаптивно переносили мышам линии NOD/SCID/IL-

2R $\gamma$ <sup>-/-</sup> (NSG-JAX), которым ранее прививали клетки лейкоза человека CD19<sup>+</sup> Raji или Nalm6.

[000430] Самок мышей линии NOD/SCID/IL-2R $\gamma$ <sup>-/-</sup> (NSG-JAX), в возрасте не менее 6 недель до начала исследования, получали из The Jackson Laboratory (артикул 005557) и акклиматизировали в течение 3 дней перед использованием в экспериментах. Клетки лейкоза человека Raji и NALM-6 для прививки поддерживали в логарифмической фазе в культуре до сбора и подсчета с использованием трипанового синего, чтобы определить число жизнеспособных клеток. В день прививки опухоли клетки центрифугировали при 300g в течение 5 мин и повторно суспендировали в предварительно нагретом стерильном ФСБ до достижения концентрации  $1 \times 10^6$  клеток/100 мкл (NALM-6) или  $5 \times 10^5$  клеток/100 мкл (Raji). Готовили Т-клетки для адоптивного переноса, которые не были трансдуцированы или были трансдуцированы конструкциями анти-CD19-28 $\zeta$  CAR, анти-CD19-CD3 $\epsilon$  LL TFP или анти-CD3 $\gamma$  LL TFP. В 0-й день исследования 10 животных в каждой экспериментальной группе иммунизировали путем внутривенного введения  $5 \times 10^5$  клеток линии Raji или  $1 \times 10^6$  клеток линии NALM-6. Через 3 дня  $5 \times 10^6$  указанных популяций эффекторных Т-клеток внутривенно вводили каждому животному в 100 мкл стерильного ФСБ. Результаты подробных клинических наблюдений за животными регистрировали ежедневно до проведения эвтаназии. Измерения массы тела проводили у всех животных еженедельно до смерти или эвтаназии. Всех животных умерщвляли через 35 дней после адоптивного переноса исследуемых и контрольных продуктов. Любых животных с признаками агонии в ходе исследования умерщвляли по усмотрению руководителя исследования после консультации с ветеринаром.

[000431] По сравнению с нетрансдуцированными Т-клетками адоптивный перенос Т-клеток, трансдуцированных анти-CD19-28 $\zeta$  CAR, анти-CD19-CD3 $\epsilon$  LL TFP или анти-CD19-CD3 $\gamma$  LL TFP, увеличивал выживаемость мышей, несущих опухоль Raji (Фиг. 20А) и Nalm6 (Фиг. 20В), это свидетельствует о том, что Т-клетки, трансдуцированные CD19-связывающим CAR и TFP, были способны вызывать гибель клеток-мишеней с соответствующим увеличением выживаемости в указанных мышинных моделях. В совокупности полученные данные указывают на то, что TFP представляют собой альтернативную платформу для модификации химерных рецепторов, которые проявляют превосходную антигенспецифичную цитолитическую активность по сравнению с CAR первого поколения в условиях *in vitro* и в условиях *in vivo*.

[000432] Аналогичные эксперименты можно осуществлять с конструкциями FAP.TFP и CAIX.TFP.



[000433] Несмотря на то, что предпочтительные варианты реализации настоящего изобретения были представлены и описаны в настоящем документе, специалисты в данной области техники поймут, что указанные варианты реализации приведены исключительно в качестве примера. Многочисленные варианты, изменения и замены будут очевидны специалистам в данной области техники без отступления от сущности настоящего изобретения. Следует понимать, что различные альтернативы вариантов реализации настоящего изобретения, описанные в настоящем документе, могут быть использованы при реализации настоящего изобретения. Предполагается, что нижеследующая формула изобретения определяет объем настоящего изобретения, и что способы и конструкции в пределах объема указанной формулы изобретения и их эквиваленты тем самым включены в объем настоящего изобретения.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> ТСП2 ТЕРАПЬЮТИКС ИНК.

<120> КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ПЕРЕПРОГРАММИРОВАНИЯ ТСР С ПОМОЩЬЮ ГИБРИДНЫХ БЕЛКОВ

<130> 48538-701.601

<140> PCT/US2016/033146

<141> 2016-05-18

<150> 62/163,342

<151> 2015-05-18

<160> 74

<170> PatentIn версии 3.5

<210> 1

<211> 556

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Pro Pro Pro Arg Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Leu Thr Pro Met  
1 5 10 15

Glu Val Arg Pro Glu Glu Pro Leu Val Val Lys Val Glu Glu Gly Asp  
20 25 30

Asn Ala Val Leu Gln Cys Leu Lys Gly Thr Ser Asp Gly Pro Thr Gln  
35 40 45

Gln Leu Thr Trp Ser Arg Glu Ser Pro Leu Lys Pro Phe Leu Lys Leu  
50 55 60

Ser Leu Gly Leu Pro Gly Leu Gly Ile His Met Arg Pro Leu Ala Ile  
65 70 75 80

Trp Leu Phe Ile Phe Asn Val Ser Gln Gln Met Gly Gly Phe Tyr Leu  
85 90 95

Cys Gln Pro Gly Pro Pro Ser Glu Lys Ala Trp Gln Pro Gly Trp Thr  
100 105 110

Val Asn Val Glu Gly Ser Gly Glu Leu Phe Arg Trp Asn Val Ser Asp  
115 120 125

Leu Gly Gly Leu Gly Cys Gly Leu Lys Asn Arg Ser Ser Glu Gly Pro  
130 135 140

Ser Ser Pro Ser Gly Lys Leu Met Ser Pro Lys Leu Tyr Val Trp Ala  
145 150 155 160

Lys Asp Arg Pro Glu Ile Trp Glu Gly Glu Pro Pro Cys Leu Pro Pro  
 165 170 175

Arg Asp Ser Leu Asn Gln Ser Leu Ser Gln Asp Leu Thr Met Ala Pro  
 180 185 190

Gly Ser Thr Leu Trp Leu Ser Cys Gly Val Pro Pro Asp Ser Val Ser  
 195 200 205

Arg Gly Pro Leu Ser Trp Thr His Val His Pro Lys Gly Pro Lys Ser  
 210 215 220

Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp Asp Arg Pro Ala Arg Asp Met Trp  
 225 230 235 240

Val Met Glu Thr Gly Leu Leu Leu Pro Arg Ala Thr Ala Gln Asp Ala  
 245 250 255

Gly Lys Tyr Tyr Cys His Arg Gly Asn Leu Thr Met Ser Phe His Leu  
 260 265 270

Glu Ile Thr Ala Arg Pro Val Leu Trp His Trp Leu Leu Arg Thr Gly  
 275 280 285

Gly Trp Lys Val Ser Ala Val Thr Leu Ala Tyr Leu Ile Phe Cys Leu  
 290 295 300

Cys Ser Leu Val Gly Ile Leu His Leu Gln Arg Ala Leu Val Leu Arg  
 305 310 315 320

Arg Lys Arg Lys Arg Met Thr Asp Pro Thr Arg Arg Phe Phe Lys Val  
 325 330 335

Thr Pro Pro Pro Gly Ser Gly Pro Gln Asn Gln Tyr Gly Asn Val Leu  
 340 345 350

Ser Leu Pro Thr Pro Thr Ser Gly Leu Gly Arg Ala Gln Arg Trp Ala  
 355 360 365

Ala Gly Leu Gly Gly Thr Ala Pro Ser Tyr Gly Asn Pro Ser Ser Asp  
 370 375 380

Val Gln Ala Asp Gly Ala Leu Gly Ser Arg Ser Pro Pro Gly Val Gly  
 385 390 395 400

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Glu Gly Tyr Glu Glu Pro Asp Ser Glu Glu  
 405 410 415

Asp Ser Glu Phe Tyr Glu Asn Asp Ser Asn Leu Gly Gln Asp Gln Leu  
420 425 430

Ser Gln Asp Gly Ser Gly Tyr Glu Asn Pro Glu Asp Glu Pro Leu Gly  
435 440 445

Pro Glu Asp Glu Asp Ser Phe Ser Asn Ala Glu Ser Tyr Glu Asn Glu  
450 455 460

Asp Glu Glu Leu Thr Gln Pro Val Ala Arg Thr Met Asp Phe Leu Ser  
465 470 475 480

Pro His Gly Ser Ala Trp Asp Pro Ser Arg Glu Ala Thr Ser Leu Gly  
485 490 495

Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Met Arg Gly Ile Leu Tyr Ala Ala Pro Gln  
500 505 510

Leu Arg Ser Ile Arg Gly Gln Pro Gly Pro Asn His Glu Glu Asp Ala  
515 520 525

Asp Ser Tyr Glu Asn Met Asp Asn Pro Asp Gly Pro Asp Pro Ala Trp  
530 535 540

Gly Gly Gly Gly Arg Met Gly Thr Trp Ser Thr Arg  
545 550 555

<210> 2

<211> 184

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser  
1 5 10 15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr  
20 25 30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser  
35 40 45

Val Lys Gly Thr Asn Ala Ile Leu Trp Thr Cys Leu Gly Leu Ser Leu  
50 55 60

Ile Ile Ser Leu Ala Val Phe Val Leu Met Phe Leu Leu Arg Lys Ile  
65 70 75 80

Asn Ser Glu Pro Leu Lys Asp Glu Phe Lys Asn Thr Gly Ser Gly Leu  
85 90 95

Leu Gly Met Ala Asn Ile Asp Leu Glu Lys Ser Arg Thr Gly Asp Glu  
100 105 110

Ile Ile Leu Pro Arg Gly Leu Glu Tyr Thr Val Glu Glu Cys Thr Cys  
115 120 125

Glu Asp Cys Ile Lys Ser Lys Pro Lys Val Asp Ser Asp His Cys Phe  
130 135 140

Pro Leu Pro Ala Met Glu Glu Gly Ala Thr Ile Leu Val Thr Thr Lys  
145 150 155 160

Thr Asn Asp Tyr Cys Lys Ser Leu Pro Ala Ala Leu Ser Ala Thr Glu  
165 170 175

Ile Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg  
180

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид

<400> 3

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
1 5 10

<210> 4

<211> 30

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид

<400> 4

ggtggcggag gttctggagg tggaggttcc

30

<210> 5

<211> 20

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид

<400> 5

Ala Ala Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

1

5

10

15

Gly Ser Leu Glu  
20

<210> 6

<211> 30

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид

<400> 6

Ala Ala Ala Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Gly Gly Gly  
1 5 10 15

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu  
20 25 30

<210> 7

<211> 17

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид

<400> 7

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu  
1 5 10 15

Glu

<210> 8

<211> 8147

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид

<400> 8

acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60
acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta	120
cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga	180
attgccgcat tgcaagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacataa acgggtctct	240
ctggttagac cagatctgag cctgggagct ctctggctaa ctagggaacc cactgcttaa	300
gcctcaataa agcttgctt gagtgcttca agtagtgtgt gcccgctctgt tgtgtgactc	360

tggtaactag	agatccctca	gaccctttta	gtcagtggtg	aaaatctcta	gcagtggggc	420
ccgaacaggg	acctgaaagc	gaaagggaaa	ccagagctct	ctcgacgcag	gactcggcct	480
gctgaagcgc	gcacggcaag	aggcgagggg	cggcgactgg	tgagtacgcc	aaaaattttg	540
actagcggag	gctagaagga	gagagatggg	tgcgagagcg	tcagtattaa	gcgggggaga	600
attagatcgc	gatgggaaaa	aattcgggta	aggccagggg	gaaagaaaaa	atataaatta	660
aaacatatag	tatgggcaag	cagggagcta	gaacgattcg	cagttaatcc	tggcctgtta	720
gaaacatcag	aaggctgtag	acaataactg	ggacagctac	aaccatccct	tcagacagga	780
tcagaagaac	ttagatcatt	atataataca	gtagcaacct	tctattgtgt	gcatcaaagg	840
atagagataa	aagacaccaa	ggaagcttta	gacaagatag	aggaagagca	aaacaaaagt	900
aagaccaccg	cacagcaagc	ggccactgat	cttcagacct	ggaggaggag	atatgagggg	960
caattggaga	agtgaattat	ataaatataa	agtagtaaaa	attgaacat	taggagtagc	1020
accaccaag	gcaaagagaa	gagtgggtgca	gagagaaaaa	agagcagtgg	gaataggagc	1080
ttgttcctt	gggttccttg	gagcagcagg	aagcactatg	ggcgcagcgt	caatgacgct	1140
gacggtacag	gccagacaat	tattgtcttg	tatagtgcag	cagcagaaca	atgtgctgag	1200
ggctattgag	gcgcaacagc	atctgttgca	actcacagtc	tggggcatca	agcagctcca	1260
ggcaagaatc	ctggctgtgg	aaagatacct	aaaggatcaa	cagctcctgg	ggatttgggg	1320
ttgctctgga	aaactcattt	gcaccactgc	tgtgccttgg	aatgctagtt	ggagtaataa	1380
atctctggaa	cagatttggg	atcacacgac	ctggatggag	tgggacagag	aaattaacaa	1440
ttacacaagc	ttaatacact	ccttaattga	agaatcgcaa	aaccagcaag	aaaagaatga	1500
acaagaatta	ttggaattag	ataaatgggc	aagtttgtgg	aattggttta	acataacaaa	1560
ttggctgtgg	tatataaaat	tattcataat	gatagtagga	ggcttggtag	gtttaagaat	1620
agtttttgct	gtactttcta	tagtgaatag	agttaggcag	ggatattcac	cattatcgtt	1680
tcagaccac	ctcccaacct	cgaggggacc	cgacaggccc	gaaggaatag	aagaagaagg	1740
tggagagaga	gacagagaca	gatccattcg	attagtgaac	ggatctcgac	ggtatcggtt	1800
aacttttaa	agaaaagggg	ggattggggg	gtacagtgca	ggggaagaa	tagtagacat	1860
aatagcaaca	gacatacaaa	ctaaagaatt	acaaaaacaa	attacaaaat	tcaaaatttt	1920
atcgatacta	gtattatgcc	cagtacatga	ccttatggga	ctttcctact	tggcagtaca	1980
tctacgtatt	agtcatcgct	attaccatgg	tgatgcgggt	ttggcagtac	atcaatgggc	2040
gtggatagcg	gtttgactca	cggggatttc	caagtctcca	ccccattgac	gtcaatggga	2100
gtttgttttg	gcaccaaaat	caacgggact	ttccaaaatg	tcgtaacaac	tccgccccat	2160
tgacgcaaat	gggcggtagg	cgtgtacggg	gggaggttta	tataagcaga	gctcgtttag	2220
tgaaccgtca	gatcgcctgg	agacgccatc	cacgctgttt	tgacctccat	agaagattct	2280

agagctagcg	ccgccacat	gctccagatg	gctggccagt	gcagccagaa	cgagtacttc	2340
gacagcctgc	tgcacgcctg	catcccttgc	cagctgcggt	gcagcagcaa	caccccaccc	2400
ctgacctgcc	agcggtagtg	caacgccagc	gtgaccaaca	gcgtgaaggg	caccaacgcc	2460
atcctgtgga	cctgcctggg	cctgagcctg	atcatcagcc	tggccgtggt	cgtgctgatg	2520
ttcctgctgc	ggaagatcaa	cagcgagccc	ctgaaggacg	agttcaagaa	caccggcagc	2580
ggcctgctgg	gcatggccaa	catcgacctg	gaaaagagcc	ggaccggcga	cgagatcatc	2640
ctgcccagag	gcctggagta	caccgtggaa	gagtgtacct	gcgaggactg	catcaagagc	2700
aagcccaagg	tggacagcga	ccactgcttc	cctctgcccg	ccatggaaga	gggcgccacc	2760
atcctggtga	caacaaagac	caacgactac	tgcaagagcc	tgcttgccgc	cctgagcgcc	2820
accgagatcg	agaagtccat	cagcgccaga	tgaggatccg	cggccgcaag	gatctgcat	2880
cgctccggtg	cccgtcagtg	ggcagagcgc	acatcgccca	cagtccccga	gaagttgggg	2940
ggaggggtcg	gcaattgaac	gggtgcctag	agaaggtggc	gcggggtaaa	ctgggaaagt	3000
gatgtcgtgt	actggctccg	cctttttccc	gaggggtggg	gagaaccgta	tataagtgca	3060
gtagtcgccc	tgaacgttct	ttttcgcaac	gggtttgccc	ccagaacaca	gctgaagctt	3120
cgaggggctc	gcatctctcc	ttcacgcgcc	cgccgcccta	cctgaggccg	ccatccacgc	3180
cggttgagtc	gcgttctgcc	gcctcccgcc	tgtggtgcct	cctgaactgc	gtccgccgtc	3240
taggtaagtt	taaagctcag	gtcgagaccg	ggcctttgtc	cggcgctccc	ttggagccta	3300
cctagactca	gccggctctc	cacgctttgc	ctgaccctgc	ttgctcaact	ctacgtcttt	3360
gtttcgtttt	ctgttctgcg	ccgttacaga	tccaagctgt	gaccggcgcc	tacgtcgaga	3420
tgattgaaca	agatggattg	cacgcaggtt	ctccggccgc	ttgggtggag	aggctattcg	3480
gctatgactg	ggcacaacag	acaatcggct	gctctgatgc	cgccgtgttc	cggctgtcag	3540
cgcagggggc	cccggttctt	tttgtcaaga	ccgacctgtc	cggtgccctg	aatgaactgc	3600
aggacgaggg	agcgcggcta	tcgtggctgg	ccgcgacggg	cgttccttgc	gcagctgtgc	3660
tcgacgttgt	cactgaagcg	ggaagggact	ggctgctatt	gggcgaagtg	ccggggcagg	3720
atctcctgtc	atctcacctt	gctcctgccg	agaaagtatc	catcatggct	gatgcaatgc	3780
ggcggctgca	tacgcttgat	ccggctacct	gccattcga	ccaccaagcg	aaacatcgca	3840
tcgagcgagc	acgtactcgg	atggaagccg	gtcttgctga	tcaggatgat	ctggacgaag	3900
agcatcaggg	gctcgcgcca	gccgaactgt	tcgccaggct	caaggcgcgc	atgcccagcg	3960
gcgaggatct	cgtcgtgacc	catggcgatg	cctgcttgcc	gaatatcatg	gtggaaaatg	4020
gccgcttttc	tggattcatc	gactgtggcc	ggctgggtgt	ggcggaccgc	tatcaggaca	4080
tagcgttggc	taccctgat	attgctgaag	agcttggcgg	cgaatgggct	gaccgcttcc	4140
tcgtgcttta	cggtatcgcc	gctcccgatt	cgcagcgcat	cgccttctat	cgccttcttg	4200



acgagttctt	ctgactcgac	aatcaacctc	tggattacaa	aatttgtgaa	agattgactg	4260
gtattcttaa	ctatgttgct	ccttttacgc	tatgtggata	cgctgcttta	atgcctttgt	4320
atcatgctat	tgcttcccgt	atggctttca	ttttctcctc	cttgataaaa	tcctggttgc	4380
tgtctcttta	tgaggagtgt	tggcccgttg	tcaggcaacg	tggcgtgggtg	tgcactgtgt	4440
ttgctgacgc	aacccccact	ggttggggca	ttgccaccac	ctgtcagctc	ctttccggga	4500
ctttcgcttt	ccccctcct	attgccacgg	cggaactcat	cgccgcctgc	cttggcccgt	4560
gctggacagg	ggctcggctg	ttgggcaactg	acaattccgt	ggtgttgctg	gggaaatcat	4620
cgctctttcc	ttggctgctc	gcctgtgttg	ccacctggat	tctgcgcggg	acgtccttct	4680
gctacgtccc	ttcggccctc	aatccagcgg	accttccttc	ccgcggcctg	ctgccggctc	4740
tgcggcctct	tccgcgtctt	cgccttcgcc	ctcagacgag	tcggatctcc	ctttgggccc	4800
cctccccgcc	tggtaccttt	aagaccaatg	acttacaagg	cagctgtaga	tcttagccac	4860
tttttaaaag	aaaagggggg	actggaaggg	ctaattcact	cccaacgaag	ataagatctg	4920
ctttttgctt	gtactgggtc	tctctgggta	gaccagatct	gagcctggga	gctctctggc	4980
taactagggg	accactgct	taagcctcaa	taaagcttgc	cttgagtgt	tcaagtagtg	5040
tgtgcccgtc	tgttgtgtga	ctctggtaac	tagagatccc	tcagaccctt	ttagtcagtg	5100
tggaaaatct	ctagcagtag	tagttcatgt	catcttatta	ttcagtattt	ataacttgca	5160
aagaaatgaa	tatcagagag	tgagaggaac	ttgtttattg	cagcttataa	tggttacaaa	5220
taaagcaata	gcatcacaaa	tttcacaaat	aaagcatttt	tttactgca	ttctagttgt	5280
ggtttgtcca	aactcatcaa	tgtatcttat	catgtctggc	tctagctatc	ccgcccctaa	5340
ctccgcccat	cccgcccta	actccgccca	gttccgccca	ttctccgcc	catggctgac	5400
taattttttt	tatttatgca	gaggccgagg	ccgcctcggc	ctctgagcta	ttccagaagt	5460
agtgaggagg	cttttttggg	ggcctagact	tttgcagaga	cggcccaaata	tcgtaatcat	5520
ggcatagct	gtttcctgtg	tgaaattggt	atccgctcac	aattccacac	aacatacgag	5580
ccggaagcat	aaagtgtaaa	gcctgggggtg	cctaattgagt	gagctaactc	acattaattg	5640
cgttgcgctc	actgcccgt	ttccagtcgg	gaaacctgtc	gtgccagctg	cattaatgaa	5700
tcggccaacg	cgcggggaga	ggcggtttgc	gtattgggcg	ctcttccgct	tcctcgctca	5760
ctgactcgct	gcgctcggtc	gttcggctgc	ggcgagcggg	atcagctcac	tcaaaggcgg	5820
taatacgggt	atccacagaa	tcaggggata	acgcaggaaa	gaacatgtga	gcaaaaaggcc	5880
agcaaaaagg	caggaaccgt	aaaaaggccg	cgttgctggc	gtttttccat	aggctccgcc	5940
cccctgacga	gcatcacaaa	aatcgacgct	caagtcagag	gtggcgaaac	ccgacaggac	6000
tataaagata	ccaggcgttt	ccccctggaa	gctccctcgt	gcgctctcct	gttccgacct	6060
tgccgcttac	cggatacctg	tccgcctttc	tcccttcggg	aagcgtggcg	ctttctcata	6120

gctcacgctg	taggtatctc	agttcgggtg	aggtcgttcg	ctccaagctg	ggctgtgtgc	6180
acgaaccccc	cgttcagccc	gaccgctgcg	ccttatccgg	taactatcgt	cttgagtcca	6240
acccggtaag	acacgactta	tcgccactgg	cagcagccac	tggtaacagg	attagcagag	6300
cgaggtatgt	aggcgggtgct	acagagttct	tgaagtgggtg	gcctaactac	ggctacacta	6360
gaaggacagt	atttggatc	tgcgctctgc	tgaagccagt	taccttcgga	aaaagagttg	6420
gtagctcttg	atccggcaaa	caaaccaccg	ctggtagcgg	tggttttttt	gtttgcaagc	6480
agcagattac	gcgcaaaaa	aaaggatctc	aagaagatcc	tttgatcttt	tctacggggt	6540
ctgacgctca	gtggaacgaa	aactcacggt	aagggatttt	ggtcatgaga	ttatcaaaaa	6600
ggatcttcac	ctagatcctt	ttaaattaa	aatgaagttt	taaatcaatc	taaagtatat	6660
atgagtaaac	ttggtctgac	agttaccaat	gcttaatcag	tgaggcacct	atctcagcga	6720
tctgtctatt	tcgttcatcc	atagttgcct	gactccccgt	cgtgtagata	actacgatac	6780
gggagggctt	accatctggc	cccagtgctg	caatgatacc	gcgagacca	cgctcaccgg	6840
ctccagattt	atcagcaata	aaccagccag	ccggaagggc	cgagcgcaga	agtggctctg	6900
caactttatc	cgctccatc	cagtctatta	attgttgccg	ggaagctaga	gtaagtagtt	6960
cgccagttaa	tagtttgccg	aacgttggtg	ccattgctac	aggcatcgtg	gtgtcacgct	7020
cgtcgtttgg	tatggcttca	ttcagctccg	gttcccaacg	atcaaggcga	gttacatgat	7080
ccccatggt	gtgcaaaaa	gcggttagct	ccttcgggtc	tccgatcgtt	gtcagaagta	7140
agttggccgc	agtgttatca	ctcatggtta	tggcagcact	gcataattct	cttactgtca	7200
tgccatccgt	aagatgcttt	tctgtgactg	gtgagtactc	aaccaagtca	ttctgagaat	7260
agtgtatgcg	gcgaccgagt	tgctcttgcc	cggcgtcaat	acgggataat	accgcgccac	7320
atagcagaac	tttaaaagtg	ctcatcattg	gaaaacgttc	ttcggggcga	aaactctcaa	7380
ggatcttacc	gctgttgaga	tccagttcga	tgtaaccac	tcgtgcaccc	aactgatctt	7440
cagcatcttt	tactttcacc	agcgtttctg	ggtgagcaaa	aacaggaagg	caaaatgccg	7500
caaaaaagg	aataagggcg	acacggaaat	gttgaatact	catactcttc	ctttttcaat	7560
attattgaag	catttatcag	ggttattgtc	tcatgagcgg	atacatattt	gaatgtattt	7620
agaaaaataa	acaaataggg	gttccgcgca	catttccccg	aaaagtgcc	cctgacgtct	7680
aagaaacat	tattatcatg	acattaacct	ataaaaaatag	gcgtatcacg	aggccctttc	7740
gtctcgcg	tttcgggtgat	gacggtgaaa	acctctgaca	catgcagctc	ccggagacgg	7800
tcacagcttg	tctgtaagcg	gatgccggga	gcagacaagc	ccgtcagggc	gcgtcagcgg	7860
gtgttgccgg	gtgtcggggc	tggcttaact	atgcggcatc	agagcagatt	gtactgagag	7920
tgcaccatat	gcgggtgtgaa	ataccgcaca	gatgcgtaag	gagaaaatac	cgcatcagggc	7980
gccattcgcc	atccaggctg	cgcaactggt	gggaagggcg	atcgggtcgg	gcctcttcgc	8040

tattacgcca gctggcgaaa gggggatgtg ctgcaaggcg attaagttgg gtaacgccag	8100
ggttttccca gtcacgacgt tgtaaaacga cggccagtgc caagctg	8147
<210> 9	
<211> 8846	
<212> ДНК	
<213> Искусственная последовательность	
<220>	
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид	
<400> 9	
acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60
acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta	120
cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga	180
attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc	240
tctgggtaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac cactgctta	300
agcctcaata aagcttgctt tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact	360
ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg	420
cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct	480
tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt	540
gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag	600
aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt	660
aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt	720
agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg	780
atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatcaaag	840
gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag	900
taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg	960
acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag	1020
caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag	1080
ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgagcc tcaatgacgc	1140
tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga	1200
gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc	1260
aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg	1320
gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata	1380
aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa	1440

ttacacaagc	ttaatacact	ccttaattga	agaatcgcaa	aaccagcaag	aaaagaatga	1500
acaagaatta	ttggaattag	ataaatgggc	aagtttgtgg	aattggttta	acataacaaa	1560
ttggctgtgg	tatataaaat	tattcataat	gatagtagga	ggcttggtag	gtttaagaat	1620
agtttttgct	gtactttcta	tagtgaatag	agttaggcag	ggatattcac	cattatcgtt	1680
tcagaccac	ctccaaccc	cgaggggacc	cgacaggccc	gaaggaatag	aagaagaagg	1740
tggagagaga	gacagagaca	gatccattcg	attagtgaac	ggatctcgac	ggtatcggtt	1800
aacttttaaa	agaaaagggg	ggattggggg	gtacagtgca	ggggaaagaa	tagtagacat	1860
aatagcaaca	gacatacaaa	ctaaagaatt	acaaaaacaa	attacaaaat	tcaaaatttt	1920
atcgatacta	gtattatgcc	cagtacatga	ccttatggga	ctttcctact	tggcagtaca	1980
tctacgtatt	agtcatcgct	attacatgg	tgatgcgggt	ttggcagtac	atcaatgggc	2040
gtggatagcg	gtttgactca	cggggatttc	caagtctcca	ccccattgac	gtcaatggga	2100
gtttgttttg	gcaccaaaat	caacgggact	ttccaaaatg	tcgtaacaac	tccgccccat	2160
tgacgcaaat	gggcggtagg	cgtgtacgg	gggaggttta	tataagcaga	gctcgtttag	2220
tgaaccgtca	gatgcctgg	agacgccatc	cacgctgttt	tgacctccat	agaagattct	2280
agagccgcca	ccatgcttct	cctggtgaca	agccttctgc	tctgtgagtt	accacaccca	2340
gcattcctcc	tgatcccaga	catccagatg	acacagacta	catcctcct	gtctgcctct	2400
ctgggagaca	gagtcacat	cagttgcagg	gcaagtcagg	acattagtaa	atatttaaat	2460
tggatcagc	agaaaccaga	tggaactggt	aaactcctga	tctaccatac	atcaagatta	2520
cactcaggag	tcccatcaag	gttcagtggc	agtgggtctg	gaacagatta	ttctctcacc	2580
attagcaacc	tggagcaaga	agatattgcc	acttactttt	gccaacaggg	taatacgctt	2640
ccgtacacgt	tcggaggggg	gactaagttg	gaaataacag	gctccacctc	tggatccggc	2700
aagcccggat	ctggcgaggg	atccaccaag	ggcgaggtga	aactgcagga	gtcaggacct	2760
ggcctgggtg	cgccctcaca	gagcctgtcc	gtcacatgca	ctgtctcagg	ggtctcatta	2820
cccgactatg	gtgtaagctg	gattcgccag	cctccacgaa	aggggtctgga	gtggctggga	2880
gtaatatggg	gtagtgaaac	cacatactat	aattcagctc	tcaaatccag	actgaccatc	2940
atcaaggaca	actccaagag	ccaagttttc	ttaaaaatga	acagtctgca	aactgatgac	3000
acagccattt	actactgtgc	caaacattat	tactacgggtg	gtagctatgc	tatggactac	3060
tgggggtcaag	gaacctcagt	caccgtctcc	tcagcggccg	caattgaagt	tatgtatcct	3120
cctccttacc	tagacaatga	gaagagcaat	ggaaccatta	tccatgtgaa	agggaaacac	3180
ctttgtccaa	gtcccctatt	tcccggacct	tctaagccct	tttgggtgct	ggtgggtggtt	3240
gggggagtcc	tggcttgcta	tagcttgcta	gtaacagtgg	cctttattat	tttctgggtg	3300
aggagtaaga	ggagcaggct	cctgcacagt	gactacatga	acatgactcc	ccgcccggcc	3360

gggcccaccc	gcaagcatta	ccagccctat	gccccaccac	gcgacttcgc	agcctatcgc	3420
tccagagtga	agttcagcag	gagcgcagac	gccccgcgt	accagcaggg	ccagaaccag	3480
ctctataacg	agctcaatct	aggacgaaga	gaggagtacg	atgttttgga	caagagacgt	3540
ggccgggacc	ctgagatggg	gggaaagccg	agaaggaaga	accctcagga	aggcctgtac	3600
aatgaactgc	agaaagataa	gatggcggag	gcctacagtg	agattgggat	gaaaggcgag	3660
cgccggaggg	gcaaggggca	cgatggcctt	taccagggtc	tcagtacagc	caccaaggac	3720
acctacgacg	cccttcacat	gcaggccctg	ccccctcgt	aagaattcgg	atccgcggcc	3780
gcgaaggatc	tgcgatcgct	ccggtgcccc	tcagtgggca	gagcgcacat	cgcccacagt	3840
ccccgagaag	ttggggggag	gggtcggcaa	ttgaacgggt	gcctagagaa	ggtggcgcg	3900
ggtaaactgg	gaaagtgatg	tcgtgtactg	gctccgcctt	tttcccaggg	gtgggggaga	3960
accgtatata	agtgacgtag	tcgccgtgaa	cgttcttttt	cgcaacgggt	ttgccgccag	4020
aacacagctg	aagcttcgag	gggctcgcac	ctctccttca	cgcgcccgcc	gccctacctg	4080
aggccgcat	ccacgccggt	tgagtcgcgt	tctgccgcct	cccgcctgtg	gtgcctcctg	4140
aactgcgtcc	gccgtctagg	taagtttaaa	gctcaggtcg	agaccggggc	tttgtccggc	4200
gctcccttgg	agcctaccta	gactcagccg	gctctccacg	ctttgcctga	ccctgcttgc	4260
tcaactctac	gtctttgttt	cgttttctgt	tctgcgccgt	tacagatcca	agctgtgacc	4320
ggcgcctacg	ctagatgacc	gagtacaagc	ccacgggtgcg	cctcggccacc	cgcgacgacg	4380
tccccagggc	cgtagcacc	ctcgccgccg	cgttcgccga	ctaccccgcc	acgcgccaca	4440
ccgtcgatcc	ggaccgccac	atcgagcggg	tcaccgagct	gcaagaactc	ttcctcacgc	4500
gcgtcgggct	cgacatcggc	aagggtgtggg	tcgcggacga	cggcgccgcg	gtggcggct	4560
ggaccacgcc	ggagagcgtc	gaagcggggg	cgggtgttcgc	cgagatcggc	ccgcgcatgg	4620
ccgagttgag	cggttcccgg	ctggccgcgc	agcaacagat	ggaaggcctc	ctggcgccgc	4680
accggcccaa	ggagcccgcg	tggttcctgg	ccaccgctgg	cgtctcgcgc	gaccaccagg	4740
gcaagggctc	gggcagcgcc	gtcgtgctcc	ccggagtggg	ggcggccgag	cgcgccgggg	4800
tgcccgcctt	cctggagacc	tccgcgcccc	gcaacctccc	cttctacgag	cggctcggct	4860
tcaccgtcac	cgccgacgtc	gaggtgcccc	aaggaccgcg	cacctggtgc	atgaccgcga	4920
agcccgggtc	ctgagtcgac	aatcaacctc	tggattacaa	aatttgtaa	agattgactg	4980
gtattcttaa	ctatgttgct	ccttttacgc	tatgtggata	cgctgcttta	atgcctttgt	5040
atcatgctat	tgcttcccgt	atggctttca	ttttctcctc	cttgataaaa	tcctggttgc	5100
tgtctcttta	tgaggagtgt	tggcccgttg	tcaggcaacg	tggcgtggtg	tgcactgtgt	5160
ttgctgacgc	aacccccact	ggttggggca	ttgccaccac	ctgtcagctc	ctttccggga	5220
ctttcgcttt	ccccctcct	attgccacgg	cggaactcat	cgccgcctgc	cttgcccgt	5280

gctggacagg	ggctcggctg	ttgggcactg	acaattccgt	gggtgtgtcg	gggaaatcat	5340
cgtectttcc	ttggctgctc	gcctgtgttg	ccacctggat	tctgcgcggg	acgtccttct	5400
gctacgtccc	ttcggccctc	aatccagcgg	accttccttc	ccgcggcctg	ctgcccggctc	5460
tgcggcctct	tccgcgtctt	cgccttcgcc	ctcagacgag	tcggatctcc	ctttgggccc	5520
cctccccgcc	tggtaccttt	aagaccaatg	acttacaagg	cagctgtaga	tcttagccac	5580
tttttaaaag	aaaagggggg	actggaaggg	ctaattcact	cccaacgaaa	ataagatctg	5640
ctttttgctt	gtactgggtc	tctctgggta	gaccagatct	gagcctggga	gctctctggc	5700
taactagggg	accctagtct	taagcctcaa	taaagcttgc	cttgagtgtc	tcaagtagtg	5760
tgtgcccgtc	tgttgtgtga	ctctggtaac	tagagatccc	tcagaccctt	ttagtcagtg	5820
tggaaaatct	ctagcagtag	tagttcatgt	catcttatta	ttcagtatth	ataacttgca	5880
aagaaatgaa	tatcagagag	tgagaggaac	ttgtttattg	cagcttataa	tggttacaaa	5940
taaagcaata	gcatcacaaa	tttcacaaat	aaagcatttt	tttactgca	ttctagttgt	6000
ggtttgccta	aactcatcaa	tgtatcttat	catgtctggc	tctagctatc	ccgcccctaa	6060
ctccgccccag	ttccgcccat	tctccgcccc	atggctgact	aatthththth	atthtatgcag	6120
aggccgaggg	cgctcgggcc	tctgagctat	tccagaagta	gtgaggaggc	ttthttggag	6180
gcctagactt	ttgcagagac	ggcccaaatt	cgtaatcatg	gtcatagctg	tttctctgtt	6240
gaaattgtta	tccgctcaca	attccacaca	acatacgagc	cggaagcata	aagtgtaaag	6300
cctgggggtgc	ctaatgagtg	agctaactca	cattaattgc	gttgcgctca	ctgcccgcct	6360
tccagtcggg	aaacctgtcg	tgccagctgc	attaatgaat	cggccaacgc	gcgggggagag	6420
gcggtttgcg	tattgggccc	tcttccgctt	cctcgcctcac	tgactcgcctg	cgctcggctg	6480
ttcggctgcg	gcgagcggta	tcagctcact	caaaggcggg	aatacgggta	tccacagaat	6540
caggggataa	cgcaggaaag	aacatgtgag	caaaaggcca	gcaaaaggcc	aggaaccgta	6600
aaaaggccgc	gttgctggcg	tttttccata	ggctccgccc	ccctgacgag	catcacaaaa	6660
atcgacgctc	aagtcagagg	tggcgaaacc	cgacaggact	ataaagatac	caggcgthttc	6720
ccctggaag	ctccctcgtg	cgctctcctg	ttccgacctt	gccgcttacc	ggatacctgt	6780
ccgcctthct	cccttcggga	agcgtggcgc	tttctcatag	ctcacgctgt	aggtatctca	6840
gttcgggtgta	ggtcgthtcg	tccaagctgg	gctgtgtgca	cgaaccccc	gthtcagcccc	6900
accgctgcgc	cttatccggg	aactatcgtc	ttgagthcaa	cccggtaaga	cacgacttht	6960
cgccactggc	agcagccact	ggtaacagga	ttagcagagc	gaggtatgta	ggcgggtgcta	7020
cagagthctt	gaagtgggtg	cctaactacg	gctacactag	aaggacagta	thttggthctt	7080
gcgctctgct	gaagccagth	accttcggaa	aaagagthgg	tagctctthga	tccggcaaac	7140
aaaccaccgc	tggttagcggg	ggththththg	thttgcaagca	gcagathtacg	cgcagaaaaa	7200

aaggatctca agaagatcct ttgatctttt ctacggggtc tgacgctcag tggaacgaaa 7260  
actcacgtta agggattttg gtcacgagat tatcaaaaag gatcttcacc tagatccttt 7320  
taaattaa atgaagtttt aaatcaatct aaagtatata tgagtaaact tggctctgaca 7380  
gttaccaatg cttaatcagt gaggcaccta tctcagcgat ctgtctattt cgttcatcca 7440  
tagttgcctg actccccgtc gtgtagataa ctacgatacg ggagggctta ccatctggcc 7500  
ccagtgcctg aatgataccg cgagaccac gctcacggc tccagattta tcagcaataa 7560  
accagccagc cggaagggcc gagcgcagaa gtggctctgc aactttatcc gcctccatcc 7620  
agtctattaa ttgttgccgg gaagctagag taagtagttc gccagttaat agtttgcgca 7680  
acgttgctgc cattgctaca ggcacgtgg tgtcacgctc gtcgtttggg atggcttcat 7740  
tcagctcggg ttccaacga tcaaggcgag ttacatgac ccccatgttg tgcaaaaaag 7800  
cggttagctc cttcggctct ccgatcgttg tcagaagtaa gttggccgca gtgttatcac 7860  
tcatggttat ggcagcactg cataattctc ttactgtcat gccatccgta agatgctttt 7920  
ctgtgactgg tgagtactca accaagtcac tctgagaata gtgtatgcgg cgaccgagtt 7980  
gctcttgccc ggcgtcaata cgggataata ccgcgccaca tagcagaact ttaaaagtgc 8040  
tcatcattgg aaaacgttct tcggggcgaa aactctcaag gatcttaccg ctgttgagat 8100  
ccagttcgat gtaaccact cgtgcacca actgatcttc agcatctttt actttcacca 8160  
gcgtttctgg gtgagcaaaa acaggaaggc aaaatgccgc aaaaaggga ataagggcga 8220  
cacggaaatg ttgaatactc atactcttcc tttttcaata ttattgaagc atttatcagg 8280  
gttattgtct catgagcggg tacatatattg aatgtattta gaaaaataaa caaatagggg 8340  
ttccgcgcac atttccccga aaagtgccac ctgacgtcta agaaaccatt attatcatga 8400  
cattaaccta taaaaatagg cgtatcacga ggccctttcg tctcgcgcgt ttcggtgatg 8460  
acggtgaaaa cctctgacac atgcagctcc cggagacggg cacagcttgt ctgtaagcgg 8520  
atgccgggag cagacaagcc cgtcagggcg cgtcagcggg tgttggcggg tgtcggggct 8580  
ggcttaacta tgcggcatca gagcagattg tactgagagt gcaccatag cgggtgtgaaa 8640  
taccgcacag atgcgtaagg agaaaatacc gcatcaggcg ccattcgcca ttcaggctgc 8700  
gcaactgttg ggaagggcga tcggtgcggg cctcttcgct attacgccag ctggcgaaag 8760  
ggggatgtgc tgcaaggcga ttaagttggg taacgccagg gttttcccag tcacgacggt 8820  
gtaaaacgac ggccagtgcc aagctg 8846

<210> 10

<211> 8717

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический

## ПОЛИНУКЛЕОТИД

&lt;400&gt; 10

acgcgtgtag	tcttatgcaa	tactcttgta	gtcttgcaac	atggtaacga	tgagttagca	60
acatgcctta	caaggagaga	aaaagcaccg	tgcatgccga	ttggtggaag	taaggtggta	120
cgatcgtgcc	ttattagga	ggcaacagac	gggtctgaca	tggattggac	gaaccactga	180
attgccgcat	tgcaagata	ttgtatttaa	gtgcctagct	cgatacaata	aacgggtctc	240
tctggttaga	ccagatctga	gcctgggagc	tctctggcta	actaggggaac	ccactgctta	300
agcctcaata	aagcttgctt	tgagtgcctc	aagtagtgtg	tgcccgtctg	ttgtgtgact	360
ctggtaacta	gagatccctc	agaccctttt	agtcagtgtg	gaaaatctct	agcagtggcg	420
cccgaacagg	gacctgaaag	cgaaagggaa	accagagctc	tctcgacgca	ggactcggct	480
tgctgaagcg	cgcacggcaa	gaggcgaggg	gcggcgactg	gtgagtacgc	caaaaatttt	540
gactagcggg	ggctagaagg	agagagatgg	gtgagagagc	gtcagtatta	agcgggggag	600
aattagatcg	cgatgggaaa	aaattcgggt	aaggccaggg	ggaaagaaaa	aatataaatt	660
aaaacatata	gtatgggcaa	gcagggagct	agaacgattc	gcagttaatc	ctggcctggt	720
agaaacatca	gaaggctgta	gacaaatact	gggacagcta	caaccatccc	ttcagacagg	780
atcagaagaa	cttagatcat	tatataatac	agtagcaacc	ctctattgtg	tgcatcaaag	840
gatagagata	aaagacacca	aggaagcttt	agacaagata	gaggaagagc	aaaacaaaag	900
taagaccacc	gcacagcaag	cggccactga	tcttcagacc	tggaggagga	gatatgaggg	960
acaattggag	aagtgaatta	tataaatata	aagtagtaaa	aattgaacca	ttaggagtag	1020
caccaccaa	ggcaaagaga	agagtgggtc	agagagaaaa	aagagcagtg	ggaataggag	1080
ctttgttctt	tgggttcttg	ggagcagcag	gaagcactat	gggagcagcg	tcaatgacgc	1140
tgacggtaca	ggccagacaa	ttattgtctg	gtatagtgca	gcagcagaac	aatttgctga	1200
gggctattga	ggcgcaacag	catctgttgc	aactcacagt	ctggggcatc	aagcagctcc	1260
aggcaagaat	cctggctgtg	gaaagatacc	taaaggatca	acagctcctg	gggatttggg	1320
gttgctctgg	aaaactcatt	tgaccactg	ctgtgccttg	gaatgctagt	tggagtaata	1380
aatctctgga	acagatttgg	aatcacacga	cctggatgga	gtgggacaga	gaaattaaca	1440
attacacaag	cttaatacac	tccttaattg	aagaatcgca	aaaccagcaa	gaaaagaatg	1500
aacaagaatt	attggaatta	gataaatggg	caagtttgtg	gaattgggtt	aacataacaa	1560
attggctgtg	gtatataaaa	ttattcataa	tgatagtagg	aggcttggta	ggtttaagaa	1620
tagtttttgc	tgtactttct	atagtgaata	gagttaggca	gggatattca	ccattatcgt	1680
ttcagacca	cctccaacc	ccgaggggac	ccgacaggcc	cgaaggaata	gaagaagaag	1740
gtggagagag	agacagagac	agatccattc	gattagtgaa	cggatctcga	cggtatcggg	1800
taacttttaa	aagaaaaggg	gggattgggg	ggtacagtgc	aggggaaaga	atagtagaca	1860



taatagcaac	agacatacaa	actaaagaat	tacaaaaaca	aattacaaaa	ttcaaaat	1920
tatcgatact	agtggatctg	cgatcgctcc	ggtgcccgtc	agtgggcaga	gcgcacatcg	1980
cccacagtcc	ccgagaagtt	ggggggaggg	gtcggcaatt	gaacgggtgc	ctagagaagg	2040
tggcgcgggg	taaactggga	aagtgatgtc	gtgtactggc	tccgcctttt	tcccgagggg	2100
gggggagaac	cgtatataag	tgcagtagtc	gccgtgaacg	ttctttttcg	caacgggttt	2160
gccgccagaa	cacagctgaa	gcttcgaggg	gctcgcattc	ctccttcacg	cgcccccgcc	2220
cctacctgag	gccgccatcc	acgccggttg	agtcgcgttc	tgccgcctcc	cgctgtggg	2280
gcctcctgaa	ctgcgtccgc	cgtctaggta	agtttaaagc	tcaggctgag	accgggcctt	2340
tgtccggcgc	tcccttgagg	cctacctaga	ctcagccggc	tctccacgct	ttgcctgacc	2400
ctgcttgctc	aactctacgt	ctttgtttcg	ttttctgttc	tgcgccgtta	cagatccaag	2460
ctgtgaccgg	cgctactct	agagccgcca	ccatggccct	gcctgtgaca	gctctgctgc	2520
tgctctggc	cctgctgctc	catgccgcca	gaccgatat	ccagatgacc	cagaccacca	2580
gcagcctgag	cgccagcctg	ggcgatagag	tgaccatcag	ctgccgggccc	agccaggaca	2640
tcagcaagta	cctgaactgg	tatcagcaga	aaccgcagcg	caccgtgaag	ctgctgatct	2700
accacaccag	cagactgcac	agcggcgtgc	ccagcagatt	ttctggcagc	ggctccggca	2760
ccgactacag	cctgaccatc	tccaacctgg	aacaggaaga	tatcgctacc	tactttctgtc	2820
agcaaggcaa	caccctgccc	tacaccttcg	gcggaggcac	caagctggaa	atcacaggcg	2880
gcggaggatc	tggcggaggt	ggaagtggcg	gaggcggcag	cgaagtgaaa	ctgcaggaaa	2940
gcggccctgg	cctggtggcc	ccttctcagt	ctctgtccgt	gacctgtacc	gtgtccggcg	3000
tgtccctgcc	cgattatggc	gtgtcctgga	tccggcagcc	tcccagaaag	ggcctggaat	3060
ggctgggctg	gatctggggc	agcgagacaa	cctactacaa	cagcgccctg	aagtcccggc	3120
tgaccatcat	caaggacaac	tccaagagcc	aggtgttcct	gaagatgaac	agcctgcaga	3180
ccgacgacac	cgccatctac	tactgcgcca	agcactacta	ctacggcggc	agctacgcca	3240
tggactactg	gggccagggc	accagcgtga	ccgtgtctag	cacaaccacc	cctgccccta	3300
gacctccac	cccagcccca	acaattgcca	gccagcctct	gtctctgcgg	cccgaagctt	3360
gtagacctgc	tgccggcgga	gccgtgcaca	ccagaggact	ggatttcgcc	tgcgacatct	3420
acatctgggc	ccctctggcc	ggcacatgtg	gcgtgctgct	cctcagcctg	gtcatcacc	3480
tgtactgcaa	gcggggcaga	aagaaactgc	tctacatctt	caagcagccc	ttcatgcggc	3540
ccgtgcagac	cacacaggaa	gaggacggct	gctcctgcag	attccccgag	gaagaagaag	3600
gcggctgcga	gctgagagtg	aagttcagca	gatccgccga	cgcccctgcc	taccagcagg	3660
gacagaacca	gctgtacaac	gagctgaacc	tgggcagacg	ggaagagtac	gacgtgctgg	3720
acaagcggag	aggcagagat	cccagatgg	gcggcaagcc	cagacggaag	aatccccagg	3780

aaggcctgta	taacgaactg	cagaaagaca	agatggccga	ggcctacagc	gagatcggaa	3840
tgaagggcga	gcggagaaga	ggcaagggcc	acgatggcct	gtaccagggc	ctgagcaccg	3900
ccaccaagga	cacctacgat	gccctgcaca	tgcaggccct	gccacccaga	gaattcgaag	3960
gatccgcggc	cgctgagggc	agaggaagtc	ttctaacatg	cggtgacgtg	gaggagaatc	4020
ccggcccttc	cggaatggag	agcgacgaga	gcggcctgcc	cgccatggag	atcgagtgcc	4080
gcatcaccgg	caccctgaac	ggcgtggagt	tcgagctggt	gggcgccgga	gagggcacc	4140
ccaagcaggg	ccgcatgacc	aacaagatga	agagcaccaa	agggcgcctg	accttcagcc	4200
cctacctgct	gagccacgtg	atgggctacg	gcttctacca	cttcggcacc	taccccagcg	4260
gctacgagaa	ccccttcctg	cacgccatca	acaacggcgg	ctacaccaac	acccgcatcg	4320
agaagtacga	ggacggcggc	gtgctgcacg	tgagcttcag	ctaccgctac	gaggccggcc	4380
gcgtgatcgg	cgacttcaag	gtggtgggca	ccggcttccc	cgaggacagc	gtgatcttca	4440
ccgacaagat	catccgcagc	aacgccaccg	tggagcacct	gcaccccatg	ggcgataacg	4500
tgctggtggg	cagcttcgcc	cgcaccttca	gcctgcgcga	cgggcgctac	tacagcttcg	4560
tgggtggacag	ccacatgcac	ttcaagagcg	ccatccacc	cagcatcctg	cagaacgggg	4620
gccccatggt	cgcttccgc	cgcggtggagg	agctgcacag	caacaccgag	ctgggcatcg	4680
tggagtacca	gcacgccttc	aagaccccca	tcgccttcgc	cagatcccgc	gctcagtcgt	4740
ccaattctgc	cgtggacggc	accgccggac	ccggctccac	cggatctcgc	tagagctgaa	4800
tctaagtcga	caatcaacct	ctggattaca	aaatttgtga	aagattgact	ggtattctta	4860
actatgttgc	tccttttacg	ctatgtggat	acgctgcttt	aatgcctttg	tatcatgcta	4920
ttgcttcccg	tatggctttc	atcttctcct	ccttgtataa	atcctggttg	ctgtctcttt	4980
atgaggagt	gtggcccgtt	gtcaggcaac	gtggcgtggt	gtgcactgtg	tttgctgacg	5040
caacccccac	tggttggggc	attgccacca	cctgtcagct	cctttccggg	actttcgcct	5100
tccccctccc	tattgccacg	gcggaactca	tcgccgcctg	ccttgcccgc	tgctggacag	5160
gggctcggct	gttgggcact	gacaattccg	tggtgttgtc	ggggaaatca	tcgtcctttc	5220
cttggtgct	cgctgtggt	gccacctgga	ttctgcgcgg	gacgtccttc	tgctacgtcc	5280
cttcggccct	caatccagcg	gaccttcctt	cccgcggcct	gctgccggct	ctgcggcctc	5340
ttccgctct	tcgccttcgc	cctcagacga	gtcggatctc	cctttgggce	gcctccccgc	5400
ctggtacctt	taagaccaat	gacttacaag	gcagctgtag	atcttagcca	ctttttaaaa	5460
gaaaaggggg	gactggaagg	gctaattcac	tcccaacgaa	aataagatct	gctttttgct	5520
tgtactgggt	ctctctgggt	agaccagatc	tgagcctggg	agctctctgg	ctaactaggg	5580
aaccactgc	ttaagcctca	ataaagcttg	ccttgagtgc	ttcaagtagt	gtgtgcccgt	5640
ctgttgtgtg	actctggtaa	ctagagatcc	ctcagaccct	tttagtcagt	gtggaaaatc	5700

tctagcagta	gtagttcatg	tcatcttatt	attcagtatt	tataacttgc	aaagaaatga	5760
atatcagaga	gtgagaggaa	cttgtttatt	gcagcttata	atggttacaa	ataaagcaat	5820
agcatcacia	atctcaciaa	taaagcattt	ttttcactgc	attctagttg	tggtttgtcc	5880
aaactcatca	atgtatctta	tcatgtctgg	ctctagctat	cccgccccta	actccgccc	5940
gttccgccc	ttctccgccc	catggctgac	taattttttt	tatttatgca	gaggccgagg	6000
ccgcctcggc	ctctgagcta	ttccagaagt	agtgaggagg	cttttttggg	ggcctagact	6060
tttgagaga	cggcccaaat	tcgtaatcat	ggatcatagct	gtttcctgtg	tgaattgtt	6120
atccgctcac	aattccacac	aacatacgag	ccggaagcat	aaagtgtaaa	gcctgggggtg	6180
cctaagtagt	gagctaactc	acattaattg	cgttgcgctc	actgcccgct	ttccagtcgg	6240
gaaacctgtc	gtgccagctg	cattaatgaa	tcggccaacg	cgcggggaga	ggcggtttgc	6300
gtattgggcg	ctcttccgct	tcctcgctca	ctgactcgct	gcgctcggtc	gttcggctgc	6360
ggcgagcgg	atcagctcac	tcaaaggcgg	taatacggtt	atccacagaa	tcaggggata	6420
acgagggaaa	gaacatgtga	gcaaaaggcc	agcaaaaggc	caggaaccgt	aaaaaggccg	6480
cgttgctggc	gtttttccat	aggctccgcc	cccctgacga	gcatcaciaa	aatcgacgct	6540
caagtcagag	gtggcgaaac	ccgacaggac	tataaagata	ccaggcgttt	ccccctggaa	6600
gctccctcgt	gcgctctcct	gttccgacct	tgccgcttac	cggatacctg	tccgcctttc	6660
tccttccggg	aagcgtggcg	ctttctcata	gctcacgctg	taggtatctc	agttcgggtg	6720
aggctcgttcg	ctccaagctg	ggctgtgtgc	acgaaccccc	cgttcagccc	gaccgctgcg	6780
ccttatccgg	taactatcgt	cttgagtcca	acccggtaag	acacgactta	tcgccactgg	6840
cagcagccac	tggtaacagg	attagcagag	cgaggatgtg	aggcgggtgct	acagagttct	6900
tgaagtggtg	gcctaactac	ggctacacta	gaaggacagt	atctggatc	tgcgctctgc	6960
tgaagccagt	taccttcgga	aaaagagttg	gtagctcttg	atccggcaaa	caaaccaccg	7020
ctggtagcgg	tggttttttt	gtttgcaagc	agcagattac	gcgcagaaaa	aaaggatctc	7080
aagaagatcc	ttgatctttt	tctacgggg	ctgacgctca	gtggaacgaa	aactcacggt	7140
aagggatttt	ggatcatgaga	ttatcaaaaa	ggatcttcac	ctagatcctt	ttaaattaaa	7200
aatgaagttt	taaataaatc	taaagtatat	atgagtaaac	ttggctctgac	agttaccaat	7260
gcttaatcag	tgaggcacct	atctcagcga	tctgtctatt	tcgctcatcc	atagttgcct	7320
gactccccgt	cgtgtagata	actacgatac	gggagggcct	accatctggc	cccagtgctg	7380
caatgatacc	gcgagaccca	cgctcaccgg	ctccagattt	atcagcaata	aaccagccag	7440
ccggaagggc	cgagcgcaga	agtggctcctg	caactttatc	cgctccatc	cagtctatta	7500
attgttgccg	ggaagctaga	gtaagtagtt	cgccagttaa	tagtttgcgc	aacgttggtg	7560
ccattgctac	aggcatcgtg	gtgtcacgct	cgctcgtttg	tatggcttca	ttcagctccg	7620

gttcccaacg atcaaggcga gttacatgat cccccatggt gtgcaaaaaa gcggttagct 7680  
 ccttcgggtcc tccgatcggt gtcagaagta agttggccgc agtgttatca ctcatggtta 7740  
 tggcagcact gcataattct cttactgtca tgccatccgt aagatgcttt tctgtgactg 7800  
 gtgagtactc aaccaagtca ttctgagaat agtgtatgcg gcgaccgagt tgctcttgcc 7860  
 cggcgtcaat acgggataat accgcgccac atagcagaac tttaaaagtg ctcatcattg 7920  
 gaaaacgttc ttcggggcga aaactctcaa ggatcttacc gctggtgaga tccagttcga 7980  
 tgtaaccac tcgtgcaccc aactgatctt cagcatcttt tactttcacc agcgtttctg 8040  
 ggtgagcaaa aacaggaagg caaaatgccg caaaaaaggg aataagggcg acacggaaat 8100  
 gttgaatact catactcttc ctttttcaat attattgaag catttatcag ggttattgtc 8160  
 tcatgagcgg atacatattt gaatgtattt agaaaaataa acaaataggg gttccgcgca 8220  
 catttccccg aaaagtgcc actgacgtct aagaaacat tattatcatg acattaacct 8280  
 ataaaaatag gcgtatcacg aggccctttc gtctcgcgcg tttcggtgat gacggtgaaa 8340  
 acctctgaca catgcagctc ccggagacgg tcacagcttg tctgtaagcg gatgccggga 8400  
 gcagacaagc ccgtcagggc gcgtcagcgg gtgttggcgg gtgtcggggc tggcttaact 8460  
 atgcggcatc agagcagatt gtactgagag tgcaccatat gcggtgtgaa ataccgcaca 8520  
 gatgcgtaag gagaaaatac cgcatcaggc gccattcgcc attcaggctg cgcaactggt 8580  
 ggggaagggcg atcggtgcg gcctcttcgc tattacgcca gctggcgaaa gggggatgtg 8640  
 ctgcaaggcg attaagttgg gtaacgccag ggttttccca gtcacgacgt tgtaaaacga 8700  
 cggccagtgc caagctg 8717

<210> 11

<211> 9046

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид

<400> 11

acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca 60  
 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgccga ttgggtggaag taaggtggta 120  
 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga 180  
 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc 240  
 tctgggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actaggggaac ccaactgctta 300  
 agcctcaata aagcttgcc ttagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact 360  
 ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg 420

cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct	480
tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatfff	540
gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgagagagc gtcagtatta agcggggggag	600
aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt	660
aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt	720
agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg	780
atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatacaag	840
gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag	900
taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg	960
acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag	1020
caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag	1080
ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc	1140
tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga	1200
gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc	1260
aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg	1320
gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata	1380
aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa	1440
ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga	1500
acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa	1560
ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat	1620
agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt	1680
tcagaccac ctccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg	1740
tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcgggt	1800
aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat	1860
aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatfff	1920
atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca	1980
tctacgtatt agtcatcgct attacatgg tgatgcgggt ttggcagtac atcaatgggc	2040
gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga	2100
gtttgttttg gcaccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat	2160
tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggt gggaggttta tataagcaga gctcgtttag	2220
tgaaccgtca gatcgcctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctcat agaagattct	2280
agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacacca	2340

gcattcctcc	tgatcccaga	catccagatg	acacagacta	catcctccct	gtctgcctct	2400
ctgggagaca	gagtcacat	cagttgcagg	gcaagtcagg	acattagtaa	atattttaat	2460
tggtatcagc	agaaaccaga	tggaactggt	aaactcctga	tctaccatac	atcaagatta	2520
cactcaggag	tcccatcaag	gttcagtggc	agtgggtctg	gaacagatta	ttctctcacc	2580
attagcaacc	tggagcaaga	agatattgcc	acttactttt	gccaacaggg	taatacgctt	2640
ccgtacacgt	tcggaggggg	gactaagttg	gaaataacag	gctccacctc	tggatccggc	2700
aagcccggat	ctggcgaggg	atccaccaag	ggcgaggtga	aactgcagga	gtcaggacct	2760
ggcctgggtg	cgccctcaca	gagcctgtcc	gtcacatgca	ctgtctcagg	ggtctcatta	2820
cccgactatg	gtgtaagctg	gattcgccag	cctccacgaa	agggctctgga	gtggctggga	2880
gtaatatggg	gtagtgaaac	cacatactat	aattcagctc	tcaaatccag	actgaccatc	2940
atcaaggaca	actccaagag	ccaagttttc	ttaaaaatga	acagtctgca	aactgatgac	3000
acagccattt	actactgtgc	caaacattat	tactacgggtg	gtagctatgc	tatggactac	3060
tggggtaag	gaacctcagt	caccgtctcc	tcagcggccg	caattgaagt	tatgtatcct	3120
cctccttacc	taggtggcgg	cggttctggt	ggcggcgggt	ctggtggcgg	cggttctctc	3180
gaggtgaatg	gagagaatgt	ggagcagcat	ccttcaacc	tgagtgtcca	ggagggagac	3240
agcgtgttta	tcaagtgtac	ttattcagac	agtgcctcaa	actacttccc	ttggtataag	3300
caagaacttg	gaaaaagacc	tcagcttatt	atagacattc	gttcaaagt	gggcgaaaag	3360
aaagaccaac	gaattgctgt	tacattgaac	aagacagcca	aacatttctc	cctgcacatc	3420
acagagacc	aacctgaaga	ctcggctgtc	tacttctgtg	cagcaagtag	gaaggactct	3480
gggggttacc	agaaagttac	ctttggaact	ggaacaaagc	tccaagtcac	cccaaatac	3540
cagaaccctg	accctgccgt	gtaccagctg	agagactcta	aatccagtga	caagtctgtc	3600
tgctattca	ccgattttga	ttctcaaaca	aatgtgtcac	aaagtaagga	ttctgatgtg	3660
tatatcacag	acaaaactgt	gctagacatg	aggtctatgg	acttcaagag	caacagtgct	3720
gtggcctgga	gcaacaaatc	tgactttgca	tgtgcaaacg	ccttcaacaa	cagcattatt	3780
ccagaagaca	ccttcttccc	cagcccagaa	agttcctgtg	atgtcaagct	ggtcgagaaa	3840
agctttgaaa	cagatacgaa	cctaaacttt	caaacctgt	cagtgattgg	gttccgaatc	3900
ctctcctga	aagtggccgg	gtttaatctg	ctcatgacgc	tgcggtctgtg	gtccagctga	3960
taagaattcg	atccgcggcc	gcgaaggatc	tgcgatcgct	ccggtgcccg	tcagtgggca	4020
gagcgcacat	cgcccacagt	ccccgagaag	ttgggggggag	gggtcggcaa	ttgaacgggt	4080
gcctagagaa	ggtggcgcgg	ggtaaactgg	gaaagtgatg	tcgtgtactg	gctccgcctt	4140
tttcccagg	gtgggggaga	accgtatata	agtgacagtag	tcgccgtgaa	cgttcttttt	4200
cgcaacgggt	ttgccgccag	aacacagctg	aagcttcgag	gggctcgcac	ctctccttca	4260

cgcgcccgcc gccctacctg aggcgcgcat ccacgcccgt tgagtcgctg tctgcccct	4320
cccgcctgtg gtgcctcctg aactgctcc gccgtctagg taagtttaa gctcaggtcg	4380
agaccgggccc tttgtccggc gctcccctgg agcctaccta gactcagccg gctctccacg	4440
ctttgcctga ccctgcttgc tcaactctac gtctttgttt cgttttctgt tctgcccct	4500
tacagatcca agctgtgacc ggcgcctacg ctagatgacc gagtacaagc ccacgggtgcg	4560
cctcgccacc cgcgacgacg tccccagggc cgtacgcacc ctcgcccgcg cgttcgcccga	4620
ctaccccgcc acgcgccaca ccgtcgatcc ggaccgccac atcgagcggg tcaccgagct	4680
gcaagaactc ttccctcacg gcgtcgggct cgacatcggc aagggtgtggg tcgcccgcga	4740
cgcgcccgcg gtggcggtct ggaccacgcc ggagagcgtc gaagcggggg cgggtgttcgc	4800
cgagatcggc ccgcgcatgg ccgagttgag cggttcccgg ctggcccgcg agcaacagat	4860
ggaaggcctc ctggcgccgc accggcccaa ggagcccgcg tggttcctgg ccaccgtcgg	4920
cgtctcggcc gaccaccagg gcaaggtct gggcagcgc gtcgtgctcc ccggagtgga	4980
ggcggccgag cgcgcccggg tgcccgcctt cctggagacc tccgcccgcg gcaacctccc	5040
cttctacgag cggctcggct tcaccgtcac cgccgacgtc gaggtgcccg aaggaccgcg	5100
cacctggtgc atgaccgcga agcccgggtc ctgagtcgac aatcaacctc tggattacaa	5160
aatttgtaa agattgactg gtattcttaa ctatgttct ccttttacgc tatgtggata	5220
cgctgcttta atgcctttgt atcatgctat tgcttcccgt atggctttca tttctcctc	5280
cttgataaaa tcctggttgc tgtctcttta tgaggagttg tggcccgttg tcaggcaacg	5340
tggcgtggtg tgcactgtgt ttgctgacgc aacccccact gggtggggca ttgccaccac	5400
ctgtcagctc ctttccggga ctttcgcttt cccctcctt attgccacgg cggaaactcat	5460
cgccgcctgc cttgcccgt gctggacagg ggctcggctg ttgggcactg acaattccgt	5520
ggtgttgctg gggaaatcat cgtcctttcc ttggctgctc gcctgtgttg ccacctggat	5580
tctgcccggg acgtccttct gctacgtccc ttcggccctc aatccagcgg accttcttc	5640
ccgcccctg ctgcccgtc tgcggcctct tccgctctt cgccttcgcc ctcagacgag	5700
tcggatctcc ctttgggccc cctccccgcc tggtagcttt aagaccaatg acttacaagg	5760
cagctgtaga tcttagccac tttttaaag aaaagggggg actggaaggg ctaattcact	5820
ccaacgaaa ataagatctg cttttgtct gtactgggtc tctctgggta gaccagatct	5880
gagcctggga gctctctggc taactagggg acccactgct taagcctcaa taaagcttgc	5940
cttgagtgt tcaagtagtg tgtgcccgtc tgttgtgtga ctctggtaac tagagatccc	6000
tcagaccctt ttagtcagtg tggaaaatct ctagcagtag tagttcatgt catcttatta	6060
ttcagtattt ataacttgca aagaaatgaa tatcagagag tgagaggaac ttgtttattg	6120
cagcttataa tggttacaaa taaagcaata gcatcacaaa tttcacaaat aaagcatttt	6180

tttactgca	ttctagttgt	ggtttgtcca	aactcatcaa	tgtatcttat	catgtctggc	6240
tctagctatc	ccgcccctaa	ctccgcccag	ttccgcccac	tctccgcccc	atggctgact	6300
aatTTTTTTT	atTTatgcag	aggccgaggc	cgctcggcc	tctgagctat	tccagaagta	6360
gtgaggaggc	TTTTTTggag	gcctagactt	ttgcagagac	ggcccaaatt	cgtaatcatg	6420
gtcatagctg	tttctgtgt	gaaattgtta	tccgctcaca	attccacaca	acatacgagc	6480
cggaagcata	aagtgtaaag	cctgggggtgc	ctaatgagtg	agctaaactca	cattaattgc	6540
gttgcgctca	ctgcccgtt	tccagtcggg	aaacctgtcg	tgccagctgc	attaatgaat	6600
cggccaacgc	gcggggagag	gcggtttgcg	tattggggcg	tcttccgctt	cctcgctcac	6660
tgactcgctg	cgctcggtcg	ttcggtgctg	gcgagcggta	tcagctcact	caaaggcggt	6720
aatacggtta	tccacagaat	caggggataa	cgcaggaaag	aacatgtgag	caaaaggcca	6780
gcaaaaggcc	aggaaccgta	aaaaggccgc	gttgctggcg	TTTTTccata	ggctccgccc	6840
ccctgacgag	catcacaaaa	atcgacgctc	aagtcagagg	tggcgaaacc	cgacaggact	6900
ataaagatac	caggcgTTTT	cccctggaag	ctccctcgctg	cgctctcctg	ttccgacctt	6960
gccgcttacc	ggatacctgt	ccgcctttct	cccttcggga	agcgtggcgc	tttctcatag	7020
ctcacgctgt	aggtatctca	gttcgggtgta	ggctgctcgc	tccaagctgg	gctgtgtgca	7080
cgaaccccc	gttcagccc	accgctgctc	cttatccggt	aactatcgtc	ttgagtccaa	7140
cccggtaaga	cacgacttat	cgccactggc	agcagccact	ggtaacagga	ttagcagagc	7200
gaggtatgta	ggcggtgcta	cagagtctct	gaagtgggtg	cctaactacg	gctacactag	7260
aaggacagta	tttggtatct	gcgctctgct	gaagccagtt	accttcggaa	aaagagttgg	7320
tagctcttga	tccggcaaac	aaaccaccgc	tggtagcggg	ggTTTTTTTg	tttgcaagca	7380
gcagattacg	cgcagaaaaa	aaggatctca	agaagatcct	ttgatctttt	ctacggggtc	7440
tgacgctcag	tggaacgaaa	actcacgtta	agggattttg	gtcatgagat	tatcaaaaag	7500
gatcttcacc	tagatccttt	taaattaaaa	atgaagtttt	aatcaatct	aaagtatata	7560
tgagtaaact	tggctctgaca	gttaccaatg	cttaatcagt	gaggcaccta	tctcagcgat	7620
ctgtctatTT	cgttcatcca	tagttgctg	actccccgctc	gtgtagataa	ctacgatacg	7680
ggagggctta	ccatctggcc	ccagtgctgc	aatgataccg	cgagaccac	gctcacgggc	7740
tccagattta	tcagcaataa	accagccagc	cggaagggcc	gagcgcagaa	gtggctctgc	7800
aactttatcc	gcctccatcc	agtctattaa	ttgttgccgg	gaagctagag	taagtagttc	7860
gccagttaat	agtttgcgca	acgttgctgc	cattgctaca	ggcatcgtgg	tgtcacgctc	7920
gtcgTTTTgT	atggcttcat	tcagctccgg	ttcccaacga	tcaaggcgag	ttacatgatac	7980
ccccatgTTg	tgcaaaaaag	cggttagctc	cttcggctct	ccgatcgttg	tcagaagtaa	8040
gttgcccgca	gtgttatcac	tcatggttat	ggcagcactg	cataattctc	ttactgtcat	8100



gccatccgta agatgctttt ctgtgactgg tgagtactca accaagtcac tctgagaata	8160
gtgtatgcgg cgaccgagtt gctcttgccc ggcgtcaata cgggataata ccgcgccaca	8220
tagcagaact ttaaaagtgc tcatcattgg aaaacgttct tcggggcgaa aactctcaag	8280
gatcttaccg ctggtgagat ccagttcgat gtaaccact cgtgcacca actgatcttc	8340
agcatctttt actttcacca gcgtttctgg gtgagcaaaa acaggaaggc aaaatgccgc	8400
aaaaaaggga ataagggcga cacggaaatg ttgaatactc atactcttcc tttttcaata	8460
ttattgaagc atttatcagg gttattgtct catgagcgga tacatatttg aatgtattta	8520
gaaaaataaa caaatagggg ttccgcgcac atttccccga aaagtgccac ctgacgtcta	8580
agaaaccatt attatcatga cattaaccta taaaaatagg cgtatcacga ggccctttcg	8640
tctcgcgctt ttcggtgatg acggtgaaaa cctctgacac atgcagctcc cggagacggt	8700
cacagcttgt ctgtaagcgg atgccgggag cagacaagcc cgtcagggcg cgtcagcggg	8760
tgttggcggg tgtcggggct ggcttaacta tgcggcatca gagcagattg tactgagagt	8820
gcaccatatg cgggtgtaaa taccgcacag atgctgtaagg agaaaatacc gcatcaggcg	8880
ccattcgcca ttcaggctgc gcaactgttg ggaagggcga tcgggtgcggg cctcttcgct	8940
attacgccag ctggcgaaag ggggatgtgc tgcaaggcga ttaagttggg taacgccagg	9000
gttttcccag tcacgacgtt gtaaaacgac ggccagtgcc aagctg	9046

<210> 12

<211> 8698

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид

<400> 12

acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60
acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taagggtgga	120
cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga	180
attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc	240
tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac cactgctta	300
agcctcaata aagcttgctt tgagtgcttc aagtagtgty tgcccgtctg ttgtgtgact	360
ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg	420
cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct	480
tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt	540
gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag	600
aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt	660

aaaacatata	gtatgggcaa	gcagggagct	agaacgattc	gcagttaatc	ctggcctggt	720
agaaacatca	gaaggctgta	gacaaatact	gggacagcta	caaccatccc	ttcagacagg	780
atcagaagaa	cttagatcat	tatataatac	agtagcaacc	ctctattgtg	tgcatcaaag	840
gatagagata	aaagacacca	aggaagcttt	agacaagata	gaggaagagc	aaaacaaaag	900
taagaccacc	gcacagcaag	cggccactga	tcttcagacc	tggaggagga	gatatgaggg	960
acaattggag	aagtgaatta	tataaatata	aagtagtaaa	aattgaacca	ttaggagtag	1020
caccaccaa	ggcaaagaga	agagtgggtc	agagagaaaa	aagagcagtg	ggaataggag	1080
ctttgttct	tgggttcttg	ggagcagcag	gaagcactat	gggcgagcc	tcaatgacgc	1140
tgacggtaca	ggccagacaa	ttattgtctg	gtatagtgca	gcagcagaac	aatttgctga	1200
gggctattga	ggcgcaacag	catctgttgc	aactcacagt	ctggggcctc	aagcagctcc	1260
aggcaagaat	cctggctgtg	gaaagatacc	taaaggatca	acagctcctg	gggatttggg	1320
gttgctctgg	aaaactcatt	tgcaccactg	ctgtgccttg	gaatgctagt	tggagtaata	1380
aatctctgga	acagattgga	atcacacgac	ctggatggag	tgggacagag	aaattaacaa	1440
ttacacaagc	ttaatacact	ccttaattga	agaatcgcaa	aaccagcaag	aaaagaatga	1500
acaagaatta	ttggaattag	ataaatgggc	aagtttgtgg	aattggttta	acataacaaa	1560
ttggctgtgg	tatataaaat	tattcataat	gatagtagga	ggcttggtag	gtttaagaat	1620
agtttttgct	gtactttcta	tagtgaatag	agttaggcag	ggatattcac	cattatcggt	1680
tcagaccac	ctccaaccc	cgaggggacc	cgacaggccc	gaaggaatag	aagaagaagg	1740
tggagagaga	gacagagaca	gatccattcg	attagtgaac	ggatctcgac	ggtatcggtt	1800
aacttttaa	agaaaagggg	ggattggggg	gtacagtgca	ggggaagaa	tagtagacat	1860
aatagcaaca	gacatacaaa	ctaaagaatt	acaaaaacaa	attacaaaat	tcaaaatttt	1920
atcgatacta	gtattatgcc	cagtacatga	ccttatggga	ctttcctact	tggcagtaca	1980
tctacgtatt	agtcatcgct	attaccatgg	tgatgcgggt	ttggcagtac	atcaatgggc	2040
gtggatagcg	gtttgactca	cggggatttc	caagtctcca	ccccattgac	gtcaatggga	2100
gtttgttttg	gcacaaaaat	caacgggact	ttcaaaaatg	tcgtaacaac	tccgccccat	2160
tgacgcaaat	gggcggtagg	cgtgtacggg	gggaggttta	tataagcaga	gctcgttttag	2220
tgaaccgtca	gatcgcttgg	agacgccatc	cacgctgttt	tgacctccat	agaagattct	2280
agagccgcca	ccatgcttct	cctgggtgaca	agccttctgc	tctgtgagtt	accacacca	2340
gcattcctcc	tgatcccaga	catccagatg	acacagacta	catcctccct	gtctgcctct	2400
ctgggagaca	gagtcacat	cagttgcagg	gcaagtcagg	acattagtaa	atatttaaat	2460
tggtatcagc	agaaaccaga	tggaactggt	aaactcctga	tctaccatac	atcaagatta	2520
cactcaggag	tcccatcaag	gttcagtggc	agtgggtctg	gaacagatta	ttctctcacc	2580

attagcaacc	tggagcaaga	agatattgcc	acttactttt	gccaacaggg	taatacgctt	2640
ccgtacacgt	tcggaggggg	gactaagttg	gaaataacag	gctccacctc	tggatccggc	2700
aagcccggat	ctggcgaggg	atccaccaag	ggcgaggtga	aactgcagga	gtcaggacct	2760
ggcctggtgg	cgccctcaca	gagcctgtcc	gtcacatgca	ctgtctcagg	ggctctatta	2820
cccgactatg	gtgtaagctg	gattcgccag	cctccacgaa	agggctctgga	gtggctggga	2880
gtaatatggg	gtagtgaaac	cacatactat	aattcagctc	tcaaateccag	actgaccatc	2940
atcaaggaca	actccaagag	ccaagttttc	ttaaaaatga	acagtctgca	aactgatgac	3000
acagccattt	actactgtgc	caaacattat	tactacgggtg	gtagctatgc	tatggactac	3060
tgggggtcaag	gaacctcagt	caccgtctcc	tcagcggccg	caattgaagt	tatgtatcct	3120
cctccttacc	taggtggcgg	cggttctggt	ggcggcggtt	ctgggtggcgg	cggttctctc	3180
gagccaaata	tccagaacct	tgaccctgcc	gtgtaccagc	tgagagactc	taaateccagt	3240
gacaagtctg	tctgcctatt	caccgatttt	gattctcaaa	caaatgtgtc	acaaagtaag	3300
gattctgatg	tgtatatcac	agacaaaact	gtgctagaca	tgaggctctat	ggacttcaag	3360
agcaacagtg	ctgtggcctg	gagcaacaaa	tctgactttg	catgtgcaaa	cgcttcaac	3420
aacagcatta	ttccagaaga	caccttcttc	cccagcccag	aaagttcctg	tgatgtcaag	3480
ctggtcgaga	aaagctttga	aacagatacg	aacctaaact	ttcaaacct	gtcagtgatt	3540
gggttccgaa	tcctcctcct	gaaagtggcc	gggtttaatc	tgctcatgac	gctgcggctg	3600
tgggtccagct	gataagaatt	cgatccgcgg	ccgcgaagga	tctgcgatcg	ctccgggtgcc	3660
cgtcagtggg	cagagcgcac	atcgcccaca	gtccccgaga	agttgggggg	aggggtcggc	3720
aattgaacgg	gtgcctagag	aaggtggcgc	ggggtaaact	gggaaagtga	tgtcgtgtac	3780
tggctccgcc	tttttccga	gggtggggga	gaaccgtata	taagtgcagt	agtcgccgtg	3840
aacgttcttt	ttcgcaacgg	gtttgcccgc	agaacacagc	tgaagcttcg	aggggctcgc	3900
atctctcctt	cacgcgcccc	cgccctacc	tgaggccgcc	atccacgcgc	gttgagtcgc	3960
gttctgccgc	ctcccgcctg	tgggtgcctcc	tgaactgcgt	ccgccgtcta	ggtaagttta	4020
aagctcaggt	cgagaccggg	cctttgtccg	gcgctccctt	ggagcctacc	tagactcagc	4080
cggtctcca	cgctttgcct	gaccctgctt	gctcaactct	acgtctttgt	ttcgttttct	4140
gttctgcgcc	gttacagatc	caagctgtga	ccggcgcccta	cgctagatga	ccgagtacaa	4200
gcccacggtg	cgctctgccca	cccgcgacga	cgccccagg	gccgtacgca	ccctcgccgc	4260
cgcgttcgcc	gactaccccg	ccacgcgcca	caccgtcgat	ccggaccgcc	acatcgagcg	4320
ggtcaccgag	ctgcaagaac	tcttcctcac	gcgcgtcggg	ctcgacatcg	gcaaggtgtg	4380
ggtcgcggac	gacggcgccg	cggtggcggt	ctggaccacg	ccggagagcg	tcgaagcggg	4440
ggcgggtgttc	gccgagatcg	gcccgcgcat	ggccgagttg	agcggttccc	ggctggccgc	4500

gcagcaacag atggaaggcc tcctggcgcc gcaccggccc aaggagcccg cgtgggttct	4560
ggccaccgtc ggcgtctcgc ccgaccacca gggcaagggg ctgggcagcg ccgtcgtgct	4620
ccccggagtg gaggcggccg agcgcgcccg ggtgcccgcc ttcttgagaga cctccgcgcc	4680
ccgcaacctc cccttctacg agcggctcgg cttcaccgtc accgcccagc tcgaggtgcc	4740
cgaaggaccg cgcacctggt gcatgaccgg caagcccggg gcctgagtcg acaatcaacc	4800
tctggattac aaaatttgtg aaagattgac tggatattctt aactatggtg ctccctttac	4860
gctatgtgga tacgctgctt taatgccttt gtatcatgct attgcttccc gtatggcttt	4920
cattttctcc tccttgtata aatcctgggt gctgtctctt tatgaggagt tgtggcccgt	4980
tgtcaggcaa cgtggcgtgg tgtgcaactgt gtttgctgac gcaaccccca ctgggtgggg	5040
cattgccacc acctgtcagc tcctttccgg gactttcgtt ttccccctcc ctattgccac	5100
ggcggaaactc atcgccgctt gccttgcccg ctgctggaca ggggctcggc tgttggggcac	5160
tgacaattcc gtgggtgtgt cggggaaatc atcgtccttt ccttggtctgc tcgcctgtgt	5220
tgccacctgg attctgcgcg ggacgtcctt ctgctacgtc ccttcggccc tcaatccagc	5280
ggaccttctt tcccggggcc tgctgcccgg tctgcccgtt cttccgcgtc ttgccttcg	5340
ccctcagacg agtcggatct ccctttgggc cgctccccg cctggtacct ttaagaccaa	5400
tgacttaciaa ggcagctgta gatcttagcc actttttaaa agaaaagggg ggactggaag	5460
ggctaattca ctcccaacga aaataagatc tgctttttgc ttgtactggg tctctctggt	5520
tagaccagat ctgagcctgg gagctctctg gctaactagg gaaccactg cttaagcctc	5580
aataaagctt gccttgagtg cttcaagtag tgtgtgcccg tctgttgtgt gactctggta	5640
actagagatc cctcagacc ttttagtcag tgtggaaaat ctctagcagt agtagttcat	5700
gtcatcttat tattcagtat ttataacttg caaagaaatg aatatcagag agtgagagga	5760
acttgtttat tgcagcttat aatggttaca aataaagcaa tagcatcaca aatttcacaa	5820
ataaagcatt tttttcactg cattctagtt gtggtttgtc caaactcacc aatgtatctt	5880
atcatgtctg gctctagcta tcccggccct aactccgccc agttccgccc attctccgcc	5940
ccatggctga ctaatTTTTT ttatttatgc agaggccgag gccgcctcgg cctctgagct	6000
attccagaag tagtgaggag gcttttttgg aggcctagac ttttgcagag acggcccaaa	6060
ttcgtaatca tggcatagc tgtttcctgt gtgaaattgt tatccgctca caattccaca	6120
caacatacga gccggaagca taaagtgtaa agcctggggg gcctaagtag tgagctaact	6180
cacattaatt gcgttgcgct cactgcccgc tttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagct	6240
gattaatga atcgccaac gcgcggggag aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc	6300
ttctcgtctc actgactcgc tgcgctcggg cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca	6360
ctcaaaggcg gtaatacggg tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg	6420

agcaaaaggc	cagcaaaagg	ccaggaaccg	taaaaaggcc	gcgttgctgg	cgtttttcca	6480
taggctccgc	ccccctgacg	agcatcacia	aaatcgacgc	tcaagtcaga	ggtggcgaaa	6540
cccgaacagga	ctataaagat	accaggcggt	tccccctgga	agctccctcg	tgcgctctcc	6600
tgttccgacc	ctgccgctta	ccggatacct	gtccgccttt	ctcccttcgg	gaagcgtggc	6660
gctttctcat	agctcacgct	gtaggtatct	cagttcgggtg	taggtcgttc	gctccaagct	6720
gggctgtgtg	cacgaacccc	ccgttcagcc	cgaccgctgc	gccttatccg	gtaactatcg	6780
tcttgagtcc	aaccggtaa	gacacgactt	atcgccactg	gcagcagcca	ctggtaacag	6840
gattagcaga	gcgaggtatg	taggcgggtgc	tacagagttc	ttgaagtggg	ggcctaacta	6900
cggctacact	agaaggacag	tatttggtat	ctgcgctctg	ctgaagccag	ttaccttcgg	6960
aaaagagtt	ggtagctctt	gatccggcaa	acaaaccacc	gctggtagcg	gtggtttttt	7020
tgtttgcaag	cagcagatta	cgcgagaaa	aaaaggatct	caagaagatc	ctttgatctt	7080
ttctacgggg	tctgacgctc	agtggaacga	aaactcacgt	taagggattt	tggatcatgag	7140
attatcaaaa	aggatcttca	cctagatcct	tttaaattaa	aatgaagtt	ttaaatcaat	7200
ctaaagtata	tatgagtaaa	cttggctctga	cagttaccaa	tgcttaatca	gtgaggcacc	7260
tatctcagcg	atctgtctat	ttcgttcctc	catagttgcc	tgactccccg	tcgtgtagat	7320
aactacgata	cgaggaggct	taccatctgg	ccccagtgtc	gcaatgatac	cgcgagaccc	7380
acgctcaccg	gctccagatt	tatcagcaat	aaaccagcca	gccggaaggg	ccgagcgcag	7440
aagtggctct	gcaactttat	ccgcctccat	ccagtctatt	aattggtgcc	gggaagctag	7500
agtaagtagt	tcgccagtta	atagtttgcg	caacgttggt	gccattgcta	caggcatcgt	7560
ggtgtcacgc	tcgtcgtttg	gtatggcttc	attcagctcc	ggttcccaac	gatcaaggcg	7620
agttacatga	tccccatgt	tgtgcaaaaa	agcggtagc	tccttcggtc	ctccgatcgt	7680
tgtcagaagt	aagttggccg	cagtgttatc	actcatgggt	atggcagcac	tgcataatcc	7740
tcttactgtc	atgccatccg	taagatgctt	ttctgtgact	ggtgagtact	caaccaagtc	7800
attctgagaa	tagtgtatgc	ggcgaccgag	ttgctcttgc	ccggcgtcaa	tacgggataa	7860
taccgcgcca	catagcagaa	ctttaaagt	gctcatcatt	ggaaaacggt	cttcggggcg	7920
aaaactctca	aggatcttac	cgctggtgag	atccagttcg	atgtaacca	ctcgtgcacc	7980
caactgatct	tcagcatctt	ttactttcac	cagcgtttct	gggtgagcaa	aaacaggaag	8040
gcaaaatgcc	gcaaaaaagg	gaataagggc	gacacggaaa	tgttgaatac	tcatactctt	8100
cctttttcaa	tattattgaa	gcatttatca	gggttattgt	ctcatgagcg	gatacatatt	8160
tgaatgtatt	tagaaaaata	aacaaatagg	ggttccgcgc	acatttcccc	gaaaagtgcc	8220
acctgacgtc	taagaaacca	ttattatcat	gacattaacc	tataaaaaata	ggcgtatcac	8280
gaggcccttt	cgtctcgcgc	gtttcgggtga	tgacgggtgaa	aacctctgac	acatgcagct	8340

cccggagacg gtcacagctt gtctgtaagc ggatgccggg agcagacaag cccgtcaggg 8400  
cgcgtcagcg ggtgttggcg ggtgtcgggg ctggcttaac tatgcggcat cagagcagat 8460  
tgtactgaga gtgcaccata tgcggtgtga aataccgcac agatgcgtaa ggagaaaata 8520  
ccgcatcagg cgccattcgc cattcaggct gcgcaactgt tgggaagggc gatcgggtgcg 8580  
ggcctcttcg ctattacgcc agctggcgaa agggggatgt gctgcaaggc gattaagttg 8640  
ggtaacgcca gggttttccc agtcacgacg ttgtaaaacg acggccagtg ccaagctg 8698

<210> 13

<211> 9163

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид

<400> 13

acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca 60  
acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgccga ttggtggaag taagggtgga 120  
cgatcgtgcc ttattagga ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga 180  
attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc 240  
tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccaactgctta 300  
agcctcaata aagcttgccct tgagtgcctc aagtagtggtg tgcccgtctg ttgtgtgact 360  
ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg 420  
cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct 480  
tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt 540  
gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag 600  
aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt 660  
aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt 720  
agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg 780  
atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcataaag 840  
gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag 900  
taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg 960  
acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag 1020  
caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag 1080  
ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc 1140  
tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga 1200

gggctattga	ggcgcaacag	catctgttgc	aactcacagt	ctggggcatc	aagcagctcc	1260
aggcaagaat	cctggctgtg	gaaagatacc	taaaggatca	acagctcctg	gggatttggg	1320
gttgctctgg	aaaactcatt	tgcaccactg	ctgtgccttg	gaatgctagt	tggagtaata	1380
aatctctgga	acagattgga	atcacacgac	ctggatggag	tgggacagag	aaattaacaa	1440
ttacacaagc	ttaatacact	ccttaattga	agaatcgcaa	aaccagcaag	aaaagaatga	1500
acaagaatta	ttggaattag	ataaatgggc	aagtttgtgg	aattggttta	acataacaaa	1560
ttggctgtgg	tatataaaat	tattcataat	gatagtagga	ggcttggtag	gtttaagaat	1620
agtttttgct	gtactttcta	tagtgaatag	agttaggcag	ggatattcac	cattatcgtt	1680
tcagaccac	ctccaaccc	cgaggggacc	cgacaggccc	gaaggaatag	aagaagaagg	1740
tggagagaga	gacagagaca	gatccattcg	attagtgaac	ggatctcgac	ggtatcggtt	1800
aacttttaa	agaaaagggg	ggattggggg	gtacagtgca	ggggaaagaa	tagtagacat	1860
aatagcaaca	gacatacaaa	ctaaagaatt	acaaaaacaa	attacaaaat	tcaaaatttt	1920
atcgatacta	gtattatgcc	cagtacatga	ccttatggga	ctttcctact	tggcagtaca	1980
tctacgtatt	agtcacgct	attacatgg	tgatgcggtt	ttggcagtac	atcaatgggc	2040
gtggatagcg	gtttgactca	cggggatttc	caagtctcca	ccccattgac	gtcaatggga	2100
gtttgttttg	gcaccaaaat	caacgggact	ttccaaaatg	tcgtaacaac	tccgccccat	2160
tgacgcaaat	gggcggtagg	cgtgtacggg	gggaggttta	tataagcaga	gctcgtttag	2220
tgaaccgtca	gatcgctgg	agacgccatc	cacgctgttt	tgacctccat	agaagattct	2280
agagccgcca	ccatgcttct	cctggtgaca	agccttctgc	tctgtgagtt	accacacca	2340
gcattcctcc	tgatcccaga	catccagatg	acacagacta	catcctccct	gtctgcctct	2400
ctgggagaca	gagtcacat	cagttgcagg	gcaagtcagg	acattagtaa	atatttaa	2460
tggatcagc	agaaaccaga	tggaactggt	aaactcctga	tctaccatac	atcaagatta	2520
cactcaggag	tcccatcaag	gttcagtggc	agtgggtctg	gaacagatta	ttctctcacc	2580
attagcaacc	tggagcaaga	agatattgcc	acttactttt	gccaacaggg	taatacgctt	2640
ccgtacacgt	tcggaggggg	gactaagttg	gaaataacag	gctccacctc	tggatccggc	2700
aagcccgat	ctggcgaggg	atccaccaag	ggcgaggtga	aactgcagga	gtcaggacct	2760
ggcctgggtg	cgccctcaca	gagcctgtcc	gtcacatgca	ctgtctcagg	ggctctcatta	2820
cccgactatg	gtgtaagctg	gattcgccag	cctccacgaa	agggctctgga	gtggctggga	2880
gtaatatggg	gtagtgaaac	cacatactat	aattcagctc	tcaaatccag	actgaccatc	2940
atcaaggaca	actccaagag	ccaagttttc	ttaaaaatga	acagtctgca	aactgatgac	3000
acagccattt	actactgtgc	caaacattat	tactacgggtg	gtagctatgc	tatggactac	3060
tgggggtcaag	gaacctcagt	caccgtctcc	tcagcgggccg	caattgaagt	tatgtatcct	3120

cctccttacc	taggtggcgg	cggttctggt	ggcggcgggt	ctggtggcgg	cggttctctc	3180
gagctgggag	caggcccagt	ggattctgga	gtcacacaaa	ccccaaagca	cctgatcaca	3240
gcaactggac	agcgagtgac	gctgagatgc	tcccctaggt	ctggagacct	ctctgtgtca	3300
tggtagcaac	agagcctgga	ccagggcctc	cagttcctca	ttcagtatta	taatggagaa	3360
gagagagcaa	aaggaaacat	tcttgaacga	ttctccgcac	aacagttccc	tgacttgcac	3420
tctgaactaa	acctgagctc	tctggagctg	ggggactcag	ctttgtatth	ctgtgccage	3480
agccccgga	caggcctgaa	cactgaagct	ttctttggac	aaggcaccag	actcacagtt	3540
gtagaggacc	tgaacaaggt	gttcccaccc	gaggtcgctg	tgtttgagcc	atcagaagca	3600
gagatctccc	acacccaaaa	ggccacactg	gtgtgcctgg	ccacaggctt	cttccccgac	3660
cacgtggagc	tgagctggtg	ggtgaatggg	aaggaggtgc	acagtggggg	cagcacggac	3720
ccgcagcccc	tcaaggagca	gcccgcctc	aatgactcca	gatactgcct	gagcagccgc	3780
ctgagggctc	cggccacctt	ctggcagaac	ccccgcaacc	acttccgctg	tcaagtccag	3840
ttctacgggc	tctcggagaa	tgacgagtgg	accaggata	gggccaacc	cgtcaccag	3900
atcgtcagcg	ccgaggcctg	gggtagagca	gactgtggct	ttacctcggg	gtcctaccag	3960
caaggggtcc	tgtctgccac	cctctctat	gagatcctgc	tagggaaggc	cacctgtat	4020
gctgtgctgg	tcagcgcctt	tgtgttgatg	gccatggtca	agagaaagga	tttctgataa	4080
gaattcgatc	cgcgcccgcg	aaggatctgc	gatcgctccg	gtgcccgtca	gtgggcagag	4140
cgcacatcgc	ccacagtccc	cgagaagttg	gggggagggg	tcggcaattg	aacgggtgcc	4200
tagagaaggt	ggcgcggggt	aaactgggaa	agtgatgtcg	tgtactggct	ccgccttttt	4260
cccgagggtg	ggggagaacc	gtatataagt	gcagtagtgc	ccgtgaacgt	tctttttcgc	4320
aacgggtttg	ccgccagaac	acagctgaag	cttcgagggg	ctcgcactct	tccttcacgc	4380
gcccgcgcgc	ctacctgagg	ccgccatcca	cgccggttga	gtcgcgctct	gccgcctccc	4440
gcctgtggtg	cctcctgaac	tgcgtccgcc	gtctaggtaa	gtttaaagct	caggtcgaga	4500
ccgggccttt	gtccggcgct	cccttggagc	ctacctagac	tcagccggct	ctccacgctt	4560
tgctgacct	tgcttgetca	actctacgtc	tttgtttcgt	tttctgttct	gcgcccgttac	4620
agatccaagc	tgtgaccggc	gcctacgcta	gatgaccgag	tacaagcca	cgggtgcgct	4680
cgccaccgc	gacgacgtcc	ccagggccgt	acgcaccctc	gccgcccgcg	tcgcccacta	4740
ccccgccacg	cgccacaccg	tcgatccgga	ccgccacatc	gagcgggtca	ccgagctgca	4800
agaactcttc	ctcacgcgcg	tcgggctcga	catcggcaag	gtgtgggtcg	cggacgacgg	4860
cgccgcggtg	gcggtctgga	ccacgccgga	gagcgtcgaa	gcgggggcgg	tgttcgccga	4920
gatcggcccc	cgcatggccg	agttgagcgg	ttcccggctg	gccgcgcagc	aacagatgga	4980
aggcctcctg	gcgcccacc	ggcccaagga	gcccgcgtgg	ttcctggcca	ccgtcggcgt	5040



ctcgcccgac	caccagggca	agggctctggg	cagcgccgtc	gtgctccccg	gagtggagggc	5100
ggccgagcgc	gccgggggtgc	ccgccttcct	ggagacctcc	gcgccccgca	acctcccctt	5160
ctacgagcgg	ctcggcttca	ccgtcaccgc	cgacgtcgag	gtgcccgaag	gaccgcgcac	5220
ctggtgcatg	acccgcaagc	ccggtgcctg	agtcgacaat	caacctctgg	attacaaaat	5280
ttgtgaaaga	ttgactggta	ttcttaacta	tgttgctcct	tttacgctat	gtggatacgc	5340
tgctttaatg	cctttgtatc	atgctattgc	ttcccgtatg	gctttcattt	tctcctcctt	5400
gtataaatcc	tggttgctgt	ctctttatga	ggagttgtgg	cccgttgtca	ggcaacgtgg	5460
cgtgggtgtc	actgtgtttg	ctgacgcaac	ccccactggt	tggggcattg	ccaccacctg	5520
tcagctcctt	tccgggactt	tcgctttccc	cctccctatt	gccacggcgg	aactcatcgc	5580
cgctgcctt	gcccgtgct	ggacaggggc	tcggctgttg	ggcactgaca	attccgtggg	5640
gttgtcgggg	aatcatcgt	cctttccttg	gctgctcgcc	tgtgttgcca	cctggattct	5700
gcgcgggacg	tccttctgct	acgtcccttc	ggccctcaat	ccagcggacc	ttccttcccg	5760
cggcctgctg	ccggctctgc	ggcctcttcc	gcgtcttcgc	cttcgccctc	agacgagtcg	5820
gatctccctt	tgggccgcct	ccccgcctgg	tacctttaag	accaatgact	tacaaggcag	5880
ctgtagatct	tagccacttt	ttaaaagaaa	aggggggact	ggaagggcta	attcactccc	5940
aacgaaaata	agatctgctt	tttgcttgta	ctgggtctct	ctggttagac	cagatctgag	6000
cctgggagct	ctctggctaa	ctaggaacc	cactgcttaa	gcctcaataa	agcttgcctt	6060
gagtgcttca	agtagtgtgt	gcccgtctgt	tgtgtgactc	tggtaactag	agatccctca	6120
gaccctttta	gtcagtgtgg	aaaatctcta	gcagtagtag	ttcatgtcat	cttattatct	6180
agtatttata	acttgcaaag	aatgaatat	cagagagtga	gaggaacttg	tttattgcag	6240
cttataatgg	ttacaaataa	agcaatagca	tcacaaattt	cacaaataaa	gcattttttt	6300
cactgcattc	tagttgtggg	ttgtccaaac	tcatcaatgt	atcttatcat	gtctggctct	6360
agctatcccc	cccctaactc	cgcccagttc	cgcccattct	ccgccccatg	gctgactaat	6420
tttttttatt	tatgcagagg	ccgaggccgc	ctcggcctct	gagctattcc	agaagtagtg	6480
aggaggcttt	tttggaggcc	tagacttttg	cagagacggc	ccaaattcgt	aatcatggtc	6540
atagctgttt	cctgtgtgaa	attgttatcc	gctcacaatt	ccacacaaca	tacgagccgg	6600
aagcataaag	tgtaaagcct	ggggtgctta	atgagtgagc	taactcacat	taattgcggt	6660
gcgctcactg	cccgccttcc	agtcgggaaa	cctgtcgtgc	cagctgcatt	aatgaatcgg	6720
ccaacgcgcg	gggagaggcg	gtttgcgtat	tgggcgctct	tccgcttcct	cgctcactga	6780
ctcgctgcgc	tcggtcgttc	ggctgcggcg	agcggtatca	gctcactcaa	aggcggtaat	6840
acggttatcc	acagaatcag	gggataacgc	aggaaagaac	atgtgagcaa	aaggccagca	6900
aaaggccagg	aaccgtaaaa	aggccgcggt	gctggcgttt	ttccataggc	tccgcccccc	6960

tgacgagcat	cacaaaaatc	gacgctcaag	tcagaggtgg	cgaaaccgga	caggactata	7020
aagataccag	gcgtttcccc	ctggaagctc	cctcgtgcgc	tctcctgttc	cgaccctgcc	7080
gcttaccgga	tacctgtccg	cctttctccc	ttcgggaagc	gtggcgcttt	ctcatagctc	7140
acgctgtagg	tatctcagtt	cggtgtaggt	cgttcgtccc	aagctgggct	gtgtgcacga	7200
acccccggt	cagccccgacc	gctgcgcctt	atccggtaac	tatcgtcttg	agtccaacct	7260
ggtaagacac	gacttatcgc	cactggcagc	agccactggt	aacaggatta	gcagagcgag	7320
gtatgtaggc	ggtgctacag	agttcttgaa	gtgggtggct	aactacggct	acactagaag	7380
gacagtattt	ggtatctgcg	ctctgctgaa	gccagttacc	ttcggaaaaa	gagttggtag	7440
ctcttgatcc	ggcaaacaaa	ccaccgctgg	tagcgggtgg	ttttttgttt	gcaagcagca	7500
gattacgcgc	agaaaaaag	gatctcaaga	agatcctttg	atcttttcta	cggggctctga	7560
cgctcagtgg	aacgaaaact	cacgttaagg	gattttggtc	atgagattat	caaaaaggat	7620
cttcacctag	atccttttaa	attaaaaatg	aagttttaaa	tcaatctaaa	gtatatatga	7680
gtaaacttgg	tctgacagtt	accaatgctt	aatcagtgag	gcacctatct	cagcgatctg	7740
tctatttcgt	tcattccatag	ttgcctgact	ccccgtcgtg	tagataacta	cgatacggga	7800
gggcttacca	tctggcccca	gtgctgcaat	gataccgcga	gaccacgct	caccggctcc	7860
agatttatca	gcaataaacc	agccagccgg	aagggccgag	cgcagaagtg	gtcctgcaac	7920
tttatccgcc	tccatccagt	ctattaattg	ttgccgggaa	gctagagtaa	gtagttcgcc	7980
agttaatagt	ttgcgcaacg	ttgttgccat	tgctacaggc	atcgtggtgt	cacgctcgtc	8040
gtttggtatg	gcttcattca	gctccggttc	ccaacgatca	aggcgagtta	catgatcccc	8100
catgttggtc	aaaaaagcgg	ttagctcctt	cggtcctccg	atcgttgtca	gaagtaagtt	8160
ggccgcagtg	ttatcactca	tggttatggc	agcactgcat	aattctctta	ctgtcatgcc	8220
atccgtaaga	tgcttttctg	tgactggtga	gtactcaacc	aagtcattct	gagaatagtg	8280
tatgcggcga	ccgagttgct	cttgccccgc	gtcaatacgg	gataataccg	cgccacatag	8340
cagaacttta	aaagtgtctca	tcattggaaa	acgttcttcg	gggcgaaaac	tctcaaggat	8400
cttaccgctg	ttgagatcca	gttcgatgta	accactcgt	gcaccaact	gatcttcagc	8460
atcttttact	ttcaccagcg	tttctgggtg	agcaaaaaca	ggaaggcaaa	atgccgcaaa	8520
aaaggaata	agggcgacac	ggaaatgttg	aatactcata	ctcttccttt	ttcaatatta	8580
ttgaagcatt	tatcaggggt	attgtctcat	gagcggatac	atatttgaat	gtatttagaa	8640
aaataaacia	ataggggttc	cgcgcacatt	tccccgaaaa	gtgccacctg	acgtctaaga	8700
aaccattatt	atcatgacat	taacctataa	aaataggcgt	atcacgaggc	cctttcgtct	8760
cgcgcgtttc	ggtgatgacg	gtgaaaacct	ctgacacatg	cagctcccgg	agacggtcac	8820
agcttgctctg	taagcgggatg	ccgggagcag	acaagcccgt	cagggcgctg	cagcgggtgt	8880

tggcgggtgt cggggctggc ttaactatgc ggcacagag cagattgtac tgagagtgca	8940
ccatatgcgg tgtgaaatac cgcacagatg cgtaaggaga aaataccgca tcaggcgcca	9000
ttcgccattc aggctgcgca actgttggga agggcgatcg gtgccccct cttcgctatt	9060
acgccagctg gcgaaagggg gatgtgctgc aaggcgatta agttgggtaa cgccagggtt	9120
ttcccagtca cgacgttgta aaacgacggc cagtgcceaag ctg	9163

<210> 14

<211> 8803

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид

<400> 14

acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60
acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcacgcca ttggtggaag taagggtgta	120
cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctcgaca tggattggac gaaccactga	180
attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc	240
tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actaggggaa ccaactgctta	300
agcctcaata aagcttgctt tgagtgcctc aagtagtggtg tgcccgtctg ttgtgtgact	360
ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg	420
cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct	480
tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtagc caaaaatttt	540
gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag	600
aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt	660
aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt	720
agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg	780
atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcacaaag	840
gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag	900
taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg	960
acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag	1020
caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtg agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag	1080
ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgagcc tcaatgacgc	1140
tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttctgta	1200
gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc	1260
aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg	1320

gttgctctgg	aaaactcatt	tgcaccactg	ctgtgccttg	gaatgctagt	tggagtaata	1380
aatctctgga	acagattgga	atcacacgac	ctggatggag	tgggacagag	aaattaacaa	1440
ttacacaagc	ttaatacact	ccttaattga	agaatcgcaa	aaccagcaag	aaaagaatga	1500
acaagaatta	ttggaattag	ataaatgggc	aagtttgtgg	aattggttta	acataacaaa	1560
ttggctgtgg	tatataaaat	tattcataat	gatagtagga	ggcttggtag	gtttaagaat	1620
agtttttgct	gtacttttcta	tagtgaatag	agtttaggcag	ggatattcac	cattatcgtt	1680
tcagaccac	ctcccaaccc	cgaggggacc	cgacaggccc	gaaggaatag	aagaagaagg	1740
tggagagaga	gacagagaca	gatccattcg	attagtgaac	ggatctcgac	ggtatcggtt	1800
aacttttaaa	agaaaagggg	ggattggggg	gtacagtgca	ggggaaagaa	tagtagacat	1860
aatagcaaca	gacatacaaa	ctaaagaatt	acaaaaacaa	attacaaaat	tcaaaatttt	1920
atcgatacta	gtattatgcc	cagtacatga	ccttatggga	ctttcctact	tggcagtaca	1980
tctacgtatt	agtcacgct	attaccatgg	tgatgcgggt	ttggcagtac	atcaatgggc	2040
gtggatagcg	gtttgactca	cggggatttc	caagtctcca	ccccattgac	gtcaatggga	2100
gtttgttttg	gcacaaaaat	caacgggact	ttccaaaatg	tcgtaacaac	tccgccccat	2160
tgacgcaaat	gggcggtagg	cgtgtacggg	gggaggttta	tataagcaga	gctcgtttag	2220
tgaaccgtca	gatcgctgg	agacgccatc	cacgctgttt	tgacctccat	agaagattct	2280
agagccgcca	ccatgcttct	cctggtgaca	agccttctgc	tctgtgagtt	accacacca	2340
gcattcctcc	tgatcccaga	catccagatg	acacagacta	catcctccct	gtctgcctct	2400
ctgggagaca	gagtcacat	cagttgcagg	gcaagtcagg	acattagtaa	atatttaaat	2460
tggatcagc	agaaaccaga	tggaactggt	aaactcctga	tctaccatac	atcaagatta	2520
cactcaggag	tcccatcaag	gttcagtggc	agtgggtctg	gaacagatta	ttctctcacc	2580
attagcaacc	tggagcaaga	agatattgcc	acttactttt	gccaacaggg	taatacgctt	2640
ccgtacacgt	tcggaggggg	gactaagttg	gaaataacag	gctccacctc	tggatccggc	2700
aagcccgat	ctggcgaggg	atccaccaag	ggcgaggtga	aactgcagga	gtcaggacct	2760
ggcctgggtg	cgccctcaca	gagcctgtcc	gtcacatgca	ctgtctcagg	ggtctcatta	2820
cccgactatg	gtgtaagctg	gattcgccag	cctccacgaa	agggctctgga	gtggctggga	2880
gtaatatggg	gtagtgaaac	cacatactat	aattcagctc	tcaaatccag	actgaccatc	2940
atcaaggaca	actccaagag	ccaagttttc	ttaaaaatga	acagtctgca	aactgatgac	3000
acagccattt	actactgtgc	caaacattat	tactacgggtg	gtagctatgc	tatggactac	3060
tggggtaag	gaacctcagt	caccgtctcc	tcagcggccg	caattgaagt	tatgtatcct	3120
cctccttacc	taggtggcgg	cggttctggg	ggcggcggtt	ctggtggcgg	cggttctctc	3180
gaggaggacc	tgaacaaggt	gttcccaccc	gaggtcgctg	tgtttgagcc	atcagaagca	3240

gagatctccc	acacccaaaa	ggccacactg	gtgtgcctgg	ccacaggctt	cttccccgac	3300
cacgtggagc	tgagctggtg	ggtgaatggg	aaggagggtgc	acagtggggg	cagcacagac	3360
ccgcagcccc	tcaaggagca	gcccgcctc	aatgactcca	gatactgcct	gagcagccgc	3420
ctgaggggtct	cggccacctt	ctggcagaac	ccccgcaacc	acttccgctg	tcaagtccag	3480
ttctacgggc	tctcggagaa	tgacgagtgg	accaggata	gggccaacc	cgtcaccag	3540
atcgtcagcg	ccgaggcctg	gggtagagca	gactgtggct	ttacctcgg	gtcctaccag	3600
caaggggtcc	tgtctgccac	catcctctat	gagatcctgc	tagggaaggc	caccctgtat	3660
gctgtgctgg	tcagcgcctt	tgtgttgatg	gccatggtca	agagaaagga	tttctgataa	3720
gaattcgatc	cgcgcccgcg	aaggatctgc	gatcgctccg	gtgcccgta	gtgggcagag	3780
cgcacatcgc	ccacagtccc	cgagaagttg	gggggagggg	tcggcaattg	aacgggtgcc	3840
tagagaaggt	ggcggggggt	aaactgggaa	agtgatgtcg	tgtactggct	ccgccttttt	3900
cccgaggggtg	ggggagaacc	gtatataagt	gcagtagtcg	ccgtgaacgt	tctttttcgc	3960
aacgggtttg	ccgccagaac	acagctgaag	cttcgagggg	ctcgcatctc	tccttcacgc	4020
gcccgcgcgc	ctacctgagg	ccgccatcca	cgccggttga	gtcgcgttct	gccgcctccc	4080
gcctgtggtg	cctcctgaac	tgcgctccgc	gtctaggtaa	gtttaaagct	caggtcgaga	4140
ccgggccttt	gtccggcgct	cccttgagc	ctacctagac	tcagccggct	ctccacgctt	4200
tgctgacct	tgcttgctca	actctacgtc	tttgtttcgt	tttctgttct	gcgcggttac	4260
agatccaagc	tgtgaccggc	gcctacgcta	gatgaccgag	tacaagccca	cgggtgcgct	4320
cgccacccgc	gacgacgtcc	ccagggccgt	acgcaccctc	gccgcccgt	tcgcccacta	4380
ccccgccacg	cgccacaccg	tcgatccgga	ccgccacatc	gagcgggtca	ccgagctgca	4440
agaactcttc	ctcacgcgcg	tcgggctcga	catcggcaag	gtgtgggtcg	cggacgacgg	4500
cgccgcggtg	gcggtctgga	ccacgcggga	gagcgtcga	gccccggcg	tgttcgccga	4560
gatcgggccc	cgcatggccg	agttgagcgg	ttcccggctg	gccgcgcagc	aacagatgga	4620
aggcctcctg	gcgccgcacc	ggcccaagga	gcccgctgg	ttcctggcca	ccgtcggcgt	4680
ctgccccgac	caccagggca	agggctctggg	cagcgccgtc	gtgctccccg	gagtggaggc	4740
ggccgagcgc	gccgggggtgc	ccgccttct	ggagacctcc	gcgccccgca	acctcccctt	4800
ctacgagcgg	ctcggcttca	ccgtcaccgc	cgacgtcgag	gtgcccgaag	gaccgcgcac	4860
ctggtgcatg	acccgcaagc	ccggtgcctg	agtcgacaat	caacctctgg	attacaaaat	4920
ttgtgaaaga	ttgactggta	ttcttaacta	tgttgctcct	tttacgctat	gtggatacgc	4980
tgctttaatg	cctttgtatc	atgctattgc	ttcccgtatg	gctttcattt	tctcctcctt	5040
gtataaatcc	tggttgctgt	ctctttatga	ggagttgtgg	cccgttgtca	ggcaacgtgg	5100
cgtgggtgtgc	actgtgtttg	ctgacgcaac	ccccactggt	tggggcattg	ccaccacctg	5160

tcagctcctt	tccgggactt	tcgctttccc	cctccctatt	gccacggcgg	aactcatcgc	5220
cgctgcctt	gcccgtgct	ggacaggggc	tcggctggtg	ggcactgaca	attccgtggt	5280
gttgtcgggg	aatcatcgt	cctttccttg	gctgctcgcc	tgtgttgcca	cctggattct	5340
gcgcgggacg	tccttctgct	acgtcccttc	ggccctcaat	ccagcggacc	ttccttcccg	5400
eggctgctg	ccggctctgc	ggcctcttcc	gcgtcttcgc	cttcgccctc	agacgagtcg	5460
gatctccctt	tgggccgctt	ccccgcctgg	tacctttaag	accaatgact	tacaaggcag	5520
ctgtagatct	tagccacttt	ttaaaagaaa	aggggggact	ggaagggcta	attcactccc	5580
aacgaaaata	agatctgctt	tttgcttgta	ctgggtctct	ctggttagac	cagatctgag	5640
cctgggagct	ctctggctaa	ctaggaacc	cactgcttaa	gcctcaataa	agcttgctt	5700
gagtgttca	agtagtgtgt	gcccgtctgt	tgtgtgactc	tggtactag	agatccctca	5760
gaccctttta	gtcagtgtgg	aaaatctcta	gcagtagtag	ttcatgtcat	cttattattc	5820
agtatttata	acttgcaaag	aatgaatat	cagagagtga	gaggaacttg	tttattgcag	5880
cttataatgg	ttacaaataa	agcaatagca	tcacaaattt	cacaaataaa	gcattttttt	5940
cactgcattc	tagttgtggt	ttgtccaaac	tcatcaatgt	atcttatcat	gtctggctct	6000
agctatcccg	cccctaactc	cgcccagttc	cgcccattct	ccgccccatg	gctgactaat	6060
tttttttatt	tatgcagagg	ccgaggccgc	ctcggcctct	gagctattcc	agaagtagtg	6120
aggaggcttt	tttgaggcc	tagacttttg	cagagacggc	ccaaattcgt	aatcatggtc	6180
atagctgttt	cctgtgtgaa	attgttatcc	gctcacaatt	ccacacaaca	tacgagccgg	6240
aagcataaag	tgtaaagcct	ggggtgccta	atgagtgagc	taactcacat	taattgcggt	6300
gcgctcactg	cccgttttcc	agtcgggaaa	cctgtcgtgc	cagctgcatt	aatgaatcgg	6360
ccaacgcgcg	gggagaggcg	gtttgcgat	tgggcgctct	tccgcttcct	cgctcactga	6420
ctcgctgcgc	tcggctgctc	ggctgcggcg	agcggtatca	gctcactcaa	aggcggtaat	6480
acggttatcc	acagaatcag	gggataacgc	aggaaagaac	atgtgagcaa	aaggccagca	6540
aaaggccagg	aaccgtaaaa	aggccgcggt	gctggcggtt	ttccataggc	tccgcccccc	6600
tgacgagcat	cacaaaaatc	gacgctcaag	tcagaggtgg	cgaaaccgca	caggactata	6660
aagataccag	gcgtttcccc	ctggaagctc	cctcgtgcgc	tctcctgttc	cgaccctgcc	6720
gcttaccgga	tacctgtccg	cctttctccc	ttcgggaagc	gtggcgcttt	ctcatagctc	6780
acgctgtagg	tatctcagtt	cgggtgtaggt	cgttcgtctc	aagctgggct	gtgtgcacga	6840
acccccggt	cagcccgacc	gctgcgcctt	atccggtaac	tatcgtcttg	agtccaaccc	6900
ggtaagacac	gacttatcgc	cactggcagc	agccactggt	aacaggatta	gcagagcgag	6960
gtatgtaggc	ggtgctacag	agttcttgaa	gtgggtggcct	aactacggct	acactagaag	7020
gacagtattt	ggtatctgcg	ctctgctgaa	gccagttacc	ttcggaaaaa	gagttggtag	7080

ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg tagcgggtggt ttttttgttt gcaagcagca 7140  
gattacgctc agaaaaaag gatctcaaga agatcctttg atcttttcta cggggctctga 7200  
cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc atgagattat caaaaaggat 7260  
cttcacctag atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa tcaatctaaa gtatatatga 7320  
gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag gcacctatct cagcgatctg 7380  
tctatttctg tcatccatag ttgcctgact ccccgctctg tagataacta cgatacggga 7440  
gggcttacca tctggcccca gtgctgcaat gataccgcca gaccacgct caccggctcc 7500  
agatttatca gcaataaacc agccagccgg aagggccgag cgcagaagtg gtcctgcaac 7560  
tttatccgcc tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa gctagagtaa gtagttcgcc 7620  
agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc atcgtggtgt cacgctcgtc 7680  
gtttggtatg gcttcattca gctccggttc ccaacgatca aggcgagtta catgatcccc 7740  
catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt cggtcctccg atcgttgtca gaagtaagtt 7800  
ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc agcactgcat aattctctta ctgtcatgcc 7860  
atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga gtactcaacc aagtcattct gagaatagtg 7920  
tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg gataataccg cgccacatag 7980  
cagaacttta aaagtgtca tcattggaaa acgttcttcg gggcgaaaac tctcaaggat 8040  
cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt gcacccaact gatcttcagc 8100  
atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca ggaaggcaaa atgccgcaaa 8160  
aaaggaata agggcgacac ggaaatggtg aatactcata ctcttccttt ttcaatatta 8220  
ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat gagcggatac atatttgaat gtatttagaa 8280  
aaataaaca ataggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa gtgccacctg acgtctaaga 8340  
aaccattatt atcatgacat taacctataa aaataggcgt atcacgaggc cctttcgtct 8400  
cgcgcgtttc ggtgatgacg gtgaaaacct ctgacacatg cagctcccgg agacgggtcac 8460  
agcttgtctg taagcggatg cggggagcag acaagccgt cagggcgcgt cagcgggtgt 8520  
tggcgggtgt cggggctggc ttaactatgc ggcacagag cagattgtac tgagagtgca 8580  
ccatagcgg tgtgaaatac cgcacagatg cgtaaggaga aaataccgca tcagggcgcca 8640  
ttcgccattc aggctgcgca actgttggga agggcgatcg gtgccccct cttcgctatt 8700  
acgccagctg gcgaaagggg gatgtgctgc aaggggatta agttgggtaa cgccagggtt 8760  
ttcccagtca cgacgttgta aaacgacggc cagtgcgaag ctg 8803

<210> 15

<211> 8752

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид

<400> 15

acgcgtgtag	tcttatgcaa	tactcttgta	gtcttgcaac	atggtaacga	tgagttagca	60
acatgcctta	caaggagaga	aaaagcaccg	tgcatgccga	ttggtggaag	taaggtggta	120
cgatcgtgcc	ttattaggaa	ggcaacagac	gggtctgaca	tggattggac	gaaccactga	180
attgccgcat	tgcaagata	ttgtatttaa	gtgcctagct	cgatacaata	aacgggtctc	240
tctggttaga	ccagatctga	gcctgggagc	tctctggcta	actagggaac	ccactgctta	300
agcctcaata	aagcttgccct	tgagtgcctc	aagtagtggt	tgcccgtctg	ttgtgtgact	360
ctggtaacta	gagatccctc	agaccctttt	agtcagtgtg	gaaaatctct	agcagtggcg	420
cccgaacagg	gacctgaaag	cgaaagggaa	accagagctc	tctcgacgca	ggactcggct	480
tgctgaagcg	cgcacggcaa	gagggcaggg	gcggcgactg	gtgagtacgc	caaaaatttt	540
gactagcggg	ggctagaagg	agagagatgg	gtgagagagc	gtcagtatta	agcggggggag	600
aattagatcg	cgatgggaaa	aaattcgggt	aaggccaggg	ggaaagaaaa	aatataaatt	660
aaaacatata	gtatgggcaa	gcagggagct	agaacgattc	gcagttaatc	ctggcctggt	720
agaaacatca	gaaggctgta	gacaaatact	gggacagcta	caaccatccc	ttcagacagg	780
atcagaagaa	cttagatcat	tatataatac	agtagcaacc	ctctattgtg	tgcatcaaag	840
gatagagata	aaagacacca	aggaagcttt	agacaagata	gaggaagagc	aaaacaaaag	900
taagaccacc	gcacagcaag	cggccactga	tcttcagacc	tggaggagga	gatatgaggg	960
acaattggag	aagtgaatta	tataaatata	aagtagtaaa	aattgaacca	ttaggagtag	1020
caccaccaa	ggcaaagaga	agagtgggtc	agagagaaaa	aagagcagtg	ggaataggag	1080
ctttgttctt	tgggttcttg	ggagcagcag	gaagcactat	gggagcagcc	tcaatgacgc	1140
tgacggtaca	ggccagacaa	ttattgtctg	gtatagtgca	gcagcagaac	aatttgctga	1200
gggctattga	ggcgcaacag	catctgttgc	aactcacagt	ctggggcatc	aagcagctcc	1260
aggcaagaat	cctggctgtg	gaaagatacc	taaaggatca	acagctcctg	gggatttggg	1320
gttgctctgg	aaaactcatt	tgaccactg	ctgtgccttg	gaatgctagt	tggagtaata	1380
aatctctgga	acagattgga	atcacacgac	ctggatggag	tgggacagag	aaattaacaa	1440
ttacacaagc	ttaatacact	ccttaattga	agaatcgcaa	aaccagcaag	aaaagaatga	1500
acaagaatta	ttggaattag	ataaatgggc	aagtttgtgg	aattggttta	acataacaaa	1560
ttggctgtgg	tatataaaat	tattcataat	gatagtagga	ggcttggtag	gtttaagaat	1620
agtttttgct	gtactttcta	tagtgaatag	agttaggcag	ggatattcac	cattatcgtt	1680
tcagaccac	ctcccaacc	cgaggggacc	cgacaggccc	gaaggaatag	aagaagaagg	1740



tggagagaga	gacagagaca	gatccattcg	attagtgaac	ggatctcgac	ggtatcgggt	1800
aacttttaaa	agaaaagggg	ggattggggg	gtacagtgca	ggggaaagaa	tagtagacat	1860
aatagcaaca	gacatacaaa	ctaaagaatt	acaaaaacaa	attacaaaat	tcaaaatfff	1920
atcgatacta	gtattatgcc	cagtacatga	ccttatggga	ctttcctact	tggcagtaca	1980
tctacgtatt	agtcacgct	attaccatgg	tgatgcgggt	ttggcagtac	atcaatgggc	2040
gtggatagcg	gtttgactca	cggggatttc	caagtctcca	ccccattgac	gtcaatggga	2100
gtttgttttg	gcaccaaaat	caacgggact	ttccaaaatg	tcgtaacaac	tccgccccat	2160
tgacgcaaat	ggcggttagg	cgtgtacggg	gggaggttta	tataagcaga	gctcgtttag	2220
tgaaccgtca	gatcgctgg	agacgccatc	cacgctgttt	tgacctccat	agaagattct	2280
agagccgcca	ccatgcttct	cctggtgaca	agccttctgc	tctgtgagtt	accacacca	2340
gcattcctcc	tgatcccaga	catccagatg	acacagacta	catcctccct	gtctgcctct	2400
ctgggagaca	gagtcacat	cagttgcagg	gcaagtcagg	acattagtaa	atatttaaat	2460
tggatcagc	agaaaccaga	tggaactggt	aaactcctga	tctaccatac	atcaagatta	2520
cactcaggag	tcccatcaag	gttcagtggc	agtgggtctg	gaacagatta	ttctctcacc	2580
attagcaacc	tggagcaaga	agatattgcc	acttactttt	gccaacaggg	taatacgctt	2640
ccgtacacgt	tcggaggggg	gactaagttg	gaaataacag	gctccacctc	tggatccggc	2700
aagcccgat	ctggcgaggg	atccaccaag	ggcgaggtga	aactgcagga	gtcaggacct	2760
ggcctgggtg	cgccctcaca	gagcctgtcc	gtcacatgca	ctgtctcagg	ggtctcatta	2820
cccgactatg	gtgtaagctg	gattcgccag	cctccacgaa	agggctctgga	gtggctggga	2880
gtaatatggg	gtagtgaaac	cacatactat	aattcagctc	tcaaateccag	actgaccatc	2940
atcaaggaca	actccaagag	ccaagttttc	ttaaaaatga	acagtctgca	aactgatgac	3000
acagccattt	actactgtgc	caaacattat	tactacgggtg	gtagctatgc	tatggactac	3060
tgggggtcaag	gaacctcagt	caccgtctcc	tcagcggccg	caattgaagt	tatgtatcct	3120
cctccttacc	taggtggcgg	cggttctggg	ggcggcgggt	ctgggtggcgg	cggttctctc	3180
gagcagtcaa	tcaaaggaaa	ccacttggtt	aaggtgtatg	actatcaaga	agatggttcg	3240
gtacttctga	cttgtgatgc	agaagccaaa	aatatcacat	ggtttaaaga	tgggaagatg	3300
atcggttcc	taactgaaga	taaaaaaaaa	tggaatctgg	gaagtaatgc	caaggacca	3360
cgagggatgt	atcagtgtaa	aggatcacag	aacaagtcaa	aaccactcca	agtgatttac	3420
agaatgtgtc	agaactgcat	tgaactaaat	gcagccacca	tatctggctt	tctctttgct	3480
gaaatcgtca	gcattttcgt	ccttgctggt	ggggtctact	tcattgctgg	acaggatgga	3540
gttcgccagt	cgagagcttc	agacaagcag	actctgttgc	ccaatgacca	gctctaccag	3600
cccctcaagg	atcgagaaga	tgaccagtac	agccaccttc	aaggaaacca	gttgaggagg	3660

aattgataag	aattcgatcc	gcggccgcga	aggatctgcg	atcgctccgg	tgcccgtcag	3720
tgggcagagc	gcacatcgcc	cacagtcccc	gagaagttgg	ggggaggggt	cggcaattga	3780
acgggtgcct	agagaaggtg	gcgcggggta	aactgggaaa	gtgatgtcgt	gtactggctc	3840
cgcctttttc	ccgaggggtg	gggagaaccg	tatataagtg	cagtagtcgc	cgtgaacgtt	3900
ctttttcgca	acgggtttgc	cgccagaaca	cagctgaagc	ttcgaggggc	tcgcatctct	3960
ccttcacgcg	cccgccgcc	tacctgaggc	cgccatccac	gcccgttgag	tcgcgttctg	4020
ccgcctcccc	cctgtggtgc	ctcctgaact	gcgtccgccg	tctaggtaag	tttaaagctc	4080
aggctgagac	cgggcctttg	tccggcgctc	ccttgagacc	tacctagact	cagccggctc	4140
tccacgcttt	gcctgaccct	gcttgctcaa	ctctacgtct	ttgtttcgtt	ttctgttctg	4200
cgccgttaca	gatccaagct	gtgaccggcg	cctacgctag	atgaccgagt	acaagcccac	4260
ggtgcgctc	gccaccgcg	acgacgtccc	cagggccgta	cgcaccctcg	ccgccgcggt	4320
cgccgactac	cccgccacgc	gccacaccgt	cgatccggac	cgccacatcg	agcgggtcac	4380
cgagctgcaa	gaactcttcc	tcacgcgcgt	cgggctcgac	atcggcaagg	tgtgggtcgc	4440
ggacgacggc	gccgcggtgg	cggctctggac	cacgccggag	agcgtcgaag	cgggggcggt	4500
gttcgccgag	atcgggccgc	gcatggccga	gttgagcggt	tcccggctgg	ccgcgcagca	4560
acagatggaa	ggcctcctgg	cgccgcaccg	gcccaaggag	cccgcgtggt	tcctggccac	4620
cgtcggcgctc	tcgcccgacc	accagggcaa	gggtctgggc	agcgcctcgc	tgctccccgg	4680
agtggaggcg	gccgagcgcg	ccggggtgcc	cgccttcctg	gagacctccg	cgccccgcaa	4740
cctccccctc	tacgagcggc	tcggcttcac	cgtcaccgcc	gacgtcgagg	tgcccgaagg	4800
accgcgcacc	tggtgcatga	cccgcaagcc	cggtgcttga	gtcgacaatc	aacctctgga	4860
ttacaaaatt	tgtgaaagat	tgactggtat	tcttaactat	gttgctcctt	ttacgctatg	4920
tggatacgct	gctttaatgc	ctttgtatca	tgctattgct	tcccgtatgg	ctttcatttt	4980
ctcctccttg	tataaatcct	ggttgctgtc	tctttatgag	gagttgtggc	ccgttgctcag	5040
gcaacgtggc	gtggtgtgca	ctgtgtttgc	tgacgcaacc	cccactgggt	ggggcattgc	5100
caccacctgt	cagctccttt	ccgggacttt	cgctttcccc	ctccctattg	ccacggcgga	5160
actcatcgcc	gcctgccttg	cccgtgctg	gacaggggct	cggctggttg	gactgacaa	5220
ttcgtgggtg	ttgtcgggga	aatcatcgtc	ctttccttgg	ctgctcgcct	gtgttgccac	5280
ctggattctg	cgcgggacgt	ccttctgcta	cgctcccttcg	gccctcaatc	cagcggacct	5340
tccttcccgc	ggcctgctgc	cggctctgcg	gcctcttccg	cgtcttcgcc	ttcgccctca	5400
gacgagtcgg	atctcccttt	gggccgcctc	cccgcctggt	acctttaaga	ccaatgactt	5460
acaaggcagc	tgtagatctt	agccactttt	taaaagaaaa	ggggggactg	gaagggctaa	5520
ttcactccca	acgaaaataa	gatctgcttt	ttgcttgtac	tgggtctctc	tggttagacc	5580

agatctgagc	ctgggagctc	tctggctaac	tagggaaccc	actgcttaag	cctcaataaa	5640
gcttgcecttg	agtgcttcaa	gtagtggtg	cccgtctgtt	gtgtgactct	ggtaactaga	5700
gatccctcag	acccttttag	tcagtgtgga	aaatctctag	cagtagtagt	tcatgtcatc	5760
ttattattca	gtatttataa	cttgcaaaga	aatgaatatc	agagagtgag	aggaacttgt	5820
ttattgcagc	ttataatggt	tacaaataaa	gcaatagcat	cacaaatttc	acaaataaag	5880
catttttttc	actgcattct	agttgtgggt	tgtccaaact	catcaatgta	tcttatcatg	5940
tctggctcta	gctatcccg	ccctaactcc	gccagttcc	gccattctc	cgccccatgg	6000
ctgactaatt	ttttttat	atgcagaggc	cgaggccgcc	tcggcctctg	agctattcca	6060
gaagtagtga	ggaggctttt	ttggaggcct	agacttttgc	agagacggcc	caaattcgta	6120
atcatggtca	tagctgtttc	ctgtgtgaaa	ttgttatccg	ctcacaattc	cacacaacat	6180
acgagccgga	agcataaagt	gtaaagcctg	gggtgcctaa	tgagtgagct	aactcacatt	6240
aattgcgttg	cgctcactgc	ccgctttcca	gtcgggaaac	ctgtcgtgcc	agctgcatta	6300
atgaatcggc	caacgcgcgg	ggagaggcgg	tttgcgtatt	gggcgctctt	ccgcttcctc	6360
gctcactgac	tcgctgcgct	cggtcgttcg	gctgcggcga	gcggtatcag	ctcactcaaa	6420
ggcggtaata	cggttatcca	cagaatcagg	ggataacgca	ggaaagaaca	tgtgagcaaa	6480
aggccagcaa	aaggccagga	accgtaaaaa	ggccgcgttg	ctggcgtttt	tccataggct	6540
ccgccccct	gacgagcatc	acaaaaatcg	acgctcaagt	cagaggtggc	gaaacccgac	6600
aggactataa	agataccagg	cgtttcccc	tggaagctcc	ctcgtgcgct	ctcctgttcc	6660
gaccctgccg	cttaccggat	acctgtccgc	ctttctccct	tcgggaagcg	tggcgctttc	6720
tcatagctca	cgctgtaggt	atctcagttc	ggtgtaggtc	gttcgctcca	agctgggctg	6780
tgtgcacgaa	cccccgttc	agcccgaccg	ctgcgcctta	tccggtaact	atcgtcttga	6840
gtccaaccg	gtaagacacg	acttatcgcc	actggcagca	gccactggta	acaggattag	6900
cagagcgagg	tatgtaggcg	gtgctacaga	gttcttgaag	tgggtggccta	actacggcta	6960
cactagaagg	acagtatttg	gtatctgcgc	tctgctgaag	ccagttacct	tcggaaaaag	7020
agttggtagc	tcttgatccg	gcaaacaac	caccgctggt	agcggtggtt	ttttgtttg	7080
caagcagcag	attacgcgca	gaaaaaagg	atctcaagaa	gatcctttga	tctttctac	7140
ggggtctgac	gctcagtgga	acgaaaactc	acgttaaggg	atthttgtca	tgagattatc	7200
aaaaaggatc	ttcacctaga	tccttttaaa	ttaaaaatga	agttttaaat	caatctaaag	7260
tatatatgag	taaacttggg	ctgacagtta	ccaatgctta	atcagtgagg	cacctatctc	7320
agcgatctgt	ctatttcggt	catccatagt	tgctgactc	cccgtcgtgt	agataactac	7380
gatacgggag	ggcttaccat	ctggccccag	tgctgcaatg	ataccgcgag	accacgctc	7440
accggctcca	gatttatcag	caataaacca	gccagccgga	agggccgagc	gcagaagtgg	7500

tcctgcaact ttatccgcct ccatccagtc tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag	7560
tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt tgttgccatt gctacaggca tcgtggtgtc	7620
acgctcgctg tttgggatgg cttcattcag ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac	7680
atgatcccc atgttgtgca aaaaagcggg tagctccttc ggtcctccga tcgttgtcag	7740
aagtaagttg gccgcagtgt taccactcat ggttatggca gcaactgcata attctcttac	7800
tgtcatgcca tccgtaagat gcttttctgt gactggtgag tactcaacca agtcattctg	7860
agaatagtgt atgcggcgac cgagttgctc ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc	7920
gccacatagc agaactttaa aagtgctcat cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact	7980
ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag ttcgatgtaa cccactcgtg cacccaactg	8040
atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa	8100
tgccgcaaaa aaggaataa gggcgacacg gaaatggtga atactcatac tcttctttt	8160
tcaatattat tgaagcattt atcagggtta ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg	8220
tatttagaaa aataaaciaa taggggttcc gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga	8280
cgtctaagaa accattatta tcatgacatt aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc	8340
ctttcgtctc gcgctgttcg gtgatgacgg tgaaaacctc tgacacatgc agtcccggg	8400
gacggtcaca gcttgtctgt aagcggatgc cgggagcaga caagcccgtc agggcgctc	8460
agcgggtggt ggcgggtgtc ggggctggct taactatgcy gcatcagagc agattgtact	8520
gagagtgcac catatgcggt gtgaaatacc gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat	8580
caggcgccat tcgccattca ggctgcgcaa ctggtgggaa gggcgatcgg tgcgggcctc	8640
ttcgctatta cgccagctgg cgaaaggggg atgtgctgca aggcgattaa gttgggtaac	8700
gccagggttt tcccagtcac gacgttgtaa aacgacggcc agtgccaagc tg	8752

<210> 16

<211> 8722

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид

<400> 16

acgctgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60
acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta	120
cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga	180
attgccgcat tgcaagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc	240
tctgggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccaactgctta	300
agcctcaata aagcttgctt tgagtgcttc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact	360

ctggtaacta	gagatccctc	agaccctttt	agtcagtgtg	gaaaatctct	agcagtggcg	420
cccgaacagg	gacctgaaag	cgaaagggaa	accagagctc	tctcgacgca	ggactcggct	480
tgctgaagcg	cgcacggcaa	gaggcgaggg	gcggcgactg	gtgagtacgc	caaaaatttt	540
gactagcggg	ggctagaagg	agagagatgg	gtgcgagagc	gtcagtatta	agcggggggag	600
aattagatcg	cgatgggaaa	aaattcggtt	aaggccaggg	ggaaagaaaa	aatataaatt	660
aaaacatata	gtatgggcaa	gcagggagct	agaacgattc	gcagttaatc	ctggcctggt	720
agaaacatca	gaaggctgta	gacaaatact	gggacagcta	caaccatccc	ttcagacagg	780
atcagaagaa	cttagatcat	tatataatac	agtagcaacc	ctctattgtg	tgcatcaaag	840
gatagagata	aaagacacca	aggaagcttt	agacaagata	gaggaagagc	aaaacaaaag	900
taagaccacc	gcacagcaag	cggccactga	tcttcagacc	tggaggagga	gatatgaggg	960
acaattggag	aagtgaatta	tataaatata	aagtagtaaa	aattgaacca	ttaggagtag	1020
caccaccaa	ggcaaagaga	agagtgggtc	agagagaaaa	aagagcagtg	ggaataggag	1080
ctttgttctt	tgggttcttg	ggagcagcag	gaagcactat	gggcgagcc	tcaatgacgc	1140
tgacggtaca	ggccagacaa	ttattgtctg	gtatagtgca	gcagcagaac	aatttgctga	1200
gggctattga	ggcgcaacag	catctgttgc	aactcacagt	ctggggcctc	aagcagctcc	1260
aggcaagaat	cctggctgtg	gaaagatacc	taaaggatca	acagctcctg	gggatttggg	1320
gttgctctgg	aaaactcatt	tgaccactg	ctgtgccttg	gaatgctagt	tggagtaata	1380
aatctctgga	acagattgga	atcacacgac	ctggatggag	tgggacagag	aaattaacaa	1440
ttacacaagc	ttaatacact	ccttaattga	agaatcgcaa	aaccagcaag	aaaagaatga	1500
acaagaatta	ttggaattag	ataaatgggc	aagtttgtgg	aattggttta	acataacaaa	1560
ttggctgtgg	tatataaaat	tattcataat	gatagtagga	ggcttggtag	gtttaagaat	1620
agtttttgct	gtactttcta	tagtgaatag	agttaggcag	ggatattcac	cattatcggt	1680
tcagaccac	ctcccaacc	cgaggggacc	cgacaggccc	gaaggaatag	aagaagaagg	1740
tggagagaga	gacagagaca	gatccattcg	attagtgaac	ggatctcgac	ggtatcgggt	1800
aacttttaa	agaaaagggg	ggattggggg	gtacagtgca	ggggaagaa	tagtagacat	1860
aatagcaaca	gacatacaaa	ctaaagaatt	acaaaaacaa	attacaaaat	tcaaaatttt	1920
atcgatacta	gtattatgcc	cagtacatga	ccttatggga	ctttcctact	tggcagtaca	1980
tctacgtatt	agtcatcgct	attaccatgg	tgatgcgggt	ttggcagtac	atcaatgggc	2040
gtggatagcg	gtttgactca	cggggatttc	caagtctcca	ccccattgac	gtcaatggga	2100
gtttgttttg	gcacaaaat	caacgggact	ttccaaaatg	tcgtaacaac	tccgccccat	2160
tgacgcaaat	ggcggttagg	cgtgtacggg	gggaggttta	tataagcaga	gctcgtttag	2220
tgaaccgtca	gatcgcttgg	agacgccatc	cacgctgttt	tgacctccat	agaagattct	2280

agagccgcca	ccatgcttct	cctggtgaca	agccttctgc	tctgtgagtt	accacaccca	2340
gcattcctcc	tgatcccaga	catccagatg	acacagacta	catcctccct	gtctgcctct	2400
ctgggagaca	gagtcacat	cagttgcagg	gcaagtcagg	acattagtaa	atattttaat	2460
tggtatcagc	agaaaccaga	tggaactggt	aaactcctga	tctaccatac	atcaagatta	2520
cactcaggag	tcccatcaag	gttcagtggc	agtgggtctg	gaacagatta	ttctctcacc	2580
attagcaacc	tggagcaaga	agatattgcc	acttactttt	gccaacaggg	taatacgctt	2640
ccgtacacgt	tcgagggggg	gactaagttg	gaaataacag	gctccacctc	tggatccggc	2700
aagcccgat	ctggcgaggg	atccaccaag	ggcgaggtga	aactgcagga	gtcaggacct	2760
ggcctggtgg	cgccctcaca	gagcctgtcc	gtcacatgca	ctgtctcagg	ggctctcatta	2820
cccgactatg	gtgtaagctg	gattcgccag	cctccacgaa	agggctctgga	gtggctggga	2880
gtaatatggg	gtagtgaaac	cacatactat	aattcagctc	tcaaatccag	actgaccatc	2940
atcaaggaca	actccaagag	ccaagttttc	ttaaaaatga	acagtctgca	aactgatgac	3000
acagccattt	actactgtgc	caaacattat	tactacgggtg	gtagctatgc	tatggactac	3060
tggggctcaag	gaacctcagt	caccgtctcc	tcagcggccg	caattgaagt	tatgtatcct	3120
cctcettacc	taggtggcgg	cggttctggt	ggcggcggtt	ctggtggcgg	cggttctctc	3180
gagttcaaga	tacctataga	ggaacttgag	gacagagtgt	ttgtgaattg	caataccagc	3240
atcacatggg	tagagggaac	ggtgggaaca	ctgctctcag	acattacaag	actggacctg	3300
ggaaaacgca	tcttggaacc	acgaggaata	tataggtgta	atgggacaga	tatatacaag	3360
gacaaagaat	ctaccgtgca	agttcattat	cgaatgtgcc	agagctgtgt	ggagctggat	3420
ccagccaccg	tggctggcat	cattgtcact	gatgtcattg	ccactctgct	ccttgctttg	3480
ggagtcttct	gctttgctgg	acatgagact	ggaaggctgt	ctggggctgc	cgacacacaa	3540
gctctgttga	ggaatgacca	ggtctatcag	cccctccgag	atcgagatga	tgctcagtac	3600
agccaccttg	gaggaaactg	ggctcggaac	aagtgataag	aattcgatcc	gcggccgcga	3660
aggatctgcg	atcgctccgg	tgcccgtcag	tgggcagagc	gcacatcgcc	cacagtcccc	3720
gagaagttgg	ggggaggggt	cggcaattga	acgggtgcct	agagaaggtg	gcgcggggta	3780
aactgggaaa	gtgatgtcgt	gtactggctc	cgcttttttc	ccgaggggtg	gggagaaccg	3840
tatataagtg	cagtagtcgc	cgtgaacggt	ctttttcgca	acgggtttgc	cgccagaaca	3900
cagctgaagc	ttcgaggggc	tcgcatctct	ccttcacgcg	cccgcgcgcc	tacctgaggc	3960
cgccatccac	gccggttgag	tcgcgttctg	ccgcctcccg	cctgtggtgc	ctcctgaact	4020
gcgtccgcgg	tctaggtaag	tttaaagctc	aggtcgagac	cgggcctttg	tccggcgctc	4080
ccttgagacc	tacctagact	cagccggctc	tccacgcttt	gcctgacctt	gcttgctcaa	4140
ctctacgtct	ttgtttcggt	ttctgttctg	cgccggttaca	gatccaagct	gtgaccggcg	4200

cctacgctag atgaccgagt acaagcccac ggtgcgccctc gccacccgcg acgacgtccc	4260
cagggccgta cgcaccctcg ccgccgcggt cgccgactac cccgccacgc gccacaccgt	4320
cgatccggac cgccacatcg agcgggtcac cgagctgcaa gaactcttcc tcacgcgcgt	4380
cgggctcgac atcggcaagg tgtgggtcgc ggacgacggc gccgcggtgg cggctctggac	4440
cacgccggag agcgtcgaag cgggggcggt gttcgccgag atcggcccgc gcatggccga	4500
gttgagcgggt tcccggctgg ccgcgagca acagatggaa ggccctctgg cgccgcaccg	4560
gccaaggag cccgcgtggt tcctggccac cgtcggcgctc tcgcccgacc accagggcaa	4620
gggtctgggc agcgcctcg tgctccccg agtggaggcg gccgagcgcg ccgggggtgcc	4680
cgccctctg gagacctcg cgccccgcaa cctccccttc tacgagcggc tcggcttcac	4740
cgtcaccgcc gacgtcgagg tgcccgaagg accgcgcacc tgggtgatga cccgcaagcc	4800
cggtgccctga gtcgacaatc aacctctgga ttacaaaatt tgtgaaagat tgactggtat	4860
tcttaactat gttgctcctt ttacgctatg tggatacgct gctttaatgc ctttgtatca	4920
tgctattgct tcccgtatgg ctttcatttt ctctccttg tataaatcct ggttgctgtc	4980
tctttatgag gagttgtggc ccggtgtcag gcaacgtggc gtgggtgtgca ctgtgtttgc	5040
tgacgcaacc cccactggtt ggggcattgc caccacctgt cagctccttt ccgggacttt	5100
cgctttccc ctccctattg ccacggcgga actcatcgcc gcctgccttg cccgctgctg	5160
gacaggggct cggctggttg gcaactgaaa ttccgtgggtg ttgtcgggga aatcatcgtc	5220
ctttccttgg ctgctcgct gtgttgccac ctggattctg cgccgggacgt ccttctgcta	5280
cgccctctcg gccctcaatc cagcggacct tccttcccgc ggccctgctgc cggctctgcg	5340
gcctcttccg cgtcttccgc ttcgccctca gacgagtcgg atctcccttt gggccgcctc	5400
ccgcctggt accttaaga ccaatgactt acaaggcagc tgtagatctt agccactttt	5460
taaaagaaaa ggggggactg gaagggctaa ttcactccca acgaaaataa gatctgcttt	5520
ttgcttgtag tgggtctctc tggttagacc agatctgagc ctgggagctc tctggctaac	5580
tagggaacc actgcttaag cctcaataaa gcttgccttg agtgcttcaa gtagtggtg	5640
ccgctctggt gtgtgactct ggtaactaga gatccctcag acccttttag tcagtgtgga	5700
aaatctctag cagtagtagt tcatgtcatc ttattattca gtatttataa cttgcaaaga	5760
aatgaatc agagagtgag aggaacttgt ttattgcagc ttataatggg tacaataaaa	5820
gcaatagcat cacaatttc acaaataaag ctttttttc actgcattct agttgtggtt	5880
tgtccaaact catcaatgta tcttatcatg tctggctcta gctatcccgc ccctaactcc	5940
gccagttcc gccattctc cgcccatgg ctgactaatt ttttttattt atgcagaggc	6000
cgaggccgcc tcggcctctg agctattcca gaagtagtga ggaggctttt ttggaggcct	6060
agacttttgc agagacggcc caaatcgtat atcatggtca tagctgtttc ctgtgtgaaa	6120

ttgttatccg	ctcacaattc	cacacaacat	acgagccgga	agcataaagt	gtaaagcctg	6180
gggtgcctaa	tgagtgagct	aactcacatt	aattgcgttg	cgctcactgc	ccgctttcca	6240
gtcgggaaac	ctgtcgtgcc	agctgcatta	atgaatcggc	caacgcgcgg	ggagagggcg	6300
tttgcgtatt	gggcgctctt	ccgcttcctc	gctcactgac	tcgctgcgct	cggtcgttcg	6360
gctgcggcga	gcggtatcag	ctcactcaaa	ggcggtaata	cggttatcca	cagaatcagg	6420
ggataacgca	ggaaagaaca	tgtgagcaaa	aggccagcaa	aaggccagga	accgtaaaaa	6480
ggccgcgttg	ctggcgtttt	tccataggct	ccgccccct	gacgagcatc	acaaaaatcg	6540
acgctcaagt	cagaggtggc	gaaacccgac	aggactataa	agataccagg	cgtttcccc	6600
tggaagctcc	ctcgtgcgct	ctcctgttcc	gaccctgccg	cttaccggat	acctgtccgc	6660
ctttctccct	tcgggaagcg	tggcgctttc	tcatagctca	cgctgtaggt	atctcagttc	6720
ggtgtaggtc	gttcgctcca	agctgggctg	tgtgcacgaa	ccccccgttc	agcccgaccg	6780
ctgcgcctta	tccggtaact	atcgtcttga	gtccaaccg	gtaagacacg	acttatcgcc	6840
actggcagca	gccactggta	acaggattag	cagagcgagg	tatgtaggcg	gtgctacaga	6900
gttcttgaag	tgggtggccta	actacggcta	cactagaagg	acagtatttg	gtatctgcgc	6960
tctgctgaag	ccagttacct	tcggaaaaag	agttggtagc	tcttgatccg	gcaaaaaaac	7020
caccgctggg	agcggtggtt	tttttgtttg	caagcagcag	attacgcgca	gaaaaaaagg	7080
atctcaagaa	gatcctttga	tcttttctac	ggggtctgac	gctcagtgga	acgaaaactc	7140
acgttaaggg	atthttggta	tgagattatc	aaaaaggatc	ttcacctaga	tccttttaaa	7200
ttaaaaaatga	agtttttaaat	caatctaaag	tatatatgag	taaacttggg	ctgacagtta	7260
ccaatgctta	atcagtgagg	cacctatctc	agcgatctgt	ctatttcggt	catccatagt	7320
tgctgactc	cccgtcgtgt	agataactac	gatacgggag	ggcttaccat	ctggccccag	7380
tgctgcaatg	ataccgcgag	accacgctc	accggctcca	gatttatcag	caataaacca	7440
gccagccgga	agggccgagc	gcagaagtgg	tcttgcaact	ttatccgcct	ccatccagtc	7500
tattaattgt	tgccgggaag	ctagagtaag	tagttcgcca	gttaatagtt	tgcgcaacgt	7560
tgttgccatt	gctacaggca	tcgtgggtgc	acgctcgtcg	tttgggatgg	cttcattcag	7620
ctccggttcc	caacgatcaa	ggcgagttac	atgatcccc	atggttgca	aaaaagcggg	7680
tagctccttc	ggtcctccga	tcgttgtcag	aagtaagttg	gccgcagtgt	tactactcat	7740
ggttatggca	gactgcata	attctcttac	tgtcatgcca	tccgtaagat	gcttttctgt	7800
gactggtgag	tactcaacca	agtcattctg	agaatagtgt	atgcccgcac	cgagttgctc	7860
ttgcccggcg	tcaatacggg	ataataccgc	gccacatagc	agaactttaa	aagtgtcat	7920
cattggaaaa	cgttcttcgg	ggcgaaaact	ctcaaggatc	ttaccgctgt	tgagatccag	7980
ttcgatgtaa	cccactcgtg	cacccaactg	atcttcagca	tcttttactt	tcaccagcgt	8040



ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa tgccgcaaaa aagggataa gggcgacacg	8100
gaaatggtga atactcatac tcttcctttt tcaatattat tgaagcattt atcagggtta	8160
ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg tatttagaaa aataaacaaa taggggttcc	8220
gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga cgtctaagaa accattatta tcatgacatt	8280
aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc ctttcgtctc gcgcgtttcg gtgatgacgg	8340
tgaaaacctc tgacacatgc agctcccgga gacggtcaca gcttgtctgt aagcggatgc	8400
cgggagcaga caagcccgtc agggcgcgtc agcgggtggt ggcgggtgtc ggggctggct	8460
taactatgcg gcatcagagc agattgtact gagagtgcac catatgcggt gtgaaatacc	8520
gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat caggcgccat tcgccattca ggctgcgcaa	8580
ctgttgggaa gggcgatcgg tgcgggcctc ttcgctatta cgccagctgg cgaaaggggg	8640
atgtgctgca aggcgattaa gttgggtaac gccagggttt tcccagtcac gacgttghaa	8700
aacgacggcc agtgccaagc tg	8722

<210> 17

<211> 8827

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид

<400> 17

acgctgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60
acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgccga ttggtggaag taaggtggta	120
cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga	180
attgccgcat tgcaagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc	240
tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actaggggaa ccaactgctta	300
agcctcaata aagcttgctt tgagtgtctt aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact	360
ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg	420
cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct	480
tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatctt	540
gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcggggggag	600
aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt	660
aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt	720
agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg	780
atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcattcaag	840

gatagagata	aaagacacca	aggaagcttt	agacaagata	gaggaagagc	aaaacaaaag	900
taagaccacc	gcacagcaag	cggccactga	tcttcagacc	tggaggagga	gatatgaggg	960
acaattggag	aagtgaatta	tataaatata	aagtagtaaa	aattgaacca	ttaggagtag	1020
caccaccaa	ggcaaagaga	agagtgggtc	agagagaaaa	aagagcagtg	ggaataggag	1080
ctttgttct	tgggttcttg	ggagcagcag	gaagcactat	gggcgcagcc	tcaatgacgc	1140
tgacggtaca	ggccagacaa	ttattgtctg	gtatagtgca	gcagcagaac	aatttgctga	1200
gggctattga	ggcgcaacag	catctgttgc	aactcacagt	ctggggcatc	aagcagctcc	1260
aggcaagaat	cctggctgtg	gaaagatacc	taaaggatca	acagctcctg	gggatttggg	1320
gttgctctgg	aaaactcatt	tgcaccactg	ctgtgccttg	gaatgctagt	tggagtaata	1380
aatctctgga	acagattgga	atcacacgac	ctggatggag	tgggacagag	aaattaacaa	1440
ttacacaagc	ttaatacact	ccttaattga	agaatcgcaa	aaccagcaag	aaaagaatga	1500
acaagaatta	ttggaattag	ataaatgggc	aagtttgtgg	aattggttta	acataacaaa	1560
ttggctgtgg	tatataaaat	tattcataat	gatagtagga	ggcttggtag	gtttaagaat	1620
agtttttgct	gtactttcta	tagtgaatag	agttaggcag	ggatattcac	cattatcgtt	1680
tcagaccac	ctcccaacc	cgaggggacc	cgacaggccc	gaaggaatag	aagaagaagg	1740
tggagagaga	gacagagaca	gatccattcg	attagtgaac	ggatctcgac	ggtatcggtt	1800
aacttttaa	agaaaagggg	ggattggggg	gtacagtgca	ggggaagaa	tagtagacat	1860
aatagcaaca	gacatacaaa	ctaaagaatt	acaaaaacaa	attacaaaat	tcaaaatttt	1920
atcgatacta	gtattatgcc	cagtacatga	ccttatggga	ctttcctact	tggcagtaca	1980
tctacgtatt	agtcatcgct	attaccatgg	tgatgcgggt	ttggcagtac	atcaatgggc	2040
gtggatagcg	gtttgactca	cggggatttc	caagtctcca	ccccattgac	gtcaatggga	2100
gtttgttttg	gcacaaaat	caacgggact	ttccaaaatg	tcgtaacaac	tccgccccat	2160
tgacgcaaat	gggcggtagg	cgtgtacggg	gggaggttta	tataagcaga	gctcgtttag	2220
tgaaccgtca	gatcgcttgg	agacgccatc	cacgctgttt	tgacctccat	agaagattct	2280
agagccgcca	ccatgcttct	cctggtgaca	agccttctgc	tctgtgagtt	accacacca	2340
gcattcctcc	tgatcccaga	catccagatg	acacagacta	catcctccct	gtctgcctct	2400
ctgggagaca	gagtcacat	cagttgcagg	gcaagtcagg	acattagtaa	atatttaaat	2460
tggatcagc	agaaaccaga	tggaactggt	aaactcctga	tctaccatac	atcaagatta	2520
cactcaggag	tcccatcaag	gttcagtggc	agtgggtctg	gaacagatta	ttctctcacc	2580
attagcaacc	tggagcaaga	agatattgcc	acttactttt	gccaacaggg	taatacgctt	2640
ccgtacacgt	tcggaggggg	gactaagttg	gaaataacag	gctccacctc	tggatccggc	2700
aagccccgat	ctggcgaggg	atccaccaag	ggcgaggtga	aactgcagga	gtcaggacct	2760

ggcctggtgg	cgccctcaca	gagcctgtcc	gtcacatgca	ctgtctcagg	ggtctcatta	2820
cccgactatg	gtgtaagctg	gattcgccag	cctccacgaa	agggctctgga	gtggctggga	2880
gtaatatggg	gtagtgaaac	cacatactat	aattcagctc	tcaaatccag	actgaccatc	2940
atcaaggaca	actccaagag	ccaagttttc	ttaaaaatga	acagtctgca	aactgatgac	3000
acagccattt	actactgtgc	caaacattat	tactacgggtg	gtagctatgc	tatggactac	3060
tggggctcaag	gaacctcagt	caccgtctcc	tcagcggccg	caattgaagt	tatgtatcct	3120
cctccttacc	taggtggcgg	cggttctggt	ggcggcggtt	ctggtggcgg	cggttctctc	3180
gaggatggta	atgaagaaat	gggtggtatt	acacagacac	catataaagt	ctccatctct	3240
ggaaccacag	taatattgac	atgccctcag	tatcctggat	ctgaaatact	atggcaacac	3300
aatgataaaa	acataggcgg	tgatgaggat	gataaaaaca	taggcagtga	tgaggatcac	3360
ctgtcactga	aggaattttc	agaattggag	caaagtggtt	attatgtctg	ctaccccaga	3420
ggaagcaaac	cagaagatgc	gaacttttat	ctctacctga	gggcaagagt	gtgtgagaac	3480
tgcatggaga	tggatgtgat	gtcgggtggc	acaattgtca	tagtggacat	ctgcatcact	3540
gggggcttgc	tgctgctggt	ttactactgg	agcaagaata	gaaaggccaa	ggccaagcct	3600
gtgacacgag	gagcgggtgc	tggcggcagg	caaaggggac	aaaacaagga	gaggccacca	3660
cctgttccca	accagacta	tgagcccatc	cggaaaggcc	agcgggacct	gtattctggc	3720
ctgaatcaga	gacgcatctg	ataagaattc	gatccgcggc	cgcgaggat	ctgcatcgc	3780
tccggtgcc	gtcagtgggc	agagcgcaca	tcgcccacag	tccccgagaa	gttgggggga	3840
ggggctcggca	attgaacggg	tgccctagaga	aggtggcgcg	gggtaaactg	ggaaagtgat	3900
gtcgtgtact	ggctccgcct	ttttcccgag	ggtgggggag	aaccgtatat	aagtgcagta	3960
gtcgccgtga	acgttctttt	tcgcaacggg	tttgccgcca	gaacacagct	gaagcttcga	4020
ggggctcgca	tctctccttc	acgcgcccgc	cgccctacct	gaggccgcca	tccacgcgg	4080
ttgagtcgcg	ttctgcccgc	tcccgcctgt	ggtgectect	gaactgcgtc	cgccgtctag	4140
gtaagtttaa	agctcaggtc	gagaccgggc	ctttgtccgg	cgctcccttg	gagcctacct	4200
agactcagcc	ggctctccac	gctttgcttg	accctgcttg	ctcaactcta	cgtctttggt	4260
tcgttttctg	ttctgcccgc	ttacagatcc	aagctgtgac	cggcgcctac	gctagatgac	4320
cgagtacaag	cccacggtgc	gcctcgccac	ccgcgacgac	gtccccaggg	ccgtacgcac	4380
cctcgcccgc	gcgttcgccc	actaccccgc	cacgcgccac	accgtcgatc	cggaccgcca	4440
catcgagcgg	gtcaccgagc	tgcaagaact	cttctctcac	cgcgtcgggc	tcgacatcgg	4500
caaggtgtgg	gtcgcggacg	acggcgcgcg	ggtggcggtc	tggaccacgc	cggagagcgt	4560
cgaagcgggg	gcggtgttcg	ccgagatcgg	cccgcgcatg	gccgagttga	gcggttcccg	4620
gctggcccgcg	cagcaacaga	tggaaggcct	cctggcgcgc	caccggccca	aggagcccgc	4680

gtggttcctg gccaccgtcg gcgctctcgcc cgaccaccag ggcaaggggc tgggcagcgc	4740
cgtegtgctc cccggagtg gggcgccga gcgccccggg gtgccccct tccctggagac	4800
ctccgcgccc cgcaacctcc ctttctacga gcggtctggc ttcaccgtca ccgcccagct	4860
cgaggtgccc gaaggaccgc gcacctggtg catgaccgc aagccccggtg cctgagtcga	4920
caatcaacct ctggattaca aaatttgtga aagattgact ggtattctta actatggtgc	4980
tccttttacg ctatgtggat acgctgcttt aatgcctttg tatcatgcta ttgcttcccg	5040
tatggctttc attttctcct cttgtataa atcctgggtg ctgtctcttt atgaggagtt	5100
gtggccccgtt gtcaggcaac gtggcggtgt gtgcactgtg tttgctgacg caacccccac	5160
tggttggggc attgccacca cctgtcagct ctttccggg actttcgctt tccccctccc	5220
tattgccacg gcggaactca tcgccgctg cttgccccgc tgctggacag gggctcggct	5280
gttgggcaact gacaattccg tgggtgtgtc ggggaaatca tcgtcctttc cttggctgct	5340
cgctgtgtt gccacctgga ttctgcgcg gacgtccttc tgctacgtcc cttcggcct	5400
caatccagcg gaccttcctt cccgcggcct gctgccggct ctgcccctc tccgcgtct	5460
tcgccttcgc cctcagacga gtcggatctc ctttggggc gcctccccgc ctggtacctt	5520
taagaccaat gacttacaag gcagctgtag atcttagcca ctttttaaaa gaaaaggggg	5580
gactggaagg gctaattcac tcccaacgaa aataagatct gctttttgct tgtactgggt	5640
ctctctgggt agaccagatc tgagcctggg agctctctgg ctaactaggg aaccactgc	5700
ttaagcctca ataaagcttg cttgagtg cttcaagtagt gtgtgcccgct ctggtgtgtg	5760
actctggtaa ctagagatcc ctcagacct tttagtcagt gtggaaaatc tctagcagta	5820
gtagttcatg tcatcttatt attcagtatt tataacttgc aaagaaatga atatcagaga	5880
gtgagaggaa cttgtttatt gcagcttata atggttacia ataaagcaat agcatcacia	5940
atctcaciaa taaagcattt ttttactgc attctagttg tggtttgtcc aaactcatca	6000
atgtatctta tcatgtctgg ctctagctat cccgccctc actccgccca gttccgccca	6060
ttctccgcc catggctgac taattttttt tatttatgca gaggccgagg ccgctcggc	6120
ctctgagcta ttccagaagt agtgaggagg cttttttgga ggcctagact tttgcagaga	6180
cggcccaaat tcgtaatcat ggtcatagct gtttctctgt tgaaattggt atccgctcac	6240
aattccacac aacatacgag ccggaagcat aaagtgtaaa gcctgggggtg cctaatgagt	6300
gagctaactc acattaattg cgttgcgctc actgccccgt tccagtcgg gaaacctgtc	6360
gtgccagctg cattaatgaa tcggccaacg cgccggggaga ggcggtttgc gtattggggc	6420
ctctccgct tcctcgtca ctgactcgt gcgctcggtc gttcggctgc ggcgagcgg	6480
atcagctcac tcaaaggcgg taatacgggt atccacagaa tcaggggata acgcaggaaa	6540
gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg cgttgctggc	6600

gtttttccat	aggctccgcc	cccctgacga	gcatcacaaa	aatcgacgct	caagtcagag	6660
gtggcgaaac	ccgacaggac	tataaagata	ccaggcgttt	ccccctggaa	gctccctcgt	6720
gcgctctcct	gttccgacct	tgccgcttac	cggatacctg	tccgcctttc	tcccttcggg	6780
aagcgtggcg	ctttctcata	gctcacgctg	taggtatctc	agttcgggtg	aggtcgttcg	6840
ctccaagctg	ggctgtgtgc	acgaaccccc	cgttcagccc	gaccgctgcg	ccttatccgg	6900
taactatcgt	cttgagtcca	acccggtaag	acacgactta	tcgccactgg	cagcagccac	6960
tggtaacagg	attagcagag	cgaggatatg	agggcgggtg	acagagttct	tgaagtgggtg	7020
gcctaactac	ggctacacta	gaaggacagt	atctgggtatc	tcgcgctctgc	tgaagccagt	7080
taccttcgga	aaaagagttg	gtagctcttg	atccggcaaa	caaaccaccg	ctggtagcgg	7140
tggttttttt	gtttgcaagc	agcagattac	gcgcagaaaa	aaaggatctc	aagaagatcc	7200
tttgatcttt	tctacggggg	ctgacgctca	gtggaacgaa	aactcacggt	aagggatttt	7260
ggcatagaga	ttatcaaaaa	ggatcttcac	ctagatcctt	ttaaattaa	aatgaagttt	7320
taaataatc	taaagtatat	atgagtaaac	ttggctctgac	agttaccaat	gcttaatcag	7380
tgaggcacct	atctcagcga	tctgtctatt	tcgttcatcc	atagttgcct	gactccccgt	7440
cgtgtagata	actacgatac	gggagggcct	accatctggc	cccagtgctg	caatgatacc	7500
gcgagacca	cgctcaccgg	ctccagatth	atcagcaata	aaccagccag	ccggaagggc	7560
cgagcgcaga	agtggtcctg	caactttatc	cgctccatc	cagtctatta	attggtgccc	7620
ggaagctaga	gtaagtagtt	cgccagttaa	tagtttgccg	aacggtggtg	ccattgctac	7680
aggcatcgtg	gtgtcacgct	cgctgtttgg	tatggcttca	ttcagctccg	gttcccaacg	7740
atcaaggcga	gttacctgat	cccccatggt	gtgcaaaaaa	gcggttagct	ccttcgggtcc	7800
tccgatcgtt	gtcagaagta	agttggccgc	agtgttatca	ctcatggtta	tggcagcact	7860
gcataattct	cttactgtca	tgccatccgt	aagatgcttt	tctgtgactg	gtgagtactc	7920
aaccaagtca	ttctgagaat	agtgtatgcg	gcgaccgagt	tgctcttgcc	cggcgtcaat	7980
acgggataat	accgcgccac	atagcagaac	tttaaaagtg	ctcatcattg	gaaaacgttc	8040
ttcggggcga	aaactctcaa	ggatcttacc	gctggtgaga	tccagttcga	tgtaaccac	8100
tcgtgcacc	aactgatctt	cagcatcttt	tactttcacc	agcgtttctg	ggtgagcaaa	8160
aacaggaagg	caaatgccg	caaaaaagg	aataagggcg	acacggaaat	ggtgaatact	8220
catactcttc	ctttttcaat	attattgaag	catttatcag	ggttattgtc	tcatgagcgg	8280
atacatattt	gaatgtattt	agaaaaataa	acaaataggg	gttccgcgca	catttccccg	8340
aaaagtgcc	cctgacgtct	aagaaacct	tattatcatg	acattaacct	ataaaaaatag	8400
gcgtatcacg	aggccctttc	gtctcgcgcg	tttcgggtgat	gacggtgaaa	acctctgaca	8460
catgcagctc	ccggagacgg	tcacagcttg	tctgtaagcg	gatgccggga	gcagacaagc	8520

ccgtcagggc gcgtcagcgg gtggttggcgg gtgtcggggc tggcttaact atgcggcatc 8580  
agagcagatt gtactgagag tgcaccatat gcggtgtgaa ataccgcaca gatgcgtaag 8640  
gagaaaatac cgcacagggc gccattcgcc attcaggctg cgcaactggt ggggaagggcg 8700  
atcgggtgcgg gcctcttcgc tattacgcca gctggcgaaa gggggatgtg ctgcaagggc 8760  
attaagttgg gtaacgccag ggttttccca gtcacgacgt tgtaaaacga cggccagtgc 8820  
caagctg 8827

<210> 18

<211> 8797

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический  
полинуклеотид

<400> 18

acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca 60  
acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcacgccga ttggtggaag taaggtggta 120  
cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga 180  
attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc 240  
tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccaactgctta 300  
agcctcaata aagcttgccct tgagtgcctc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact 360  
ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg 420  
cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct 480  
tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt 540  
gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgagagagc gtcagtatta agcggggggag 600  
aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt 660  
aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt 720  
agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg 780  
atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcacaaag 840  
gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag 900  
taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg 960  
acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag 1020  
caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag 1080  
ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgagcc tcaatgacgc 1140  
tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga 1200  
gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc 1260

aggcaagaat	cctggctgtg	gaaagatacc	taaaggatca	acagctcctg	gggatttggg	1320
gttgctctgg	aaaactcatt	tgcaccactg	ctgtgccttg	gaatgctagt	tggagtaata	1380
aatctctgga	acagattgga	atcacacgac	ctggatggag	tgggacagag	aaattaacaa	1440
ttacacaagc	ttaatacact	ccttaattga	agaatcgcaa	aaccagcaag	aaaagaatga	1500
acaagaatta	ttggaattag	ataaatgggc	aagtttgtgg	aattggttta	acataacaaa	1560
ttggctgtgg	tatataaaat	tattcataat	gatagtagga	ggcttggtag	gtttaagaat	1620
agtttttgct	gtacttttcta	tagtgaatag	agttagggcag	ggatattcac	cattatcgtt	1680
tcagaccac	ctccaaccc	cgaggggacc	cgacaggccc	gaaggaatag	aagaagaagg	1740
tggagagaga	gacagagaca	gatccattcg	attagtgaac	ggatctcgac	ggtatcggtt	1800
aacttttaaa	agaaaagggg	ggattggggg	gtacagtgca	gggaaagaa	tagtagacat	1860
aatagcaaca	gacatacaaa	ctaaagaatt	acaaaaacaa	attacaaaat	tcaaaatttt	1920
atcgatacta	gtattatgcc	cagtacatga	ccttatggga	ctttcctact	tggcagtaca	1980
tctacgtatt	agtcacgct	attacatgg	tgatgcggtt	ttggcagtac	atcaatgggc	2040
gtggatagcg	gtttgactca	cggggatttc	caagtctcca	ccccattgac	gtcaatggga	2100
gtttgttttg	gcacaaaaat	caacgggact	ttccaaaatg	tcgtaacaac	tccgccccat	2160
tgacgcaaat	ggcggttagg	cgtgtacggt	gggaggttta	tataagcaga	gctcgtttag	2220
tgaaccgtca	gatcgctgg	agacgccatc	cacgctgttt	tgacctccat	agaagattct	2280
agagccgcca	ccatgcttct	cctggtgaca	agccttctgc	tctgtgagtt	accacacca	2340
gcattcctcc	tgatcccaga	catccagatg	acacagacta	catcctccct	gtctgcctct	2400
ctgggagaca	gagtcacat	cagttgcagg	gcaagtcagg	acattagtaa	atatttaaat	2460
tggatcagc	agaaaccaga	tggaactggt	aaactcctga	tctaccatac	atcaagatta	2520
cactcaggag	tcccatcaag	gttcagtggc	agtgggtctg	gaacagatta	ttctctcacc	2580
attagcaacc	tggagcaaga	agatattgcc	acttactttt	gccaacaggg	taatacgctt	2640
ccgtacacgt	tcggaggggg	gactaagttg	gaaataacag	gctccacctc	tggatccggc	2700
aagcccgat	ctggcgaggg	atccaccaag	ggcgaggtga	aactgcagga	gtcaggacct	2760
ggcctggtgg	cgccctcaca	gagcctgtcc	gtcacatgca	ctgtctcagg	ggtctcatta	2820
cccgactatg	gtgtaagctg	gattcgccag	cctccacgaa	agggctctgga	gtggctggga	2880
gtaatatggg	gtagtgaaac	cacatactat	aattcagctc	tcaaatccag	actgaccatc	2940
atcaaggaca	actccaagag	ccaagttttc	ttaaaaatga	acagtctgca	aactgatgac	3000
acagccattt	actactgtgc	caaacattat	tactacggtg	gtagctatgc	tatggactac	3060
tggggtcagg	gaacctcagt	caccgtctcc	tcagcggccg	caggtggcgg	cggttctggt	3120
ggcggcggtt	ctggtggcgg	cggttctctc	gaggatggta	atgaagaaat	gggtggtatt	3180

acacagacac	catataaagt	ctccatctct	ggaaccacag	taatattgac	atgccctcag	3240
tatcctggat	ctgaaatact	atggcaacac	aatgataaaa	acatagggcg	tgatgaggat	3300
gataaaaaca	taggcagtga	tgaggatcac	ctgtcactga	aggaattttc	agaattggag	3360
caaagtgggt	attatgtctg	ctaccccaga	ggaagcaaac	cagaagatgc	gaacttttat	3420
ctctacctga	gggcaagagt	gtgtgagaac	tgcatggaga	tggatgtgat	gtcgggtggc	3480
acaattgtca	tagtggacat	ctgcatcact	gggggcttgc	tgctgctggt	ttactactgg	3540
agcaagaata	gaaaggccaa	ggccaagcct	gtgacacgag	gagcgggtgc	tgccggcagg	3600
caaaggggac	aaaacaagga	gaggccacca	cctgttccca	accagacta	tgagcccatc	3660
cggaaaggcc	agcgggacct	gtattctggc	ctgaatcaga	gacgcatctg	ataagaattc	3720
gatccgcggc	cgcgaaggat	ctgcatcgc	tccggtgccc	gtcagtgggc	agagcgcaca	3780
tcgcccacag	tccccgagaa	gttgggggga	ggggtcggca	attgaacggg	tgccatagaga	3840
aggtggcgcg	gggtaactg	ggaaagtgat	gtcgtgtact	ggctccgcct	ttttcccag	3900
ggtgggggag	aaccgtatat	aagtgcagta	gtcggcgtga	acgttctttt	tcgcaacggg	3960
tttgccgcca	gaacacagct	gaagcttcga	ggggctcgca	tctctccttc	acgcgcccgc	4020
cgccctacct	gaggccgcca	tccacgccgg	ttgagtcgcg	ttctgcccgc	tcccgcctgt	4080
ggtgcctcct	gaactgcgtc	cgccgtctag	gtaagtttaa	agctcaggtc	gagaccgggc	4140
ctttgtccgg	cgctcccttg	gagcctacct	agactcagcc	ggctctccac	gctttgectg	4200
accctgcttg	ctcaactcta	cgtctttggt	tcgttttctg	ttctgcccgc	ttacagatcc	4260
aagctgtgac	cggcgcctac	gctagatgac	cgagtacaag	cccacgggtgc	gcctcgccac	4320
ccgcgacgac	gtccccaggg	ccgtacgcac	cctcgcccgc	gcgttcgccc	actaccccgc	4380
cacgcgccac	accgtcgatc	cggaccgcca	catcgagcgg	gtcaccgagc	tgcaagaact	4440
cttctcagc	cgcgtcgggc	tcgacatcgg	caaggtgtgg	gtcgcgggac	acggcgcgcg	4500
ggtggcgggt	tggaccacgc	cggagagcgt	cgaagcgggg	gcggtgttcg	ccgagatcgg	4560
cccgcgcatg	gccgagttga	gcggttcccg	gctggcccgc	cagcaacaga	tggaaggcct	4620
cctggcgccc	caccggccca	aggagcccgc	gtggttcctg	gccaccgctg	gcgtctcgcc	4680
cgaccaccag	ggcaagggtc	tgggcagcgc	cgctcgtgctc	cccggagtgg	aggcggccga	4740
gcgcgcggg	gtgcccgcct	tcctggagac	ctccgcgccc	cgcaacctcc	ccttctacga	4800
gcggctcggc	ttcaccgtca	ccgccgacgt	cgaggtgccc	gaaggaccgc	gcacctggtg	4860
catgaccgcg	aagcccgggt	cctgagtcga	caatcaacct	ctggattaca	aaatttgtga	4920
aagattgact	ggtattctta	actatggtgc	tccttttacg	ctatgtggat	acgctgcttt	4980
aatgcctttg	tatcatgcta	ttgcttcccg	tatggctttc	atcttctcct	ccttgtataa	5040
atcctgggtg	ctgtctcttt	atgaggagtt	gtggcccgtt	gtcaggcaac	gtggcgtggt	5100



gtgcaactgtg	tttgcctgacg	caacccccac	tggttggggc	attgccacca	cctgtcagct	5160
cctttccggg	actttcgctt	tccccctccc	tattgccacg	gcggaactca	tcgccgctg	5220
ccttgccccg	tgctggacag	gggctcggct	gttgggcact	gacaattccg	tggtgttgtc	5280
ggggaaatca	tcgtcctttc	cttggtctgt	cgctctgtgt	gccacctgga	ttctgcgcgg	5340
gacgtccttc	tgctacgtcc	cttcggccct	caatccagcg	gaccttcctt	cccgcggcct	5400
gctgccggct	ctgcggcctc	ttccgcgtct	tcgccttcgc	cctcagacga	gtcggatctc	5460
cctttggggc	gcctccccgc	ctggtacctt	taagaccaat	gacttacaag	gcagctgtag	5520
atcttagcca	ctttttaaaa	gaaaaggggg	gactggaagg	gctaattcac	tccaacgaa	5580
aataagatct	gctttttgct	tgtactgggt	ctctctgggt	agaccagatc	tgagcctggg	5640
agctctctgg	ctaactaggg	aaccactgc	ttaagcctca	ataaagcttg	ccttgagtgc	5700
ttcaagtagt	gtgtgcccgt	ctgttgtgtg	actctggtaa	ctagagatcc	ctcagacct	5760
tttagtcagt	gtggaaaatc	tctagcagta	gtagttcatg	tcctcttatt	attcagtatt	5820
tataacttgc	aaagaaatga	atatcagaga	gtgagaggaa	cttgtttatt	gcagcttata	5880
atggttacia	ataaagcaat	agcatcacia	atctcaciaa	taaagcattt	ttttcactgc	5940
attctagttg	tggtttgtcc	aaactcatca	atgtatctta	tcctgtctgg	ctctagctat	6000
cccgcccta	actccgccca	gttccgccca	ttctccgcc	catggctgac	taatTTTTTT	6060
tatttatgca	gaggccgagg	ccgcctcggc	ctctgagcta	ttccagaagt	agtgaggagg	6120
cttttttggg	ggcctagact	tttgagaga	cgccccaaat	tcgtaatcat	ggcatagct	6180
gtttcctgtg	tgaaattggt	atccgctcac	aattccacac	aacatacgag	ccggaagcat	6240
aaagtgtaaa	gcctgggggtg	cctaatgagt	gagctaactc	acattaattg	cgttgcgctc	6300
actgcccgt	ttccagtcgg	gaaacctgtc	gtgccagctg	cattaatgaa	tcggccaacg	6360
cgcggggaga	ggcggtttgc	gtattggggc	ctcttcgct	tcctcgctca	ctgactcgct	6420
gcgctcggtc	gttcggctgc	ggcgagcgg	atcagctcac	tcaaaggcgg	taatacgggt	6480
atccacagaa	tcaggggata	acgcaggaaa	gaacatgtga	gcaaaaggcc	agcaaaaggc	6540
caggaaccgt	aaaaaggccg	cgttgctggc	gtttttccat	aggctccgcc	cccctgacga	6600
gcatcaciaa	aatcgacgct	caagtcagag	gtggcgaaac	ccgacaggac	tataaagata	6660
ccaggcgttt	ccccctggaa	gctccctcgt	gcgctctcct	gttccgacce	tgccgcttac	6720
cggatacctg	tccgcctttc	tcccttcggg	aagcgtggcg	ctttctcata	gctcacgctg	6780
taggtatctc	agttcgggtg	aggctcgttcg	ctccaagctg	ggctgtgtgc	acgaaccccc	6840
cgttcagccc	gaccgctgcg	ccttatccgg	taactatcgt	cttgagtcca	accggttaag	6900
acacgactta	tcgccactgg	cagcagccac	tggtaacagg	attagcagag	cgaggatagt	6960
aggcgggtgct	acagagttct	tgaagtgggtg	gcctaactac	ggctacacta	gaaggacagt	7020

atttggatc	tgcgctctgc	tgaagccagt	taccttcgga	aaaagagttg	gtagctcttg	7080
atccggcaaa	caaaccaccg	ctggtagcgg	tggttttttt	gtttgcaagc	agcagattac	7140
gcgcaaaaa	aaaggatctc	aagaagatcc	tttgatcttt	tctacggggg	ctgacgctca	7200
gtggaacgaa	aactcacggt	aagggatttt	ggtcatgaga	ttatcaaaaa	ggatcttcac	7260
ctagatcctt	ttaaattaa	aatgaagttt	taaataaatc	taaagtatat	atgagtaaac	7320
ttggtctgac	agttaccaat	gcttaatcag	tgaggcacct	atctcagcga	tctgtctatt	7380
tcgttcaccc	atagttgctt	gactccccgt	cgtgtagata	actacgatac	gggagggcct	7440
accatctggc	cccagtgctg	caatgatacc	gcgagaccca	cgctcaccgg	ctccagattt	7500
atcagcaata	aaccagccag	ccggaagggc	cgagcgcaga	agtggctcctg	caactttatc	7560
cgctccatc	cagtctatta	attggtgccc	ggaagctaga	gtaagtagtt	cgccagttaa	7620
tagtttgccg	aacgttggtg	ccattgctac	aggcatcgtg	gtgtcacgct	cgtcgtttgg	7680
tatggcttca	ttcagctccg	gttcccaacg	atcaaggcga	gttacatgat	ccccatggt	7740
gtgcaaaaa	gcggttagct	ccttcgggtc	tccgatcgtt	gtcagaagta	agttggccgc	7800
agtgttatca	ctcatggtta	tggcagcact	gcataattct	cttactgtca	tgccatccgt	7860
aagatgcttt	tctgtgactg	gtgagtactc	aaccaagtca	ttctgagaat	agtgtatgcg	7920
gcgaccgagt	tgctcttgcc	cggcgtcaat	acgggataat	accgcgccac	atagcagaac	7980
tttaaaagtg	ctcatcattg	gaaaacgttc	ttcggggcga	aaactctcaa	ggatcttacc	8040
gctgttgaga	tccagttcga	tgtaaccac	tcgtgcaccc	aactgatctt	cagcatcttt	8100
tactttcacc	agcgtttctg	ggtgagcaaa	aacaggaagg	caaaatgccg	caaaaaaggg	8160
aataagggcg	acacggaaat	gttgaatact	catactcttc	ctttttcaat	attattgaag	8220
catttatcag	ggttattgtc	tcatgagcgg	atacatattt	gaatgtattt	agaaaaataa	8280
acaaataggg	gttccgcgca	catttccccg	aaaagtgcc	cctgacgtct	aagaaacat	8340
tattatcatg	acattaacct	ataaaaatag	gcgtatcacg	aggccctttc	gtctcgcgcg	8400
tttcggtgat	gacggtgaaa	acctctgaca	catgcagctc	ccggagacgg	tcacagcttg	8460
tctgtaagcg	gatgccggga	gcagacaagc	ccgtcagggc	gcgtcagcgg	gtggtggcgg	8520
gtgtcggggc	tggcttaact	atgcggcatc	agagcagatt	gtactgagag	tgccacatat	8580
gcggtgtgaa	ataccgcaca	gatgcgtaag	gagaaaatac	cgcatcaggc	gccattcgcc	8640
attcaggctg	cgcaactggt	gggaagggcg	atcggtgccg	gcctcttcgc	tattacgcca	8700
gctggcgaaa	gggggatgtg	ctgcaaggcg	attaagttgg	gtaacgccag	ggttttccca	8760
gtcacgacgt	tgtaaacga	cggccagtgc	caagctg			8797

<210> 19

<211> 8722

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид

<400> 19

acgcgtgtag tcttatgcaa tactccttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60
acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taagggtgga	120
cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga	180
attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc	240
tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac cactgctta	300
agcctcaata aagcttgctt tgagtgcttc aagtagtgty tgcccgtctg ttgtgtgact	360
ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg	420
cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct	480
tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt	540
gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcggggggag	600
aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt	660
aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt	720
agaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg	780
atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatcaaag	840
gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag	900
taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg	960
acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag	1020
caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag	1080
ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc	1140
tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga	1200
gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc	1260
aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg	1320
gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata	1380
aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa	1440
ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga	1500
acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa	1560
ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat	1620
agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt	1680

tcagaccac	ctcccaacc	cgaggggacc	cgacaggccc	gaaggaatag	aagaagaagg	1740
tggagagaga	gacagagaca	gatccattcg	attagtgaac	ggatctcgac	ggtatcgggt	1800
aacttttaaa	agaaaagggg	ggattggggg	gtacagtgca	ggggaagaa	tagtagacat	1860
aatagcaaca	gacatacaaa	ctaaagaatt	acaaaaacaa	attacaaaat	tcaaaatttt	1920
atcgatacta	gtattatgcc	cagtacatga	ccttatggga	ctttcctact	tggcagtaca	1980
tctacgtatt	agtcatcgct	attaccatgg	tgatgcgggt	ttggcagtac	atcaatgggc	2040
gtggatagcg	gtttgactca	cggggatttc	caagtctcca	ccccattgac	gtcaatggga	2100
gtttgttttg	gcacaaaaat	caacgggact	ttcaaaaatg	tcgtaacaac	tccgccccat	2160
tgacgcaaat	gggcggtagg	cgtgtacggg	gggaggttta	tataagcaga	gctcgtttag	2220
tgaaccgtca	gatcgcttgg	agacgccatc	cacgctgttt	tgacctccat	agaagattct	2280
agagccgcca	ccatgcttct	cctggtgaca	agccttctgc	tctgtgagtt	accacacca	2340
gcattcctcc	tgatcccaga	catccagatg	acacagacta	catcctcctc	gtctgcctct	2400
ctgggagaca	gagtcacat	cagttgcagg	gcaagtcagg	acattagtaa	atatttaaat	2460
tggtatcagc	agaaaccaga	tggaactggt	aaactcctga	tctaccatac	atcaagatta	2520
cactcaggag	tcccatcaag	gttcagtggc	agtgggtctg	gaacagatta	ttctctcacc	2580
attagcaacc	tggagcaaga	agatattgcc	acttactttt	gccaacaggg	taatacgctt	2640
ccgtacacgt	tcggaggggg	gactaagttg	gaaataacag	gctccacctc	tggatccggc	2700
aagcccggat	ctggcgaggg	atccaccaag	ggcgaggtga	aactgcagga	gtcaggacct	2760
ggcctgggtg	cgccctcaca	gagcctgtcc	gtcacatgca	ctgtctcagg	ggtctcatta	2820
cccgactatg	gtgtaagctg	gattcgccag	cctccacgaa	agggctctgga	gtggctggga	2880
gtaatatggg	gtagtgaaac	cacatactat	aattcagctc	tcaaatccag	actgaccatc	2940
atcaaggaca	actccaagag	ccaagttttc	ttaaaaatga	acagtctgca	aactgatgac	3000
acagccattt	actactgtgc	caaacattat	tactacgggtg	gtagctatgc	tatggactac	3060
tgggggtcaag	gaacctcagt	caccgtctcc	tcagcggccg	caggtggcgg	cggttctggt	3120
ggcggcggtt	ctgggtggcg	cggttctctc	gagcagtcaa	tcaaaggaaa	ccacttggtt	3180
aaggtgatg	actatcaaga	agatggttcg	gtacttctga	cttgtgatgc	agaagccaaa	3240
aatatcacat	ggtttaaaga	tgggaagatg	atcggcttcc	taactgaaga	taaaaaaaaa	3300
tggaatctgg	gaagtaatgc	caaggacca	cgagggatgt	atcagtgtaa	aggatcacag	3360
aacaagtcaa	aaccactcca	agtgtattac	agaatgtgtc	agaactgcat	tgaactaaat	3420
gcagccacca	tatctggctt	tctctttgct	gaaatcgtca	gcattttcgt	ccttgctggt	3480
ggggtctact	tcattgctgg	acaggatgga	gttcgccagt	cgagagcttc	agacaagcag	3540
actctgttgc	ccaatgacca	gctctaccag	cccctcaagg	atcgagaaga	tgaccagtac	3600

agccaccttc	aaggaaacca	gttgaggagg	aattgataag	aattcgatcc	gcggccgcga	3660
aggatctgcg	atcgctccgg	tgcccgtcag	tgggcagagc	gcacatcgcc	cacagtcccc	3720
gagaagtgg	ggggaggggt	cggcaattga	acgggtgcct	agagaaggtg	gcgcggggta	3780
aactgggaaa	gtgatgtcgt	gtactggctc	cgcctttttc	ccgaggggtg	gggagaaccg	3840
tatataagtg	cagtagtcgc	cgtgaacggt	ctttttcgca	acggggttgc	cgccagaaca	3900
cagctgaagc	ttcgaggggc	tcgcatctct	ccttcacgcy	cccgcgcgcc	tacctgagge	3960
cgccatccac	gccggttgag	tcgcttctg	ccgcctcccg	cctgtggtgc	ctcctgaact	4020
gcgtccgccc	tctaggtgag	tttaaagctc	aggctcgagac	cgggcctttg	tccggcgctc	4080
ccttgagacc	tacctagact	cagccggctc	tccacgcttt	gcctgaccct	gcttgetcaa	4140
ctctacgtct	ttgtttcggt	ttctgttctg	cgccgttaca	gatccaagct	gtgaccggcg	4200
cctacgctag	atgaccgagt	acaagcccac	ggtgcgctc	gccaccgcgc	acgacgtccc	4260
cagggccgta	cgcaccctcg	ccgccgcggt	cgccgactac	cccgccacgc	gccacaccgt	4320
cgatccggac	cgccacatcg	agcgggtcac	cgagctgcaa	gaactcttcc	tcacgcgcgt	4380
cgggctcgac	atcggaagg	tgtgggtcgc	ggacgacggc	gccgcgggtg	cggtctggac	4440
cacgccggag	agcgtcgaag	cgggggcggt	gttcgcccag	atcgggccgc	gcatggccga	4500
gttgagcgg	tcccggctgg	ccgcgcagca	acagatggaa	ggcctcctgg	cgccgcaccg	4560
gccaaggag	cccgcgtggt	tcctggccac	cgtcggcgct	tcgcccgacc	accagggcaa	4620
gggtctgggc	agcgcgcgct	tgctccccgg	agtggaggcg	gccgagcgcg	ccgggggtgcc	4680
cgccttctct	gagacctccg	cgccccgcaa	cctccccctc	tacgagcggc	tcggcttcac	4740
cgtcaccgcc	gacgtcgagg	tgcccgaagg	accgcgcacc	tgggtgatga	cccgaagcc	4800
cgggtgcctga	gtcgacaatc	aacctctgga	ttacaaaatt	tgtgaaagat	tgactggtat	4860
tcttaactat	gttgctcctt	ttacgctatg	tggatacgct	gctttaatgc	ctttgtatca	4920
tgctattgct	tcccgtatgg	ctttcatttt	ctcctccttg	tataaatcct	ggttgctgct	4980
tctttatgag	gagttgtggc	ccgttgtcag	gcaacgtggc	gtggtgtgca	ctgtgtttgc	5040
tgacgcaacc	cccactgggt	ggggcattgc	caccacctgt	cagctccttt	ccgggacttt	5100
cgctttcccc	ctccctattg	ccacggcgga	actcatcgcc	gcctgccttg	cccgtgctg	5160
gacaggggct	cggctggtgg	gcactgacaa	ttccgtgggt	ttgtcgggga	aatcatcgct	5220
ctttccttgg	ctgctcgctt	gtgttgccac	ctggattctg	cgcgggacgt	ccttctgcta	5280
cgctccctcg	gccctcaatc	cagcggacct	tccttcccgc	ggcctgctgc	cggctctgcg	5340
gcctcttccg	cgtcttcgcc	ttcgccctca	gacgagtcgg	atctcccttt	gggcgcctc	5400
cccgcctgg	acctttaaga	ccaatgactt	acaaggcagc	tgtagatctt	agccactttt	5460
taaaagaaaa	ggggggactg	gaagggctaa	ttcactccca	acgaaaataa	gatctgcttt	5520

ttgcttgtag	tgggtctctc	tggtagacc	agatctgagc	ctgggagctc	tctggctaac	5580
tagggaacc	actgcttaag	cctcaataaa	gcttgccctg	agtgcctcaa	gtagtgtgtg	5640
cccgtctgtt	gtgtgactct	ggtaactaga	gatccctcag	acccttttag	tcagtgtgga	5700
aatctctag	cagtagtagt	tcatgtcatc	ttattattca	gtatttataa	cttgcaaaga	5760
aatgaatatac	agagagttag	aggaacttgt	ttattgcagc	ttataatggt	tacaaataaa	5820
gcaatagcat	cacaaatttc	acaaataaag	catttttttc	actgcattct	agttgtgggt	5880
tgtccaaact	catcaatgta	tcttatcatg	tctggctcta	gctatcccgc	ccctaactcc	5940
gccagttcc	gccattctc	cgccccatgg	ctgactaatt	ttttttat	atgcagagggc	6000
cgaggccgcc	tcggcctctg	agctattcca	gaagtagtga	ggaggctttt	ttggaggcct	6060
agacttttgc	agagacggcc	caaattcgta	atcatggcca	tagctgtttc	ctgtgtgaaa	6120
ttgttatccg	ctcacaattc	cacacaacat	acgagccgga	agcataaagt	gtaaagcctg	6180
gggtgcctaa	tgagttagct	aactcacatt	aattgcgttg	cgctcactgc	ccgctttcca	6240
gtcgggaaac	ctgtcgtgcc	agctgcatta	atgaatcggc	caacgcgcgg	ggagaggcgg	6300
tttgcgtatt	gggcgctctt	ccgcttctc	gctcactgac	tcgctgcgct	cggtcgttcg	6360
gctgcggcga	gcggtatcag	ctcactcaaa	ggcggttaata	cggttatcca	cagaatcagg	6420
ggataacgca	ggaaagaaca	tgtgagcaaa	aggccagcaa	aaggccagga	accgtaaaaa	6480
ggccgcggtg	ctggcgtttt	tccataggct	ccgccccct	gacgagcatc	acaaaaatcg	6540
acgctcaagt	cagaggtggc	gaaacccgac	aggactataa	agataaccagg	cgtttcccc	6600
tggaagctcc	ctcgtgcgct	ctcctgttcc	gaccctgccg	cttaccggat	acctgtccgc	6660
ctttctccct	tcgggaagcg	tggcgctttc	tcatagctca	cgctgtaggt	atctcagttc	6720
ggtgtaggtc	gttcgctcca	agctgggctg	tgtgcacgaa	cccccgttc	agcccgaccg	6780
ctgcgcctta	tccggtaact	atcgtcttga	gtccaaccgc	gtaagacacg	acttatcgcc	6840
actggcagca	gccactggta	acaggattag	cagagcgagg	tatgtaggcg	gtgctacaga	6900
gttcttgaag	tgggtggccta	actacggcta	cactagaagg	acagtatttg	gtatctgcgc	6960
tctgctgaag	ccagttacct	tcggaaaaag	agttggtagc	tcttgatccg	gcaaacaaac	7020
caccgctggt	agcggtggtt	ttttgtttg	caagcagcag	attacgcgca	gaaaaaaagg	7080
atctcaagaa	gatcctttga	tcttttctac	ggggtctgac	gctcagtggg	acgaaaactc	7140
acgttaaggg	atthttgtca	tgagattatc	aaaaaggatc	ttcacctaga	tccttttaaa	7200
ttaaaaatga	agtttttaaat	caatctaaag	tatatatgag	taaacttggt	ctgacagtta	7260
ccaatgctta	atcagttagg	cacctatctc	agcgatctgt	ctatttcggt	catccatagt	7320
tgctgactc	cccgtcgtgt	agataactac	gatacgggag	ggcttaccat	ctggccccag	7380
tgctgcaatg	ataccgcgag	accacgcctc	accggctcca	gatttatcag	caataaacca	7440

gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg tcctgcaact ttatccgcct ccatccagtc 7500  
 tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt 7560  
 tgttgccatt gctacaggca tcgtgggtgc acgctcgtcg tttggtatgg cttcattcag 7620  
 ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac atgatcccc atggttgca aaaaagcggc 7680  
 tagctccttc ggtcctccga tcgttggtcag aagtaagttg gccgcagtgt taccactcat 7740  
 ggttatggca gcaactgcata attctcttac tgtcatgcca tccgtaagat gcttttctgt 7800  
 gactgggtgag tactcaacca agtcattctg agaatagtgt atgccccgac cgagttgctc 7860  
 ttgcccggcg tcaatcggg ataataccgc gccacatagc agaactttaa aagtgtcat 7920  
 cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag 7980  
 ttcgatgtaa cccactcgtg cacccaactg atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt 8040  
 ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa tgccgcaaaa aagggaataa gggcgacacg 8100  
 gaaatgttga atactcatac tcttcctttt tcaatattat tgaagcattt atcagggtta 8160  
 ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg tatttagaaa aataa caaaa taggggttcc 8220  
 gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga cgtctaagaa accattatta tcatgacatt 8280  
 aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc ctttcgtctc gcgcgtttcg gtgatgacgg 8340  
 tgaaaacctc tgacacatgc agctcccgga gacggtcaca gcttgtctgt aagcggatgc 8400  
 cgggagcaga caagcccgtc agggcgcgtc agcgggtggt ggcgggtgtc ggggctggct 8460  
 taactatgcg gcatcagagc agattgtact gagagtgcac catatgcggg gtgaaatacc 8520  
 gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat caggcgccat tcgccattca ggctgcgcaa 8580  
 ctggtgggaa gggcgatcgg tgcgggcctc ttcgctatta cgccagctgg cgaaaggggg 8640  
 atgtgctgca aggcgattaa gttgggtaac gccagggttt tcccagtcac gacgttgtaa 8700  
 aacgacggcc agtgccaagc tg 8722

<210> 20

<211> 8692

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид

<400> 20

acgctgttag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca 60  
 acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgccga ttggtggaag taaggtggta 120  
 cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga 180  
 attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc 240  
 tctgggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actaggggaa ccaactgctta 300

agcctcaata aagcttgctt tgagtgcttc aagtagtggtg tgcccgtctg ttgtgtgact	360
ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg	420
cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct	480
tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatfff	540
gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgagagagc gtcagtatta agcggggggag	600
aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggtt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt	660
aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt	720
agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg	780
atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatacaag	840
gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag	900
taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg	960
acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag	1020
caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag	1080
ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc	1140
tgacggtaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga	1200
gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc	1260
aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg	1320
gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata	1380
aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa	1440
ttacacaagc ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccagcaag aaaagaatga	1500
acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattggttta acataacaaa	1560
ttggctgtgg tatataaaat tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat	1620
agtttttgct gtacttttcta tagtgaatag agttaggcag ggatattcac cattatcgtt	1680
tcagaccac ctcccaaccc cgaggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg	1740
tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatctcgac ggtatcggtt	1800
aacttttaaa agaaaagggg ggattggggg gtacagtgca ggggaaagaa tagtagacat	1860
aatagcaaca gacatacaaa ctaaagaatt acaaaaacaa attacaaaat tcaaaatfff	1920
atcgatacta gtattatgcc cagtacatga ctttatggga ctttctact tggcagtaca	1980
tctacgtatt agtcatcgct attacatgg tgatgcgggt ttggcagtac atcaatgggc	2040
gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca cccattgac gtcaatggga	2100
gtttgttttg gcaccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat	2160
tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacggg gggaggttta tataagcaga gctcgtttag	2220



tgaaccgtca gatcgctgg agacgccatc cacgctgttt tgacctccat agaagattct	2280
agagccgcca ccatgcttct cctggtgaca agccttctgc tctgtgagtt accacaccca	2340
gcattcctcc tgatcccaga catccagatg acacagacta catcctccct gtctgcctct	2400
ctgggagaca gagtcacat cagttgcagg gcaagtcagg acattagtaa atattttaat	2460
tggatatcagc agaaaccaga tggaaactgtt aaactcctga tctaccatac atcaagatta	2520
cactcaggag tcccatcaag gttcagtggc agtgggtctg gaacagatta ttctctcacc	2580
attagcaacc tggagcaaga agatattgcc acttactttt gccaacaggg taatacgctt	2640
ccgtacacgt tcggaggggg gactaagttg gaaataacag gctccacctc tggatccggc	2700
aagcccggat ctggcgaggg atccaccaag ggcgaggtga aactgcagga gtcaggacct	2760
ggcctggtgg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta	2820
cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga	2880
gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc	2940
atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac	3000
acagccattt actactgtgc caaacattat tactacgggtg gtagctatgc tatggactac	3060
tggggctcaag gaacctcagt caccgtctcc tcagcggccg caggtggcgg cggttctggt	3120
ggcggcgggt ctggtggcgg cggttctctc gagttcaaga tacctataga ggaacttgag	3180
gacagagtgt ttgtgaattg caataccagc atcacatggg tagagggaac ggtgggaaca	3240
ctgctctcag acattacaag actggacctg ggaaaacgca tcctggacct acgaggaata	3300
tataggtgta atgggacaga tatatacaag gacaaagaat ctaccgtgca agttcattat	3360
cgaatgtgcc agagctgtgt ggagctggat ccagccaccg tggctggcat cattgtcact	3420
gatgtcattg cactctgct ccttgctttg ggagtcttct gctttgctgg acatgagact	3480
ggaaggctgt ctggggctgc cgacacacaa gctctgttga ggaatgacca ggtctatcag	3540
ccctccgag atcgagatga tgctcagtac agccacctg gaggaaactg ggtcgggaac	3600
aagtgataag aattcgatcc gcgccgcga aggatctgcg atcgctccgg tgcccgtcag	3660
tgggcagagc gcacatcgcc cacagtcccc gagaagttgg ggggaggggt cggcaattga	3720
acgggtgcct agagaagggt gcgcggggta aactgggaaa gtgatgtcgt gtactggctc	3780
cgctttttc ccgaggggtg gggagaaccg tatataagtg cagtagtcgc cgtgaacggt	3840
ctttttcgca acgggtttgc cgccagaaca cagctgaagc ttcgaggggc tcgcatctct	3900
ccttcacgcg cccgccgcc tacctgaggc cgccatccac gccggttgag tcgcgttctg	3960
ccgcctccc cctgtggtgc ctctgaact gcgtccgccg tctaggtaag tttaaagctc	4020
aggctgagac cgggcctttg tccggcgctc ccttggagcc tacctagact cagccggctc	4080
tccacgcttt gcctgacct gcttgctcaa ctctacgtct ttgtttcgtt ttctgttctg	4140

cgccgttaca gatccaagct gtgaccggcg cctacgctag atgaccgagt acaagcccac	4200
ggtgcgcctc gccacccgcg acgacgtccc cagggccgta cgcaccctcg ccgcccgcgtt	4260
cgccgactac cccgccacgc gccacaccgt cgatccggac cgccacatcg agcgggtcac	4320
cgagctgcaa gaactcttcc tcacgcgcgt cgggctcgac atcggcaagg tgtgggtcgc	4380
ggacgacggc gccgcggtgg cggctctggac cacgccggag agcgtcgaag cgggggcggt	4440
gttcgcccag atcggcccgc gcatggccga gttgagcggg tcccggctgg ccgvcagca	4500
acagatggaa ggctcctcgg cgccgcaccg gcccaaggag cccgcgtggt tccctggccac	4560
cgtcggcgtc tcgcccgacc accagggcaa gggctctgggc agcgcctcgc tgctccccgg	4620
agtggaggcg gccgagcgcg ccgggggtgcc cgccttcctg gagacctccg cgccccgcaa	4680
cctccccttc tacgagcggc tcggcttcac cgtcaccgcc gacgtcagag tgcccgaagg	4740
accgvcacc tggatcatga cccgcaagcc cggatgctga gtcgacaatc aacctctgga	4800
ttacaaaatt tgtgaaagat tgactggtat tcttaactat gttgctcctt ttacgctatg	4860
tggatacgct gctttaatgc ctttgtatca tgctattgct tcccgtatgg ctttcatttt	4920
ctcctccttg tataaatcct ggttgctgtc tctttatgag gagttgtggc ccgttgtcag	4980
gcaacgtggc gtgggtgtgca ctgtgtttgc tgacgcaacc cccactgggt ggggcattgc	5040
caccacctgt cagctccttt ccgggacttt cgctttcccc ctccctattg ccacggcgga	5100
actcatgcc gcctgccttg cccgctgctg gacaggggct cggctggtgg gcactgacaa	5160
ttccgtggtg ttgtcgggga aatcatcgtc ctttccttgg ctgctcgcct gtgttgccac	5220
ctggattctg cgccggacgt ccttctgcta cgtcccttcg gccctcaatc cagcggacct	5280
tccttcccgc ggctgctgc cggctctgcg gcctcttcgg cgtcttcgcc ttcgcctca	5340
gacgagtcgg atctcccttt gggccgcctc cccgcctggt acctttaaga ccaatgactt	5400
acaaggcagc tgtagatctt agccactttt taaaagaaaa ggggggactg gaagggctaa	5460
ttactccca acgaaaataa gatctgcttt ttgcttgtag tgggtctctc tggttagacc	5520
agatctgagc ctgggagctc tctggctaac tagggaacct actgcttaag cctcaataaa	5580
gcttgccctg agtgcttcaa gtagtggtg cccgtctggt gtgtgactct ggtaactaga	5640
gatccctcag acccttttag tcagtgtgga aaatctctag cagtagtagt tcatgtcatc	5700
ttattattca gtatttataa cttgcaaaga aatgaatata agagagtgag aggaacttgt	5760
ttattgcagc ttataatggt tacaaataaa gcaatagcat cacaaatttc acaaataaag	5820
catttttttc actgcattct agttgtgggt tgtccaaact catcaatgta tcttatcatg	5880
tctggctcta gctatcccgc ccctaactcc gccagttcc gccattctc cgccccatgg	5940
ctgactaatt ttttttattt atgcagaggc cgaggccgcc tcggcctctg agctattcca	6000
gaagtagtga ggaggctttt ttggaggcct agacttttgc agagacggcc caaatcgtgta	6060

atcatggtca	tagctgtttc	ctgtgtgaaa	ttgttatccg	ctcacaatc	cacacaacat	6120
acgagccgga	agcataaagt	gtaaagcctg	gggtgcctaa	tgagtgagct	aactcacatt	6180
aattgcgttg	cgctcactgc	ccgctttcca	gtcgggaaac	ctgtcgtgcc	agctgcatta	6240
atgaatcggc	caacgcgcgg	ggagaggcgg	tttgcgtatt	gggcgctctt	ccgcttcctc	6300
gctcactgac	tcgctgcgct	cggtcgttcg	gctgcggcga	gcggtatcag	ctcactcaaa	6360
ggcggtaata	cggttatcca	cagaatcagg	ggataacgca	ggaaagaaca	tgtgagcaaa	6420
aggccagcaa	aaggccagga	accgtaaaaa	ggccgcgttg	ctggcgTTTT	tccataggct	6480
ccgccccct	gacgagcatc	acaaaaatcg	acgctcaagt	cagaggtggc	gaaacccgac	6540
aggactataa	agataccagg	cgTTTTcccc	tggaagctcc	ctcgtgcgct	ctcctgttcc	6600
gacctgccc	cttaccggat	acctgtccgc	ctttctccct	tcgggaagcg	tggcgctttc	6660
tcatagctca	cgctgtaggt	atctcagttc	ggtgtaggtc	gttcgctcca	agctgggctg	6720
tgtgcacgaa	cccccgttc	agccccgaccg	ctgcgcctta	tccggtaact	atcgtcttga	6780
gtccaacccg	gtaagacacg	acttatcgcc	actggcagca	gccactggta	acaggattag	6840
cagagcgagg	tatgtaggcg	gtgctacaga	gttcttgaag	tgggtggccta	actacggcta	6900
cactagaagg	acagtatttg	gtatctgcgc	tctgctgaag	ccagttacct	tcggaaaaag	6960
agttggtagc	tcttgatccg	gcaaacaac	caccgctggt	agcggtggtt	TTTTTgtttg	7020
caagcagcag	attacgcgca	gaaaaaaagg	atctcaagaa	gatcctttga	tcttttctac	7080
ggggctcgac	gctcagtgga	acgaaaactc	acgttaaggg	atTTTgttca	tgagattatc	7140
aaaaaggatc	ttcacctaga	tccttttaaa	ttaaaaatga	agTTTTaaat	caatctaaag	7200
tatatatgag	taaacttggg	ctgacagtta	ccaatgctta	atcagtgagg	cacctatctc	7260
agcgatctgt	ctatttcggt	catccatagt	tgctgactc	cccgtcgtgt	agataactac	7320
gatacgggag	ggcttaccat	ctggccccag	tgctgcaatg	ataccgcgag	accacgcctc	7380
accggctcca	gatttatcag	caataaacca	gccagccgga	agggccgagc	gcagaagtgg	7440
tcctgcaact	ttatccgct	ccatccagtc	tattaattgt	tgccgggaag	ctagagtaag	7500
tagttcgcca	gttaatagtt	tgcgcaacgt	tgttgccatt	gctacaggca	tcgtggtgtc	7560
acgctcgtcg	tttgggatgg	cttcattcag	ctccggttcc	caacgatcaa	ggcgagttac	7620
atgatcccc	atgTTgtgca	aaaaagcggg	tagctccttc	ggTcctccga	tcgTTgtcag	7680
aagtaagttg	gccgcagtgt	tatcactcat	ggttatggca	gcactgcata	attctcttac	7740
tgatcatgcca	tccgtaagat	gcttttctgt	gactggtgag	tactcaacca	agtcattctg	7800
agaatagtgt	atgcggcgac	cgagttgctc	ttgcccggcg	tcaatacggg	ataataccgc	7860
gccacatagc	agaactttaa	aagtgtcat	cattggaaaa	cgTtcttcgg	ggcgaaaact	7920
ctcaaggatc	ttaccgctgt	tgagatccag	ttcgatgtaa	cccactcgtg	cacccaactg	7980

atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa 8040  
tgccgcaaaa aagggataa gggcgacacg gaaatgttga atactcatac tcttcctttt 8100  
tcaatattat tgaagcattt atcagggtta ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg 8160  
tatttagaaa aataaaciaa taggggttcc gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga 8220  
cgtctaagaa accattatta tcatgacatt aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc 8280  
ctttcgtctc gcgcgttttcg gtgatgacgg tgaaaacctc tgacacatgc agctcccgga 8340  
gacggtcaca gcttgtctgt aagcggatgc cgggagcaga caagcccgtc agggcgcgtc 8400  
agcgggtggt ggcgggtgtc ggggctggct taactatgcy gcatcagagc agattgtact 8460  
gagagtgcac catatgcygt gtgaaatacc gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat 8520  
caggcgccat tcgccattca ggctgcgcaa ctgttgggaa gggcgatcgg tgccggcctc 8580  
ttcgctatta cgccagctgg cgaaaggggg atgtgctgca aggcgattaa gttgggtaac 8640  
gccagggttt tcccagtcac gacgttgtaa aacgacggcc agtgccaagc tg 8692

<210> 21

<211> 9133

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид

<400> 21

acgctgttag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca 60  
acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcatgccga ttggtggaag taaggtggta 120  
cgatcgtgcc ttattagaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga 180  
attgccgcat tgcaagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc 240  
tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actaggggaa ccaactgctta 300  
agcctcaata aagcttgctt tgagtgtctc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact 360  
ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg 420  
cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct 480  
tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatctt 540  
gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgagagagc gtcagtatta agcggggggag 600  
aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt 660  
aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt 720  
agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg 780  
atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcatcaaag 840

gatagagata	aaagacacca	aggaagcttt	agacaagata	gaggaagagc	aaaacaaaag	900
taagaccacc	gcacagcaag	cggccactga	tcttcagacc	tggaggagga	gatatgaggg	960
acaattggag	aagtgaatta	tataaatata	aagtagtaaa	aattgaacca	ttaggagtag	1020
caccaccaa	ggcaaagaga	agagtgggtc	agagagaaaa	aagagcagtg	ggaataggag	1080
ctttgttct	tgggttcttg	ggagcagcag	gaagcactat	gggcgcagcc	tcaatgacgc	1140
tgacggtaca	ggccagacaa	ttattgtctg	gtatagtgca	gcagcagaac	aatttgctga	1200
gggctattga	ggcgcaacag	catctgttgc	aactcacagt	ctggggcctc	aagcagctcc	1260
aggcaagaat	cctggctgtg	gaaagatacc	taaaggatca	acagctcctg	gggatttggg	1320
gttgctctgg	aaaactcatt	tgaccactg	ctgtgccttg	gaatgctagt	tggagtaata	1380
aatctctgga	acagattgga	atcacacgac	ctggatggag	tgggacagag	aaattaacaa	1440
ttacacaagc	ttaatacact	ccttaattga	agaatcgcaa	aaccagcaag	aaaagaatga	1500
acaagaatta	ttggaattag	ataaatgggc	aagtttgtgg	aattggttta	acataacaaa	1560
ttggctgtgg	tatataaaat	tattcataat	gatagtagga	ggcttggtag	gtttaagaat	1620
agtttttgct	gtactttcta	tagtgaatag	agttaggcag	ggatattcac	cattatcgtt	1680
tcagaccac	ctcccaacc	cgaggggacc	cgacaggccc	gaaggaatag	aagaagaagg	1740
tggagagaga	gacagagaca	gatccattcg	attagtgaac	ggatctcgac	ggtatcggtt	1800
aacttttaa	agaaaagggg	ggattggggg	gtacagtgca	ggggaagaa	tagtagacat	1860
aatagcaaca	gacatacaaa	ctaaagaatt	acaaaaacaa	attacaaaat	tcaaaatttt	1920
atcgatacta	gtattatgcc	cagtacatga	ccttatggga	ctttcctact	tggcagtaca	1980
tctacgtatt	agtcatcgct	attaccatgg	tgatgcgggt	ttggcagtac	atcaatgggc	2040
gtggatagcg	gtttgactca	cggggatttc	caagtctcca	ccccattgac	gtcaatggga	2100
gtttgttttg	gcacaaaat	caacgggact	ttccaaaatg	tcgtaacaac	tccgccccat	2160
tgacgcaaat	gggcggtagg	cgtgtacggt	gggaggttta	tataagcaga	gctcgtttag	2220
tgaaccgtca	gatcgcttgg	agacgccatc	cacgctgttt	tgacctccat	agaagattct	2280
agagccgcca	ccatgcttct	cctggtgaca	agccttctgc	tctgtgagtt	accacacca	2340
gcattcctcc	tgatcccaga	catccagatg	acacagacta	catcctccct	gtctgcctct	2400
ctgggagaca	gagtcacat	cagttgcagg	gcaagtcagg	acattagtaa	atatttaaat	2460
tggtatcagc	agaaaccaga	tggaactggt	aaactcctga	tctaccatac	atcaagatta	2520
cactcaggag	tcccatcaag	gttcagtggc	agtgggtctg	gaacagatta	ttctctcacc	2580
attagcaacc	tggagcaaga	agatattgcc	acttactttt	gccaacaggg	taatacgctt	2640
ccgtacacgt	tcggaggggg	gactaagttg	gaaataacag	gctccacctc	tggatccggc	2700
aagccccgat	ctggcgaggg	atccaccaag	ggcgaggtga	aactgcagga	gtcaggacct	2760

ggcctggtgg	cgccctcaca	gagcctgtcc	gtcacatgca	ctgtctcagg	ggtctcatta	2820
cccgactatg	gtgtaagctg	gattcgccag	cctccacgaa	agggctctgga	gtggctggga	2880
gtaatatggg	gtagtgaaac	cacatactat	aattcagctc	tcaaatccag	actgaccatc	2940
atcaaggaca	actccaagag	ccaagttttc	ttaaaaatga	acagtctgca	aactgatgac	3000
acagccattt	actactgtgc	caaacattat	tactacgggtg	gtagctatgc	tatggactac	3060
tgggggtcaag	gaacctcagt	caccgtctcc	tcagcggccg	caggtggcgg	cggttctggt	3120
ggcggcgggt	ctgggtggcg	cggttctctc	gagctgggag	caggcccagt	ggattctgga	3180
gtcacacaaa	ccccaaagca	cctgatcaca	gcaactggac	agcgagtgac	gctgagatgc	3240
tcccctaggt	ctggagacct	ctctgtgtca	tggtaccaac	agagcctgga	ccagggcctc	3300
cagttcctca	ttcagtatta	taatggagaa	gagagagcaa	aaggaaacat	tcttgaacga	3360
ttctccgcac	aacagttccc	tgacttgcac	tctgaactaa	acctgagctc	tctggagctg	3420
ggggactcag	ctttgtatth	ctgtgccagc	agccccgga	caggcctgaa	cactgaagct	3480
ttctttggac	aaggcaccag	actcacagtt	gtagaggacc	tgaacaaggt	gttcccaccc	3540
gaggtcgctg	tgtttgagcc	atcagaagca	gagatctccc	acacccaaaa	ggccacactg	3600
gtgtgcctgg	ccacaggctt	cttccccgac	cacgtggagc	tgagctgggtg	ggtgaatggg	3660
aaggaggtgc	acagtggggt	cagcacggac	ccgcagcccc	tcaaggagca	gcccgccttc	3720
aatgactcca	gatactgcct	gagcagccgc	ctgaggggtct	cggccacctt	ctggcagaac	3780
ccccgcaacc	acttccgctg	tcaagtccag	ttctacgggc	tctcggagaa	tgacgagtgg	3840
accaggata	gggccaacc	cgtcaccag	atcgtcagcg	ccgaggcctg	gggtagagca	3900
gactgtggct	ttacctcggg	gtcctaccag	caaggggtcc	tgtctgccac	catcctctat	3960
gagatcctgc	tagggaaggc	caccctgtat	gctgtgctgg	tcagcgcctt	tgtgttgatg	4020
gcatggtca	agagaaagga	tttctgataa	gaattcgatc	cgcgcccgcg	aaggatctgc	4080
gatcgctccg	gtgcccgtca	gtgggcagag	cgcacatcgc	ccacagtccc	cgagaagtgg	4140
gggggagggg	tcggcaattg	aacgggtgcc	tagagaaggt	ggcgcggggt	aaactgggaa	4200
agtgatgtcg	tgtactggct	ccgccttttt	cccgaggggtg	ggggagaacc	gtatataagt	4260
gcagtagtgc	ccgtgaacgt	tctttttcgc	aacgggtttg	ccgccagaac	acagctgaag	4320
cttcgagggg	ctcgcattct	tccttcacgc	gcccgcgcgc	ctacctgagg	ccgccatcca	4380
cgccggttga	gtcgcgttct	gccgcctccc	gcctgtgggtg	cctcctgaac	tgcgctccgc	4440
gtctaggtaa	gtttaaagct	caggtcgaga	ccgggccttt	gtccggcgct	cccttggagc	4500
ctacctagac	tcagccggct	ctccacgctt	tgcttgacct	tgcttgctca	actctacgtc	4560
tttgtttcgt	tttctgttct	gcgcctttac	agatccaagc	tgtgaccggc	gcctacgcta	4620
gatgaccgag	tacaagccca	cggtgcgcct	cgccaccgcg	gacgacgtcc	ccagggcctg	4680

acgcacctc gccgccgct tcgccgacta ccccgccacg cgccacaccg tcgatccgga	4740
ccgccacatc gagcgggtca ccgagctgca agaactcttc ctcacgcgcg tcgggctcga	4800
catcggcaag gtgtgggtcg cggacgacgg cgccgcggtg gcggtctgga ccacgccgga	4860
gagcgtcga gcgggggcgg tgttcgccga gatcggcccg cgcatggccg agttgagcgg	4920
ttcccggctg gccgcgcagc aacagatgga aggcctcctg gcgccgcacc ggcccaagga	4980
gcccgcgtgg ttcttgcca ccgtcggcgt ctcgcccagc caccagggca agggctctggg	5040
cagcgcctc gtgctccccg gagtggaggc ggccgagcgc gccgggggtgc ccgccttct	5100
ggagacctc gcgccccga acctcccctt ctacgagcgg ctcggcttca ccgtcaccgc	5160
cgacgtcag gtgcccgaag gaccgcgcac ctggtgcatg acccgcaagc ccggtgcctg	5220
agtcgacaat caacctctgg attacaaaat ttgtgaaaga ttgactggta ttcttaacta	5280
tgttgctcct tttacgctat gtggatacgc tgctttaatg cctttgtatc atgctattgc	5340
ttcccgtatg gctttcattt tctcctcctt gtataaatcc tggttgctgt ctctttatga	5400
ggagttgtgg cccgttgtca ggcaacgtgg cgtggtgtgc actgtgtttg ctgacgcaac	5460
ccccactggg tggggcattg ccaccacctg tcagctcctt tccgggactt tcgctttccc	5520
cctccctatt gccacggcgg aactcatcgc cgctgcctt gcccgctgct ggacagggggc	5580
tcggctgttg ggcactgaca attccgtggg gttgtcgggg aaatcatcgt cctttccttg	5640
gctgctcgc tgtgttgcca cctggattct gcgcgggacg tccttctgct acgtcccttc	5700
ggcctcaat ccagcggacc ttccttcccg cggcctgctg ccggctctgc ggcctcttc	5760
gcgtcttcgc cttcgcctc agacgagtcg gatctccctt tgggcgcct ccccgctgg	5820
taccttaag accaatgact tacaaggcag ctgtagatct tagccacttt ttaaaagaaa	5880
aggggggact ggaagggcta attcactccc aacgaaaata agatctgctt tttgcttgta	5940
ctgggtctct ctggttagac cagatctgag cctgggagct ctctggctaa ctagggaacc	6000
cactgcttaa gcctcaataa agcttgccct gagtgcttca agtagtgtgt gcccgctgt	6060
tgtgtgactc tggtaactag agatccctca gaccctttta gtcagtgtgg aaaatctcta	6120
gcagtagtag ttcatgtcat cttattattc agtatttata acttgcaaag aatgaatat	6180
cagagagtga gaggaacttg tttattgcag cttataatgg ttacaaataa agcaatagca	6240
tcacaaattt cacaaataaa gcattttttt cactgcattc tagttgtggg ttgtccaaac	6300
tcatcaatgt atcttatcat gtctggctct agctatcccg cccctaactc cgcccagttc	6360
cgcccattct ccgccccatg gctgactaat tttttttatt tatgcagagg ccgaggccgc	6420
ctcggcctct gagctattcc agaagtagtg aggaggcttt tttggaggcc tagacttttg	6480
cagagacggc ccaaattcgt aatcatggtc atagctgttt cctgtgtgaa attgttatcc	6540
gctcacaatt ccacacaaca tacgagccgg aagcataaag tgtaaagcct ggggtgccta	6600

atgagtgagc	taactcacat	taattgcggt	gcgctcactg	cccgccttcc	agtcgggaaa	6660
cctgtcgtgc	cagctgcatt	aatgaatcgg	ccaacgcgcg	gggagaggcg	gtttgcgtat	6720
tgggcgctct	tccgcttctt	cgctcactga	ctcgtcgcgc	tcggtcgttc	ggctgcggcg	6780
agcggtatca	gctcactcaa	aggcggtaat	acggttatcc	acagaatcag	gggataacgc	6840
aggaaagaac	atgtgagcaa	aaggccagca	aaaggccagg	aaccgtaaaa	aggccgcggt	6900
gctggcggtt	ttccataggc	tccgcccccc	tgacgagcat	cacaaaaatc	gacgctcaag	6960
tcagaggtgg	cgaaacccga	caggactata	aagataccag	gcgtttcccc	ctggaagctc	7020
cctcgtgcgc	tctcctgttc	cgaccctgcc	gcttaccgga	tacctgtccg	cctttctccc	7080
ttcgggaagc	gtggcgcttt	ctcatagctc	acgctgtagg	tatctcagtt	cggtgtaggt	7140
cgttcgtctc	aagctgggct	gtgtgcacga	acccccggtt	cagccccgacc	gctgcgcctt	7200
atccggtaac	tatcgtcttg	agtccaacct	ggtaagacac	gacttatcgc	cactggcagc	7260
agccactggg	aacaggatta	gcagagcgag	gtatgtaggc	ggtgctacag	agttcttgaa	7320
gtggtggcct	aactacggct	acactagaag	gacagtattt	ggtatctgcg	ctctgctgaa	7380
gccagttacc	ttcggaaaaa	gagttggtag	ctcttgatcc	ggcaaaaaaa	ccaccgctgg	7440
tagcgggtgg	ttttttgttt	gcaagcagca	gattacgcgc	agaaaaaaag	gatctcaaga	7500
agatcctttg	atcttttcta	cggggtctga	cgctcagtg	aacgaaaact	cacgttaagg	7560
gattttggtc	atgagattat	caaaaaggat	cttcacctag	atccttttaa	attaaaaatg	7620
aagttttaa	tcaatctaaa	gtatatatga	gtaaacttgg	tctgacagtt	accaatgctt	7680
aatcagtgag	gcacctatct	cagcgatctg	tctatttcgt	tcatecatag	ttgcctgact	7740
ccccgtcgtg	tagataacta	cgatacggga	gggcttacca	tctggccccca	gtgctgcaat	7800
gataccgcga	gaccacgct	caccggctcc	agatttatca	gcaataaacc	agccagccgg	7860
aagggccgag	cgcagaagtg	gtcctgcaac	tttatccgcc	tccatccagt	ctattaattg	7920
ttgccgggaa	gctagagtaa	gtagttcgcc	agttaatagt	ttgcgcaacg	ttgttgccat	7980
tgctacaggc	atcgtggtgt	cacgctcgtc	gtttggtatg	gcttcattca	gctccggttc	8040
ccaacgatca	aggcgagtta	catgatcccc	catggtgtgc	aaaaaagcgg	ttagctcctt	8100
cggtcctccg	atcgttgtca	gaagtaagtt	ggccgcagtg	ttatcactca	tggttatggc	8160
agcactgcat	aattctctta	ctgtcatgcc	atccgtaaga	tgcttttctg	tgactgggtga	8220
gtactcaacc	aagtcattct	gagaatagtg	tatgcccga	ccgagttgct	cttgcccggc	8280
gtcaatacgg	gataataccg	cgccacatag	cagaacttta	aaagtgctca	tcattggaaa	8340
acgttcttcg	gggcgaaaac	tctcaaggat	cttaccgctg	ttgagatcca	gttcgatgta	8400
accactcgt	gcaccaact	gatcttcagc	atcttttact	ttcaccagcg	tttctgggtg	8460
agcaaaaaca	ggaaggcaaa	atgccgcaaa	aaaggggaata	agggcgacac	ggaaatgttg	8520



aatactcata ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcaggggtt attgtctcat	8580
gagcggatac atatttgaat gtatttagaa aaataaaca ataggggttc cgcgcacatt	8640
tccccgaaaa gtgccacctg acgtctaaga aaccattatt atcatgacat taacctataa	8700
aaataggcgt atcacgaggc cctttcgtct cgcgcgtttc ggtgatgacg gtgaaaacct	8760
ctgacacatg cagctcccgg agacggtcac agcttgtctg taagcggatg ccgggagcag	8820
acaagcccgt cagggcgcgt cagcgggtgt tggcgggtgt cggggctggc ttaactatgc	8880
ggcatcagag cagattgtac tgagagtgca ccatatgcgg tgtgaaatac cgcacagatg	8940
cgtaaggaga aaataccgca tcaggcgcca ttcgccattc aggctgcgca actgttggga	9000
agggcgatcg gtgcgggcct cttcgctatt acgccagctg gcgaaagggg gatgtgctgc	9060
aaggcgatta agttgggtaa cgccaggggtt ttcccagtca cgacgttgta aaacgacggc	9120
cagtgccaaag ctg	9133

<210> 22

<211> 8795

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид

<400> 22

acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca	60
acatgcctta caaggagaga aaaagcacccg tgcattgccga ttgggtggaag taaggtggta	120
cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga	180
attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc	240
tctgggtaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actagggaac ccaactgctta	300
agcctcaata aagcttgccct tgagtgcctc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact	360
ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg	420
cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct	480
tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatttt	540
gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcgggggag	600
aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt	660
aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt	720
agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg	780
atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcacaaag	840
gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag	900
taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg	960

acaattggag	aagtgaatta	tataaatata	aagtagtaaa	aattgaacca	ttaggagtag	1020
caccaccaa	ggcaaagaga	agagtgggtgc	agagagaaaa	aagagcagtg	ggaataggag	1080
ctttgttct	tgggttcttg	ggagcagcag	gaagcactat	gggcgagcc	tcaatgacgc	1140
tgacggtaca	ggccagacaa	ttattgtctg	gtatagtgc	gcagcagaac	aatttgctga	1200
gggctattga	ggcgcaacag	catctgttgc	aactcacagt	ctggggcatc	aagcagctcc	1260
aggcaagaat	cctggctgtg	gaaagatacc	taaaggatca	acagctcctg	gggatttggg	1320
gttgctctgg	aaaactcatt	tgcaccactg	ctgtgccttg	gaatgctagt	tggagtaata	1380
aatctctgga	acagattgga	atcacacgac	ctggatggag	tgggacagag	aaattaacaa	1440
ttacacaagc	ttaatacact	ccttaattga	agaatcgcaa	aaccagcaag	aaaagaatga	1500
acaagaatta	ttggaattag	ataaatgggc	aagtttgtgg	aattggttta	acataacaaa	1560
ttggctgtgg	tatataaaat	tattcataat	gatagtagga	ggcttggtag	gtttaagaat	1620
agtttttgct	gtactttcta	tagtgaatag	agttaggcag	ggatattcac	cattatcggt	1680
tcagaccac	ctccaaccc	cgaggggacc	cgacaggccc	gaaggaatag	aagaagaagg	1740
tggagagaga	gacagagaca	gatccattcg	attagtgaac	ggatctcgac	ggtatcggtt	1800
aacttttaaa	agaaaagggg	ggattggggg	gtacagtgc	ggggaaagaa	tagtagacat	1860
aatagcaaca	gacatacaaa	ctaaagaatt	acaaaaacaa	attacaaaat	tcaaaatttt	1920
atcgatacta	gtattatgcc	cagtacatga	ccttatggga	ctttcctact	tggcagtaca	1980
tctacgtatt	agtcatcgct	attacatgg	tgatgcgggt	ttggcagtac	atcaatgggc	2040
gtggatagcg	gtttgactca	cggggatttc	caagtctcca	ccccattgac	gtcaatggga	2100
gtttgttttg	gcacaaaat	caacgggact	ttccaaaatg	tcgtaacaac	tccgccccat	2160
tgacgcaaat	ggcggttagg	cgtgtacggt	gggaggttta	tataagcaga	gctcgtttag	2220
tgaaccgtca	gatgccttgg	agacgccatc	cacgctgttt	tgacctccat	agaagattct	2280
agagccgcca	ccatgcttct	cctggtgaca	agccttctgc	tctgtgagtt	accacaccca	2340
gcattcctcc	tgatcccaca	ggtgcagctg	gtgcagagcg	gcgcggaagt	gaaaaaacgg	2400
ggcgcgagcg	tgaaagtgag	ctgcaaagcg	agcggctata	gctttccgga	ttattatatt	2460
aactgggtgc	gccaggcgcc	gggccagggc	ctggaatgga	tgggctggat	ttatthttgcg	2520
agcggcaaca	gcgaatataa	ccagaaatth	accggccgcg	tgacctgac	ccgcgatacc	2580
agcagcagca	ccgcgtatat	ggaactgagc	agcctgcgca	gcgaagatac	cgcggtgtat	2640
ttttgcgca	gcctgtatga	ttatgattgg	tattttgatg	tgtggggcca	gggcaccatg	2700
gtgaccgtga	gcagcggcgg	cggcggcagc	ggcggcggcg	gcagcggcgg	cggcggcagc	2760
gatattgtga	tgaccagac	cccgctgagc	ctgagcgtga	ccccgggcca	accggcgagc	2820
attagctgca	aaagcagcca	gagcctggtg	catagcaacg	gcaaacaccta	tctgcattgg	2880

tatctgcaga	aaccgggcca	gagcccgcag	ctgctgattt	ataaagtgag	caaccgcttt	2940
agcggcgtgc	cggatcgctt	tagcggcagc	ggcagcggcg	cggattttac	cctgaaaatt	3000
agccgcgtgg	aagcggaga	tgtgggcgtg	tattattgcg	cggaaaccag	ccatgtgccg	3060
tggacctttg	gccagggcac	caaaactgaa	attaaaagcg	gtggcggcgg	ttctggtggc	3120
ggcggttctg	gtggcggcgg	ttctctcgag	gatggtaatg	aagaaatggg	tggtattaca	3180
cagacacat	ataaagtctc	catctctgga	accacagtaa	tattgacatg	ccctcagtat	3240
cctggatctg	aaatactatg	gcaacacaat	gataaaaaca	taggcggtga	tgaggatgat	3300
aaaaacatag	gcagtgatga	ggatcacctg	tactgaagg	aattttcaga	attggagcaa	3360
agtggttatt	atgtctgcta	ccccagagga	agcaaaccag	aagatgcgaa	cttttatctc	3420
tacctgaggg	caagagtgtg	tgagaactgc	atggagatgg	atgtgatgtc	ggtggccaca	3480
attgtcatag	tggacatctg	catcactggg	ggcttgctgc	tgctggttta	ctactggagc	3540
aagaatagaa	aggccaaggc	caagcctgtg	acacgaggag	cgggtgctgg	cggcaggcaa	3600
aggggacaaa	acaaggagag	gccaccacct	gttcccaacc	cagactatga	gcccatccgg	3660
aaaggccagc	gggacctgta	ttctggcctg	aatcagagac	gcatctgata	agaattcgga	3720
tccgcggccg	cgaaggatct	gcgatcgctc	cggtgcccgt	cagtgggcag	agcgcacatc	3780
gcccacagtc	cccgagaagt	tggggggagg	ggtcggcaat	tgaacgggtg	cctagagaag	3840
gtggcgcggg	gtaaactggg	aaagtgatgt	cgtgtactgg	ctccgccttt	ttcccagagg	3900
tgggggagaa	ccgtatataa	gtgcagtagt	cgccgtgaac	gttctttttc	gcaacggggt	3960
tgccgccaga	acacagctga	agcttcgagg	ggctcgcata	tctccttcac	gcgcccgcgg	4020
ccctacctga	ggccgccatc	cacgccggtt	gagtcgcggt	ctgccgcctc	ccgcctgtgg	4080
tgctcctga	actgctccg	ccgtctaggt	aagttaaag	ctcaggtcga	gaccgggcct	4140
ttgtccggcg	ctcccttggg	gcctacctag	actcagccgg	ctctccacgc	tttgctgac	4200
cctgcttgct	caactctacg	tctttgtttc	gttttctggt	ctgcgcggtt	acagatccaa	4260
gctgtgaccg	gcgcctacgc	tagatgaccg	agtacaagcc	cacggtgcgc	ctcgccaccc	4320
gcgacgacgt	ccccagggcc	gtacgcaccc	tcgccgccgc	gttcgccgac	taccccgcca	4380
cgccccacac	cgtcgatccg	gaccgccaca	tcgagcgggt	caccgagctg	caagaactct	4440
tcctcacgcg	cgtcgggctc	gacatcggca	aggtgtgggt	cgccgacgac	ggcgccgcgg	4500
tggcggctctg	gaccacgccg	gagagcgtcg	aagcgggggc	ggtgttcgcc	gagatcggcc	4560
cgcgcatggc	cgagttgagc	ggttcccggc	tggccgcgca	gcaacagatg	gaaggcctcc	4620
tggcgccgca	ccggcccaag	gagcccgcgt	ggttcctggc	caccgtcggc	gtctcgcggc	4680
accaccaggg	caagggctctg	ggcagcgcgg	tcgtgctccc	cggagtgagg	gcggccgagc	4740
gcgcgggggt	gcccgccttc	ctggagacct	ccgcgccccg	caacctcccc	ttctacgagc	4800

ggctcggctt	caccgtcacc	gccgacgtcg	aggtgcccga	aggaccgcgc	acctggtgca	4860
tgacccgcaa	gcccgggtgcc	tgagtcgaca	atcaacctct	ggattacaaa	atltgtgaaa	4920
gattgactgg	tattcttaac	tatgttgctc	cttttacgct	atgtggatac	gctgctttaa	4980
tgcccttgta	tcatgctatt	gcttcccgta	tggttttcat	tttctcctcc	ttgtataaat	5040
cctggttgct	gtctctttat	gaggagtgtg	ggcccgttgt	caggcaacgt	ggcgtggtgt	5100
gcaactgtgtt	tgctgacgca	acccccactg	gttggggcat	tgccaccacc	tgctcagctcc	5160
tttccgggac	tttcgctttc	cccctcccta	ttgccacggc	ggaactcatc	gccgcctgcc	5220
ttgcccgtcg	ctggacaggg	gctcggctgt	tgggcactga	caattccgtg	gtgttgctcg	5280
ggaaatcatc	gtcctttcct	tggtgctcg	cctgtgttgc	cacctggatt	ctgcgcggga	5340
cgctcttctg	ctacgtccct	tcggccctca	atccagcgga	ccttccctcc	cgcggcctgc	5400
tgccggctct	gcggcctctt	ccgcgtcttc	gccttcgccc	tcagacgagt	cggatctccc	5460
tttgggcccgc	ctccccgcct	ggtaccttta	agaccaatga	cttacaaggc	agctgtagat	5520
cttagccact	ttttaaaga	aaagggggga	ctggaagggc	taattcactc	ccaacgaaaa	5580
taagatctgc	tttttgcttg	tactgggtct	ctctggttag	accagatctg	agcctgggag	5640
ctctctggct	aactagggaa	cccactgctt	aagcctcaat	aaagcttgcc	ttgagtgctt	5700
caagtagtgt	gtgcccgtct	gttgtgtgac	tctggtaact	agagatccct	cagacccttt	5760
tagtcagtgt	ggaaaatctc	tagcagtagt	agttcatgtc	atcttattat	tcagtattta	5820
taacttgcaa	agaaatgaat	atcagagagt	gagaggaact	tgtttattgc	agcttataat	5880
ggttacaaat	aaagcaatag	catcacaaat	ttcacaaata	aagcattttt	ttcactgcat	5940
tctagttgtg	gtttgtccaa	actcatcaat	gtatcttata	atgtctggct	ctagctatcc	6000
cgcccctaac	tccgcccagt	tccgcccatt	ctccgcccga	tggtgacta	atltttttta	6060
tttatgcaga	ggccgaggcc	gcctcggcct	ctgagctatt	ccagaagtag	tgaggaggct	6120
tttttgaggg	cctagacttt	tgcaagagcg	gccc aaatc	gtaatcatgg	tcataagctgt	6180
ttcctgtgtg	aaattgttat	ccgctcacia	ttccacacia	catacagagcc	ggaagcataa	6240
agtgtaaagc	ctgggggtgcc	taatgagtga	gctaactcac	attaattgct	ttgcgctcac	6300
tgcccgcctt	ccagtcggga	aacctgtcgt	gccagctgca	ttaatgaatc	ggccaacgcg	6360
cggggagagg	cggtttgctg	attgggcgct	cttccgcttc	ctcgtcact	gactcgtctg	6420
gctcggctct	tcggctgcgg	cgagcgggat	cagctcactc	aaaggcggta	atacggttat	6480
ccacagaatc	aggggataac	gcaggaaaga	acatgtgagc	aaaaggccag	caaaaggcca	6540
ggaaccgtaa	aaaggccgcg	ttgctggcgt	ttttccatag	gctccgcccc	cctgacgagc	6600
atcacaaaaa	tcgacgctca	agtcagaggt	ggcgaaacc	gacaggacta	taaagatacc	6660
aggcgtttcc	ccctggaagc	tccctcgtgc	gctctcctgt	tccgaccctg	ccgcttaccg	6720

gatacctgtc	cgcttttctc	ccttcgggaa	gcgtggcgct	ttctcatagc	tcacgctgta	6780
ggatctcag	ttcgggtgtag	gtcgttcgct	ccaagctggg	ctgtgtgcac	gaaccccccg	6840
ttcagccccga	ccgctgcgcc	ttatccggta	actatcgtct	tgagtccaac	ccggtaagac	6900
acgacttatc	gccactggca	gcagccactg	gtaacaggat	tagcagagcg	aggatgtag	6960
gcggtgctac	agagttcttg	aagtgggtggc	ctaactacgg	ctacactaga	aggacagtat	7020
ttgggtatctg	cgctctgctg	aagccagtta	ccttcggaaa	aagagttggt	agctcttgat	7080
ccggcaaaaa	aaccaccgct	ggtagcggtg	gtttttttgt	ttgcaagcag	cagattacgc	7140
gcagaaaaaa	aggatctcaa	gaagatcctt	tgatcttttc	tacgggggtct	gacgctcagt	7200
ggaacgaaaa	ctcacgttaa	gggatttttg	tcatgagatt	atcaaaaagg	atcttcacct	7260
agatcctttt	aaattaaaaa	tgaagtttta	aatcaatcta	aagtataat	gagtaaactt	7320
ggctctgacag	ttaccaatgc	ttaatcagtg	aggcacctat	ctcagcgatc	tgtctatttc	7380
gttcatccat	agttgcctga	ctccccgtcg	tgtagataac	tacgatacgg	gagggcttac	7440
catctggccc	cagtgctgca	atgataccgc	gagaccacg	ctcaccggct	ccagatttat	7500
cagcaataaa	ccagccagcc	ggaagggccg	agcgcagaag	tggtcctgca	actttatccg	7560
cctccatcca	gtctattaat	tgttgccggg	aagctagagt	aagtagttcg	ccagttaata	7620
gtttgcgcaa	cgttgttgcc	attgctacag	gcatcgtggt	gtcacgctcg	tcgtttggta	7680
tggttccatt	cagctccggt	tcccaacgat	caaggcgagt	tacatgatcc	cccatgttgt	7740
gcaaaaaagc	ggttagctcc	ttcggtcctc	cgatcgttgt	cagaagtaag	ttggccgcag	7800
tgttatcact	catggttatg	gcagcactgc	ataattctct	tactgtcatg	ccatccgtaa	7860
gatgcttttc	tgtgactggt	gagtactcaa	ccaagtcatt	ctgagaatag	tgtatgcggc	7920
gaccgagttg	ctcttgcccg	gcgtcaatac	gggataatac	cgcgccacat	agcagaactt	7980
taaaagtgct	catcattgga	aaacgttctt	cggggcgaaa	actctcaagg	atcttaccgc	8040
tgttgagatc	cagttcgatg	taaccactc	gtgcacccaa	ctgatcttca	gcatctttta	8100
ctttcaccag	cgtttctggg	tgagcaaaaa	caggaaggca	aaatgccgca	aaaaagggaa	8160
taagggcgac	acggaaatgt	tgaatactca	tactcttcct	ttttcaatat	tattgaagca	8220
tttatcaggg	ttattgtctc	atgagcggat	acatatttga	atgtatttag	aaaaataaac	8280
aataggggt	tccgcgcaca	tttccccgaa	aagtgccacc	tgacgtctaa	gaaaccatta	8340
ttatcatgac	attaacctat	aaaaataggc	gtatcacgag	gccctttcgt	ctcgcgcggt	8400
tcggtgatga	cggtgaaaac	ctctgacaca	tgcagctccc	ggagacggtc	acagcttgtc	8460
tgtaagcgga	tgccgggagc	agacaagccc	gtcagggcgc	gtcagcgggt	gttggcgggt	8520
gtcggggctg	gcttaactat	gcggcatcag	agcagattgt	actgagagtg	caccatatgc	8580
gggtgtgaaat	accgcacaga	tgcgtaagga	gaaaataccg	catcagggcg	cattcgccat	8640

tcaggctgcg caactgttgg gaagggcgat cgggtgcgggc ctcttcgcta ttacgccagc 8700  
tggcgaaagg gggatgtgct gcaagggcgat taagttgggt aacgccaggg ttttcccagt 8760  
cacgacgttg taaaacgacg gccagtgcca agctg 8795

<210> 23

<211> 8720

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический  
полинуклеотид

<400> 23

acgcgtgtag tcttatgcaa tactcttgta gtcttgcaac atggtaacga tgagttagca 60  
acatgcctta caaggagaga aaaagcaccg tgcattgccga ttggtggaag taaggtggta 120  
cgatcgtgcc ttattaggaa ggcaacagac gggctctgaca tggattggac gaaccactga 180  
attgccgcat tgcagagata ttgtatttaa gtgcctagct cgatacaata aacgggtctc 240  
tctggttaga ccagatctga gcctgggagc tctctggcta actaggggaac ccaactgctta 300  
agcctcaata aagcttgccct tgagtgcctc aagtagtgtg tgcccgtctg ttgtgtgact 360  
ctggtaacta gagatccctc agaccctttt agtcagtgtg gaaaatctct agcagtggcg 420  
cccgaacagg gacctgaaag cgaaagggaa accagagctc tctcgacgca ggactcggct 480  
tgctgaagcg cgcacggcaa gaggcgaggg gcggcgactg gtgagtacgc caaaaatctt 540  
gactagcggg ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta agcggggggag 600  
aattagatcg cgatgggaaa aaattcgggt aaggccaggg ggaaagaaaa aatataaatt 660  
aaaacatata gtatgggcaa gcagggagct agaacgattc gcagttaatc ctggcctggt 720  
agaaacatca gaaggctgta gacaaatact gggacagcta caaccatccc ttcagacagg 780  
atcagaagaa cttagatcat tatataatac agtagcaacc ctctattgtg tgcattcaag 840  
gatagagata aaagacacca aggaagcttt agacaagata gaggaagagc aaaacaaaag 900  
taagaccacc gcacagcaag cggccactga tcttcagacc tggaggagga gatatgaggg 960  
acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa aattgaacca ttaggagtag 1020  
caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa aagagcagtg ggaataggag 1080  
ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat gggcgcagcc tcaatgacgc 1140  
tgacgttaca ggccagacaa ttattgtctg gtatagtgca gcagcagaac aatttgctga 1200  
gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt ctggggcatc aagcagctcc 1260  
aggcaagaat cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca acagctcctg gggatttggg 1320  
gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg gaatgctagt tggagtaata 1380

aatctctgga	acagattgga	atcacacgac	ctggatggag	tgggacagag	aaattaacaa	1440
ttacacaagc	ttaatacact	ccttaattga	agaatcgcaa	aaccagcaag	aaaagaatga	1500
acaagaatta	ttggaattag	ataaatgggc	aagtttgtgg	aattggttta	acataacaaa	1560
ttggctgtgg	tatataaaat	tattcataat	gatagtagga	ggcttggtag	gtttaagaat	1620
agtttttgct	gtactttcta	tagtgaatag	agttaggcag	ggatattcac	cattatcgtt	1680
tcagaccac	ctcccaacc	cgaggggacc	cgacaggccc	gaaggaatag	aagaagaagg	1740
tggagagaga	gacagagaca	gatccattcg	attagtgaac	ggatctcgac	ggtatcggtt	1800
aacttttaaa	agaaaagggg	ggattggggg	gtacagtgca	ggggaagaa	tagtagacat	1860
aatagcaaca	gacatacaaa	ctaaagaatt	acaaaaacaa	attacaaaat	tcaaaatttt	1920
atcgatacta	gtattatgcc	cagtacatga	ccttatggga	ctttcctact	tggcagtaca	1980
tctacgtatt	agtcacgct	attaccatgg	tgatgcgggt	ttggcagtac	atcaatgggc	2040
gtggatagcg	gtttgactca	cggggatttc	caagtctcca	ccccattgac	gtcaatggga	2100
gtttgttttg	gcacaaaat	caacgggact	ttccaaaatg	tcgtaacaac	tccgccccat	2160
tgacgcaaat	gggcggtagg	cgtgtacggg	gggaggttta	tataagcaga	gctcgttttag	2220
tgaaccgtca	gatgcctgg	agacgccatc	cacgctgttt	tgacctccat	agaagattct	2280
agagccgcca	ccatgcttct	cctggtgaca	agccttctgc	tctgtgagtt	accacacca	2340
gcattcctcc	tgatcccaca	ggtgcagctg	gtgcagagcg	gcgcggaagt	gaaaaaacccg	2400
ggcgcgagcg	tgaaagtgag	ctgcaaagcg	agcggctata	gctttccgga	ttattatatt	2460
aactgggtgc	gccaggcgcc	gggccagggc	ctggaatgga	tgggctggat	ttattttgcg	2520
agcggcaaca	gcgaatataa	ccagaaatth	accggccgcg	tgacatgac	ccgcgatacc	2580
agcagcagca	ccgcgtatat	ggaactgagc	agcctgcgca	gcgaagatac	cgcggtgtat	2640
ttttgcgca	gcctgtatga	ttatgattgg	tatthttgatg	tgtggggcca	gggcaccatg	2700
gtgaccgtga	gcagcggcgg	cggcggcagc	ggcggcggcg	gcagcggcgg	cggcggcagc	2760
gatattgtga	tgaccagac	cccgctgagc	ctgagcgtga	ccccgggcca	accggcgagc	2820
attagctgca	aaagcagcca	gagcctggtg	catagcaacg	gcaacaccta	tctgcattgg	2880
tatctgcaga	aaccgggcca	gagcccgcag	ctgctgattt	ataaagtgag	caaccgcttt	2940
agcggcgtgc	cggatcgctt	tagcggcagc	ggcagcggcg	cggatthttac	cctgaaaatt	3000
agccgcgtgg	aagcgggaaga	tgtgggcgtg	tattattgcg	cggaaaccag	ccatgtgccg	3060
tggacctttg	gccagggcac	caaactggaa	attaaaagcg	gtggcggcgg	ttctggtggc	3120
ggcggthctg	gtggcggcgg	ttctctcgag	cagtcaatca	aaggaaacca	cttggthtaag	3180
gtgtatgact	atcaagaaga	tggthtcggta	cttctgactt	gtgatgcaga	agccaaaaat	3240
atcacatggg	ttaaagatgg	gaagatgatc	ggctthcctaa	ctgaagataa	aaaaaatgg	3300

aatctgggaa	gtaatgccaa	ggacccacga	gggatgtatc	agtgtaaagg	atcacagaac	3360
aagtcaaaac	cactccaagt	gtattacaga	atgtgtcaga	actgcattga	actaaatgca	3420
gccaccatat	ctggctttct	ctttgctgaa	atcgtcagca	ttttcgtcct	tgctgttggg	3480
gtctacttca	ttgctggaca	ggatggagtt	cgccagtcga	gagcttcaga	caagcagact	3540
ctgttgccca	atgaccagct	ctaccagccc	ctcaaggatc	gagaagatga	ccagtacagc	3600
caccttcaag	gaaaccagtt	gaggaggaat	tgataagaat	tcggatccgc	ggccgcgaag	3660
gatctgcat	cgctccggtg	cccgtcagtg	ggcagagcgc	acatcgccca	cagtccccga	3720
gaagttgggg	ggaggggtcg	gcaattgaac	gggtgcctag	agaaggtggc	gcggggtaaa	3780
ctgggaaagt	gatgtcgtgt	actggctccg	cctttttccc	gaggggtggg	gagaaccgta	3840
tataagtgca	gtagtcgccg	tgaacgttct	ttttcgcaac	gggtttgccg	ccagaacaca	3900
gctgaagctt	cgaggggctc	gcatctctcc	ttcacgcgcc	cgccgcccta	cctgaggccg	3960
ccatccacgc	cggttgagtc	gcgttctgcc	gcctcccgcc	tgtggtgctt	cctgaactgc	4020
gtccgccgtc	taggtaagtt	taaagctcag	gtcgagaccg	ggcctttgtc	cggcgctccc	4080
ttggagccta	cctagactca	gccggctctc	cacgctttgc	ctgaccctgc	ttgctcaact	4140
ctacgtcttt	gtttcgtttt	ctgttctgcg	ccgttacaga	tccaagctgt	gaccggcgcc	4200
tacgctagat	gaccgagtac	aagcccacgg	tgcgctctgc	caccgcgcac	gacgtcccca	4260
gggccgtacg	caccctcgcc	gccgcgttcg	ccgactaccc	cgccacgcgc	cacaccgtcg	4320
atccggaccg	ccacatcgag	cgggtcaccg	agctgcaaga	actcttctc	acgcgcgctc	4380
ggctcgacat	cggcaagggtg	tgggtcgcgg	acgacggcgc	cgcggtggcg	gtctggacca	4440
cgccggagag	cgtcgaagcg	ggggcggtgt	tcgccgagat	cggcccgcgc	atggccgagt	4500
tgagcggttc	ccggttgccc	gcgcagcaac	agatggaagg	cctcctggcg	ccgcaccggc	4560
ccaaggagcc	cgcggtggtc	ctggccaccg	tcggcgtctc	gcccgaccac	cagggcaagg	4620
gtctgggcag	cgccgtcgtg	ctccccggag	tggaggcggc	cgagcgcgcc	ggggtgcccg	4680
ccttctgga	gacctccgcg	ccccgcaacc	tccccttcta	cgagcggctc	ggcttcaccg	4740
tcaccgccga	cgtcgaggtg	cccgaaggac	cgcgcacctg	gtgcatgacc	cgcaagcccg	4800
gtgcctgagt	cgacaatcaa	cctctggatt	acaaaatttg	tgaagattg	actggtattc	4860
ttaactatgt	tgctcctttt	acgctatgtg	gatacgctgc	tttaatgcct	ttgtatcatg	4920
ctattgcttc	ccgtatggct	ttcattttct	cctccttgta	taaatectgg	ttgctgtctc	4980
tttatgagga	gttgtggccc	gttgtcaggc	aacgtggcgt	ggtgtgcact	gtgtttgctg	5040
acgcaacccc	cactggttgg	ggcattgcca	ccacctgtca	gctcctttcc	gggactttcg	5100
ctttccccct	ccctattgcc	acggcggaac	tcatcgccgc	ctgccttgcc	cgctgctgga	5160
caggggctcg	gctgttgggc	actgacaatt	ccgtggtggt	gtcggggaaa	tcatcgtcct	5220



ttccttggct gctcgcctgt gttgccacct ggattctgcg cgggacgtcc ttctgctacg	5280
tccttcggc cctcaatcca gcggaccttc cttcccgcgg cctgctgccc gctctgccc	5340
ctcttcgcg tcttcgcctt cgcctcaga cgagtcggat ctccctttgg gccgcctccc	5400
cgcttggtac ctttaagacc aatgacttac aaggcagctg tagatcttag ccacttttta	5460
aaagaaaagg ggggactgga agggctaatt cactcccaac gaaaataaga tctgcttttt	5520
gcttgactg ggtctctctg gttagaccag atctgagcct gggagctctc tggctaacta	5580
gggaaccac tgcttaagcc tcaataaagc ttgccttgag tgcttcaagt agtgtgtgcc	5640
cgctgttgt gtgactctgg taactagaga tccctcagac ccttttagtc agtgtggaaa	5700
atctctagca gtagtagttc atgtcatctt attattcagt atttataact tgcaaagaaa	5760
tgaatatcag agagtgagag gaacttgttt attgcagctt ataatggtta caaataaagc	5820
aatagcatca caaatctcac aaataaagca tttttttcac tgcattctag ttgtggtttg	5880
tccaaactca tcaatgtatc ttatcatgtc tggctctagc tatcccgcct ctaactccgc	5940
ccagttccgc ccattctccg ccccatggct gactaatttt ttttatttat gcagaggccg	6000
aggccgcctc ggctctgag ctattccaga agtagtgagg aggctttttt ggaggcctag	6060
acttttgag agacggccca aattcgtaat catggtcata gctgtttcct gtgtgaaatt	6120
gttatccgct cacaattcca cacaacatac gagccggaag cataaagtgt aaagcctggg	6180
gtgcctaag agtgagctaa ctcacattaa ttgcgctgcg ctcaactgcc gctttccagt	6240
cgggaaacct gtcgtgccag ctgcattaat gaatcggcca acgcgcgggg agaggcgggt	6300
tgcgtattgg gcgctcttc gcttctctgc tcaactgactc gctgcgctcg gtcgttcggc	6360
tgccgagagc ggtatcagct cactcaaagg cggtaatacg gttatccaca gaatcagggg	6420
ataacgcagg aaagaacatg tgagcaaaag gccagcaaaa ggccaggaac cgtaaaaagg	6480
ccgcgttgct ggcgtttttc cataggctcc gccccctga cgagcatcac aaaaatcgac	6540
gctcaagtca gaggtggcga aaccgacag gactataaag ataccaggcg tttccccctg	6600
gaagctccct cgtgcgctct cctgttccga ccctgccgct taccggatac ctgtccgct	6660
ttctcccttc ggaagcgtg gcgctttctc atagctcacg ctgtaggtat ctcaagtcgg	6720
tgtaggtcgt tcgctccaag ctgggctgtg tgcacgaacc ccccgttcag cccgaccgct	6780
gcgcttatc cggtaactat cgtcttgagt ccaaccgggt aagacacgac ttatcgccac	6840
tggcagcagc cactggtaac aggattagca gagcgaggta tgtaggcggg gctacagagt	6900
tcttgaagtg gtggcctaac tacggctaca ctagaaggac agtatttggt atctgcgctc	6960
tgctgaagcc agttacctc ggaaaaagag ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca	7020
ccgctggtag cggtggtttt tttgtttgca agcagcagat tacgcgcaga aaaaaaggat	7080
ctcaagaaga tcctttgatc ttttctacgg ggtctgacgc tcagtggaac gaaaactcac	7140

gtaagggat tttggcatg agattatcaa aaaggatctt cacctagatc cttttaaatt 7200  
aaaaatgaag ttttaaatca atctaaagta tatatgagta aacttgggtct gacagttacc 7260  
aatgcttaat cagtgaggca cctatctcag cgatctgtct atttcgttca tccatagttg 7320  
cctgactccc cgtcgtgtag ataactacga tacgggaggg cttaccatct ggccccagtg 7380  
ctgcaatgat accgcgagac ccacgctcac cggctccaga tttatcagca ataaaccagc 7440  
cagccggaag ggccgagcgc agaagtggtc ctgcaacttt atccgcctcc atccagtcta 7500  
ttaattgttg ccgggaagct agagtaagta gttcgccagt taatagtttg cgcaacgttg 7560  
ttgccattgc tacaggcatc gtgggtgtcac gctcgtcgtt tgggatggct tcattcagct 7620  
ccggttccca acgatcaagg cgagttacat gatcccccat gttgtgcaaa aaagcggtta 7680  
gctccttegg tctcctcagc gttgtcagaa gtaagttggc cgcagtggtta tcaactcatgg 7740  
ttatggcagc actgcataat tctcttactg tcatgccatc cgtaagatgc ttttctgtga 7800  
ctggtgagta ctcaaccaag tcattctgag aatagtgtat gcggcgaccg agttgctctt 7860  
gcccggcgtc aatacgggat aataccgcgc cacatagcag aactttaaaa gtgctcatca 7920  
ttggaaaacg ttcttcgggg cgaaaactct caaggatctt accgctggtg agatccagtt 7980  
cgatgtaacc cactcgtgca cccaactgat cttcagcatc ttttactttc accagcgttt 8040  
ctgggtgagc aaaaacagga aggcaaaatg ccgcaaaaaa gggaataagg gcgacacgga 8100  
aatgttgaat actcatactc ttcctttttc aatattattg aagcatttat cagggttatt 8160  
gtctcatgag cggatacata tttgaatgta tttagaaaaa taaacaaata ggggttccgc 8220  
gcacatttcc ccgaaaagtg ccacctgacg tctaagaaac cattattatc atgacattaa 8280  
cctataaaaa taggcgtatc acgaggccct ttcgtctcgc gcgtttcggg gatgacgggtg 8340  
aaaacctctg acacatgcag ctcccggaga cggtcacagc ttgtctgtaa gcggatgccg 8400  
ggagcagaca agcccgtcag ggcgcgtcag cgggtggttg cgggtgtcgg ggctggctta 8460  
actatgcggc atcagagcag attgtactga gagtgcacca tatgcgggtgt gaaataccgc 8520  
acagatgctg aaggagaaaa taccgcatca ggcgccattc gccattcagg ctgcgcaact 8580  
gttggaagg gcgatcgggt cgggcctctt cgctattacg ccagctggcg aaaggggat 8640  
gtgctgcaag gcgattaagt tgggtaacgc cagggttttc ccagtcacga cgttgtaaaa 8700  
cgacggccag tgccaagctg 8720

<210> 24

<211> 24

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид

<400> 24  
agggcaagtc aggacattag taaa

24

<210> 25  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид

<400> 25  
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys  
1 5

<210> 26  
<211> 21  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид

<400> 26  
atctaccata catcaagatt a

21

<210> 27  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид

<400> 27  
Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu  
1 5

<210> 28  
<211> 27  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид

<400> 28  
caacagggtg atacgcttcc gtacacg

27

<210> 29  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид

<400> 29

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr  
1 5

<210> 30

<211> 30

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид

<400> 30

ggggtctcat taccgacta tgggtgtaagc

30

<210> 31

<211> 10

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид

<400> 31

Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser  
1 5 10

<210> 32

<211> 42

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид

<400> 32

gtaatatggg gtagtgaaac cacatactat aattcagctc tc

42

<210> 33

<211> 14

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид

<400> 33

Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu  
1 5 10

<210> 34

<211> 36

<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид

<400> 34  
cattattact acggtggtag ctatgctatg gactac

36

<210> 35  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид

<400> 35  
His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr  
1                   5                   10

<210> 36  
<211> 48  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид

<400> 36  
aaaagcagcc agagcctggt gcatagcaac ggcaacacct atctgcat

48

<210> 37  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид

<400> 37  
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His  
1                   5                   10                   15

<210> 38  
<211> 21  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид

<400> 38  
aaagtgagca accgcttttag c

21

<210> 39  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид

<400> 39  
Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser  
1 5

<210> 40  
<211> 27  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид

<400> 40  
gcggaaacca gccatgtgcc gtggacc

27

<210> 41  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид

<400> 41  
Ala Glu Thr Ser His Val Pro Trp Thr  
1 5

<210> 42  
<211> 39  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид

<400> 42  
aaagcgagcg gctatagctt tccggattat tatattaac

39

<210> 43  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид

<400> 43  
Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asp Tyr Tyr Ile Asn  
1 5 10

<210> 44  
<211> 51  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид

<400> 44  
tggatttatt ttgсgagсgg саасagсgаа tataaccаgа aatttaccgg с 51

<210> 45  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид

<400> 45  
Trp Ile Tyr Phe Ala Ser Gly Asn Ser Glu Tyr Asn Gln Lys Phe Thr  
1 5 10 15

Gly

<210> 46  
<211> 30  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический олигонуклеотид

<400> 46  
ctgtatgatt atgattggta ttttgatgtg 30

<210> 47  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид

<400> 47  
Leu Tyr Asp Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Val  
1 5 10

<210> 48

<211> 321  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид

<400> 48

gacatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 60  
atcagttgca gggcaagtca ggacattagt aaatatttaa attggtatca gcagaaacca 120  
gatggaactg ttaaactcct gatctaccat acatcaagat tacactcagg agtcccatca 180  
aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa 240  
gaagatattg ccacttactt ttgccaacag ggtaatacgc ttccgtacac gttcggaggg 300  
gggactaagt tggaaataac a 321

<210> 49

<211> 107

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид

<400> 49

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

<210> 50

<211> 360

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность



<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид

<400> 50

gaggtgaaac tgcaggagtc aggacctggc ctggtggcgc cctcacagag cctgtccgtc 60  
acatgactg tctcaggggt ctcatcacc gactatgggtg taagctggat tcgccagcct 120  
ccacgaaagg gtctggagtg gctgggagta atatggggta gtgaaaccac atactataat 180  
tcagctctca aatccagact gaccatcatc aaggacaact ccaagagcca agttttctta 240  
aaaatgaaca gtctgcaaac tgatgacaca gccatttact actgtgccaac acattattac 300  
tacggtggtgta gctatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca 360

<210> 51

<211> 120

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид

<400> 51

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

<210> 52

<211> 339

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид

<400> 52

```
gatattgtga tgaccsagac cccgctgagc ctgagcgtga ccccgggcca accggcgagc      60
attagctgca aaagcagcca gagcctgggtg catagcaacg gcaacaccta tctgcattgg      120
tatctgcaga aaccggggcca gagcccgcag ctgctgattt ataaagtgag caaccgcttt      180
agcggcgtgc cggatcgctt tagcggcagc ggcagcggcg cggattttac cctgaaaatt      240
agccgcgtgg aagcgggaaga tgtgggcgtg tattattgcg cggaaccag ccatgtgccg      300
tggacctttg gccagggcac caaactggaa attaaaagc                               339
```

<210> 53

<211> 113

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид

<400> 53

```
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1           5           10           15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
          20           25           30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
          35           40           45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
          50           55           60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ala Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65           70           75           80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Glu Thr
          85           90           95

Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
          100          105          110

Ser
```

<210> 54

<211> 357

<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полинуклеотид

<400> 54  
caggtgcagc tgggtgcagag cggcgcggaа gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaagtg 60  
agctgcaaag cgagcggcta tagctttccg gattattata ttaactgggt gcgccaggcg 120  
ccgggccagg gcctggaatg gatgggctgg atttattttg cgagcggcaa cagcgaatat 180  
aaccagaaat ttaccggccg cgtgaccatg acccgcgata ccagcagcag caccgcgtat 240  
atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat accgcggtgt atttttgcgc gagcctgtat 300  
gattatgatt ggtattttga tgtgtggggc cagggcacca tggtgaccgt gagcagc 357

<210> 55  
<211> 119  
<212> PRT  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид

<400> 55  
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15  
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asp Tyr  
20 25 30  
Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45  
Gly Trp Ile Tyr Phe Ala Ser Gly Asn Ser Glu Tyr Asn Gln Lys Phe  
50 55 60  
Thr Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80  
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys  
85 90 95  
Ala Ser Leu Tyr Asp Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly  
100 105 110  
Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 56

<211> 207  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 56

Met Gln Ser Gly Thr His Trp Arg Val Leu Gly Leu Cys Leu Leu Ser  
1 5 10 15

Val Gly Val Trp Gly Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr  
20 25 30

Gln Thr Pro Tyr Lys Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr  
35 40 45

Cys Pro Gln Tyr Pro Gly Ser Glu Ile Leu Trp Gln His Asn Asp Lys  
50 55 60

Asn Ile Gly Gly Asp Glu Asp Asp Lys Asn Ile Gly Ser Asp Glu Asp  
65 70 75 80

His Leu Ser Leu Lys Glu Phe Ser Glu Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr  
85 90 95

Val Cys Tyr Pro Arg Gly Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe Tyr Leu  
100 105 110

Tyr Leu Arg Ala Arg Val Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp Val Met  
115 120 125

Ser Val Ala Thr Ile Val Ile Val Asp Ile Cys Ile Thr Gly Gly Leu  
130 135 140

Leu Leu Leu Val Tyr Tyr Trp Ser Lys Asn Arg Lys Ala Lys Ala Lys  
145 150 155 160

Pro Val Thr Arg Gly Ala Gly Ala Gly Gly Arg Gln Arg Gly Gln Asn  
165 170 175

Lys Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro Asn Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg  
180 185 190

Lys Gly Gln Arg Asp Leu Tyr Ser Gly Leu Asn Gln Arg Arg Ile  
195 200 205

<210> 57  
<211> 182  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 57

Met Glu Gln Gly Lys Gly Leu Ala Val Leu Ile Leu Ala Ile Ile Leu

1                    5                    10                    15  
 Leu Gln Gly Thr Leu Ala Gln Ser Ile Lys Gly Asn His Leu Val Lys  
                   20                    25                    30  
 Val Tyr Asp Tyr Gln Glu Asp Gly Ser Val Leu Leu Thr Cys Asp Ala  
                   35                    40                    45  
 Glu Ala Lys Asn Ile Thr Trp Phe Lys Asp Gly Lys Met Ile Gly Phe  
                   50                    55                    60  
 Leu Thr Glu Asp Lys Lys Lys Trp Asn Leu Gly Ser Asn Ala Lys Asp  
  65                    70                    75                    80  
 Pro Arg Gly Met Tyr Gln Cys Lys Gly Ser Gln Asn Lys Ser Lys Pro  
                   85                    90                    95  
 Leu Gln Val Tyr Tyr Arg Met Cys Gln Asn Cys Ile Glu Leu Asn Ala  
                   100                    105                    110  
 Ala Thr Ile Ser Gly Phe Leu Phe Ala Glu Ile Val Ser Ile Phe Val  
                   115                    120                    125  
 Leu Ala Val Gly Val Tyr Phe Ile Ala Gly Gln Asp Gly Val Arg Gln  
                   130                    135                    140  
 Ser Arg Ala Ser Asp Lys Gln Thr Leu Leu Pro Asn Asp Gln Leu Tyr  
  145                    150                    155                    160  
 Gln Pro Leu Lys Asp Arg Glu Asp Asp Gln Tyr Ser His Leu Gln Gly  
                   165                    170                    175  
 Asn Gln Leu Arg Arg Asn  
                   180  
  
 <210> 58  
 <211> 171  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 <400> 58  
 Met Glu His Ser Thr Phe Leu Ser Gly Leu Val Leu Ala Thr Leu Leu  
  1                    5                    10                    15  
 Ser Gln Val Ser Pro Phe Lys Ile Pro Ile Glu Glu Leu Glu Asp Arg  
                   20                    25                    30  
 Val Phe Val Asn Cys Asn Thr Ser Ile Thr Trp Val Glu Gly Thr Val  
                   35                    40                    45

Gly Thr Leu Leu Ser Asp Ile Thr Arg Leu Asp Leu Gly Lys Arg Ile  
50 55 60

Leu Asp Pro Arg Gly Ile Tyr Arg Cys Asn Gly Thr Asp Ile Tyr Lys  
65 70 75 80

Asp Lys Glu Ser Thr Val Gln Val His Tyr Arg Met Cys Gln Ser Cys  
85 90 95

Val Glu Leu Asp Pro Ala Thr Val Ala Gly Ile Ile Val Thr Asp Val  
100 105 110

Ile Ala Thr Leu Leu Leu Ala Leu Gly Val Phe Cys Phe Ala Gly His  
115 120 125

Glu Thr Gly Arg Leu Ser Gly Ala Ala Asp Thr Gln Ala Leu Leu Arg  
130 135 140

Asn Asp Gln Val Tyr Gln Pro Leu Arg Asp Arg Asp Ala Gln Tyr  
145 150 155 160

Ser His Leu Gly Gly Asn Trp Ala Arg Asn Lys  
165 170

<210> 59

<211> 164

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

Met Lys Trp Lys Ala Leu Phe Thr Ala Ala Ile Leu Gln Ala Gln Leu  
1 5 10 15

Pro Ile Thr Glu Ala Gln Ser Phe Gly Leu Leu Asp Pro Lys Leu Cys  
20 25 30

Tyr Leu Leu Asp Gly Ile Leu Phe Ile Tyr Gly Val Ile Leu Thr Ala  
35 40 45

Leu Phe Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr  
50 55 60

Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg  
65 70 75 80

Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met  
85 90 95

Gly Gly Lys Pro Gln Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn

100

105

110

Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met  
115 120 125

Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly  
130 135 140

Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala  
145 150 155 160

Leu Pro Pro Arg

<210> 60

<211> 281

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Met Ala Gly Thr Trp Leu Leu Leu Leu Leu Ala Leu Gly Cys Pro Ala  
1 5 10 15

Leu Pro Thr Gly Val Gly Gly Thr Pro Phe Pro Ser Leu Ala Pro Pro  
20 25 30

Ile Met Leu Leu Val Asp Gly Lys Gln Gln Met Val Val Val Cys Leu  
35 40 45

Val Leu Asp Val Ala Pro Pro Gly Leu Asp Ser Pro Ile Trp Phe Ser  
50 55 60

Ala Gly Asn Gly Ser Ala Leu Asp Ala Phe Thr Tyr Gly Pro Ser Pro  
65 70 75 80

Ala Thr Asp Gly Thr Trp Thr Asn Leu Ala His Leu Ser Leu Pro Ser  
85 90 95

Glu Glu Leu Ala Ser Trp Glu Pro Leu Val Cys His Thr Gly Pro Gly  
100 105 110

Ala Glu Gly His Ser Arg Ser Thr Gln Pro Met His Leu Ser Gly Glu  
115 120 125

Ala Ser Thr Ala Arg Thr Cys Pro Gln Glu Pro Leu Arg Gly Thr Pro  
130 135 140

Gly Gly Ala Leu Trp Leu Gly Val Leu Arg Leu Leu Leu Phe Lys Leu  
145 150 155 160

Leu Leu Phe Asp Leu Leu Leu Thr Cys Ser Cys Leu Cys Asp Pro Ala  
165 170 175

Gly Pro Leu Pro Ser Pro Ala Thr Thr Thr Arg Leu Arg Ala Leu Gly  
180 185 190

Ser His Arg Leu His Pro Ala Thr Glu Thr Gly Gly Arg Glu Ala Thr  
195 200 205

Ser Ser Pro Arg Pro Gln Pro Arg Asp Arg Arg Trp Gly Asp Thr Pro  
210 215 220

Pro Gly Arg Lys Pro Gly Ser Pro Val Trp Gly Glu Gly Ser Tyr Leu  
225 230 235 240

Ser Ser Tyr Pro Thr Cys Pro Ala Gln Ala Trp Cys Ser Arg Ser Ala  
245 250 255

Leu Arg Ala Pro Ser Ser Ser Leu Gly Ala Phe Phe Ala Gly Asp Leu  
260 265 270

Pro Pro Pro Leu Gln Ala Gly Ala Ala  
275 280

<210> 61  
<211> 142  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 61  
Pro Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser  
1 5 10 15

Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln  
20 25 30

Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys  
35 40 45

Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val  
50 55 60

Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn  
65 70 75 80

Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys  
85 90 95

Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn



100

105

110

Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val  
115 120 125

Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser  
130 135 140

<210> 62

<211> 139

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 62

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

Asp Trp Val Asn Ser Gln Gln Lys Asn Asp Asp Gln Gln Val Lys Gln  
20 25 30

Asn Ser Pro Ser Leu Ser Val Gln Glu Gly Arg Ile Ser Ile Leu Asn  
35 40 45

Cys Asp Tyr Thr Asn Ser Met Phe Asp Tyr Phe Leu Trp Tyr Lys Lys  
50 55 60

Tyr Pro Ala Glu Gly Pro Thr Phe Leu Ile Ser Ile Ser Ser Ile Lys  
65 70 75 80

Asp Lys Asn Glu Asp Gly Arg Phe Thr Val Phe Leu Asn Lys Ser Ala  
85 90 95

Lys His Leu Ser Leu His Ile Val Pro Ser Gln Pro Gly Asp Ser Ala  
100 105 110

Val Tyr Phe Cys Ala Ala Lys Gly Ala Gly Thr Ala Ser Lys Leu Thr  
115 120 125

Phe Gly Thr Gly Thr Arg Leu Gln Val Thr Leu  
130 135

<210> 63

<211> 177

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 63

Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro  
1 5 10 15

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

20

25

30

Ala Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn  
35 40 45

Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys  
50 55 60

Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu  
65 70 75 80

Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys  
85 90 95

Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp  
100 105 110

Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg  
115 120 125

Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser  
130 135 140

Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala  
145 150 155 160

Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp  
165 170 175

Phe

<210> 64

<211> 133

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 64

Met Gly Thr Ser Leu Leu Cys Trp Met Ala Leu Cys Leu Leu Gly Ala  
1 5 10 15

Asp His Ala Asp Thr Gly Val Ser Gln Asn Pro Arg His Asn Ile Thr  
20 25 30

Lys Arg Gly Gln Asn Val Thr Phe Arg Cys Asp Pro Ile Ser Glu His  
35 40 45

Asn Arg Leu Tyr Trp Tyr Arg Gln Thr Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe  
50 55 60

Leu Thr Tyr Phe Gln Asn Glu Ala Gln Leu Glu Lys Ser Arg Leu Leu  
65 70 75 80

Ser Asp Arg Phe Ser Ala Glu Arg Pro Lys Gly Ser Phe Ser Thr Leu  
85 90 95

Glu Ile Gln Arg Thr Glu Gln Gly Asp Ser Ala Met Tyr Leu Cys Ala  
100 105 110

Ser Ser Leu Ala Gly Leu Asn Gln Pro Gln His Phe Gly Asp Gly Thr  
115 120 125

Arg Leu Ser Ile Leu  
130

<210> 65

<211> 135

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 65

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

Lys His Thr Asp Ala Gly Val Ile Gln Ser Pro Arg His Glu Val Thr  
20 25 30

Glu Met Gly Gln Glu Val Thr Leu Arg Cys Lys Pro Ile Ser Gly His  
35 40 45

Asn Ser Leu Phe Trp Tyr Arg Gln Thr Met Met Arg Gly Leu Glu Leu  
50 55 60

Leu Ile Tyr Phe Asn Asn Asn Val Pro Ile Asp Asp Ser Gly Met Pro  
65 70 75 80

Glu Asp Arg Phe Ser Ala Lys Met Pro Asn Ala Ser Phe Ser Thr Leu  
85 90 95

Lys Ile Gln Pro Ser Glu Pro Arg Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala  
100 105 110

Ser Ser Phe Ser Thr Cys Ser Ala Asn Tyr Gly Tyr Thr Phe Gly Ser  
115 120 125

Gly Thr Arg Leu Thr Val Val  
130 135

<210> 66

<211> 20  
<212> PRT  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(20)  
<223> Данная последовательность может включать 1-4 повторяющихся сегмента "Gly Gly Gly Gly Ser"

<400> 66  
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser  
20

<210> 67  
<211> 20  
<212> PRT  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(20)  
<223> Данная последовательность может включать 2-4 повторяющихся сегмента "Gly Gly Gly Gly Ser"

<400> 67  
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser  
20

<210> 68  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(15)

<223> Данная последовательность может включать 1-3 повторяющихся сегмента "Gly Gly Gly Ser"

<400> 68

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
1 5 10 15

<210> 69

<211> 40

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(40)

<223> Данная последовательность может включать 1-10 повторяющихся сегментов "Gly Gly Gly Ser"

<400> 69

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
20 25 30

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
35 40

<210> 70

<211> 20

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид

<400> 70

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser  
20

<210> 71

<211> 15

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический

пептид

<400> 71

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
1 5 10 15

<210> 72

<211> 4

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид

<400> 72

Gly Gly Gly Ser  
1

<210> 73

<211> 30

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический полипептид

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(30)

<223> Данная последовательность может включать 1-6 повторяющихся сегментов "Gly Gly Gly Ser"

<400> 73

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
20 25 30

<210> 74

<211> 5

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Описание искусственной последовательности: Синтетический пептид

<400> 74

Gly Gly Gly Gly Ser  
1 5

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Выделенная молекула рекомбинантной нуклеиновой кислоты, кодирующая гибридный белок (TFP) Т-клеточного рецептора (TCR), содержащий:

(a) субъединицу TCR, содержащую

(i) по меньшей мере часть внеклеточного домена TCR, и

(ii) внутриклеточный домен TCR, содержащий стимулирующий домен из внутриклеточного сигнального домена CD3-эпсилон; и

(b) домен антитела человека или гуманизированного антитела, содержащий антигенсвязывающий домен;

причем указанная субъединица TCR и домен антитела функционально связаны, и

при этом указанный TFP встраивается в TCR при экспрессии в Т-клетке.

2. Выделенная молекула рекомбинантной нуклеиновой кислоты, кодирующая гибридный белок (TFP) Т-клеточного рецептора (TCR), содержащий:

(a) субъединицу TCR, содержащую

(i) по меньшей мере часть внеклеточного домена TCR, и

(ii) внутриклеточный домен TCR, содержащий стимулирующий домен из внутриклеточного сигнального домена CD3-гамма; и

(b) домен антитела человека или гуманизированного антитела, содержащий антигенсвязывающий домен;

причем указанная субъединица TCR и домен антитела функционально связаны, и

при этом указанный TFP встраивается в TCR при экспрессии в Т-клетке.

3. Выделенная молекула рекомбинантной нуклеиновой кислоты, кодирующая гибридный белок (TFP) Т-клеточного рецептора (TCR), содержащий:

(a) субъединицу TCR, содержащую

(i) по меньшей мере часть внеклеточного домена TCR, и

(ii) внутриклеточный домен TCR, содержащий стимулирующий домен из внутриклеточного сигнального домена CD3-дельта; и

(b) домен антитела человека или гуманизированного антитела, содержащий антигенсвязывающий домен;

причем указанная субъединица TCR и домен антитела функционально связаны, и

при этом указанный TFP встраивается в TCR при экспрессии в Т-клетке.

4. Выделенная молекула рекомбинантной нуклеиновой кислоты, кодирующая гибридный белок (TFP) Т-клеточного рецептора (TCR), содержащий:

(a) субъединицу TCR, содержащую

(i) по меньшей мере часть внеклеточного домена TCR, и

(ii) внутриклеточный домен TCR, содержащий стимулирующий домен из внутриклеточного сигнального домена TCR-альфа; и

(b) домен антитела человека или гуманизированного антитела, содержащий антигенсвязывающий домен;

причем указанная субъединица TCR и домен антитела функционально связаны, и при этом указанный TFP встраивается в TCR при экспрессии в Т-клетке.

5. Выделенная молекула рекомбинантной нуклеиновой кислоты, кодирующая гибридный белок (TFP) Т-клеточного рецептора (TCR), содержащий:

(a) субъединицу TCR, содержащую

(i) по меньшей мере часть внеклеточного домена TCR, и

(ii) внутриклеточный домен TCR, содержащий стимулирующий домен из внутриклеточного сигнального домена TCR-бета; и

(b) домен антитела человека или гуманизированного антитела, содержащий антигенсвязывающий домен;

причем указанная субъединица TCR и домен антитела функционально связаны, и при этом указанный TFP встраивается в TCR при экспрессии в Т-клетке.

6. Выделенная молекула рекомбинантной нуклеиновой кислоты, кодирующая гибридный белок (TFP) Т-клеточного рецептора (TCR), содержащий субъединицу TCR и домен антитела человека или гуманизированного антитела, содержащий антигенсвязывающий домен, который представляет собой CD19-связывающий домен.

7. Выделенная молекула рекомбинантной нуклеиновой кислоты, кодирующая гибридный белок (TFP) Т-клеточного рецептора (TCR), содержащий субъединицу TCR и домен антитела человека или гуманизированного антитела, содержащий антигенсвязывающий домен, который представляет собой домен, связывающий В-клеточный антиген созревания (BCMA).

8. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по п. 6 или 7, характеризующаяся тем, что указанная субъединица TCR и домен антитела функционально связаны.

9. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 6-8, характеризующаяся тем, что указанный TFP встраивается в TCR при экспрессии в Т-клетке.

10. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-9, характеризующаяся тем, что указанный кодируемый антигенсвязывающий домен соединен с внеклеточным доменом TCR посредством линкерной последовательности.

11. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по п. 10, характеризующаяся тем, что указанная кодируемая линкерная последовательность содержит  $(G_4S)_n$ , в котором  $n=1-4$ .



12. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-11, характеризующаяся тем, что указанная субъединица TCR содержит внеклеточный домен TCR.
13. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-12, характеризующаяся тем, что указанная субъединица TCR содержит трансмембранный домен TCR.
14. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-13, характеризующаяся тем, что указанная субъединица TCR содержит внутриклеточный домен TCR.
15. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-14, характеризующаяся тем, что указанная субъединица TCR содержит (i) внеклеточный домен TCR, (ii) трансмембранный домен TCR, и (iii) внутриклеточный домен TCR, причем по меньшей мере два из (i), (ii) и (iii) получены из одной и той же субъединицы TCR.
16. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-15, характеризующаяся тем, что указанная субъединица TCR содержит внутриклеточный домен TCR, содержащий стимулирующий домен, выбранный из внутриклеточного сигнального домена CD3-эпсилон, CD3-гамма или CD3-дельта, или аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну модификацию.
17. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-16, характеризующаяся тем, что указанная субъединица TCR содержит внутриклеточный домен, содержащий стимулирующий домен, выбранный из функционального сигнального домена 4-1BB и/или функционального сигнального домена CD3-дзета, или аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну модификацию.
18. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-17, характеризующаяся тем, что указанный домен антитела человека или гуманизированного антитела содержит фрагмент антитела.
19. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-18, характеризующаяся тем, что указанный домен антитела человека или гуманизированного антитела содержит scFv или домен V<sub>H</sub>.
20. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-19, кодирующая (i) гипервариабельный участок (CDR) 1 легкой цепи (LC), LC CDR2 и LC CDR3 из аминокислотной последовательности CD19-связывающего домена легкой цепи, которая на 70-100% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27 и SEQ ID NO: 29, соответственно, и/или (ii) CDR1 тяжелой цепи (HC), HC CDR2 и HC

CDR3 из аминокислотной последовательности CD19-связывающего домена тяжелой цепи, которая на 70-100% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33 и SEQ ID NO: 35, соответственно.

21. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-20, кодирующая вариабельную область легкой цепи, причем указанная вариабельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, но не более 30 модификаций в аминокислотной последовательности вариабельной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 49, или последовательность, которая на 95-99% идентична аминокислотной последовательности вариабельной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 49.

22. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-21, кодирующая вариабельную область тяжелой цепи, причем указанная вариабельная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, но не более 30 модификаций в аминокислотной последовательности вариабельной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 51, или последовательность, которая на 95-99% идентична аминокислотной последовательности вариабельной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 51.

23. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-19, кодирующая (i) CDR1 легкой цепи (LC), LC CDR2 и LC CDR3 из аминокислотной последовательности ВСМА-связывающего домена легкой цепи, которая на 70-100% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39 и SEQ ID NO: 41, соответственно, и/или (ii) CDR1 тяжелой цепи (HC), HC CDR2 и HC CDR3 из аминокислотной последовательности ВСМА-связывающего домена тяжелой цепи, которая на 70-100% идентична последовательности, представленной в SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45 и SEQ ID NO: 47, соответственно.

24. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-19 и 23, кодирующая вариабельную область легкой цепи, причем указанная вариабельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, но не более 30 модификаций в аминокислотной последовательности вариабельной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 53, или последовательность, которая на 95-99% идентична аминокислотной последовательности вариабельной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 53.

25. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-19, 23 и 24, кодирующая вариабельную область тяжелой цепи, причем указанная вариабельная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, содержащую по

меньшей мере одну, но не более 30 модификаций аминокислотной последовательности варибельной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 55, или последовательность, которая на 95-99% идентична аминокислотной последовательности варибельной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 55.

26. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-25, характеризующаяся тем, что указанный TFP содержит внеклеточный домен субъединицы TCR, который содержит внеклеточный домен или его часть из белка, выбранного из группы, состоящей из альфа-цепи TCR, бета-цепи TCR, субъединицы CD3-эпсилон TCR, субъединицы CD3-гамма TCR, субъединицы CD3-дельта TCR, их функциональных фрагментов и их аминокислотных последовательностей, содержащих по меньшей мере одну, но не более 20 модификаций.

27. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-26, характеризующаяся тем, что указанный кодируемый TFP содержит трансмембранный домен, который содержит трансмембранный домен белка, выбранного из группы, состоящей из альфа-цепи TCR, бета-цепи TCR, субъединицы CD3-эпсилон TCR, субъединицы CD3-гамма TCR, субъединицы CD3-дельта TCR, их функциональных фрагментов и их аминокислотных последовательностей, содержащих по меньшей мере одну, но не более 20 модификаций.

28. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-27, характеризующаяся тем, что указанный кодируемый TFP содержит трансмембранный домен, который содержит трансмембранный домен белка, выбранного из группы, состоящей из альфа-цепи TCR, бета-цепи TCR, дзета-цепи TCR, субъединицы CD3-эпсилон TCR, субъединицы CD3-гамма TCR, субъединицы CD3-дельта TCR, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD28, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, их функциональных фрагментов и аминокислотных последовательностей, содержащих по меньшей мере одну, но не более 20 модификаций.

29. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-28, дополнительно содержащая последовательность, кодирующую костимулирующий домен.

30. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по п. 29, характеризующаяся тем, что указанный костимулирующий домен представляет собой функциональный сигнальный домен, полученный из белка, выбранного из группы, состоящей из OX40, CD2, CD27, CD28, CD29, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278) и 4-1BB (CD137), и их аминокислотных последовательностей, содержащих по меньшей мере одну, но не более 20 модификаций.

31. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-30, в которой по меньшей мере одна, но не более 20 модификаций содержат модификацию аминокислоты, которая опосредует передачу сигналов в клетке, или модификацию аминокислоты, которая фосфорилируется в ответ на связывание лиганда с TFR.
32. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-31, характеризующаяся тем, что указанная выделенная молекула нуклеиновой кислоты представляет собой иРНК.
33. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-32, характеризующаяся тем, что указанный TFR включает иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (ITAM) из субъединицы TCR, которая содержит ITAM или его часть из белка, выбранного из группы, состоящий из субъединицы CD3-дзета TCR, субъединицы CD3-эпсилон TCR, субъединицы CD3-гамма TCR, субъединицы CD3-дельта TCR, дзета-цепи TCR, цепи рецептора Fc-эпсилон 1, цепи рецептора Fc-эпсилон 2, цепи рецептора Fc-гамма 1, цепи рецептора Fc-гамма 2a, цепи рецептора Fc-гамма 2b1, цепи рецептора Fc-гамма 2b2, цепи рецептора Fc-гамма 3a, цепи рецептора Fc-гамма 3b, цепи рецептора Fc-бета 1, TYROBP (DAP12), CD5, CD16a, CD16b, CD22, CD23, CD32, CD64, CD79a, CD79b, CD89, CD278, CD66d, их функциональных фрагментов и их аминокислотных последовательностей, содержащих по меньшей мере одну, но не более 20 модификаций.
34. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по п. 33, характеризующаяся тем, что указанный ITAM заменяет ITAM CD3-гамма, CD3-дельта или CD3-эпсилон.
35. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по п. 33, характеризующаяся тем, что указанный ITAM выбран из группы, состоящей из субъединицы CD3-дзета TCR, субъединицы CD3-эпсилон TCR, субъединицы CD3-гамма TCR и субъединицы CD3-дельта TCR, и заменяет различные ITAM, выбранные из группы, состоящей из субъединицы CD3-дзета TCR, субъединицы CD3-эпсилон TCR, субъединицы CD3-гамма TCR и субъединицы CD3-дельта TCR.
36. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-35, характеризующаяся тем, что указанная нуклеиновая кислота содержит аналог нуклеотида.
37. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по п. 36, характеризующаяся тем, что указанный аналог нуклеотида выбран из группы, состоящей из 2'-О-метил, 2'-О-метоксиэтил (2'-О-МОЕ), 2'-О-аминопропил, 2'-дезокси, Т-дезокси-2'-фтор, 2'-О-аминопропил (2'-О-AP), 2'-О-диметиламиноэтил (2'-О-DMAOE), 2'-О-диметиламинопропил (2'-О-DMAP), Т-О-диметиламиноэтилоксиэтил (2'-О-DMAEOE), 2'-О-N-метилацетамидо (2'-О-NMA)-модифицированной, закрытой нуклеиновой кислоты

(LNA), соединенной этиленовыми мостиками нуклеиновой кислоты (ENA), пептидной нуклеиновой кислоты (PNA), 1',5'-ангидрогекситоловой нуклеиновой кислоты (HNA), морфолино, метилфосфонатного нуклеотида, тиолфосфонатного нуклеотида и 2'-фтор-N3-P5'-фосфорамидита.

38. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-37, дополнительно содержащая лидерную последовательность.

39. Выделенная молекула полипептида, кодируемая молекулой нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-38.

40. Выделенная молекула рекомбинантного TFP, содержащая человеческий или гуманизированный CD19-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен TCR.

41. Выделенная молекула рекомбинантного TFP, содержащая человеческий или гуманизированный CD19-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен TCR, причем указанная молекула TFP способна функционально взаимодействовать с эндогенным комплексом TCR и/или по меньшей мере одним эндогенным полипептидом TCR.

42. Выделенная молекула рекомбинантного TFP, содержащая человеческий или гуманизированный CD19-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен TCR, причем указанная молекула TFP способна функционально встраиваться в эндогенный комплекс TCR.

43. Выделенная молекула TFP по п. 40, содержащая антитело или фрагмент антитела, содержащий человеческий или гуманизированный CD19-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен TCR.

44. Выделенная молекула TFP по любому из пп. 40-43, характеризующаяся тем, что указанный CD19-связывающий домен представляет собой scFv или домен V<sub>H</sub>.

45. Выделенная молекула TFP по любому из пп. 40-44, характеризующаяся тем, что указанный CD19-связывающий домен содержит тяжелую цепь, которая на 95-100% идентична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 51, ее функциональный фрагмент или ее аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, но не более 30 модификаций.

46. Выделенная молекула TFP по любому из пп. 40-45, характеризующаяся тем, что указанный CD19-связывающий домен содержит легкую цепь, которая на 95-100% идентична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 49, ее функциональный фрагмент или ее аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, но не более 30 модификаций.

47. Выделенная молекула TFP по любому из пп. 40-46, содержащая внеклеточный домен TCR, который содержит внеклеточный домен или его часть из белка, выбранного из группы, состоящей из альфа-цепи TCR, бета-цепи TCR, субъединицы CD3-эпсилон TCR, субъединицы CD3-гамма TCR, субъединицы CD3-дельта TCR, их функциональных фрагментов и их аминокислотных последовательностей, содержащих по меньшей мере одну, но не более 20 модификаций.
48. Выделенная молекула TFP по любому из пп. 40-47, характеризующаяся тем
49. Выделенная молекула TFP по любому из пп. 40-48, характеризующаяся тем, что указанный CD19-связывающий домен соединен с внеклеточным доменом TCR посредством линкерной последовательности.
50. Выделенная молекула TFP по п. 49, характеризующаяся тем, что указанная линкерная область содержит  $(G_4S)_n$ , где  $n=1-4$ .
51. Выделенная молекула рекомбинантного TFP, содержащая человеческий или гуманизированный ВСМА-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен TCR.
52. Выделенная молекула рекомбинантного TFP, содержащая человеческий или гуманизированный ВСМА-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен TCR, причем указанная молекула TFP способна функционально взаимодействовать с эндогенным комплексом TCR и/или по меньшей мере одним эндогенным полипептидом TCR.
53. Выделенная молекула рекомбинантного TFP, содержащая человеческий или гуманизированный ВСМА-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен TCR, причем указанная молекула TFP способна функционально встраиваться в эндогенный комплекс TCR.
54. Выделенная молекула TFP по п. 53, содержащая антитело или фрагмент антитела, содержащий человеческий или гуманизированный ВСМА-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен TCR.
55. Выделенная молекула TFP по любому из пп. 51-54, характеризующаяся тем, что указанный ВСМА-связывающий домен представляет собой scFv или домен  $V_H$ .
56. Выделенная молекула TFP по любому из пп. 51-55, характеризующаяся тем, что указанный ВСМА-связывающий домен содержит тяжелую цепь, которая на 95-100% идентична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 55, ее функциональный фрагмент или ее аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, но не более 30 модификаций.

57. Выделенная молекула TFP по любому из пп. 51-56, характеризующаяся тем, что указанный ВСМА-связывающий домен содержит легкую цепь, которая на 95-100% идентична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 53, ее функциональный фрагмент или ее аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере одну, но не более 30 модификаций.
58. Выделенная молекула TFP по любому из пп. 51-57, содержащая внеклеточный домен TCR, который содержит внеклеточный домен или его часть из белка, выбранного из группы, состоящей из альфа-цепи TCR, бета-цепи TCR, субъединицы CD3-эпсилон TCR, субъединицы CD3-гамма TCR, субъединицы CD3-дельта TCR, их функциональных фрагментов и их аминокислотных последовательностей, содержащих по меньшей мере одну, но не более 20 модификаций.
59. Выделенная молекула TFP по любому из пп. 51-58, характеризующаяся тем, что указанный ВСМА-связывающий домен соединен с внеклеточным доменом TCR посредством линкерной последовательности.
60. Выделенная молекула TFP по п. 59, характеризующаяся тем, что указанная линкерная область содержит  $(G_4S)_n$ , где  $n=1-4$ .
61. Выделенная молекула TFP по любому из пп. 40-60, дополнительно содержащая последовательность, кодирующую костимулирующий домен.
62. Выделенная молекула TFP по любому из пп. 40-61, дополнительно содержащая последовательность, кодирующую внутриклеточный сигнальный домен.
63. Выделенная молекула TFP по любому из пп. 40-62, дополнительно содержащая лидерную последовательность.
64. Нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, кодирующую TFP по любому из пп. 40-63.
65. Нуклеиновая кислота по п. 64, характеризующаяся тем, что указанная нуклеиновая кислота выбрана из группы, состоящей из ДНК и РНК.
66. Нуклеиновая кислота по п. 64 или 65, характеризующаяся тем, что указанная нуклеиновая кислота представляет собой иРНК.
67. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 64-66, характеризующаяся тем, что указанная нуклеиновая кислота содержит аналог нуклеотида.
68. Нуклеиновая кислота по п. 67, характеризующаяся тем, что указанный аналог нуклеотида выбран из группы, состоящей из 2'-О-метил, 2'-О-метоксиэтил (2'-О-МОЕ), 2'-О-аминопропил, 2'-дезоксидезокси, Т-дезоксидезокси-2'-фтор, 2'-О-аминопропил (2'-О-АР), 2'-О-диметиламиноэтил (2'-О-DMAOE), 2'-О-диметиламинопропил (2'-О-DMAP), Т-О-диметиламиноэтилоксиэтил (2'-О-DMAEOE), 2'-О-N-метилацетида (2'-О-NMA)-

модифицированной, закрытой нуклеиновой кислоты (LNA), соединенной этиленовыми мостиками нуклеиновой кислоты (ENA), пептидной нуклеиновой кислоты (PNA), 1',5'-ангидрогекситоловой нуклеиновой кислоты (HNA), морфолино, метилфосфонатного нуклеотида, тиолфосфонатного нуклеотида и 2'-фтор-N3-P5'-фосфорамидита.

69. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 64-68, дополнительно содержащая промотор.

70. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 64-69, характеризующаяся тем, что указанная нуклеиновая кислота представляет собой транскрибируемую в условиях *in vitro* нуклеиновую кислоту.

71. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 64-70, характеризующаяся тем, что указанная нуклеиновая кислота дополнительно содержит последовательность, кодирующую поли(A)-хвост.

72. Нуклеиновая кислота по любому из пп. 64-71, характеризующаяся тем, что указанная нуклеиновая кислота дополнительно содержит последовательность 3'-НТО.

73. Вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую TFP по любому из пп. 40-63.

74. Вектор по п. 73, характеризующийся тем, что указанный вектор выбран из группы, состоящей из ДНК, РНК, плазмиды, лентивирусного вектора, аденовирусного вектора, вектора на основе вируса саркомы Рауса (RSV) или ретровирусного вектора.

75. Вектор по п. 73 или 74, дополнительно содержащий промотор.

76. Вектор любому из пп. 73-75, характеризующийся тем, что указанный вектор представляет собой транскрибируемый в условиях *in vitro* вектор.

77. Вектор по любому из пп. 73-76, характеризующийся тем, что последовательность нуклеиновой кислоты в векторе дополнительно содержит поли(A)-хвост.

78. Вектор по любому из пп. 73-77, характеризующийся тем, что последовательность нуклеиновой кислоты в векторе дополнительно содержит 3'-НТО.

79. Клетка, содержащая выделенную молекулу нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-38, молекулу полипептида по п. 39, молекулу TFP по любому из пп. 40-63, нуклеиновую кислоту по любому из пп. 64-72, вектор по любому из пп. 73-78.

80. Клетка по п. 79, характеризующаяся тем, что указанная клетка представляет собой Т-клетку человека.

81. Клетка по п. 80, характеризующаяся тем, что указанная Т-клетка представляет собой CD8<sup>+</sup> или CD4<sup>+</sup> Т-клетку.

82. Клетка по любому из пп. 79-81, дополнительно содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую ингибирующую молекулу, которая содержит первый полипептид, который



содержит по меньшей мере часть ингибирующей молекулы, связанный со вторым полипептидом, который содержит положительный сигнал из внутриклеточного сигнального домена.

83. Клетка по п. 82, характеризующаяся тем, что указанная ингибирующая молекула содержит первый полипептид, который содержит по меньшей мере часть PD1, и второй полипептид, содержащий костимулирующий домен и первичный сигнальный домен.

84. CD8<sup>+</sup> или CD4<sup>+</sup> Т-клетка человека, содержащая по меньшей мере две молекулы TFP, причем указанные молекулы TFP содержат человеческий или гуманизированный CD19- или ВСМА-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен TCR, при этом указанная молекула TFP способна функционально взаимодействовать с эндогенным комплексом TCR и/или по меньшей мере одним эндогенным полипептидом TCR внутри, возле и/или на поверхности CD8<sup>+</sup> или CD4<sup>+</sup> Т-клетки человека.

85. Белковый комплекс, содержащий:

(i) молекулу TFP, содержащую человеческий или гуманизированный CD19-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен TCR; и

(ii) по меньшей мере одну эндогенную субъединицу TCR или эндогенный комплекс TCR.

86. Белковый комплекс по п. 85, характеризующийся тем, что указанный TCR содержит внеклеточный домен или его часть из белка, выбранного из группы, состоящей из альфа-цепи TCR, бета-цепи TCR, субъединицы CD3-эпсилон TCR, субъединицы CD3-гамма TCR и субъединицы CD3-дельта TCR.

87. Белковый комплекс по п. 85 или 86, характеризующийся тем, что указанный CD19-связывающий домен соединен с внеклеточным доменом TCR посредством линкерной последовательности.

88. Белковый комплекс по п. 87, характеризующийся тем, что указанная линкерная область содержит  $(G_4S)_n$ , где  $n=1-4$ .

89. Белковый комплекс, содержащий:

(i) TFP, кодируемый выделенной молекулой нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-38, и

(ii) по меньшей мере одну эндогенную субъединицу TCR или эндогенный комплекс TCR.

90. Белковый комплекс, содержащий:

(i) молекулу TFP, содержащую человеческий или гуманизированный ВСМА-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен TCR; и

(ii) по меньшей мере одну эндогенную субъединицу TCR или эндогенный комплекс TCR.

91. Белковый комплекс по п. 90, характеризующийся тем, что указанный TCR содержит внеклеточный домен или его часть из белка, выбранного из группы, состоящей из альфа-цепи TCR, бета-цепи TCR, субъединицы CD3-эпсилон TCR, субъединицы CD3-гамма TCR и субъединицы CD3-дельта TCR.

92. Белковый комплекс по п. 90 или 91, характеризующийся тем, что указанный ВСМА-связывающий домен соединен с внеклеточным доменом TCR посредством линкерной последовательности.

93. Белковый комплекс по п. 92, характеризующийся тем, что указанная линкерная область содержит  $(G_4S)_n$ , где  $n=1-4$ .

94. CD8<sup>+</sup> или CD4<sup>+</sup> Т-клетка человека, содержащая по меньшей мере два различных белка TFP на белковый комплекс по любому из пп. 85-93.

95. CD8<sup>+</sup> или CD4<sup>+</sup> Т-клетка человека, содержащая по меньшей мере две различные молекулы TFP, кодируемые выделенной молекулой нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-38.

96. Популяция CD8<sup>+</sup> или CD4<sup>+</sup> Т-клеток человека, характеризующая в которой указанные Т-клетки популяции по отдельности или в совокупности содержат по меньшей мере две молекулы TFP, причем указанные молекулы TFP содержат человеческий или гуманизированный CD19-связывающий или ВСМА-связывающий домен, внеклеточный домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен TCR, при этом указанная молекула TFP способна функционально взаимодействовать с эндогенным комплексом TCR и/или по меньшей мере одним эндогенным полипептидом TCR внутри, возле и/или на поверхности CD8<sup>+</sup> или CD4<sup>+</sup> Т-клетки человека.

97. Популяция CD8<sup>+</sup> или CD4<sup>+</sup> Т-клеток человека, в которой характеризующая указанные Т-клетки популяции по отдельности или в совокупности содержат по меньшей мере две молекулы TFP, кодируемые выделенной молекулой нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-38.

98. Способ получения клетки, включающий трансдукцию Т-клетки выделенной молекулой нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-38, нуклеиновой кислотой по любому из пп. 64-72, или вектором по любому из пп. 73-78.

99. Способ получения популяции РНК-модифицированных клеток, включающий введение транскрибируемой в условиях *in vitro* РНК или синтетической РНК в клетку, причем указанная РНК содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую молекулу TFP по любому из пп. 40-63.
100. Способ обеспечения противоопухолевого иммунитета у млекопитающего, включающий введение указанному млекопитающему эффективного количества выделенной молекулы нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-38, молекулы полипептида по п. 39, клетки, экспрессирующей молекулу полипептида по п. 39, молекулы TFP по любому из пп. 40-63, нуклеиновой кислоты по любому из пп. 64-72, вектора по любому из пп. 73-78 или клетки по любому из пп. 79-84 и 94-98.
101. Способ по п. 100, характеризующийся тем, что указанная клетка представляет собой аутологичную Т-клетку.
102. Способ по п. 100, характеризующийся тем, что указанная клетка представляет собой аллогенную Т-клетку.
103. Способ по любому из пп. 100-102, характеризующийся тем, что указанное млекопитающее представляет собой человека.
104. Способ лечения млекопитающего, страдающего заболеванием, связанным с экспрессией CD19 или ВСМА, включающий введение указанному млекопитающему эффективного количества выделенной молекулы нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-38, молекулы полипептида по п. 39, клетки, экспрессирующей молекулу полипептида по п. 39, молекулы TFP по любому из пп. 40-63, нуклеиновой кислоты по любому из пп. 64-72, вектора по любому из пп. 73-78 или клетки по любому из пп. 79-84 и 94-98.
105. Способ по п. 104, характеризующийся тем, что указанное заболевание, связанное с экспрессией CD19 или ВСМА, выбрано из группы, состоящей из пролиферативного заболевания, рака, злокачественной опухоли, миелодисплазии, миелодиспластического синдрома, прелейкоза, показания, не относящегося к раку, связанного с экспрессией CD19.
106. Способ по п. 104, характеризующийся тем, что указанное заболевание представляет собой гематологический рак, выбранный из группы, состоящей из острого В-клеточного лимфобластного лейкоза (В-ALL), острого Т-клеточного лимфобластного лейкоза (Т-ALL), острого лимфобластного лейкоза (ALL); хронического миелобластного лейкоза (СМL), хронического лимфобластного лейкоза (СLL); пролимфоцитарного В-клеточного лейкоза, новообразования бластных плазмацитоидных дендритных клеток, лимфомы Беркитта, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, лейкоза ворсистых клеток, мелкоклеточной фолликулярной лимфомы, крупноклеточной

фолликулярной лимфомы, злокачественных лимфопрлиферативных состояний, лимфомы MALT-типа, лимфомы из клеток мантийной зоны, лимфомы из клеток маргинальной зоны, множественной миеломы, миелодисплазии, миелодиспластического синдрома, неходжкинской лимфомы, плазмобластической лимфомы, новообразования плазмацитоидных дендритных клеток, макроглобулинемии Вальденстрема, прелейкоза, заболевания, связанного с экспрессией CD19 или BCMA, и их комбинации.

107. Способ по п. 104, характеризующийся тем, что указанные клетки, экспрессирующие молекулу TFP, вводят в комбинации с агентом, который увеличивает эффективность клетки, экспрессирующей молекулу TFP.

108. Способ по любому из пп. 104-107, характеризующийся тем, что у указанного млекопитающего высвобождается меньшее количество цитокинов по сравнению с млекопитающим, которому вводят эффективное количество Т-клеток, экспрессирующих CD19-связывающий химерный антигенный рецептор (CAR) или BCMA-связывающий CAR.

109. Способ по любому из пп. 104-108, характеризующийся тем, что указанные клетки, экспрессирующие молекулу TFP, вводят в комбинации с агентом, который облегчает один или более побочных эффектов, связанных с введением клетки, экспрессирующей молекулу TFP.

110. Способ по любому из пп. 104-109, характеризующийся тем, что указанные клетки, экспрессирующие молекулу TFP, вводят в комбинации с агентом, который лечит заболевание, связанное с CD19 или BCMA.

111. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-38, выделенная молекула полипептида по п. 39, клетка, экспрессирующая молекулу полипептида по п. 39, выделенный TFP по любому из пп. 40-63, нуклеиновая кислота по любому из пп. 64-72, вектор по любому из пп. 73-78, комплекс по любому из пп. 85-93, или клетка по любому из пп. 79-84 и 94-98 для применения в качестве лекарственного средства.

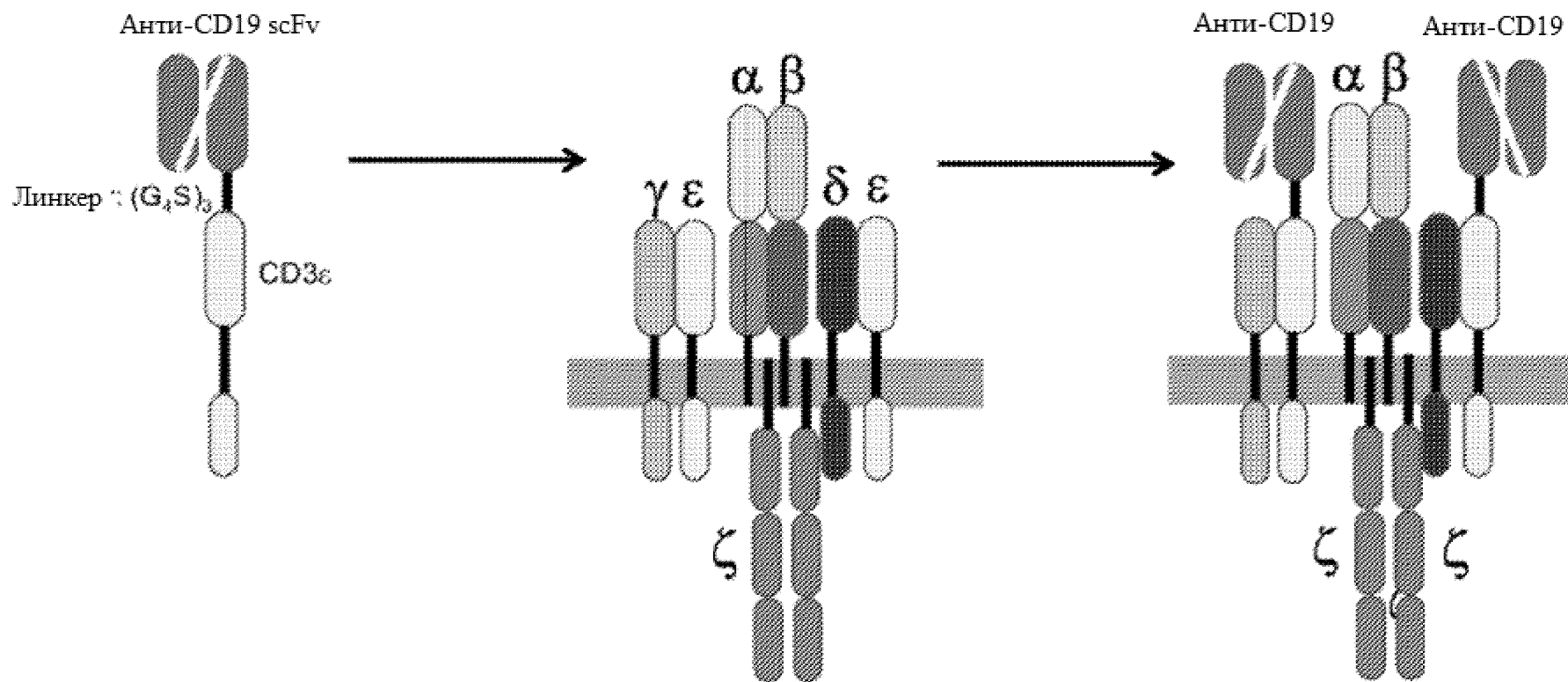
112. Способ лечения млекопитающего, страдающего заболеванием, связанным с экспрессией CD19 или BCMA, включающий введение указанному млекопитающему эффективного количества выделенной молекулы нуклеиновой кислоты по любому из пп. 1-38, молекулы полипептида по п. 39, клетки, экспрессирующей молекулу полипептида по п. 39, молекулы TFP по любому из пп. 40-63, нуклеиновой кислоты по любому из пп. 64-72, вектора по любому из пп. 73-78, или клетки по любому из пп. 79-84 и 94-98, причем у указанного млекопитающего высвобождается меньшее количество цитокинов по сравнению с млекопитающим, которому вводят эффективное количество Т-клеток,

экспрессирующих CD19-связывающий химерный антигенный рецептор (CAR) или BCMA-связывающий CAR.

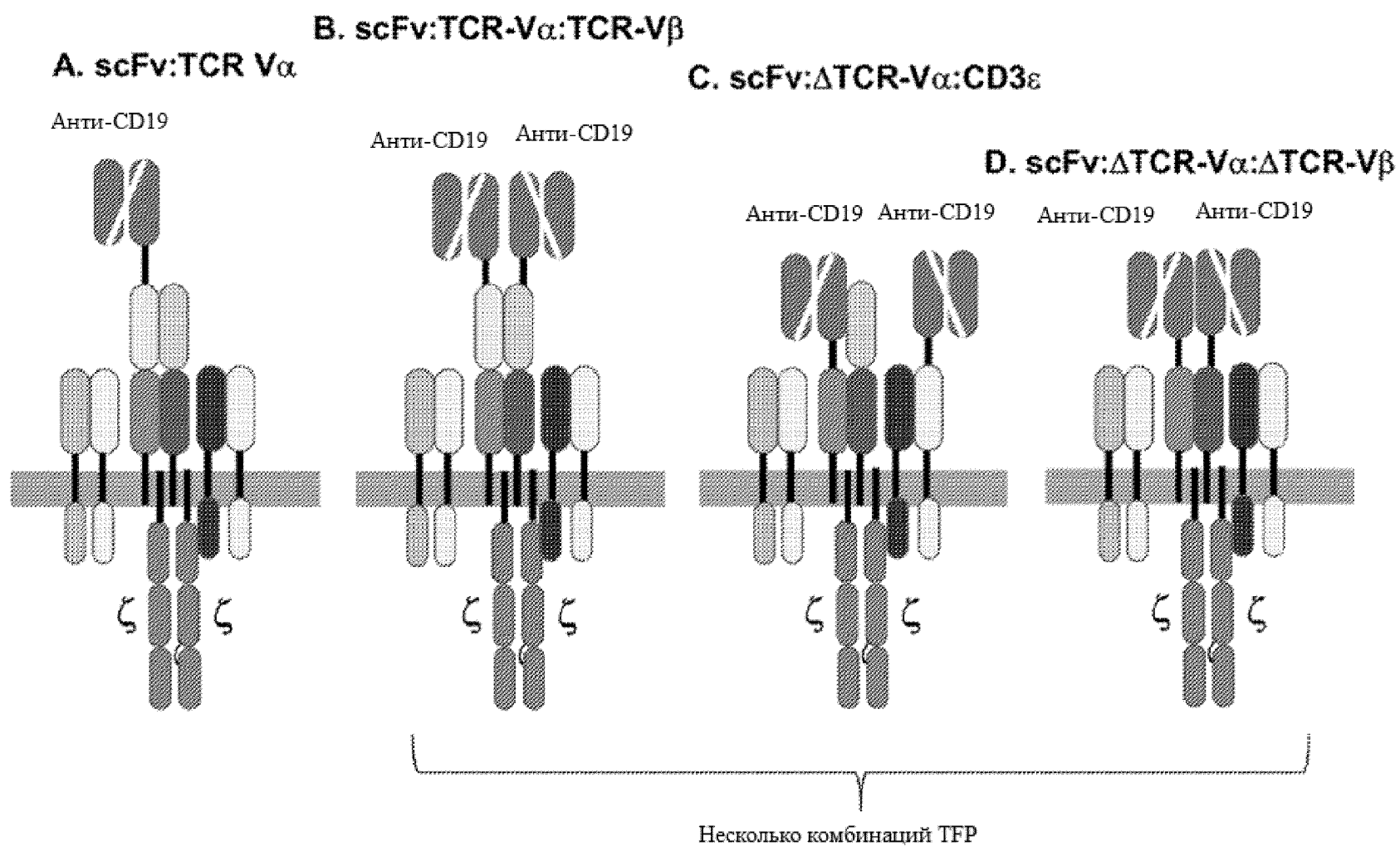
TFP: гибридный полипептид CD19-  
связывающего scFv и CD3ε

Эндогенный TCR

Перепрограммированный TCR



Фигура 1

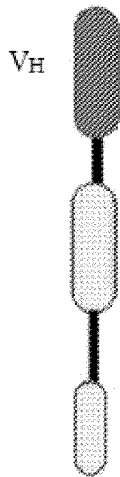


Фигура 2

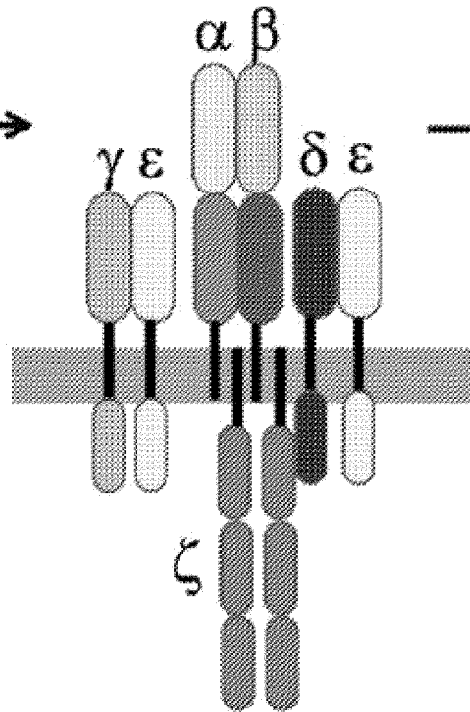
**TFP:**  
Анти-CD19 V<sub>H</sub> и CD3 $\epsilon$

Анти-CD19

V<sub>H</sub>

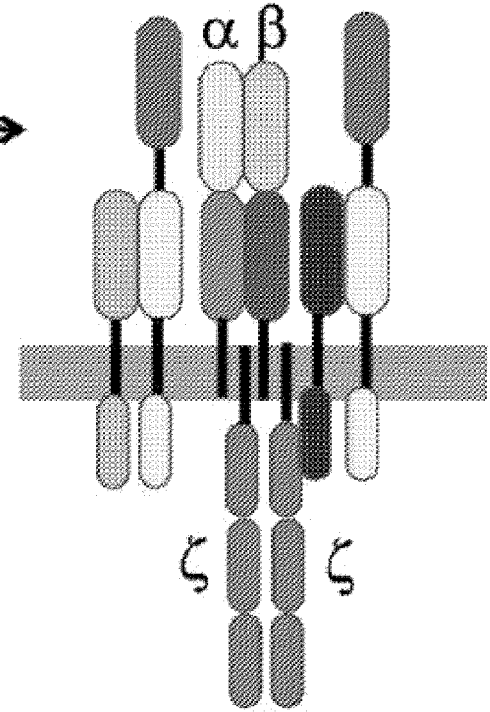


**TCR**



Перепрограммированный TCR

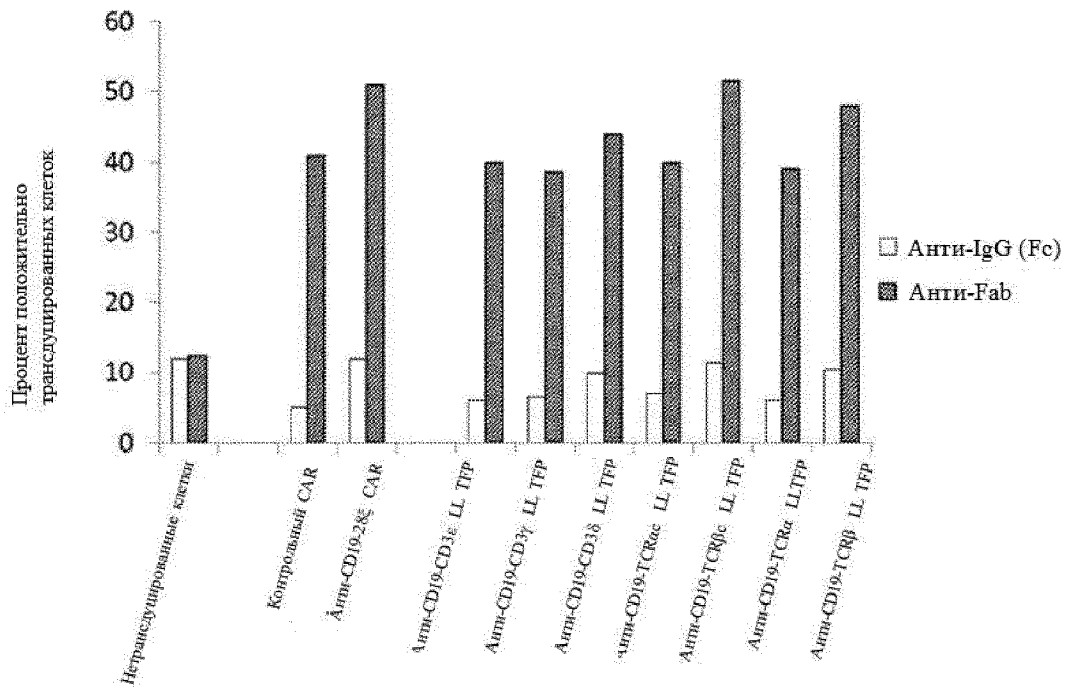
Анти-CD19      Анти-CD19



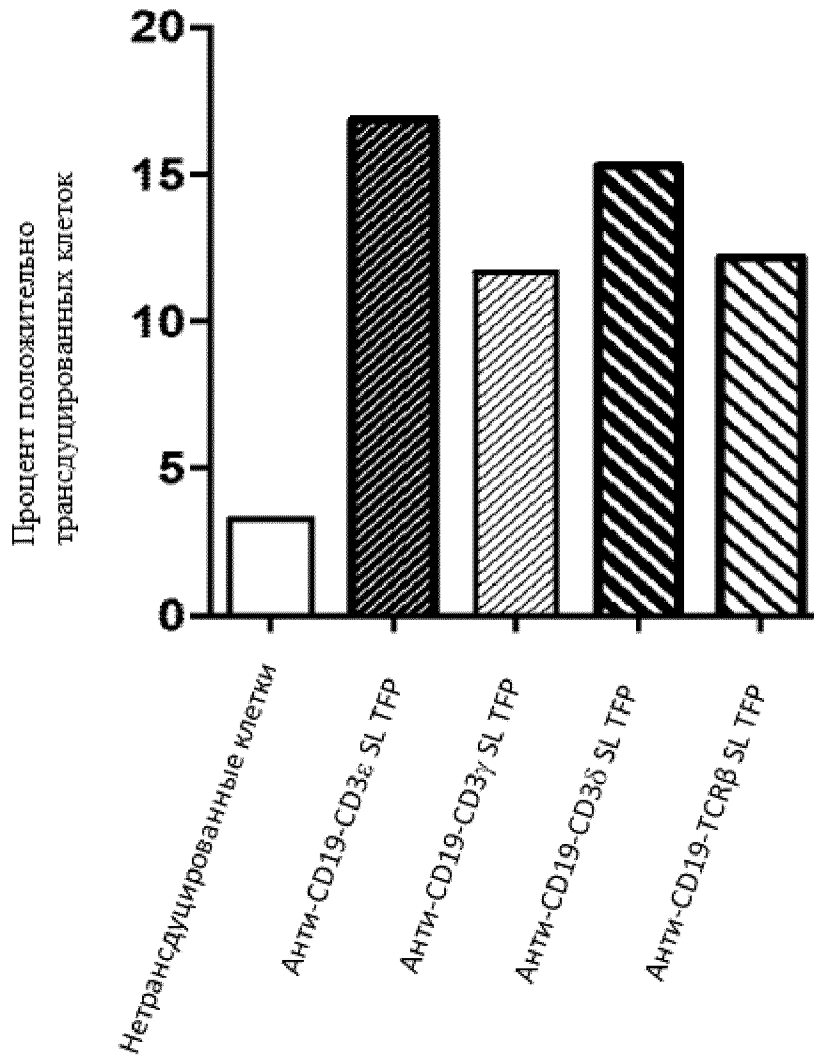
Фигура 3



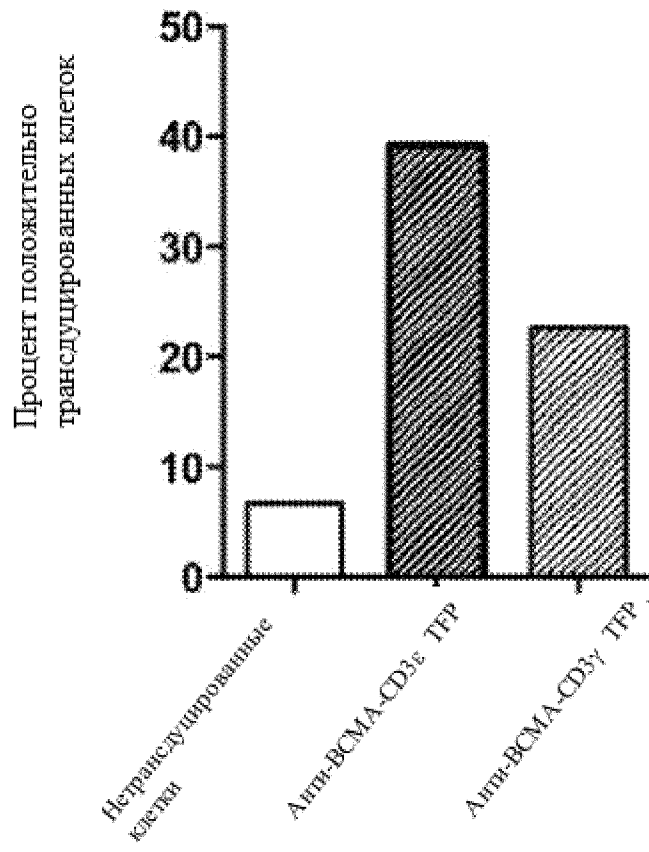




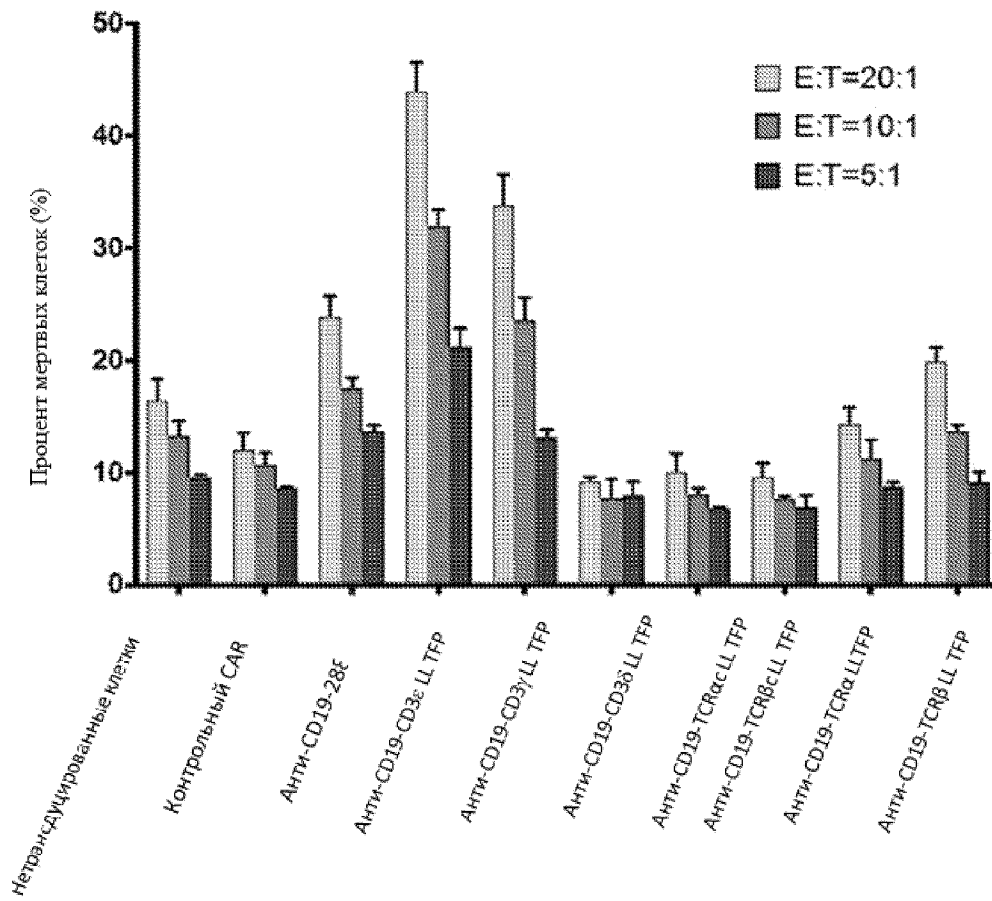
Фигура 5



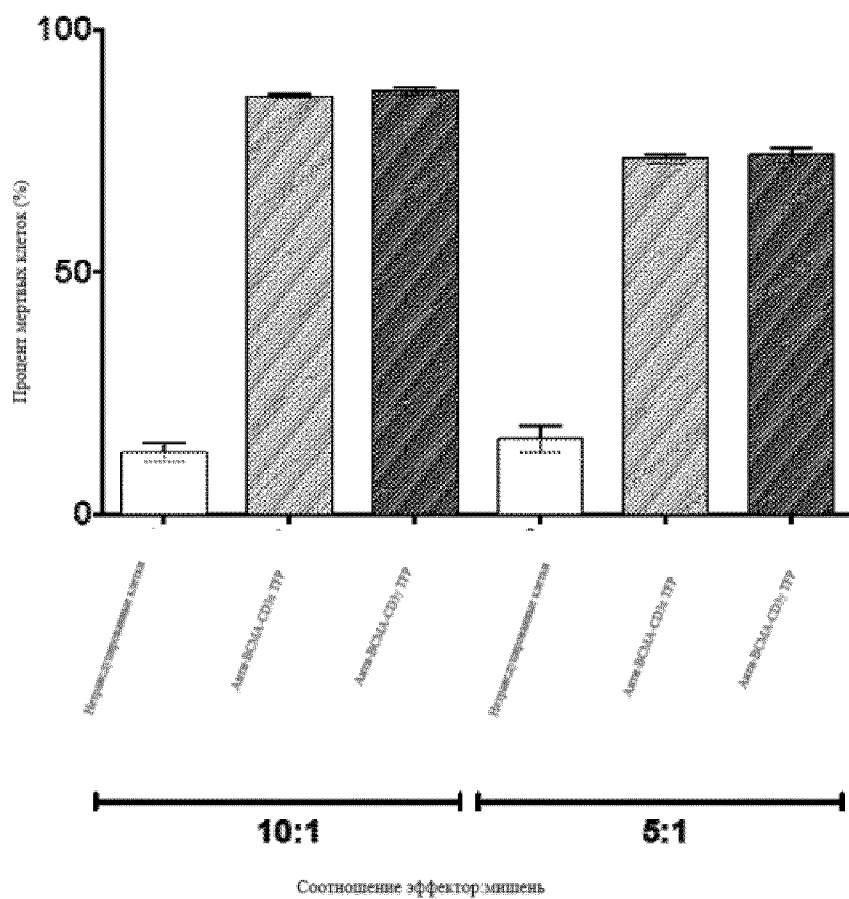
Фигура 6



Фигура 7

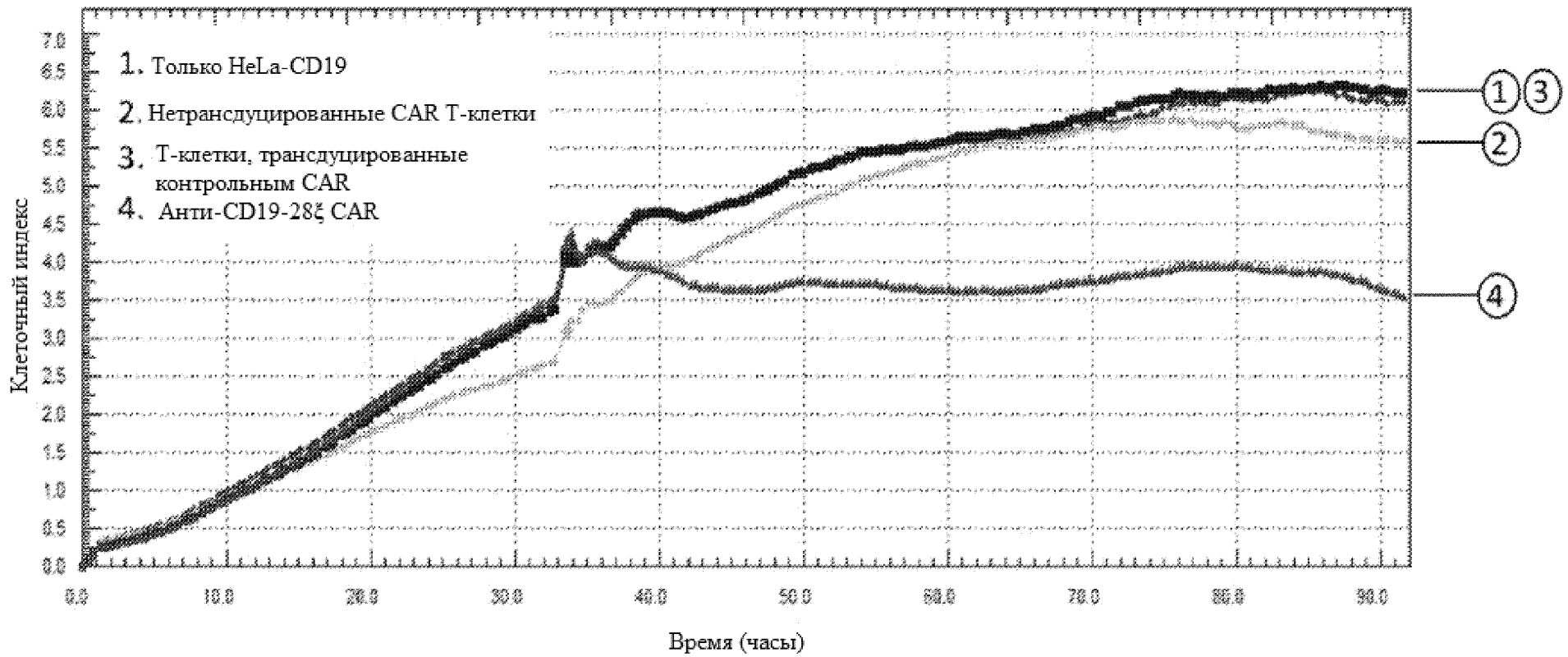


Фигура 8



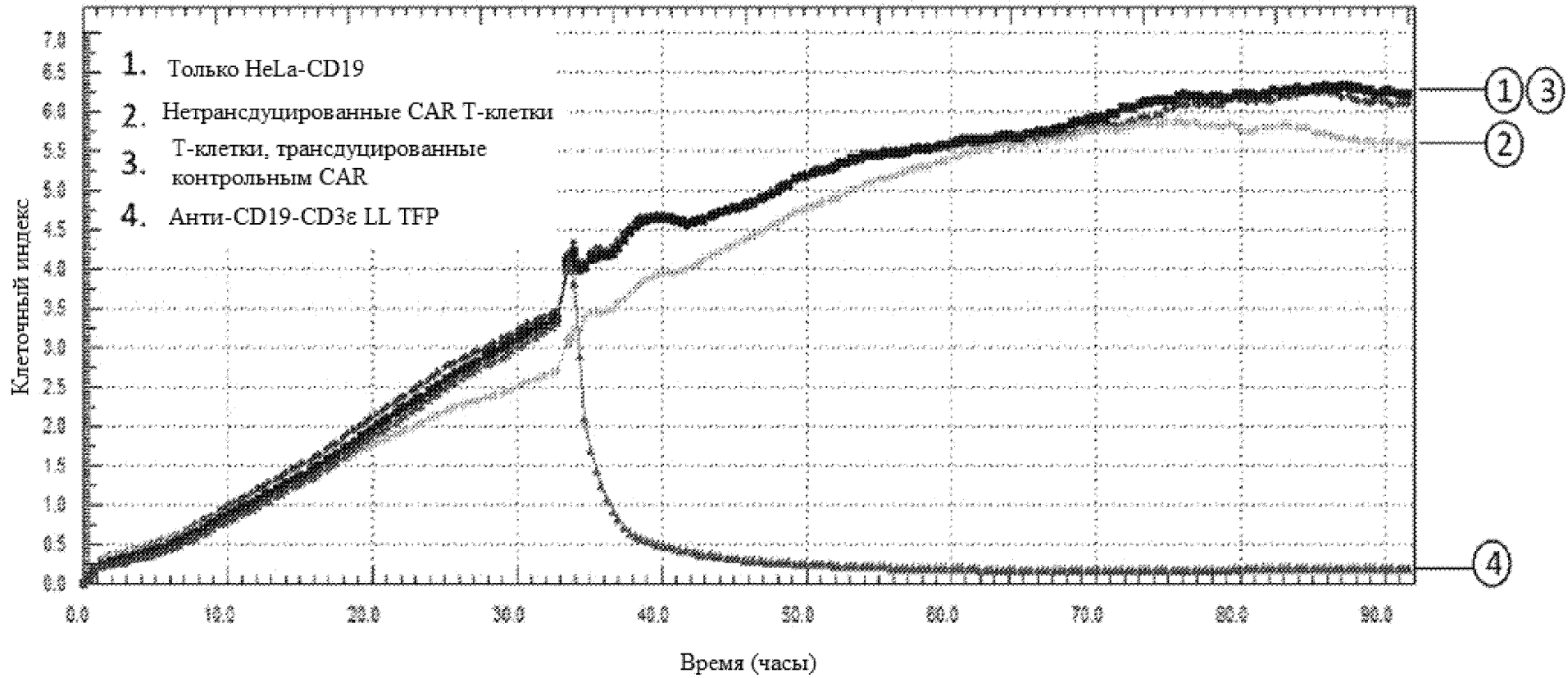
Фигура 9

Анти-CD19-28 $\xi$  CAR



Фигура 10А

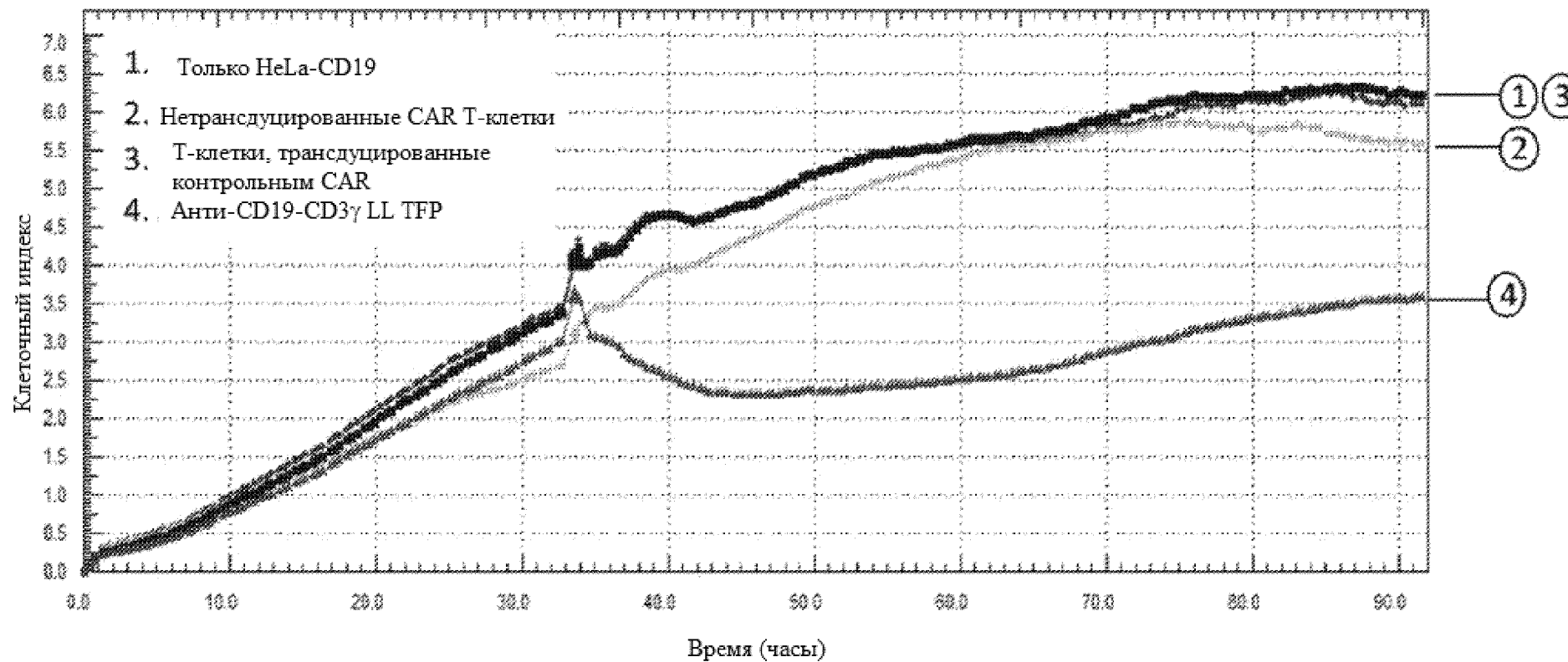
Анти-CD19-CD3ε LL TFP



Фигура 10В

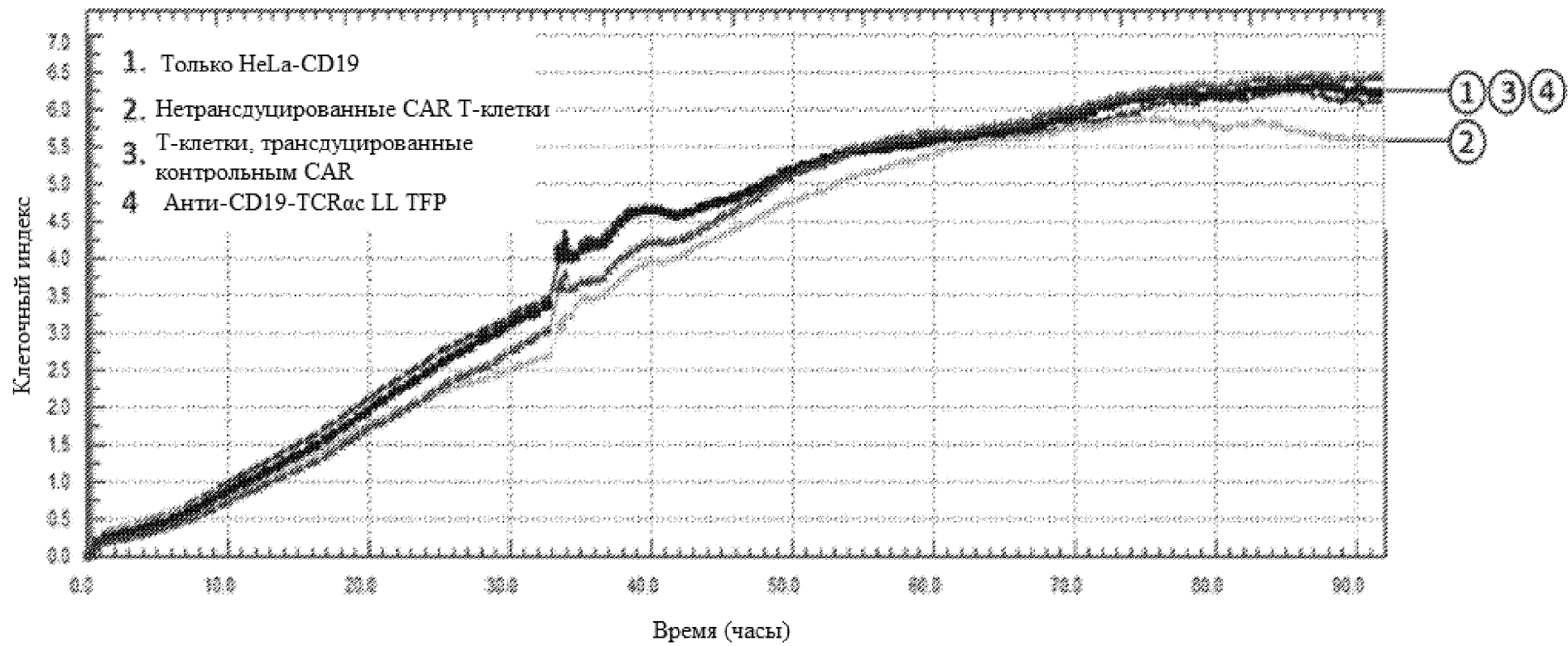


Анти-CD19-CD3 $\gamma$  LL TFP



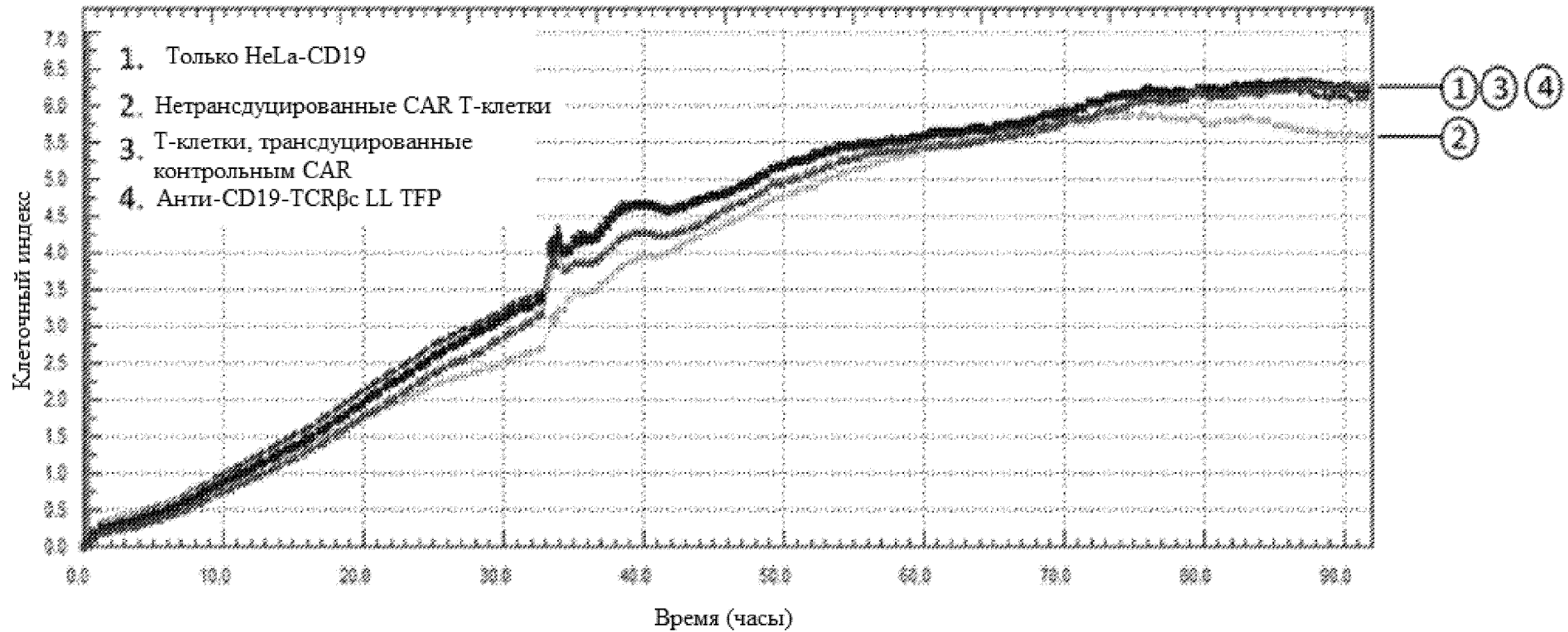
Фигура 10С

Анти-CD19-TCR $\alpha$  LL TFP



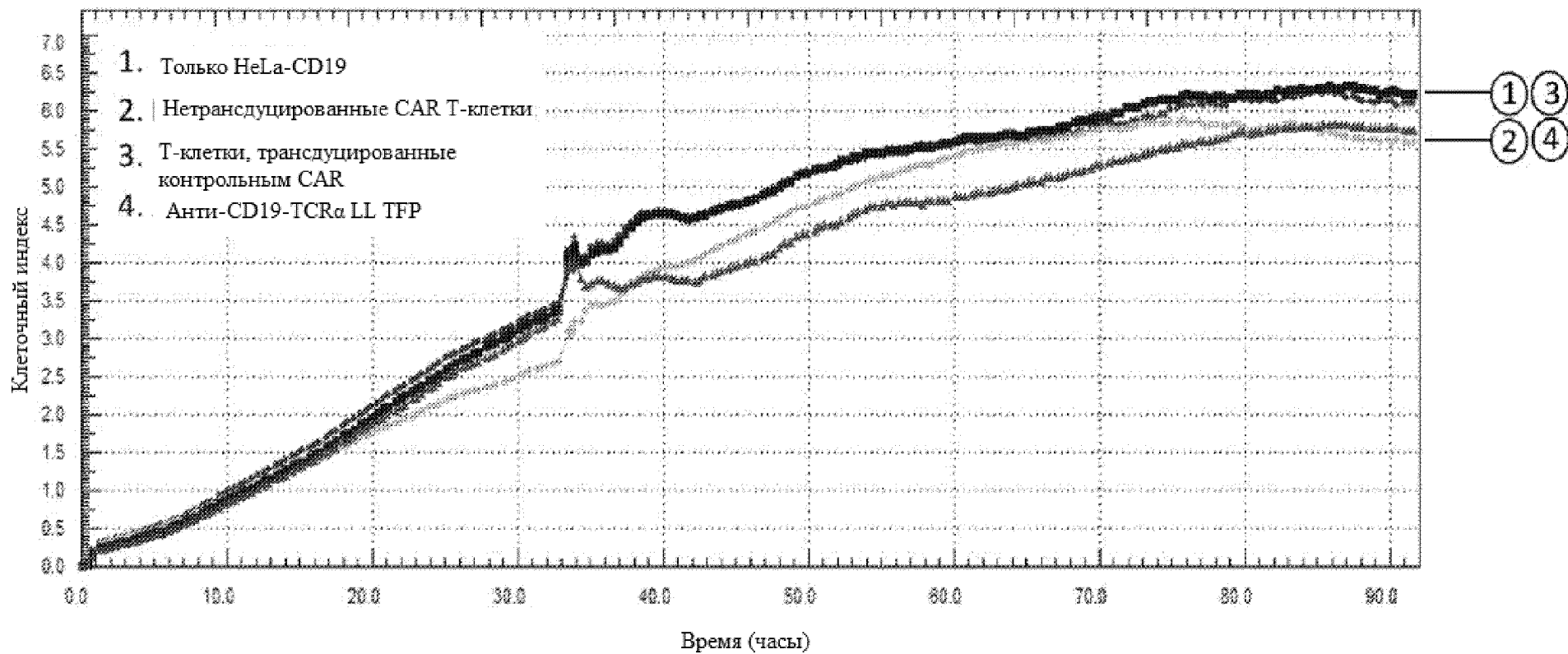
Фигура 10D

Анти-CD19-TCR $\beta$ c LL TFP

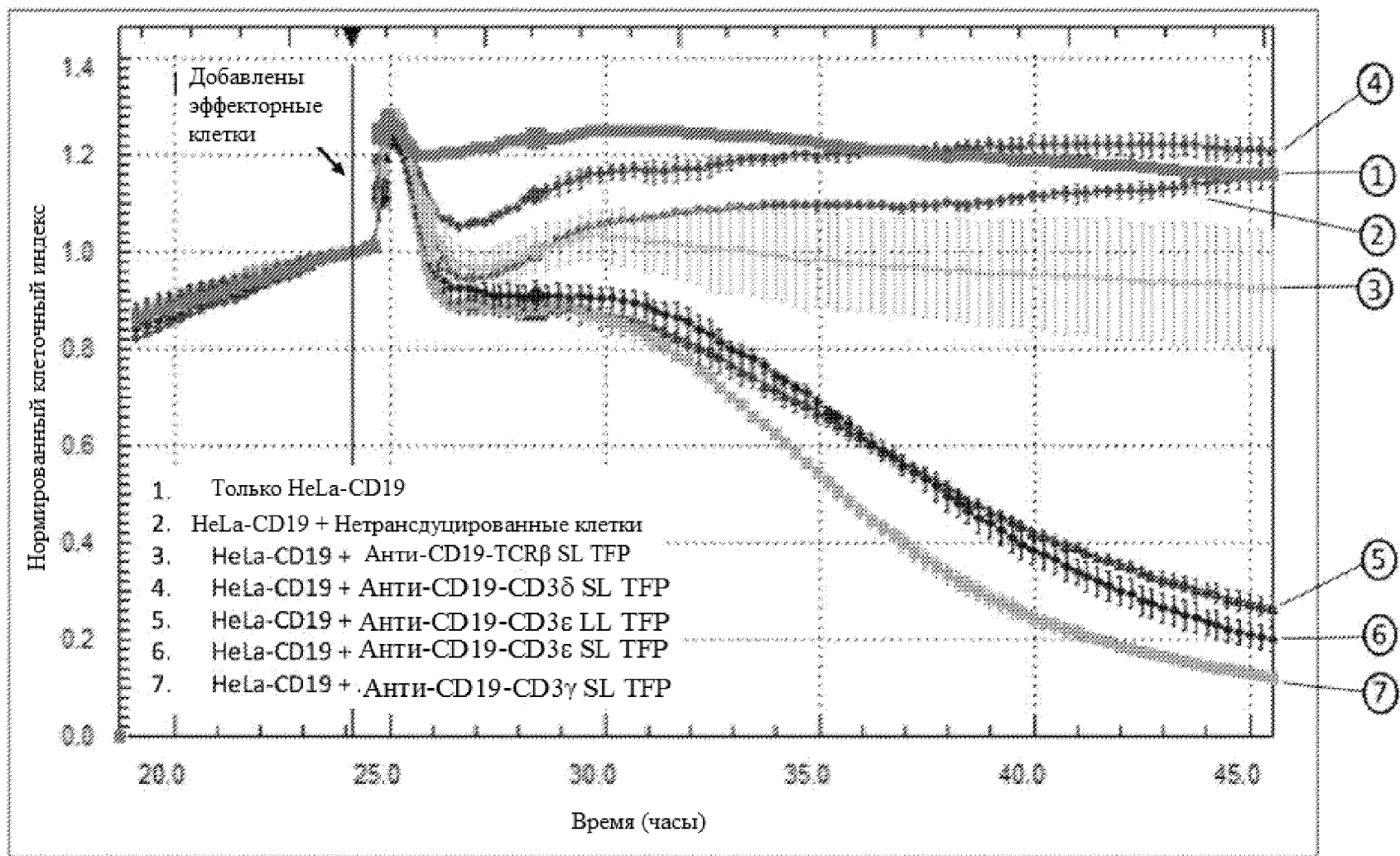


Фигура 10E

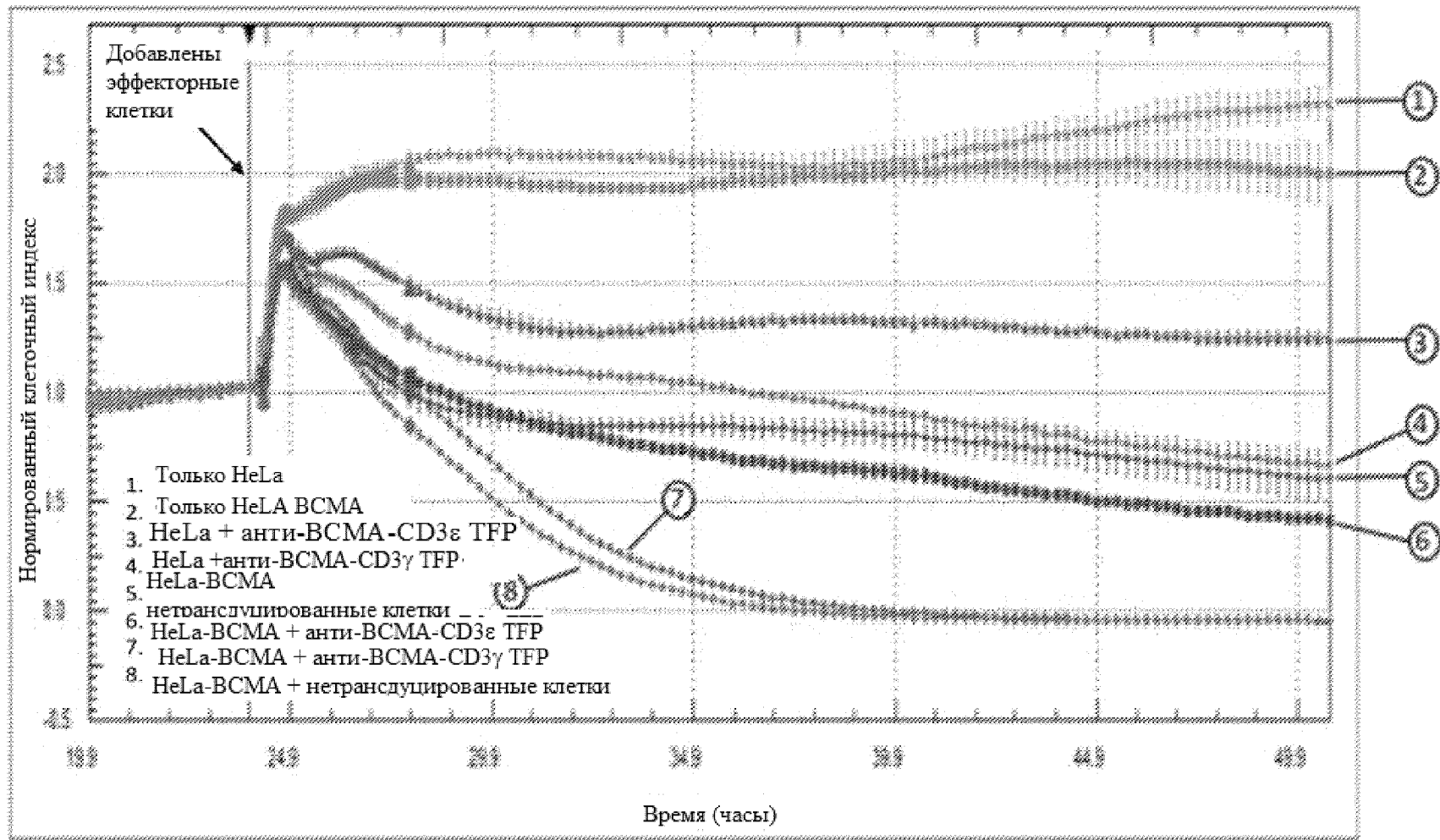
Анти-CD19-TCR $\alpha$  LL TFP



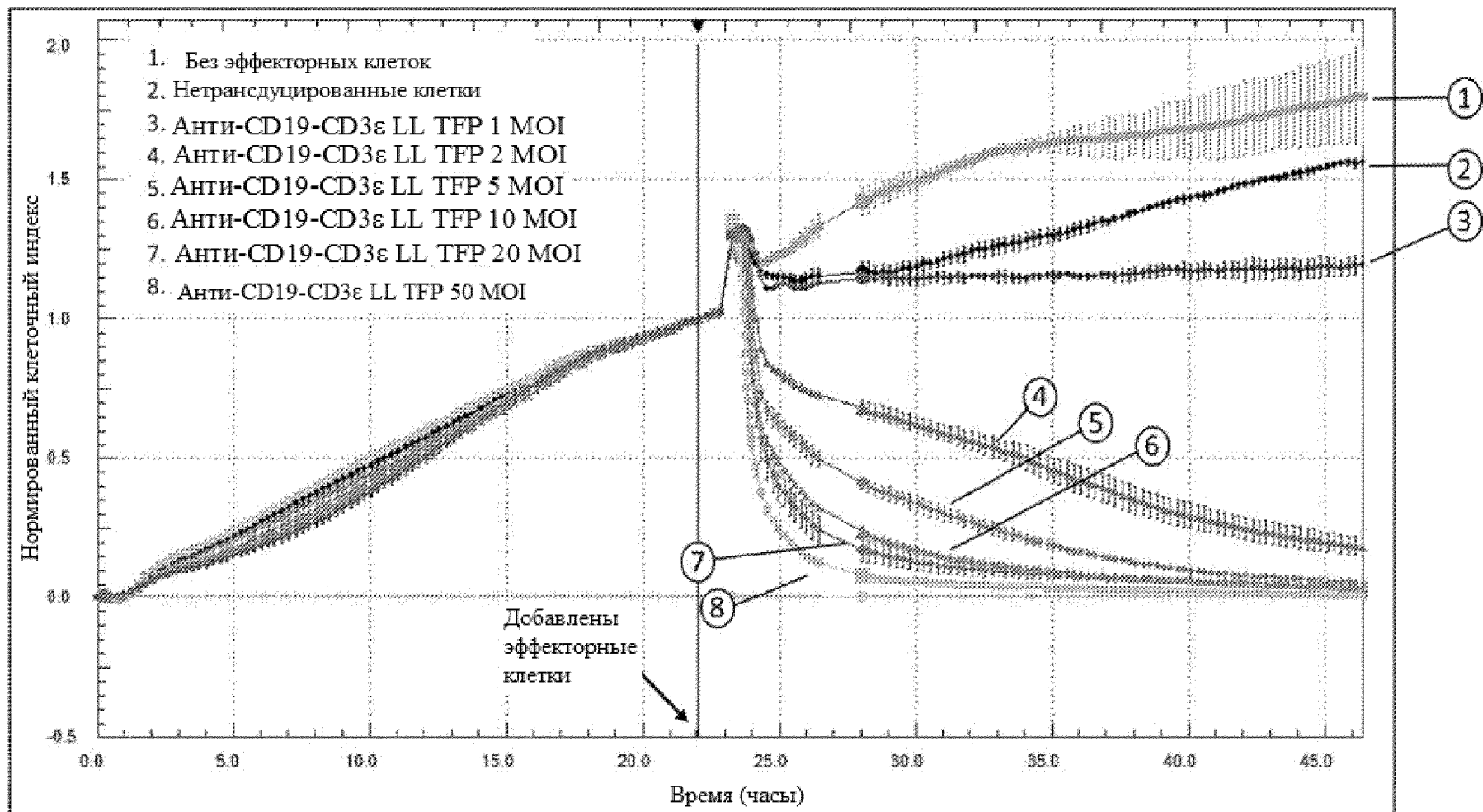
Фигура 10F



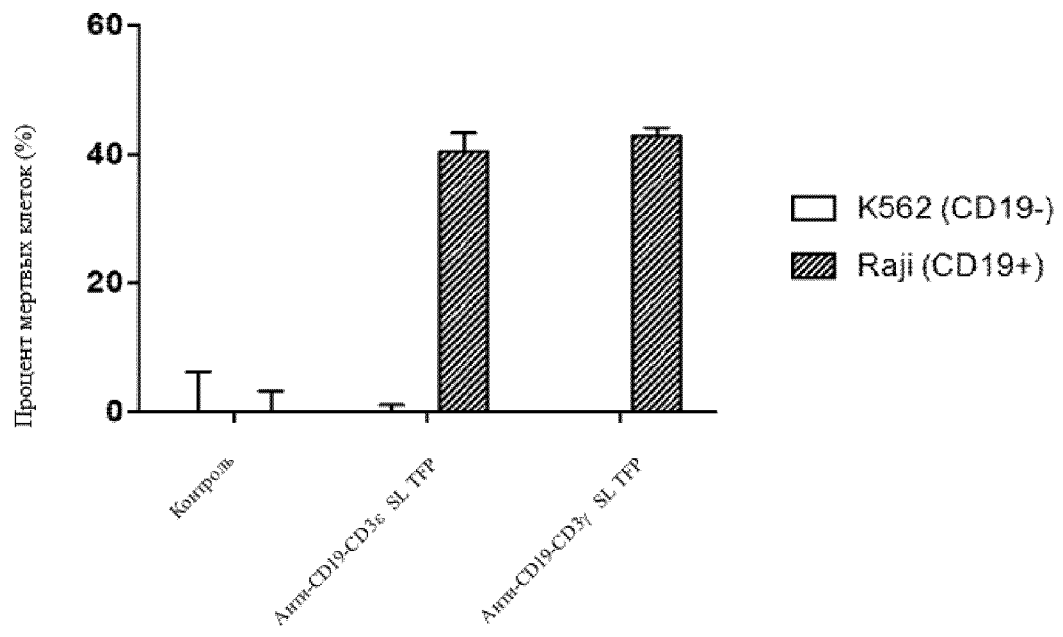
Фигура 11



Фигура 12

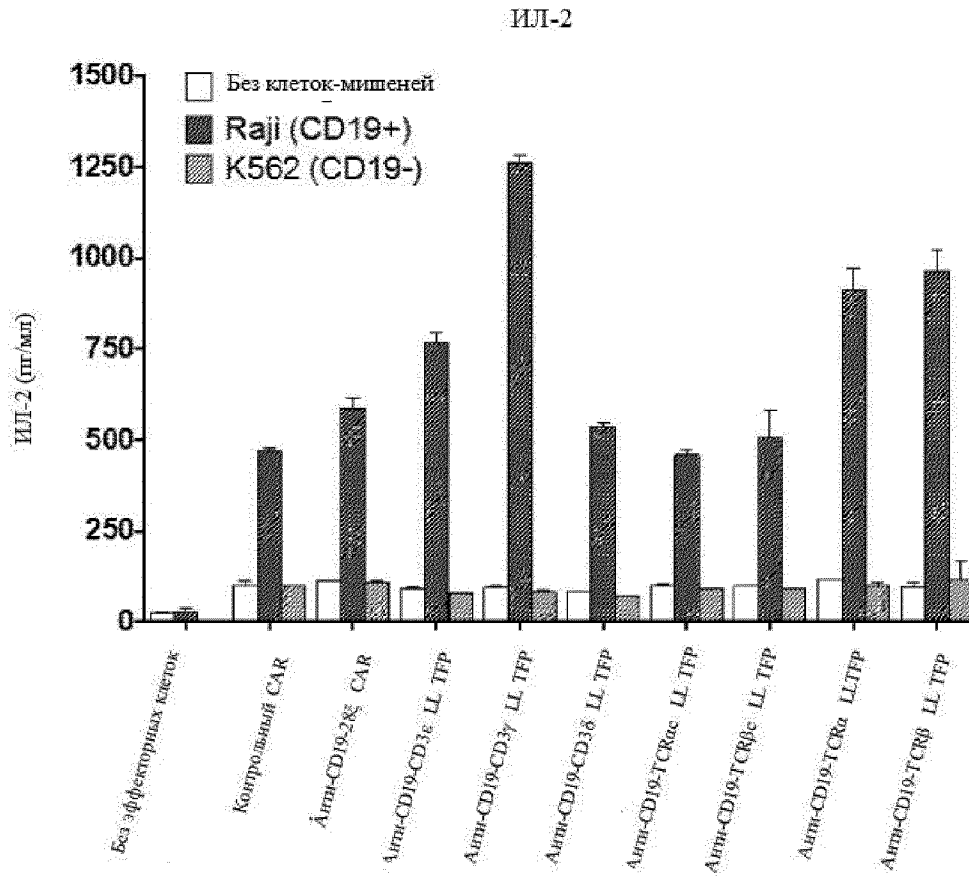


Фигура 13

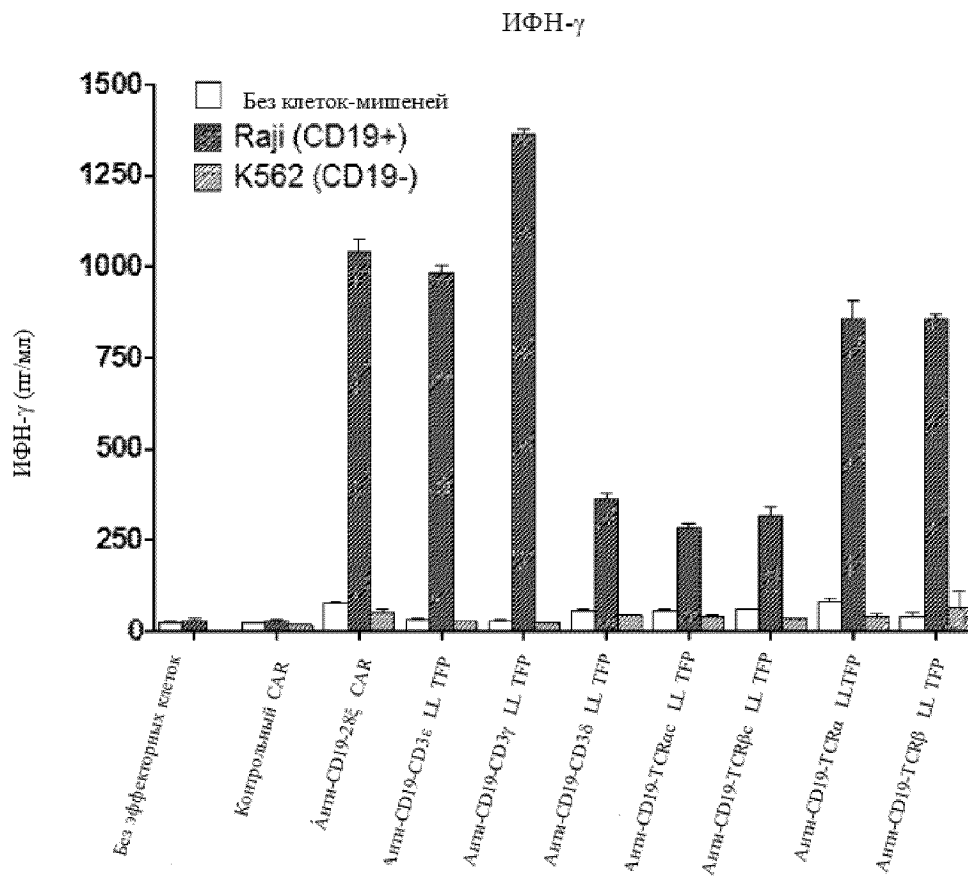


Фигура 14

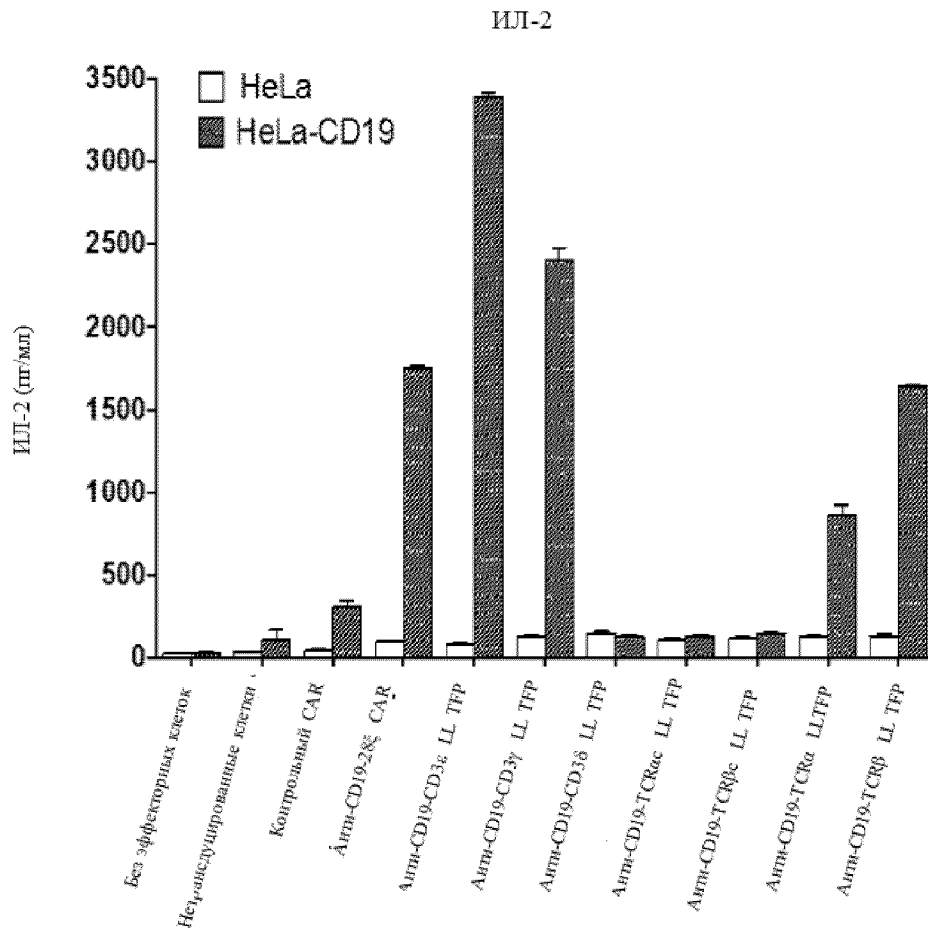




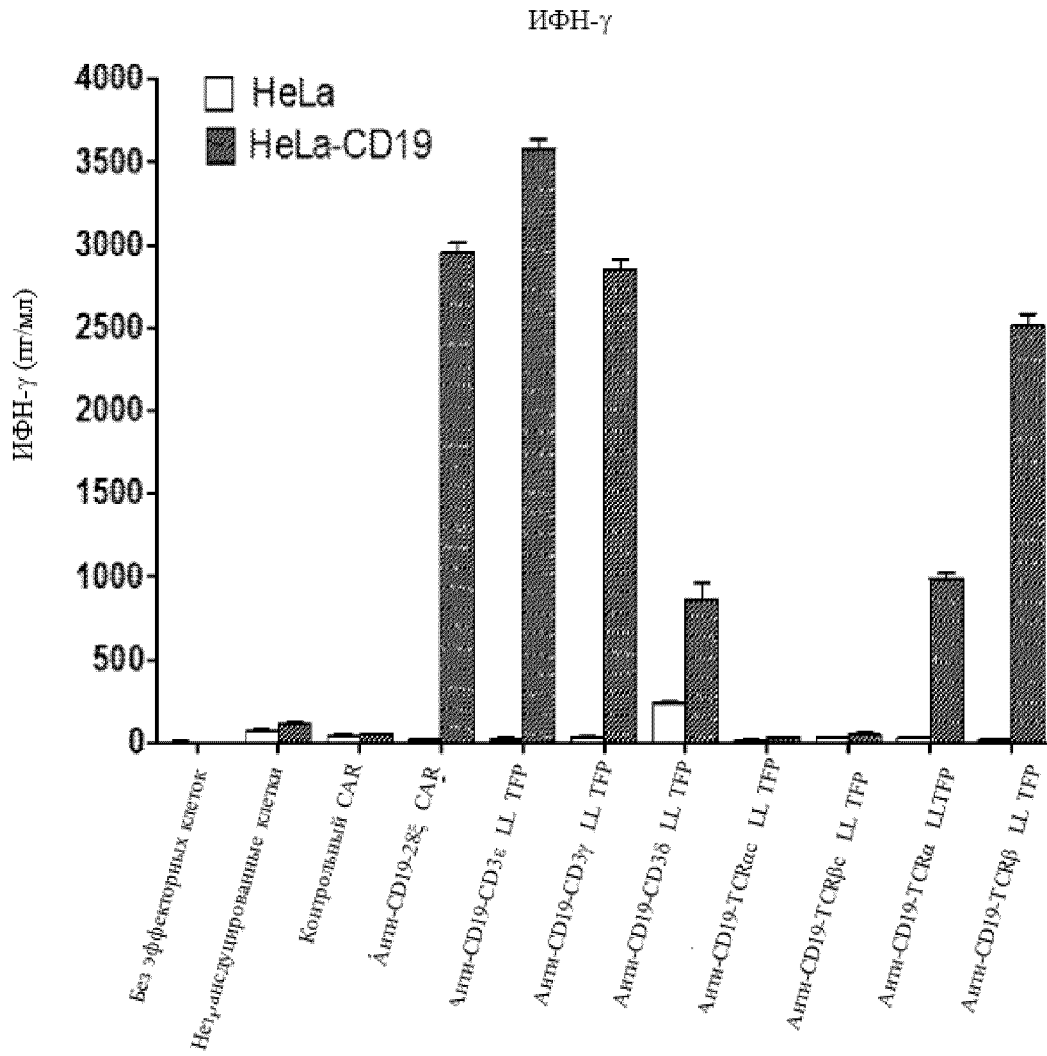
Фигура 15А



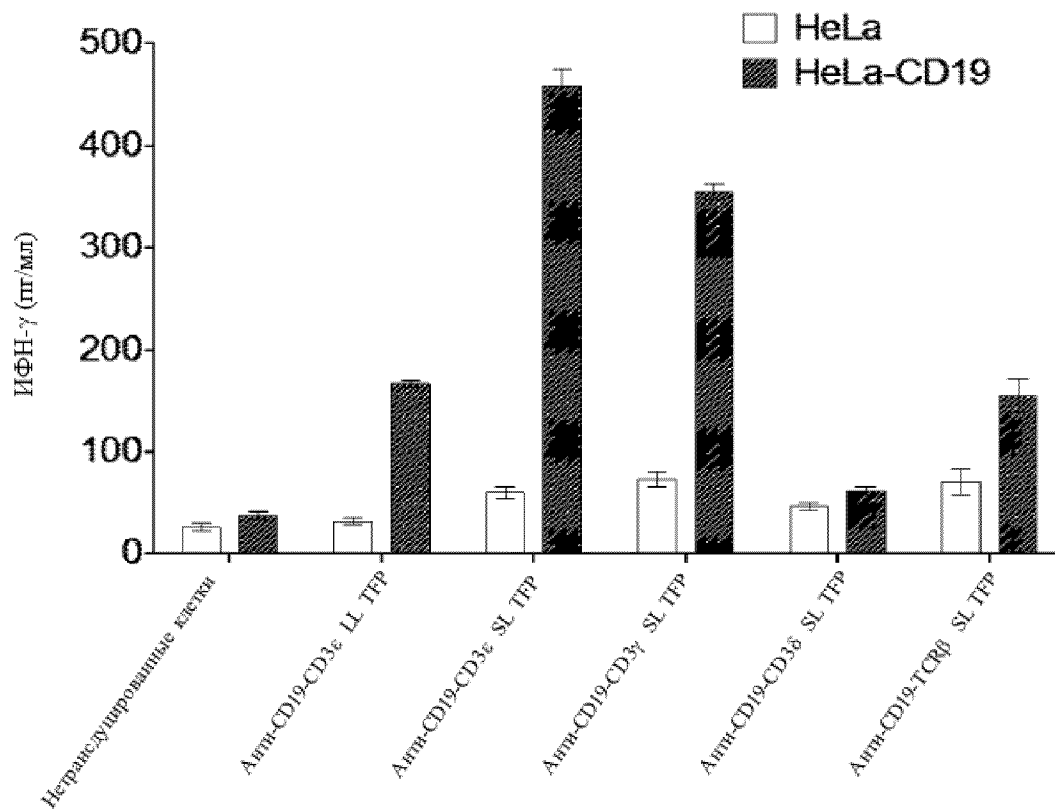
Фигура 15В



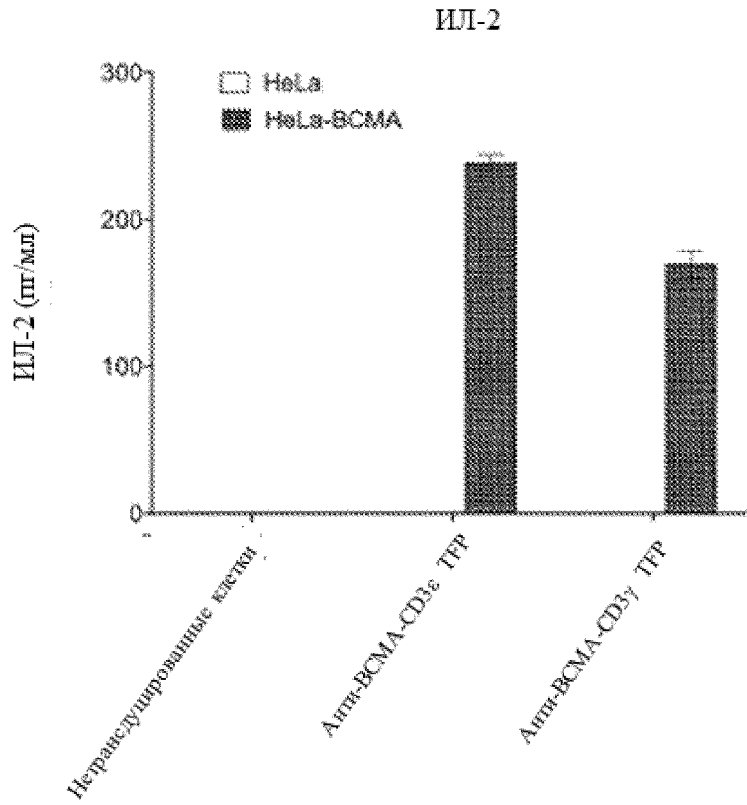
Фигура 15С



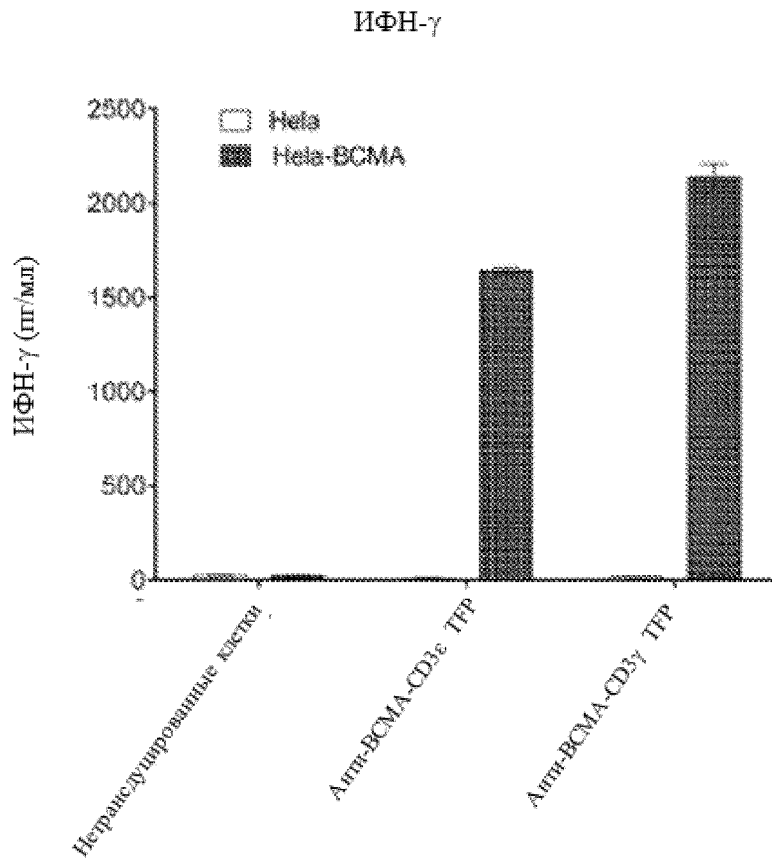
Фигура 15D



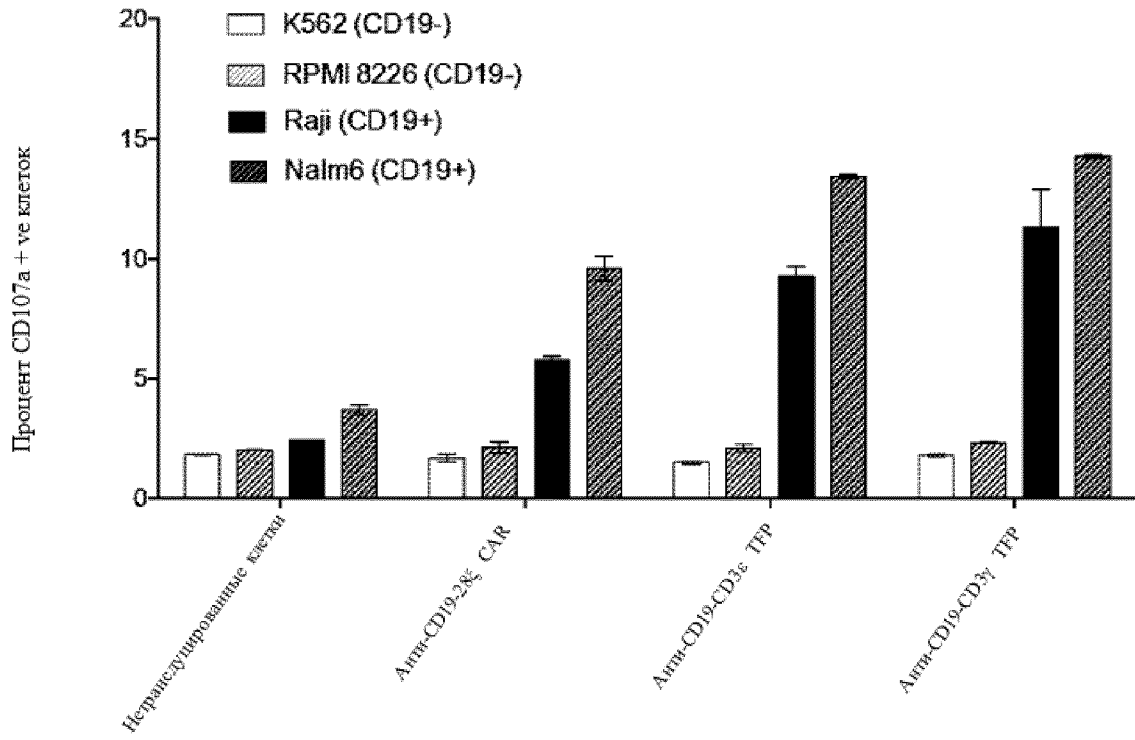
Фигура 16



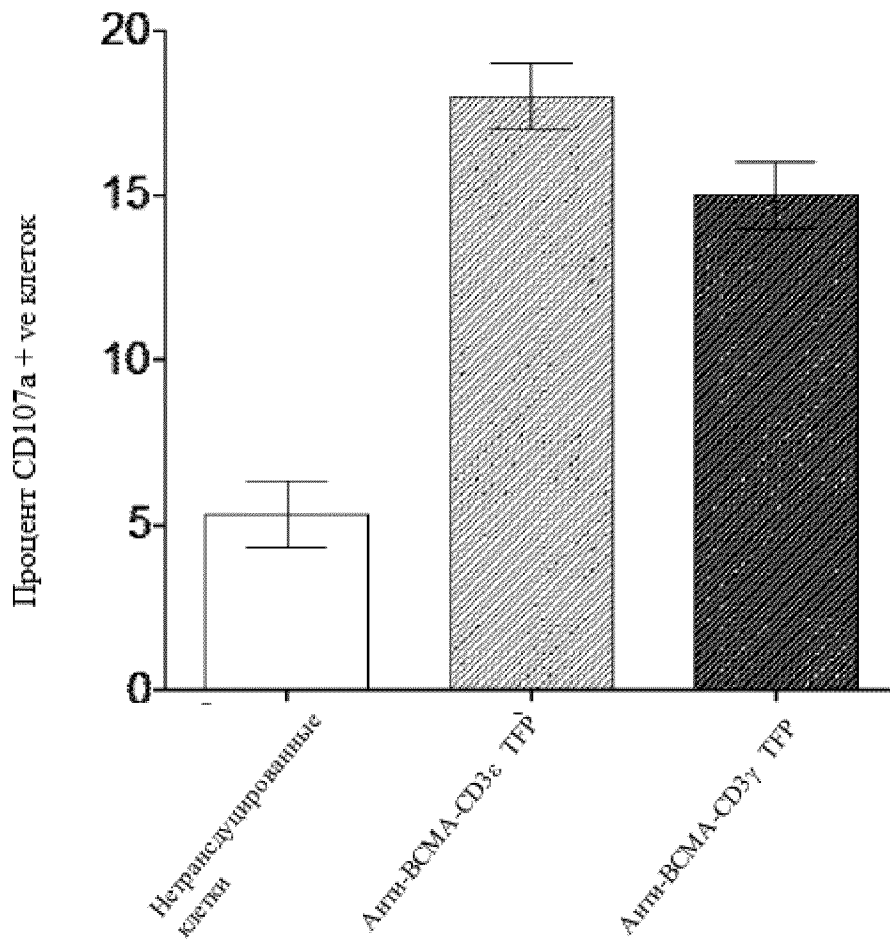
Фигура 17А



Фигура 17В

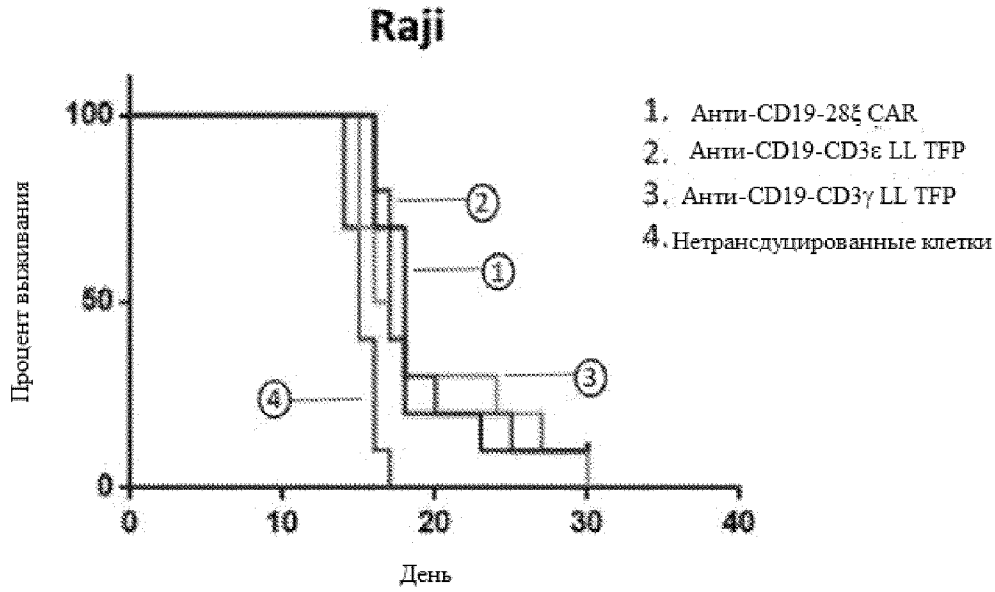


Фигура 18

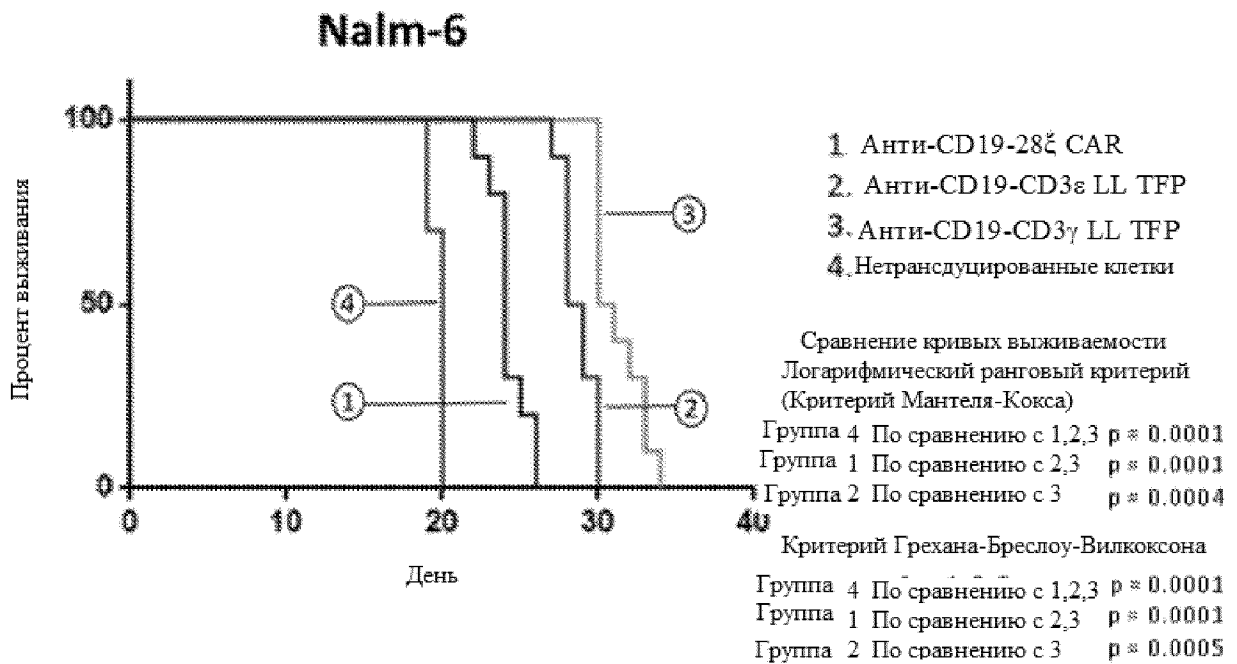


Фигура 19





Фигура 20А



Фигура 20В