

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202192937** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.01.26

(51) Int. Cl. **A61K 38/17** (2006.01)
A61P 37/02 (2006.01)
C07K 14/725 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.05.28

(54) МОДУЛИРУЮЩИЕ Т-КЛЕТКИ МУЛЬТИМЕРНЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) **62/854,200; 62/872,048; 62/901,538**

(32) **2019.05.29; 2019.07.09; 2019.09.17**

(33) **US**

(86) **PCT/US2020/034939**

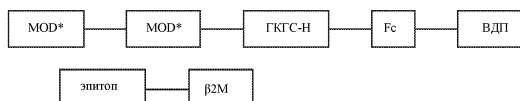
(87) **WO 2020/243315 2020.12.03**

(71) Заявитель:
КБЮ БИОФАРМА, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Семерски Сасо, Сури Аниш (US)

(74) Представитель:
Фелицына С.Б. (RU)

(57) В данном изобретении предложены модулирующие Т-клетки мультимерные полипептиды, которые содержат иммуномодулирующий полипептид, эпитоп-презентирующий пептид и полипептиды ГКГС I класса. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид пригоден для модуляции активности Т-клеток, а также для модуляции иммунного ответа у индивидуума.



A1

202192937

202192937

A1

МОДУЛИРУЮЩИЕ Т-КЛЕТКИ МУЛЬТИМЕРНЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

Перекрестная ссылка

Данная заявка заявляет приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/854 200, поданной 29 мая 2019 года, предварительной заявке на патент США № 62/872 048, поданной 09 июля 2019 г., и предварительной заявке на патент США № 62/901 538, поданной 17 сентября 2019 г., данные заявки включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

Вступление

Адаптационный иммунный ответ включает взаимодействие рецептора Т-клеток (TCR), присутствующего на поверхности Т-клеток, с небольшим пептидным антигеном нековалентно представленным на поверхности антиген-представляющей клетки (АПК) с помощью главного комплекса гистосовместимости (ГКГС; также называемого в организме человека как комплекс антигена лейкоцитов человека (HLA)). Это взаимодействие представляет собой механизм нацеливания иммунной системы и является необходимым условием для молекулярного взаимодействия модуляции Т-клеток (активации или ингибирования) и эффекторной функции. После эпитоп-специфического нацеливания клеток, Т-клетки-мишени активируют посредством взаимодействия с костимулирующими белками, расположенными на АПК, с аналогичными костимулирующими белками Т-клеток. Оба сигнала, связывание эпитопа/TCR и взаимодействие АПК костимулирующих белков с костимулирующими белками Т-клеток, необходимы для управления Т-клеточной специфичностью и активации или ингибирования. TCR является специфическим для данного эпитопа; однако, костимулирующий белок не является эпитоп-специфическим и поэтому, как правило, экспрессируется на всех Т-клетках или на больших субпопуляциях Т-клеток.

Краткое описание изобретения

В настоящем изобретении предложены модулирующие Т-клетки мультимерные полипептиды (ТММР), которые содержат иммуномодулирующий полипептид, полипептиды ГКГС I класса (полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса и полипептид β 2-микроглобулина), и пептид, который презентует эпитоп рецептору Т-клеток. ТММР является полезным для модуляции активности Т-клеток, а также для модуляции иммунного ответа у индивидуума.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1A-1J представлены схематические изображения различных ТММР по

данному изобретению.

На фиг. 2A-2F представлены схематические изображения различных связанных дисульфидной связью TMMP по данному изобретению.

На фиг. 3A-3G представлены аминокислотные последовательности полипептидов Fc иммуноглобулина. Последовательности представлены в: SEQ ID NO: 19-30.

На фиг. 4 представлено множественное выравнивание аминокислотных последовательностей предшественников бета-2 микроглобулина ($\beta 2M$) (т.е., включая лидерную последовательность) из *Homo sapiens* (NP_004039.1; SEQ ID NO:31), *Pan troglodytes* (NP_001009066.1; SEQ ID NO:31), *Macaca mulatta* (NP_001040602.1; SEQ ID NO:32), *Bos taurus* (NP_776318.1; SEQ ID NO:33) и *Mus musculus* (NP_033865.2; SEQ ID NO:34). Аминокислоты 1-20 представляют собой сигнальный пептид.

На фиг. 5A-5C представлены аминокислотные последовательности полноразмерных тяжелых цепей HLA человека из аллелей A*0101 (SEQ ID NO: 35), A*1101 (SEQ ID NO: 36), A*2402 (SEQ ID NO: 37) и A*3303 (SEQ ID NO: 38) (фиг. 7A); полноразмерная тяжелая цепь HLA человека из аллеля B*0702 (SEQ ID NO: 39) (фиг. 7B) и полноразмерная тяжелая цепь HLA-C (SEQ ID NO: 40) (фиг. 7C).

На фиг. 6 представлено выравнивание аминокислотных последовательностей одиннадцати зрелых тяжелых цепей ГКГС I класса без их лидерных последовательностей, трансмембранных доменов и внутриклеточных доменов. Последовательности представлены сверху вниз следующим образом: SEQ ID NO: 41-51.

На фиг. 7A-7B представлено выравнивание аминокислотных последовательностей тяжелой цепи HLA-A (фиг. 7A; SEQ ID NO: 52-60, соответственно) и консенсусной последовательности (фиг. 7B: 61).

На фиг. 8A-8B представлено выравнивание аминокислотная последовательность тяжелой цепи HLA-B (фиг. 8A; SEQ ID NO: 62-68, соответственно) и консенсусной последовательности (фиг. 8B; SEQ ID NO: 69).

На фиг. 9A-9B представлено выравнивание аминокислотных последовательностей тяжелой цепи HLA-C (фиг. 9A; SEQ ID NO: 70-78, соответственно) и консенсусной последовательности (фиг. 9B; SEQ ID NO: 79).

На фиг. 10 представлена консенсусная аминокислотная последовательность для каждой тяжелой цепи HLA-E, -F и -G (SEQ ID NO: 80-82, соответственно). Вариабельные аминокислотные (ак) положения показаны в виде последовательно пронумерованных остатков «X»; положения аминокислот 84, 139 и 236 подчеркнуты двойной линией.

На фиг. 11 представлено выравнивание консенсусных аминокислотных последовательностей для HLA-A (SEQ ID NO: 83), -B (SEQ ID NO: 84), -C (SEQ ID NO:

85), -E (SEQ ID NO: 86), -F (SEQ ID NO: 87) и -G (SEQ ID NO: 88).

На фиг. 12A-12D представлены схематические изображения связанного множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению.

На фиг. 13A-13F представлены аминокислотные последовательности примеров первого и второго полипептидов TMMP по настоящему изобретению. Последовательности представлены следующим образом: SEQ ID NO: 89–94, соответственно.

На фиг. 14A-14C представлены аминокислотные последовательности примеров полипептидов, которые могут быть включены в TMMP по настоящему изобретению. Последовательности представлены следующим образом: SEQ ID NO: 95-97.

На фиг. 15A-15B представлены аминокислотные последовательности примеров полипептидов, которые могут быть включены в TMMP по настоящему изобретению. Последовательности представлены следующим образом: SEQ ID NO: 561–562, соответственно.

На фиг. 16A-16B показано влияние TMMP по одному из вариантов осуществления настоящего изобретения на цитолитическую активность CD8⁺.

Определения

Термины «полинуклеотид» и «нуклеиновая кислота» используемые в данном документе взаимозаменяемо, относятся к полимерной форме нуклеотидов любой длины – рибонуклеотидов, или дезоксирибонуклеотидов. Таким образом, этот термин включает, без ограничения, единичные, двойные или множественные цепи ДНК или РНК, геномная ДНК, кДНК, гибриды ДНК-РНК или полимер, содержащий пуриновые и пиримидиновые основания, или другие природные, химически, или биохимически модифицированные, неприродные или дериватизированные нуклеотидные основания.

Термины «пептид», «полипептид» и «белок» используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к полимерной форме аминокислот любой длины, которая может включать кодирующие и не кодирующие аминокислоты, химически или биохимически модифицированные или дериватизированные аминокислоты и полипептиды, имеющие модифицированный пептидные каркасы.

Полинуклеотид или полипептид имеет определенный процент «идентичности последовательности» к другому полинуклеотиду или полипептиду, а это означает, что при выравнивании определенный процент оснований или аминокислот являются одинаковыми, и находится в том же относительном положении, при сравнении двух последовательностей. Идентичность последовательности может быть определена несколькими различными способами. Для определения идентичности последовательности,

последовательности могут быть выровнены с использованием различных удобных методов и компьютерных программ (например, BLAST, T-COFFEE, MUSCLE, MAFFT и т.д.), доступны на сайтах интернет, включая ncbi.nlm.nih.gov/BLAST, ebi.ac.uk/Tools/msa/tcoffee/, ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/, mafft.cbrc.jp/alignment/software/. См., например, Altschul et al. (1990), J. Mol. Biol. 215:403-10.

Термин «консервативная аминокислотная замена» относится к взаимозаменяемости в аминокислотных остатках белков, имеющим сходные боковые цепи. Так, например, группа аминокислот с алифатическими боковыми цепями состоит из глицина, аланина, валина, лейцина и изолейцина; группа аминокислот, имеющих алифатические-гидроксильные боковые цепи, состоит из серина и треонина; группа аминокислот, имеющих амид-содержащие боковые цепи, состоящие из аспарагина и глутамина; группа аминокислот, имеющих ароматические боковые цепи, состоит из фенилаланина, тирозина и триптофана; группа аминокислот, имеющих основные боковые цепи, состоит из лизина, аргинина и гистидина; группа аминокислот, имеющих кислотные боковые цепи состоит из глутамата и аспартата, а группа аминокислот, имеющих серосодержащие боковые цепи, состоит из цистеина и метионина. Типичные консервативные группы замещения аминокислот представляют собой: валин-лейцин-изолейцин, фенилаланин-тирозин, лизин-аргинин, аланин-валин-глицин и аспарагин-глутамин.

Термин «иммунологический синапс» или «иммунный синапс», используемые в данном документе, как правило, относится к естественной границе взаимодействия между двумя взаимодействующими иммунными клетками адаптивного иммунного ответа, включая, например, границу взаимодействия между антигенпрезентирующей клеткой (АПК) или клеткой-мишенью и эффекторной клеткой, например, лимфоцитом, Т-клеточным эффектором, натуральной клеткой-киллером, и тому подобным. Иммунологический синапс между АПК и Т-клеткой, как правило, инициируется взаимодействием рецептора антигена Т-клеток и молекулой главного комплекса гистосовместимости, например, как описано в Bromley et al., *Annu Rev Immunol.* 2001;19:375-96; содержимое которой включено в данное описание в качестве ссылки в полном объеме.

«Т-клетка» включает все типы иммунных клеток, экспрессирующих CD3, включая Т-клетки-хелперы (клетки CD4⁺), цитотоксические Т-клетки (клетки CD8⁺), Т-регуляторные клетки (Treg) и клетки NK-Т.

Термин «иммуномодулирующий полипептид» (также упоминается как «костимулирующий полипептид»), используемый в данном документе, включает полипептид

на антиген презентирующей клетке (АПК) (например, дендритной клетке, В-клетке и тому подобном), которые специфически связывается с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом на Т-клетке, тем самым обеспечивая сигнал, который, в дополнение к основному сигналу, представленному, например, связыванием комплекса TCR/CD3 с полипептидом главного комплекса гистосовместимости (ГКГС), нагруженным пептидом, опосредует ответ Т-клеток, включая без ограничения, пролиферацию, активацию, дифференцировку и т.п. Иммуномодулирующий полипептид может включать, без ограничения, CD7, B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), PD-L1, PD-L2, 4-1BBL, OX40L, лиганд Fas (FasL), индуцируемый костимулирующий лиганд (ICOS-L), межклеточную молекулу адгезии (ICAM), CD30L, CD40, CD70, CD83, HLA-G, MICA, MICB, HVEM, бета-рецептор лимфотоксина, 3/TR6, ILT3, ILT4, HVEM, агонист или антитело, которое связывает рецептор-лиганд Toll и лиганд, который специфически связывается с B7-H3.

Как уже отмечалось выше «иммуномодулирующий полипептид» (также называемый в данном документе как «MOD») специфически связывается с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом на Т-клетке.

«Иммуномодулирующий домен» (MOD) TMMP по данному изобретению связывает когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид, который может присутствовать на Т-клетке-мишени.

«Гетерологичный», используемый в данном описании, означает нуклеотид или полипептид, который не найден в нативной нуклеиновой кислоте или белке, соответственно.

Термин «рекомбинантный», используемый в данном описании, означает, что конкретная нуклеиновая кислота (ДНК или РНК) являются продуктом различных комбинаций клонирования, рестрикции, полимеразной цепной реакции (ПЦР) и/или стадий лигирования, приводящих к конструкции, имеющей структурные кодирующие или не кодирующие последовательности, отличные от эндогенных нуклеиновых кислот найденных в природных системах. Последовательности ДНК, кодирующие полипептиды, могут быть собраны из фрагментов кДНК или из серии синтетических олигонуклеотидов, чтобы обеспечить синтетическую нуклеиновую кислоту, которая способна экспрессироваться из рекомбинантной транскрипционной единицы, содержащейся в клетке или в бесклеточной транскрипционной и трансляционной системе.

Термины «рекомбинантный вектор экспрессии» или «конструкция ДНК» используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения молекулы ДНК, содержащей вектор, и по меньшей мере одну вставку. Рекомбинантные векторы экспрессии, как правило, создаются с целью экспрессии и/или распространения инсерции

(инсерций), или для конструирования других рекомбинантных нуклеотидных последовательностей. Инсерция (инсерции) может или не может быть функционально связана с последовательностью промотора, и могут или не могут быть функционально связаны с регуляторными последовательностями ДНК.

Используемый в данном описании, термин «аффинность» относится к равновесной константе для обратимого связывания двух агентов (например, антитела и антигена) и выражается в виде константы диссоциации (K_D). Аффинность может быть по меньшей мере в 1 раз большей, по меньшей мере в 2 раза большей, по меньшей мере в 3 раза большей, по меньшей мере в 4 раза большей, по меньшей мере в 5 раз большей, по меньшей мере в 6 раз большей, по меньшей мере в 7 раз большей, по меньшей мере в 8 раз большей, по меньшей мере в 9 раз большей, по меньшей мере в 10 раз большей, по меньшей мере в 20 раз большей, по меньшей мере в 30 раз большей, по меньшей мере в 40 раз большей, по меньшей мере в 50 раз большей, по меньшей мере в 60 раз большей, по меньшей мере в 70 раз большей, по меньшей мере в 80 раз большей, по меньшей мере в 90 раз большей, по меньшей мере в 100 раз большей или по меньшей мере в 1000 раз большей или более, чем аффинность антитела для несвязанных аминокислотных последовательностей. Аффинности антитела к белку-мишени может составлять, например, от около 100 нМ (нМ) до около 0,1 нМ, от около 100 нМ до около 1 пикомоль (пМ), или от около 100 нМ до около 1 фемтомоль (фМ) или более. Используемый в данном описании, термин «авидность» относится к сопротивлению комплексов двух или более агентов диссоциировать после разбавления. Термины «иммунореактивный» и «преимущественно связывается» используются здесь взаимозаменяемо по отношению к антителам и/или их антигенсвязывающим фрагментам.

Термин «связывание», используемый в данном описании (например, со ссылкой на связывание модулирующего Т-клетки мультимерного полипептида (ТММР) с полипептидом (например, рецептором Т-клеток) на Т-клетке), относится к нековалентному взаимодействию между двумя молекулами. Нековалентное связывание относится к прямой связи между двумя молекулами, из-за, например, электростатического, гидрофобного, ионного и/или взаимодействия водородных связей, в том числе взаимодействий, такие как водные мосты и солевые мосты. Взаимодействие нековалентного связывания, как правило, характеризуется константой диссоциации (K_D), равной менее чем 10^{-6} М, менее чем 10^{-7} М, менее чем 10^{-8} М, менее чем 10^{-9} М, менее чем 10^{-10} М, менее чем 10^{-11} М, менее чем 10^{-12} М, менее чем 10^{-13} М, менее чем 10^{-14} М или менее чем 10^{-15} М. «Аффинность» относится к силе нековалентного связывания, повышенная аффинность связывания коррелирует с более низкой K_D . «Специфическое

связывание» обычно относится к связыванию с аффинностью, равной по меньшей мере, около 10^{-7} М или более, например, 5×10^{-7} М, 10^{-8} М, 5×10^{-8} М, 10^{-9} М и более. «Неспецифическое связывание» обычно относится к связыванию (например, связывание лиганда с молекулой, отличной от его назначенного сайта связывания или рецептора) с аффинностью менее чем около 10^{-7} М (например, связывание с аффинностью, равной 10^{-6} М, 10^{-5} М, 10^{-4} М). Тем не менее, в некоторых контекстах, например, связывание между TCR и пептидом/комплексом ГКГС «специфическое связывание» может находиться в диапазоне от 1 мкМ до 100 мкМ, или от 100 мкМ до 1 мМ. «Ковалентное связывание» или «ковалентная связь», используемая в данном описании, относится к образованию одной или более ковалентных химических связей между двумя различными молекулами.

Термины «лечение», «лечить» и т.п. используемые в данном документе, в общем означают получение желаемого фармакологического и/или физиологического эффекта. Эффект может быть профилактическим с точки зрения полностью или частично предотвращения заболевания или симптома, и/или может быть терапевтическим с точки зрения частичного или полного излечения от заболевания и/или отрицательного влияния, относящегося к этому заболеванию. Термин «лечение», используемый в данном документе, охватывает любое лечение заболевания или симптома у млекопитающих, и включает: (а) предотвращение заболевания или симптома, возникающих у субъекта, который может быть предрасположен к приобретению заболевания или симптома, но еще не был диагностирован как имеющий его; (b) ингибирование заболевания или симптома, т.е. прекращение его развития; и/или (с) ослабление заболевания, т.е. регрессию заболевания. Терапевтическое средство может быть введено до, во время или после начала заболевания или травмы. Лечение продолжающегося заболевания, при котором лечение стабилизирует или уменьшает нежелательные клинические симптомы пациента, представляет особый интерес. Такое лечение желательно осуществлять до полной потери функции в пораженных тканях. Указанное лечение будет желательно вводить в течение симптоматической стадии заболевания, а в некоторых случаях после симптоматической стадии заболевания.

Термины «индивидуум», «субъект», «хозяин» и «пациент» используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к любому млекопитающему, для которых желательна диагностика, лечение или терапия. Млекопитающие включают, например, людей, отличных от человека приматов, грызунов (например, мышей, крыс), зайцеобразных (например, кроликов), копытных (например, коров, овец, свиней, лошадей, коз и тому подобных) и т.д.

Термины «антитела» и «иммуноглобулин» включают в себя антитела или

иммуноглобулины любого изотипа, фрагменты антител, которые сохраняют специфическое связывание с антигеном, включая, помимо прочего, Fab-, Fv-, scFv- и Fd-фрагменты, химерные антитела, гуманизированные антитела, одноцепочечные антитела (scAb), однодоменные антитела (dAb), однодоменные антитела тяжелой цепи, однодоменные антитела легкой цепи, нанотела, биспецифические антитела, мультиспецифические антитела и гибридные белки, содержащие антигенсвязывающую (в настоящем документе также называется связывание антигена) часть антитела и белка, не принадлежащего к антителу. Антитела могут иметь обнаруживаемую метку, например, радиоизотоп, генерирующий обнаруживаемый продукт фермент, флуоресцентный белок и т.п. Антитела могут дополнительно конъюгироваться с другими фрагментами, такими как члены пар специфического связывания, например, биотин (член пары специфического связывания биотин-авидин) и т.п. Кроме того, этот термин охватывает Fab'-, Fv-, F(ab')₂- и другие фрагменты антител, которые сохраняют специфическое связывание с антигеном, а также моноклональные антитела. В контексте настоящего документа моноклональное антитело — это антитело, вырабатываемое группой идентичных клеток, которые вырабатываются в одной клетке путем многократной клеточной репликации. Другими словами, клон клеток вырабатывает только один вид антител. В то время как моноклональное антитело можно получить с помощью технологии получения гибридомы, также могут применяться и другие способы получения, известные специалистам в данной области техники (например, антитела, полученные из библиотек фагового дисплея антител). Антитело может быть одновалентным или двухвалентным. Антитело может представлять собой мономер иммуноглобулина (Ig), который является «Y-образной» молекулой, состоящей из четырех полипептидных цепей: двух тяжелых цепей и двух легких цепей, соединенных дисульфидными связями.

В контексте настоящего документа термин «гуманизированный иммуноглобулин» относится к иммуноглобулину, содержащему части иммуноглобулинов различного происхождения, причем по меньшей мере одна часть содержит аминокислотные последовательности человеческого происхождения. Например, гуманизированное антитело может содержать части, полученные от иммуноглобулина нечеловеческого происхождения с требуемой специфичностью, например, от мыши, и полученные от последовательностей иммуноглобулина человеческого происхождения (например, химерный иммуноглобулин), химически соединенные вместе с помощью традиционных методик (например, синтетическим путем) или полученные в виде смежного полипептида с помощью методов генетической инженерии (например, ДНК, кодирующую части белка химерного антитела, могут экспрессировать для получения смежной полипептидной

цепи). Другим примером гуманизированного иммуноглобулина является иммуноглобулин, содержащий одну или более цепей иммуноглобулина, которые содержат полученную из антитела нечеловеческого происхождения определяющую комплементарность область (CDR) и полученную из легкой и/или тяжелой цепи человеческого происхождения каркасную область (например, CDR-привитые антитела с каркасными изменениями или без них). Химерные или CDR-привитые одноцепочечные антитела также охватываются термином «гуманизированный иммуноглобулин». См., например, патент США № 4816567; Европейский патент № 0125023 B1; патент США № 4816397; Европейский патент № 0120694 B1; WO 86/01533; Европейский патент № 0194276 B1; патент США № 5225539; Европейский патент № 0239400 B1 и Европейскую патентную заявку № 0519596 A1. См. также патенты США № 4946778; патент США № 5476786 и Bird et al. (1988) *Science* 242:423, относительно одноцепочечных антител.

Термин «нанотело» (Нт), как используется в настоящем документе, относится к наименьшему антигенсвязывающему фрагменту или антителу с одним переменным доменом (V_{HH}), полученному из встречающегося в природе антитела, состоящему только из тяжелых цепей, и известному специалисту в данной области. Они получены только от антител, состоящих только из тяжелых цепей, наблюдаемых у верблюдовых (Hamers-Casterman et al. (1993) *Nature* 363:446; Desmyter et al. (1996) *Nature Structural Biol.* 3:803 и Desmyter et al. (2015) *Curr. Opin. Struct. Biol.* 32:1). В семействе «верблюдовых» обнаружены иммуноглобулины, лишенные легких полипептидных цепей. «Верблюдовые» включают верблюдовых старого света (*Camelus bactrianus* и *Camelus dromedarius*) и верблюдовых нового света (например, *Llama paccos*, *Llama glama*, *Llama guanicoe* и *Llama vicugna*). Антитело с одним переменным доменом тяжелой цепи в настоящем документе называется нанотелом или антителом V_{HH} .

«Фрагменты антител» представляют собой часть интактного антитела, например, антигенсвязывающую область или переменный участок интактного антитела. К примерам фрагментов антител относятся Fab-, Fab'-, F(ab')₂- и Fv-фрагменты; диатела, линейные антитела (Zapata с соавт., *Protein Eng.* 8(10): 1057-1062 (1995)); доменные антитела (dAb; Holt с соавт. (2003) *Trends Biotechnol.* 21:484); молекулы одноцепочечных антител и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител. В результате расщепления антител папином получают два идентичных антигенсвязывающих фрагмента, которые называются «Fab-фрагментами», каждый из которых имеет один антигенсвязывающий сайт, и остаточный «Fc-фрагмент» — обозначение, отражающее способность легко кристаллизоваться. Обработка пепсином дает F(ab')₂-фрагмент, который имеет два антигенсвязывающих активных центра и все еще

способен к поперечному связыванию с антигеном.

«Fv» — это минимальный фрагмент антитела, который содержит полный сайт распознавания антигена и антигенсвязывающий сайт. Эта область состоит из димера одного переменного домена тяжелой цепи и одного переменного домена легкой цепи в плотной нековалентной ассоциации. Именно в указанной конфигурации три CDR каждого переменного домена взаимодействуют для того, чтобы определить антигенсвязывающий сайт на поверхности димера VH-VL. В совокупности шесть CDR придают антителу антигенсвязывающую специфичность. Однако даже один переменный домен (или половина Fv, содержащая только три CDR, специфичных по отношению к антигену) обладает способностью распознавать и связывать антиген, хотя и при более низкой аффинности, чем весь сайт связывания.

«Fab»-фрагмент также содержит константный домен легкой цепи и первый константный домен (CH1) тяжелой цепи. Фрагменты Fab отличаются от фрагментов Fab' добавлением нескольких остатков на карбоксильном конце домена CH1 тяжелой цепи, в том числе одного или более цистеинов из шарнирной области антитела. В настоящем документе Fab'-SH является обозначением для Fab'-фрагмента, в котором цистеиновые остатки константных доменов несут свободную тиольную группу. F(ab')₂-фрагменты антитела первоначально получали в виде пар Fab'-фрагментов, которые имеют шарнирные цистеины между ними. Также известны другие химические соединения фрагментов антитела.

«Легкие цепи» антител (иммуноглобулинов) от любых видов позвоночных могут быть отнесены к одному из двух четко различимых типов, называемых каппа и лямбда, на основе аминокислотных последовательностей их константных доменов. В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена их тяжелых цепей иммуноглобулины могут быть определены в разные классы. Существует пять основных классов иммуноглобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM и некоторые из них могут быть дополнительно разделены на подклассы (изотипы), например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA и IgA2. Подклассы могут быть дополнительно разделены на типы, например, IgG2a и IgG2b.

«Одноцепочечные Fv», или «sFv», или «scFv» фрагменты антитела содержат домены V_H и V_L антитела, причем эти домены находятся в одной полипептидной цепи. В некоторых вариантах осуществления Fv-полипептид дополнительно содержит полипептидный линкер между доменами V_H и V_L, дающий возможность sFv образовывать требуемую структуру для связывания антигена. Обзор по sFv см. у Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-

Verlag, New York, pp. 269-315 (1994).

Термин «диатела» относится к небольшим фрагментам антитела с двумя антигенсвязывающими сайтами, фрагменты которых содержат переменный домен тяжелой цепи (VH), соединенный с переменным доменом легкой цепи (VL) в одной и той же полипептидной цепи (VH-VL). Вследствие использования линкера, который является слишком коротким, чтобы позволить объединение двух доменов в одной цепи, домены вынуждены объединяться с комплементарными доменами другой цепи и создавать два антигенсвязывающих сайта. Диатела более подробно описаны, например, в европейском патенте 404,097; WO 93/11161 и у Hollinger с соавт. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448.

В контексте настоящего документа термин «CDR» или «определяющая комплементарность область» предназначен для обозначения несмежных антигенсвязывающих активных центров, которые находятся внутри переменного участка полипептидов как тяжелой, так и легкой цепей. CDR были описаны Kabat et al (1977) *J. Biol. Chem.* 252:6609; Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, “Sequences of proteins of immunological interest” (1991) (также упоминается в настоящем документе как Kabat 1991); by Chothia с соавт. (1987) *J. Mol. Biol.* 196:901 (также упоминается в настоящем документе как Chothia 1987) и MacCallum et al. (1996) *J. Mol. Biol.* 262:732, где определения включают в себя перекрывание или подгруппы аминокислотных остатков при сравнении друг с другом. Тем не менее, применение любого из определений для обозначения CDR антитела, или привитых антител, или их вариантов охватываются в пределах объема указанного термина в соответствии с обозначением и использованием в настоящем документе. Аминокислотные остатки, которые охватывают CDR, в соответствии с определением в процитированных выше ссылочных материалах представлены ниже в таблице 2 для сравнения.

Таблица 2. Определения CDR

	Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³
V _H CDR-1	31-35	26-32	30-35
V _H CDR-2	50-65	53-55	47-58
V _H CDR-3	95-102	96-101	93-101
V _L CDR-1	24-34	26-32	30-36
V _L CDR-2	50-56	50-52	46-55
V _L CDR-3	89-97	91-96	89-96

¹ Нумерация остатков согласно номенклатуре Kabat с соавт. 1991, *выше*

² Нумерация остатков согласно номенклатуре Chothia с соавт. *выше*

³ Нумерация остатков согласно номенклатуре MacCallum с соавт. *выше*

В контексте настоящего документа термины «CDR-L1», «CDR-L2» и «CDR-L3»

относятся, соответственно, к первой, второй и третьей CDR варибельного участка легкой цепи. В контексте настоящего документа термины «CDR-H1», «CDR-H2» и «CDR-H3» относятся, соответственно, к первой, второй и третьей CDR варибельного участка тяжелой цепи. В контексте настоящего документа термины «CDR-1», «CDR-2» и «CDR-3» относятся, соответственно, к первой, второй и третьей CDR варибельного участка любой из цепей.

В контексте настоящего документа термин «каркас», используемый по отношению к варибельному участку антитела, предназначен для обозначения всех аминокислотных остатков за пределами областей CDR внутри варибельного участка антитела. Каркас варибельного участка, как правило, представляет собой прерывистую аминокислотную последовательность длиной около 100–120 аминокислот, однако предназначен для обозначения только тех аминокислот, которые находятся за пределами CDR. В контексте настоящего документа термин «каркасная область» предназначен для обозначения каждого домена каркаса, который отделен при помощи CDR.

Перед тем как данное изобретение описано далее, следует понимать, что данное изобретение не ограничено конкретными описанными вариантами осуществления, поскольку таковые могут, конечно, варьировать. Кроме того, следует понимать, что терминология, используемая в данном документе, для целей описания конкретных вариантов осуществления и не предназначена для ограничения, поскольку объем данного изобретения будет ограничен только прилагаемой формулой изобретения.

В случае, когда диапазон значений обеспечиваются, следует понимать, что каждое промежуточное значение, до десятой единицы нижнего предела, если контекст явно указано иначе, между верхним и нижним пределом этого диапазона и любым другим оговоренным или промежуточным значением в указанном диапазоне, охватывается данным изобретением. Верхний и нижний пределы этих меньших диапазонов могут быть независимо включены в меньшие диапазоны, и также охватываются данным изобретением, с учетом любого специфически исключенного предела в указанном диапазоне. Там, где указанный диапазон включает один или оба предела, диапазоны, исключаящие любой или оба из этих включенных пределов, также включены в изобретение.

Если не определено иначе, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют такое же значение, как обычно понимаемые специалистом в данной области техники, к которой принадлежит данное изобретение. Несмотря на то, что любые способы и материалы, аналогичные или эквивалентные тем, которые описаны в данном документе, могут также быть использованы в практике или тестировании данного

изобретения, предпочтительные способы и материалы описаны ниже. Все публикации, упомянутые в данном описании, включены в данное описание в качестве ссылки для раскрытия и описания способов и/или материалов, в связи с которыми эти публикации цитируются.

Использование определений в единственном числе не исключает возможности наличия определений во множественном числе, если обратное прямо не указано в контексте. Так, например, ссылка на «модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид» включает множество таких полипептидов, и ссылка на «иммуномодулирующий полипептид» включает в себя ссылку на один или более иммуномодулирующих полипептидов и их эквивалентов, известных специалисту в данной области техники, и так далее. Следует также отметить, что формула изобретения может быть составлена так, чтобы исключить любой необязательный элемент. Таким образом, это утверждение предназначено служить в качестве предшествующей основы для использования такой исключительной терминологии как «исключительно», «только» и тому подобное, в связи с перечислением элементов формулы изобретения или использования «отрицательного» ограничения.

Следует понимать, что определенные признаки изобретения, которые для ясности описаны в контексте отдельных вариантов осуществления, также могут быть представлены в комбинации в одном варианте. Наоборот, различные признаки изобретения, которые для краткости описаны в контексте одного варианта осуществления, могут также быть представлены отдельно или в любой подходящей подкомбинации. Все комбинации вариантов осуществления, относящихся к данному изобретению, в частности, охватываются данным изобретением и описаны в данном документе, как если бы каждая комбинация была индивидуально и явно раскрыта. Кроме того, все подкомбинации различных вариантов осуществления и их элементов, также конкретно охватываются данным изобретением и описаны в данном документе, как если бы каждая такая подкомбинация была индивидуально и явно раскрыта в данном документе.

Публикации, которые обсуждаются в данном документе, приводятся исключительно для их раскрытия до даты подачи данной заявки. Ничто в данном документе не должно быть истолковано как признание того, что данное изобретение не имеет права на предшествование такой публикации в силу предшествующего изобретения. Кроме того, даты публикаций могут отличаться от действительных дат публикации, которые могут нуждаться в независимом подтверждении.

Подробное описание

В данном изобретении предлагаются модулирующие Т-клетки мультимерные

полипептиды, которые содержат иммуномодулирующий полипептид и которые содержат эпитоп-презентирующий пептид. ТММР является полезным для модуляции активности Т-клеток, а также для модуляции иммунного ответа у индивидуума.

Модулирующие Т-клетки мультимерные полипептиды

В данном изобретении предложен модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид (ТММР), содержащий: а) первый полипептид; и б) второй полипептид, причем ТММР содержит: пептидный эпитоп (определен ниже); первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС); второй полипептид ГКГС; один или более иммуномодулирующих полипептидов; Fc-полипептид иммуноглобулина (Ig) или каркас не от Ig и нацеленный на опухоль полипептид (НОП).

В настоящем изобретении предложен ТММР, причем ТММР является гетеродимером, включающим: а) первый полипептид, включающий первый полипептид ГКГС; и б) второй полипептид, включающий второй полипептид ГКГС, причем первый полипептид или второй полипептид включает пептидный эпитоп (определен ниже), причем первый полипептид и/или второй полипептид включает один или более иммуномодулирующих полипептидов, которые могут быть одинаковыми или разными; и Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig. Первый или второй полипептид также включает нацеленный на опухоль полипептид. В некоторых случаях нацеленный на опухоль полипептид находится на С-конце Fc-полипептида Ig или каркаса не от Ig. ТММР по данному изобретению также упоминается в данном документе как «мультимерный полипептид по данному изобретению» или «synTас».

Как используется в настоящем документе, термин «пептидный эпитоп» означает пептид, который в комплексе с полипептидами ГКГС представляет эпитоп для Т-клеточного рецептора (ТКР). Пептидный эпитоп имеет длину по меньшей мере 4 аминокислоты, например, от 4 аминокислот до около 25 аминокислот (например, 4 аминокислоты (ак), 5 ак, 6 ак, 7 ак, 8 ак, 9 ак, 10 ак, 11 ак, 12 ак, 13 ак, 14 ак, 15 ак, 16 ак, 17 ак, 18 ак, 19 ак, 20 ак, 21 ак, 22 ак, 23 ак, 24 ак или 25 ак, в том числе в диапазоне от 4 до 20 ак, от 6 до 18 ак, от 8 до 15 ак, от 8 до 12 ак, от 5 до 10 ак, от 10 до 15 ак, от 15 до 20 ак, от 10 до 20 ак или от 15 до 25 ак, в длину). При образовании комплексов с полипептидами ГКГС пептидный эпитоп может представлять один или более эпитопов одному или более ТКР. В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР по настоящему изобретению, представляет собой ассоциированный с раком эпитоп. В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР по данному изобретению, представляет собой эпитоп, ассоциированный с инфекционным заболеванием (например, кодируемый вирусом пептид).

В некоторых случаях ТММР по настоящему изобретению включает: i) вирусный эпитоп (например, кодируемый вирусом пептид); и iii) НОП, направленный на ассоциированный с раком антиген. Такой ТММР связывает раковую клетку, экспрессирующую ассоциированный с раком антиген, на который нацелен НОП. ТММР модулирует активность Т-клетки, специфичной для вирусного эпитопа, присутствующего в ТММР. Например, в некоторых случаях ТММР увеличивает пролиферацию и/или цитотоксическую активность Т-клеток, специфичных для вирусного эпитопа, присутствующего в ТММР. Контакт Т-клетки, специфичной для вирусного эпитопа, присутствующего в ТММР, может увеличить цитотоксическую активность Т-клетки в отношении раковой клетки, экспрессирующей ассоциированный с раком антиген, на который нацелен НОП, присутствующий в ТММР.

В данном изобретении предложен ТММР, содержащий гетеродимерный полипептид, содержащий: а) первый полипептид, содержащий: i) пептидный эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; б) второй полипептид, содержащий второй полипептид ГКГС; с) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид, причем первый и/или второй полипептид содержит по меньшей мере один (т.е. один или более) иммуномодулирующий полипептид; d) Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig, причем первый и/или второй полипептид включает Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig; и е) полипептид, нацеленный на раковую клетку (нацеленный на опухоль полипептид; «НОП»). В некоторых случаях, по меньшей мере один из одного или более иммуномодулирующих полипептидов представляет собой вариант иммуномодулирующего полипептида, который проявляет пониженную аффинность к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду по сравнению с аффинностью соответствующего иммуномодулирующего полипептида дикого типа для когнатного ко-иммуномодулирующего полипептида. Эпитоп, присутствующий в ТММР по данному изобретению связывается с рецептором Т-клеток (TCR) на Т-клетке с аффинностью, равной по меньшей мере, 100 мкМ (например, по меньшей мере 10 мкМ, по меньшей мере 1 мкМ, по меньшей мере 100 нМ, по меньшей мере 10 нМ, или по меньшей мере 1 нМ). ТММР по данному изобретению связывается с первой Т-клеткой с аффинностью, которая по меньшей мере на 25% выше, чем аффинность, с которой ТММР связывает вторую Т-клетку, причем первая Т-клетка экспрессирует на своей поверхности когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид, и TCR, который связывает эпитоп с аффинностью, равной по меньшей мере 100 мкМ, и при этом вторая Т-клетка экспрессирует на своей поверхности когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид, но не экспрессирует на своей поверхности TCR, который связывает эпитоп с аффинностью, равной по меньшей

мере 100 мкМ (например, по меньшей мере 10 мкМ, по меньшей мере 1 мкМ, по меньшей мере 100 нМ, по меньшей мере 10 нМ или по меньшей мере 1 нМ). В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР по настоящему изобретению, представляет собой ассоциированный с раком эпитоп. В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР по данному изобретению, представляет собой эпитоп, ассоциированный с инфекционным заболеванием (например, кодируемый вирусом пептид).

ТММР по настоящему изобретению включает нацеленный на опухоль полипептид, т.е. полипептид, который нацелен на ассоциированный с раком эпитоп, отображаемый на поверхности раковой клетки.

В данном изобретении предложен ТММР, в котором ТММР представляет собой:

А) гетеродимер, содержащий: а) первый полипептид, содержащий первый полипептид ГКГС; и б) второй полипептид, содержащий второй полипептид ГКГС, причем первый полипептид или второй полипептид содержит пептидный эпитоп, при этом первый полипептид и/или второй полипептид содержат один или более иммуномодулирующих полипептидов, которые могут быть одинаковыми или различными, и при этом по меньшей мере один из одного или более иммуномодулирующих полипептидов могут представлять собой иммуномодулирующий полипептид дикого типа или вариант иммуномодулирующего полипептида дикого типа, при этом вариант иммуномодулирующего полипептида содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью соответствующего иммуномодулирующего полипептида дикого типа; при этом первый полипептид и/или второй полипептид содержит Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig; и причем первый и/или второй полипептид содержит нацеленный на опухоль полипептид; или

В) гетеродимер, содержащий: а) первый полипептид, содержащий первый полипептид ГКГС; и б) второй полипептид, содержащий второй полипептид ГКГС, при этом первый полипептид или второй полипептид содержит эпитоп; при этом первый полипептид и/или второй полипептид содержат один или более иммуномодулирующих полипептидов, которые могут быть одинаковыми или различными,

при этом по меньшей мере один из одного или более иммуномодулирующих полипептидов представляют собой вариант иммуномодулирующего полипептида дикого типа, при этом вариант иммуномодулирующего полипептида содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислотных замен по сравнению с соответствующей аминокислотной последовательностью иммуномодулирующего

полипептида дикого типа,

при этом по меньшей мере один из одного или более иммуномодулирующих доменов представляет собой вариант иммуномодулирующего полипептида, который проявляет пониженную аффинность к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду по сравнению с аффинностью соответствующего иммуномодулирующего полипептида дикого типа для когнатного ко-иммуномодулирующего полипептида, и при этом эпитоп связывается с TCR на Т-клетке с аффинностью, равной по меньшей мере 10^{-7} М так, что: i) полипептид ТММР связывается с первой Т-клеткой с аффинностью, которая на по меньшей мере 25% выше, чем аффинность с которой ТММР связывает вторую Т-клетку, при этом первая Т-клетка экспрессирует на своей поверхности когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид и TCR, который связывает эпитоп с аффинностью, равной по меньшей мере 10^{-7} М, и при этом вторая Т-клетка экспрессирует на своей поверхности когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид, но не экспрессирует на своей поверхности TCR, который связывает эпитоп с аффинностью, равной по меньшей мере 10^{-7} М; и/или ii) соотношение аффинности связывания контрольного ТММР, когда контроль содержит иммуномодулирующий полипептид дикого типа, с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом к аффинности связывания ТММР, содержащего вариант иммуномодулирующего полипептида дикого типа, с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом, которое измеряют с помощью биослойной интерферометрии, находится в диапазоне от 1,5:1 до 10^6 :1; и при этом вариант иммуномодулирующего полипептида содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислотных замен по сравнению с соответствующей аминокислотной последовательностью иммуномодулирующего полипептида дикого типа; и

причем первый полипептид и/или второй полипептид содержит Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig; и причем первый и/или второй полипептид содержит нацеленный на опухоль полипептид; или

С) гетеродимер, содержащий: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) эпитоп; ii) первый полипептид ГКГС и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) второй полипептид ГКГС, и ii) необязательно полипептид Fc иммуноглобулина (Ig) или каркас не от Ig, причем ТММР содержит один или более иммуномодулирующих доменов, которые могут быть одинаковыми или различными, при этом по меньшей мере один из одного или более иммуномодулирующих доменов расположен: А) на С-конце первого полипептида; В) на N-конце второго полипептида; С) на С-конце второго полипептида или D) на С-конце

первого полипептида и на N-конце второго полипептида, и при этом по меньшей мере, один из одного или более иммуномодулирующих доменов может представлять собой иммуномодулирующий полипептид дикого типа или вариант иммуномодулирующего полипептида дикого типа, при этом вариант иммуномодулирующего полипептида содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислотных замены по сравнению с аминокислотной последовательностью соответствующего иммуномодулирующего полипептида дикого типа; и

необязательно при этом по меньшей мере один из одного или более иммуномодулирующих доменов представляет собой вариант иммуномодулирующего полипептида, который проявляет пониженную аффинность к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду по сравнению с аффинностью соответствующего иммуномодулирующего полипептида дикого типа для когнатного ко-иммуномодулирующего полипептида, и при этом эпитоп связывается с TCR на Т-клетке с аффинностью, равной по меньшей мере 10^{-7} М так, что: i) ТММР связывается с первой Т-клеткой с аффинностью, которая на по меньшей мере 25% выше, чем аффинность с которой ТММР связывает вторую Т-клетку, при этом первая Т-клетка экспрессирует на своей поверхности когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид и TCR, который связывает эпитоп с аффинностью, равной по меньшей мере 10^{-7} М, и при этом вторая Т-клетка экспрессирует на своей поверхности когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид, но не экспрессирует на своей поверхности TCR, который связывает эпитоп с аффинностью, равной по меньшей мере 10^{-7} М; и/или ii) соотношение аффинности связывания контрольного ТММР, когда контроль содержит иммуномодулирующий полипептид дикого типа, с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом к аффинности связывания ТММР, содержащего вариант иммуномодулирующего полипептида дикого типа, с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом, которое измеряют с помощью биослойной интерферометрии, находится в диапазоне от 1,5:1 до 10^6 :1; и при этом вариант иммуномодулирующего полипептида содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислотных замен по сравнению с соответствующей аминокислотной последовательностью иммуномодулирующего полипептида дикого типа. Первый полипептид и/или второй полипептид содержит Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig; и при этом первый и/или второй полипептид содержит нацеленный на опухоль полипептид. В некоторых случаях эпитоп, присутствующий в ТММР по настоящему изобретению, представляет собой ассоциированный с раком эпитоп. В некоторых случаях эпитоп, присутствующий в ТММР по данному изобретению, представляет собой эпитоп, ассоциированный с инфекционным заболеванием (например,

кодируемый вирусом пептид).

В данном изобретении предложен ТММР, содержащий: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) эпитоп; ii) первый полипептид ГКГС; и б) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) второй полипептид ГКГС; ii) Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig; и iii) нацеленный на опухоль полипептид. В некоторых случаях ТММР по данному изобретению содержит один или более иммуномодулирующих полипептидов, при этом по меньшей мере, один из одного или более иммуномодулирующих полипептидов расположен: А) на С-конце первого полипептида; В) на N-конце второго полипептида; С) на С-конце второго полипептида или D) на С-конце первого полипептида и на N-конце второго полипептида. По меньшей мере один из одного или более иммуномодулирующих полипептидов представляет собой вариант иммуномодулирующего полипептида, который проявляет пониженную аффинность к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду по сравнению с аффинностью соответствующего иммуномодулирующего полипептида дикого типа для когнатного ко-иммуномодулирующего полипептида. Эпитоп, присутствующий в ТММР по данному изобретению связывается с рецептором Т-клеток (TCR) на Т-клетке с аффинностью, равной по меньшей мере, 100 мкМ (например, по меньшей мере 10 мкМ, по меньшей мере 1 мкМ, по меньшей мере 100 нМ, по меньшей мере 10 нМ, или по меньшей мере 1 нМ). ТММР по данному изобретению связывается с первой Т-клеткой с аффинностью, которая по меньшей мере на 25% выше, чем аффинность, с которой ТММР связывает вторую Т-клетку, причем первая Т-клетка экспрессирует на своей поверхности когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид, и TCR, который связывает эпитоп с аффинностью, равной по меньшей мере 100 мкМ, и при этом вторая Т-клетка экспрессирует на своей поверхности когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид, но не экспрессирует на своей поверхности TCR, который связывает эпитоп с аффинностью, равной по меньшей мере 100 мкМ (например, по меньшей мере 10 мкМ, по меньшей мере 1 мкМ, по меньшей мере 100 нМ, по меньшей мере 10 нМ или по меньшей мере 1 нМ).

В некоторых случаях, эпитоп, присутствующий в ТММР по данному изобретению связывается с TCR на Т-клетках с аффинностью, равной от около 10^{-4} М до около 5×10^{-4} М, от около 5×10^{-4} М до около 10^{-5} М, от около 10^{-5} М до 5×10^{-5} М, от около 5×10^{-5} М до 10^{-6} М, от около 10^{-6} М до около 5×10^{-6} М, от около 5×10^{-6} М до около 10^{-7} М, от около 10^{-7} М до около 5×10^{-7} М, от около 5×10^{-7} М до около 10^{-8} М или от около 10^{-8} М до около 10^{-9} М. Выражаясь по-другому, в некоторых случаях, эпитоп присутствующий в ТММР по данному изобретению, связывается с TCR на Т-клетках с аффинностью, равной от около 1 нМ до около 5 нМ, от около 5 нМ до около 10 нМ, от около 10 нМ до около 50

нМ, от около 50 нМ до около 100 нМ, от около 0,1 мкМ до около 0,5 мкМ, от около 0,5 мкМ до около 1 мкМ, от около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 25 мкМ, от около 25 мкМ до около 50 мкМ, от около 50 мкМ до около 75 мкМ, от около 75 мкМ до около 100 мкМ.

В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид, присутствующий в ТММР по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность дикого типа (встречающуюся в природе).

В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид, присутствующий в ТММР по данному изобретению связывается с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом с аффинностью, которая на по меньшей мере 10% меньше, по меньшей мере 15% меньше, по меньшей мере 20% меньше, по меньшей мере 25% меньше, по меньшей мере 30% меньше, по меньшей мере 35% меньше, по меньшей мере 40% меньше, по меньшей мере 45% меньше, по меньшей мере 50% меньше, по меньшей мере 55% меньше, по меньшей мере 60% меньше, по меньшей мере 65% меньше, по меньшей мере 70% меньше, по меньшей мере 75% меньше, по меньшей мере 80% меньше, по меньшей мере 85% меньше, по меньшей мере 90% меньше, по меньшей мере 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность соответствующего иммуномодулирующего полипептида дикого типа к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду.

В некоторых случаях, вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующий в ТММР по данному изобретению имеет аффинность связывания к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду, которая составляет от 1 нМ до 100 нМ или от 100 нМ до 100 мкМ. Например, в некоторых случаях, вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующий в ТММР по данному изобретению имеет аффинность связывания с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом, которая составляет от около 100 нМ до 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 нМ до около 300 нМ, от около 300 нМ до около 350 нМ, от около 350 нМ до около 400 нМ, от около 400 нМ до около 500 нМ, от около 500 нМ до около 600 нМ, от около 600 нМ до около 700 нМ, от около 700 нМ до около 800 нМ, от около 800 нМ до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, до около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 15 мкМ, от около 15 мкМ до около 20 мкМ, от около 20 мкМ до около 25 мкМ, от около 25 мкМ до около 50 мкМ, от около 50 мкМ до около 75 мкМ или от около 75 мкМ до около 100 мкМ. В некоторых случаях, вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующий в ТММР по данному изобретению имеет аффинность связывания с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом, которая составляет от около 1 нМ

до около 5 нМ, от около 5 нМ до около 10 нМ, от около 10 нМ до около 50 нМ, от около 50 нМ до около 100 нМ.

Сочетание пониженной аффинности иммуномодулирующего полипептида с его когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом, и аффинность эпитопа с TCR, обеспечивает улучшенную селективность ТММР по данному изобретению. Например, ТММР по данному изобретению избирательно связывается с первой Т-клеткой, которая содержит на поверхности как : i) TCR, специфический для эпитопа, присутствующего в ТММР, так и ii) ко-иммуномодулирующий полипептид, который связывается с иммуномодулирующим полипептидом, присутствующим в ТММР, по сравнению со связыванием со второй Т-клеткой, которая содержит на поверхности: i) TCR, специфический для эпитопа, отличного от эпитопа, присутствующего в ТММР, и ii) ко-иммуномодулирующий полипептид, который связывается с иммуномодулирующим полипептидом, присутствующим в ТММР. Например, ТММР по данному изобретению связывается с первой Т-клеткой с аффинностью, которая на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, в по меньшей мере 2 раза, по меньшей мере 2,5 раза, по меньшей мере 5 раз, по меньшей мере 10 раз, по меньшей мере 15 раз, по меньшей мере 20 раз, по меньшей мере 25 раз, по меньшей мере 50 раз, по меньшей мере 100 раз или больше чем 100 раз, больше аффинности, с которым он связывает вторую Т-клетку.

В некоторых случаях ТММР по данному изобретению, при введении индивидууму, нуждающемуся в этом, индуцирует как эпитоп-специфический Т-клеточный ответ, так и эпитоп-неспецифический Т-клеточный ответ. Другими словами, в некоторых случаях ТММР данному изобретению, при введении индивидууму, нуждающемуся в этом, индуцирует эпитоп-специфический ответ Т-клеток, модулируя активность первой Т-клетки, которая содержит на поверхности как i) TCR, специфический для эпитопа, присутствующего в ТММР; так и ii) ко-иммуномодулирующий полипептид, который связывается с иммуномодулирующим полипептидом, присутствующим в ТММР; и индуцирует эпитоп-неспецифический ответ Т-клеток путем модулирования активности второй Т-клетки, которая содержит на поверхности: i) TCR, специфический для эпитопа, присутствующего в ТММР; и ii) ко-иммуномодулирующий полипептид, который связывается с иммуномодулирующим полипептидом, присутствующим в ТММР. Отношение эпитоп-специфического Т-клеточного ответа к эпитоп-неспецифическому Т-клеточному ответу составляет по меньшей мере 2:1, по меньшей мере 5:1, по меньшей

мере 10:1, по меньшей мере 15:1, по меньшей мере 20:1, по меньшей мере 25:1, по меньшей мере 50:1 или по меньшей мере 100:1. Отношение эпитоп-специфического Т-клеточного ответа к эпитоп-неспецифическому Т-клеточному ответу составляет от около 2:1 до около 5:1, от около 5:1 до около 10:1, от около 10:1 до около 15:1, от около 15:1 до около 20:1, от около 20:1 до около 25:1, от около 25:1 до около 50:1, или от около 50:1 до около 100:1 или более чем 100:1. «Модулирование активности» Т-клетки может включать одно или более из: i) активирование цитотоксической Т-клетки (например, CD8⁺); ii) индукцию цитотоксической активности цитотоксической Т-клетки (например, CD8⁺); iii) индукцию продуцирования и высвобождения цитотоксина (например, перфорина; гранзима; гранулезина) цитотоксической Т-клеткой (например, CD8⁺) iv) ингибирование активности аутореактивной Т-клетки; и тому подобное.

Сочетание пониженной аффинности иммуномодулирующего полипептида с его когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом, и аффинность эпитопа с TCR, обеспечивает улучшенную селективность ТММР по данному изобретению. Таким образом, например, ТММР по данному изобретению связывается с повышенной авидностью с первой Т-клеткой, которая содержит на поверхности как i) TCR, специфический для эпитопа, присутствующего в ТММР, так и ii) ко-иммуномодулирующий полипептид, который связывается с иммуномодулирующим полипептидом, присутствующим в ТММР, по сравнению с авидностью с которой он связывается со второй Т-клеткой, которая содержит на поверхности: i) TCR, специфический для эпитопа, отличного от эпитопа, присутствующего в ТММР, и ii) ко-иммуномодулирующий полипептид, который связывается с иммуномодулирующим полипептидом, присутствующим в ТММР.

Аффинность связывания между иммуномодулирующим полипептидом и его когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом может быть определена с помощью биослойной интерферометрии (BLI) с использованием очищенного иммуномодулирующего полипептида и очищенного когнатного ко-иммуномодулирующего полипептида. Аффинность связывания между ТММР и его когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом может быть определена с помощью BLI с использованием очищенного ТММР и когнатного ко-иммуномодулирующего полипептида. Методы BLI хорошо известны специалистам в данной области техники. См., например, Lad et al. (2015) *J. Biomol. Screen.* 20(4):498-507 и Shah and Duncan (2014) *J. Vis. Exp.* 18:e51383.

Анализ BLI может быть проведен с использованием прибора Octet RED 96 (Pal FortéBio) или аналогичного прибора следующим образом. ТММР (например, ТММР по

данному изобретению; контрольный ТММР (причем контрольный ТММР содержит иммуномодулирующий полипептид дикого типа)) иммобилизируют на нерастворимой подложке («биосенсоре»). Иммобилизованный ТММР является «мишенью». Иммобилизацию можно осуществлять путем иммобилизации захватывающего антитела на нерастворимой подложке, где захватывающее антитело иммобилизует ТММР. Например, иммобилизация может быть осуществлена путем иммобилизации антителом к Fc (например, антителом против Fc IgG человека) на нерастворимой подложке, где иммобилизующие антитела против Fc связываются и иммобилизуют ТММР (причем ТММР содержит полипептид Fc Ig). Ко-иммуномодулирующий полипептид наносят в нескольких различных концентрациях на иммобилизованный ТММР и регистрируют реакцию прибора. Анализы проводят в жидкой среде, содержащей 25 мМ HEPES pH 6,8, 5% полиэтиленгликоля 6000, 50 мМ KCl, 0,1% бычьего сывороточного альбумина и 0,02% неионогенного детергента Tween 20. Связывание ко-иммуномодулирующего полипептида с иммобилизованным ТММР проводят при 30°C. В качестве положительного контроля аффинности связывания можно использовать моноклональное антитело против ГКГС I класса. Например, можно использовать моноклональное антитело W6/32 против HLA I класса (Американская коллекция типовых культур № HB-95; Parham et al. (1979) *J. Immunol.* 123:342), который имеет K_D , равную 7 нМ. Стандартная кривая может быть получена с использованием серийных разведений моноклонального антитела против ГКГС I класса. Ко-иммуномодулирующий полипептид, или mAb (моноклональное антитело) против ГКГС I класса, является «аналитом». BLI анализирует интерференционную картину белого света, отраженного от двух поверхностей: i) от иммобилизованного полипептида («мишень»); и ii) внутреннего эталонного слоя. Изменение количества молекул («аналита»; например, ко-иммуномодулирующего полипептида; антитела против HLA), связанных с наконечником биосенсора, вызывает изменение интерференционной картины; этот сдвиг в интерференционной картине может быть измерен в режиме реального времени. Два кинетических термина, которые описывают аффинность взаимодействия мишени и аналита, представляют собой константу ассоциации (k_a) и константу диссоциации (k_d). Отношение этих двух переменных (k_a/k_d) образует константу аффинности K_D .

Анализ BLI проводят в многолуночном планшете. Для проведения анализа определяют схему планшета, определяют этапы анализа и назначают биосенсоры в программном обеспечении Octet Data Acquisition. Биосенсорную сборку гидратируют. Гидратированную биосенсорную сборку и планшет для анализа уравнивают в течение 10 минут на приборе Octet. Как только данные получены, полученные данные

загружают в программу анализа данных Octet. Данные обрабатывают в окне Обработка путем указания метода вычитания эталона, выравнивания по оси Y, межшаговой коррекции и фильтрации Савицкого-Голея. Данные анализируют в окне анализа путем указания шагов для анализа (ассоциация и диссоциация), выбора модели подбора кривой (1:1), метода подбора (глобального) и окна интереса (в секундах). Оценивают качество посадки. Значения K_D для каждого из данных (концентрация аналита) можно усреднить, если они находятся в 3-кратном диапазоне. Значения ошибки K_D должны находиться в пределах одного порядка значений константы аффинности; значения R^2 должны быть больше 0,95. См., например, Abdiche et al. (2008) *J. Anal. Biochem.* 377:209.

Если не указано иное, аффинность ТММР по данному изобретению к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду, или аффинность контрольного ТММР (причем контрольный ТММР содержит иммуномодулирующий полипептид дикого типа) к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду, определяют с использованием BLI, как описано выше.

В некоторых случаях соотношение: i) аффинности связывания контрольного ТММР (когда контроль содержит иммуномодулирующий полипептид дикого типа) к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду к ii) аффинности связывания ТММР по данному изобретению, содержащему вариант иммуномодулирующего полипептида дикого типа, к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду, измеренная с помощью BLI (как описано выше), составляет по меньшей мере 1,5:1, по меньшей мере 2:1, по меньшей мере 5:1, по меньшей мере 10:1, по меньшей мере 15:1, по меньшей мере 20:1, по меньшей мере 25:1, по меньшей мере 50:1, по меньшей мере 100:1, по меньшей мере 500:1, по меньшей мере 10^2 :1, по меньшей мере 5×10^2 :1, по меньшей мере 10^3 :1, по меньшей мере 5×10^3 :1, по меньшей мере 10^4 :1, по меньшей мере 10^5 :1 или по меньшей мере 10^6 :1. В некоторых случаях соотношение: i) аффинности связывания контрольного ТММР (когда контроль содержит иммуномодулирующий полипептид дикого типа) к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду к ii) аффинности связывания ТММР по данному изобретению, содержащему вариант иммуномодулирующего полипептида дикого типа, к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду, измеренная с помощью BLI (как описано выше), находится в диапазоне от 1,5:1 до 10^6 :1, например, от 1,5:1 до 10:1, от 10:1 до 50:1, от 50:1 до 10^2 :1, от 10^2 :1 до 10^3 :1, от 10^3 :1 до 10^4 :1, от 10^4 :1 до 10^5 :1 или от 10^5 :1 до 10^6 :1.

В качестве примера, когда контрольный ТММР содержит полипептид IL-2 дикого типа и когда ТММР по данному изобретению содержит вариант полипептида IL-2 (содержащий от 1 до 10 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной

последовательностью полипептида IL-2 дикого типа) в качестве иммуномодулирующего полипептида, соотношение: i) аффинности связывания контрольного ТММР к рецептору IL-2 (то есть когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду) к ii) аффинности связывания ТММР по данному изобретению к рецептору IL-2, измеренная с помощью BLI, составляет по меньшей мере 1,5:1, по меньшей мере 2:1, по меньшей мере 5:1, по меньшей мере 10:1, по меньшей мере 15:1, по меньшей мере 20:1, по меньшей мере 25:1, по меньшей мере 50:1, по меньшей мере 100:1, по меньшей мере 500:1, по меньшей мере 10^2 :1, по меньшей мере 5×10^2 :1, по меньшей мере 10^3 :1, по меньшей мере 5×10^3 :1, по меньшей мере 10^4 :1, по меньшей мере 10^5 :1 или по меньшей мере 10^6 :1. В некоторых случаях, когда контрольный ТММР содержит полипептид IL-2 дикого типа и когда ТММР по данному изобретению содержит вариант полипептида IL-2 (содержащий от 1 до 10 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью полипептида IL-2 дикого типа) в качестве иммуномодулирующего полипептида, соотношение: i) аффинности связывания контрольного ТММР к рецептору IL-2 (то есть когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду) к ii) аффинности связывания ТММР по данному изобретению к рецептору IL-2, измеренная с помощью BLI, находится в диапазоне от 1,5:1 до 10^6 :1, например, от 1,5:1 до 10:1, от 10:1 до 50:1, от 50:1 до 10^2 :1, от 10^2 :1 до 10^3 :1, от 10^3 :1 до 10^4 :1, от 10^4 :1 до 10^5 :1 или от 10^5 :1 до 10^6 :1.

В другом примере, когда контрольный ТММР содержит полипептид PD-L1 дикого типа и когда ТММР по данному изобретению содержит вариант полипептида PD-L1 (содержащий от 1 до 10 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью полипептида PD-L1 дикого типа) в качестве иммуномодулирующего полипептида, соотношение: i) аффинности связывания контрольного ТММР к полипептиду PD-1 (то есть когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду) к ii) аффинности связывания ТММР по данному изобретению к полипептиду PD-1, измеренная с помощью BLI, составляет по меньшей мере 1,5:1, по меньшей мере 2:1, по меньшей мере 5:1, по меньшей мере 10:1, по меньшей мере 15:1, по меньшей мере 20:1, по меньшей мере 25:1, по меньшей мере 50:1, по меньшей мере 100:1, по меньшей мере 500:1, по меньшей мере 10^2 :1, по меньшей мере 5×10^2 :1, по меньшей мере 10^3 :1, по меньшей мере 5×10^3 :1, по меньшей мере 10^4 :1, по меньшей мере 10^5 :1 или по меньшей мере 10^6 :1.

В другом примере, когда контрольный ТММР содержит полипептид CD80 дикого типа и когда ТММР по данному изобретению содержит вариант полипептида CD80 (содержащий от 1 до 10 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью полипептида CD80 дикого типа) в качестве иммуномодулирующего

полипептида, соотношение: i) аффинности связывания контрольного ТММР к полипептиду CTLA4 (то есть когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду) к ii) аффинности связывания ТММР по данному изобретению к полипептиду CTLA4, измеренная с помощью BLI, составляет по меньшей мере 1,5:1, по меньшей мере 2:1, по меньшей мере 5:1, по меньшей мере 10:1, по меньшей мере 15:1, по меньшей мере 20:1, по меньшей мере 25:1, по меньшей мере 50:1, по меньшей мере 100:1, по меньшей мере 500:1, по меньшей мере 10^2 :1, по меньшей мере 5×10^2 :1, по меньшей мере 10^3 :1, по меньшей мере 5×10^3 :1, по меньшей мере 10^4 :1, по меньшей мере 10^5 :1 или по меньшей мере 10^6 :1.

В другом примере, когда контрольный ТММР содержит полипептид CD80 дикого типа и когда ТММР по данному изобретению содержит вариант полипептида CD80 (содержащий от 1 до 10 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью полипептида CD80 дикого типа) в качестве иммуномодулирующего полипептида, соотношение: i) аффинности связывания контрольного ТММР к полипептиду CD28 (то есть когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду) к ii) аффинности связывания ТММР по данному изобретению к полипептиду CD28, измеренная с помощью BLI, составляет по меньшей мере 1,5:1, по меньшей мере 2:1, по меньшей мере 5:1, по меньшей мере 10:1, по меньшей мере 15:1, по меньшей мере 20:1, по меньшей мере 25:1, по меньшей мере 50:1, по меньшей мере 100:1, по меньшей мере 500:1, по меньшей мере 10^2 :1, по меньшей мере 5×10^2 :1, по меньшей мере 10^3 :1, по меньшей мере 5×10^3 :1, по меньшей мере 10^4 :1, по меньшей мере 10^5 :1 или по меньшей мере 10^6 :1.

В другом примере, когда контрольный ТММР содержит полипептид 4-1BBL дикого типа и когда ТММР по данному изобретению содержит вариант полипептида 4-1BBL (содержащий от 1 до 10 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью полипептида 4-1BBL дикого типа) в качестве иммуномодулирующего полипептида, соотношение: i) аффинности связывания контрольного ТММР к полипептиду 4-1BB (то есть когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду) к ii) аффинности связывания ТММР по данному изобретению к полипептиду 4-1BB, измеренная с помощью BLI, составляет по меньшей мере 1,5:1, по меньшей мере 2:1, по меньшей мере 5:1, по меньшей мере 10:1, по меньшей мере 15:1, по меньшей мере 20:1, по меньшей мере 25:1, по меньшей мере 50:1, по меньшей мере 100:1, по меньшей мере 500:1, по меньшей мере 10^2 :1, по меньшей мере 5×10^2 :1, по меньшей мере 10^3 :1, по меньшей мере 5×10^3 :1, по меньшей мере 10^4 :1, по меньшей мере 10^5 :1 или по меньшей мере 10^6 :1.

В другом примере, когда контрольный ТММР содержит полипептид CD86 дикого типа и когда ТММР по данному изобретению содержит вариант полипептида CD86 (содержащий от 1 до 10 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью полипептида CD86 дикого типа) в качестве иммуномодулирующего полипептида, соотношение: i) аффинности связывания контрольного ТММР к полипептиду CD28 (то есть когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду) к ii) аффинности связывания ТММР по данному изобретению к полипептиду CD28, измеренная с помощью BLI, составляет по меньшей мере 1,5:1, по меньшей мере 2:1, по меньшей мере 5:1, по меньшей мере 10:1, по меньшей мере 15:1, по меньшей мере 20:1, по меньшей мере 25:1, по меньшей мере 50:1, по меньшей мере 100:1, по меньшей мере 500:1, по меньшей мере 10^2 :1, по меньшей мере 5×10^2 :1, по меньшей мере 10^3 :1, по меньшей мере 5×10^3 :1, по меньшей мере 10^4 :1, по меньшей мере 10^5 :1 или по меньшей мере 10^6 :1.

Аффинность связывания ТММР по данному изобретению с Т-клеткой-мишенью может быть измерена следующим образом: А) приведение в контакт ТММР по данному изобретению с Т-клеткой-мишенью, экспрессирующей на своей поверхности: i) когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид, который связывает родительский иммуномодулирующий полипептид дикого типа; и ii) рецептор Т-клетки, который связывается с эпитопом, причем ТММР содержит метку эпитопа, так что ТММР связывается с Т-клеткой-мишенью; В) приведение в контакт ТММР, связанного с Т-клеткой-мишенью, с флуоресцентно меченным связывающим агентом (например, флуоресцентно меченным антителом), которое связывается с меткой эпитопа, создавая тем самым комплекс ТММР/Т-клетка-мишень/связывающий агент; С) измерение средней интенсивности флуоресценции (MFI) комплекса ТММР/Т-клетка-мишень/связывающий агент с использованием проточной цитометрии. Меткой эпитопа может быть, например, метка FLAG, метка гемагглютинаина, метка с-тус, полигистидиновая метка и т.д. MFI, измеренная в диапазоне концентраций члена библиотеки ТММР, обеспечивает меру аффинности. MFI, измеренная в диапазоне концентраций члена библиотеки ТММР, обеспечивает половину максимальной эффективной концентрации (EC_{50}) ТММР. В некоторых случаях EC_{50} ТММР по данному изобретению для Т-клетки-мишени находится в нМ (наномолярном) диапазоне; а EC_{50} ТММР для контрольной Т-клетки (причем контрольная Т-клетка экспрессирует на своей поверхности: i) когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид, который связывает родительский иммуномодулирующий полипептид дикого типа; и ii) Т-клеточный рецептор, который не связывается с эпитопом, присутствующим в ТММР) находится в мкМ (микромолярном)

диапазоне. В некоторых случаях соотношение EC_{50} ТММР по данному изобретению для контрольной Т-клетки к EC_{50} ТММР для Т-клетки мишени составляет по меньшей мере 1,5:1, по меньшей мере 2:1, по меньшей мере 5:1, по меньшей мере 10:1, по меньшей мере 15:1, по меньшей мере 20:1, по меньшей мере 25:1, по меньшей мере 50:1, по меньшей мере 100:1, по меньшей мере 500:1, по меньшей мере 10^2 :1, по меньшей мере 5×10^2 :1, по меньшей мере 10^3 :1, по меньшей мере 5×10^3 :1, по меньшей мере 10^4 :1, по меньшей мере 10^5 :1 или по меньшей мере 10^6 :1. Отношение EC_{50} ТММР по данному изобретению для контрольной Т-клетки к EC_{50} ТММР для Т-клетки мишени является выражением селективности ТММР.

В некоторых случаях при измерении, описанном в предыдущем пункте, ТММР по данному изобретению проявляет избирательное связывание с Т-клеткой мишенью, по сравнению со связыванием члена библиотеки ТММР с контрольной Т-клеткой мишенью, содержащей: i) когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид, который связывает родительский иммуномодулирующий полипептид дикого типа; и ii) Т-клеточный рецептор, который связывается с эпитопом, отличным от эпитопа, присутствующего в члене библиотеки ТММР.

Димеризованные ТММР

ТММР по данному изобретению может быть димеризован; то есть данное изобретение относится к мультимерному полипептиду, содержащему димер ТММР по данному изобретению. Таким образом, в данном изобретении предлагается ТММР, содержащий: А) первый гетеродимер, содержащий: а) первый полипептид, содержащий: i) пептидный эпитоп; и ii) первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС); и б) второй полипептид i) второй полипептид ГКГС, при этом первый гетеродимер содержит один или более иммуномодулирующих полипептидов; и В) второй гетеродимер, содержащий: а) первый полипептид, содержащий: i) пептидный эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; и б) второй полипептид i) второй полипептид ГКГС, при этом второй гетеродимер содержит один или более иммуномодулирующих полипептидов, и при этом первый гетеродимер и второй гетеродимер ковалентно связаны друг с другом. В некоторых случаях два ТММР идентичны друг другу по аминокислотной последовательности. В некоторых случаях первый гетеродимер и второй гетеродимер ковалентно связаны друг с другом через С-концевую область второго полипептида первого гетеродимера и С-концевую область второго полипептида второго гетеродимера. В некоторых случаях первый гетеродимер и второй гетеродимер ковалентно связаны друг с другом через С-концевую аминокислоту второго полипептида первого гетеродимера и С-концевую область второго полипептида второго гетеродимера; например, в некоторых

случаях С-концевая аминокислота второго полипептида первого гетеродимера и С-концевая область второго полипептида второго гетеродимера связаны друг с другом либо напрямую, либо через линкер. Линкер может представлять собой пептидный линкер. Пептидный линкер может иметь длину от 1 аминокислоты до 200 аминокислот (например, от 1 аминокислоты (ак) до 5 ак, от 5 ак до 10 ак, от 10 ак до 25 ак, от 25 ак до 50 ак, от 50 ак до 100 ак, от 100 ак до 150 ак или от 150 ак до 200 ак). В некоторых случаях пептидный эпитоп первого гетеродимера и пептидный эпитоп второго гетеродимера содержат одну и ту же аминокислотную последовательность. В некоторых случаях первый полипептид ГКГС первого и второго гетеродимера представляет собой β 2-микроглобулин ГКГС I класса, и при этом второй полипептид ГКГС первого и второго гетеродимера представляет собой тяжелую цепь ГКГС I класса. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид первого гетеродимера и иммуномодулирующий полипептид второго гетеродимера содержат одну и ту же аминокислотную последовательность. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид первого гетеродимера и иммуномодулирующий полипептид второго гетеродимера являются вариантами иммуномодулирующих полипептидов, которые содержат от 1 до 10 аминокислотных замен по сравнению с соответствующим родительским иммуномодулирующим полипептидом дикого типа, и при этом от 1 до 10 аминокислотных замен приводят к снижению аффинного связывания варианта иммуномодулирующего полипептида с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид первого гетеродимера и иммуномодулирующий полипептид второго гетеродимера каждый независимо выбирают из группы, состоящей из IL-2, 4-1BBL, PD-L1, CD80, CD86, ICOS-L, OX-40L, FasL, JAG1 (CD339), TGF β , CD70 и ICAM. Примеры подходящих полипептидов ГКГС, иммуномодулирующих полипептидов и пептидных эпитопов описаны ниже. Первый и/или второй полипептид содержит: i) Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig; и ii) нацеленный на опухоль полипептид.

Полипептиды ГКГС

Как отмечено выше, ТММР по данному изобретению содержит полипептиды ГКГС. Для целей данного изобретения термин «полипептиды основного комплекса гистосовместимости (ГКГС)» включает полипептиды ГКГС различных видов, включая ГКГС человека (также называемые полипептидами лейкоцитарного антигена человека (HLA)), грызунов (например, мыши, крысы и т.д.) полипептиды ГКГС и полипептиды ГКГС других видов млекопитающих (например, зайцеобразных, приматов, отличных от человека, собачьих, кошачьих, копытных (например, лошадей, быков, овец, коз и т.д.) и

т.п. Термин «полипептид ГКГС» предназначен для обозначения полипептидов ГКГС I класса (например, β -2 микроглобулина и тяжелой цепи ГКГС I класса).

В некоторых случаях первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2М (β 2М) ГКГС I класса; а второй полипептид ГКГС представляет собой тяжелую цепь (цепь Н) ГКГС I класса (ГКГС-Н). В других случаях первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса, а второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2М. В некоторых случаях как β 2М, так и цепь ГКГС-Н человеческого происхождения; т.е. цепь ГКГС-Н представляет собой тяжелую цепь HLA или ее вариант. Если прямо не указано иное, ТММР по данному изобретению не включает в себя домены прикрепления к мембране (трансмембранные области) тяжелой цепи ГКГС I класса, или часть тяжелой цепи ГКГС I класса, достаточная для прикрепления получаемого ТММР к клетке (например, эукариотической клетке, такой как клетка млекопитающего), в которой он экспрессируется. В некоторых случаях тяжелая цепь ГКГС I класса, присутствующая в ТММР по данному изобретению, не включает в себя сигнальный пептид, трансмембранный домен или внутриклеточный домен (цитоплазматический хвост), связанный с нативной тяжелой цепью ГКГС I класса. Таким образом, например в некоторых случаях, тяжелая цепь ГКГС I класса, присутствующая в ТММР по данному изобретению, включает в себя только домены α 1, α 2 и α 3 тяжелой цепи ГКГС I класса. В некоторых случаях тяжелая цепь ГКГС I класса, присутствующая в ТММР по данному изобретению, имеет длину от около 270 аминокислот (ак) до около 290 ак. В некоторых случаях тяжелая цепь ГКГС I класса, присутствующая в ТММР по данному изобретению, имеет длину 270 ак, 271 ак, 272, ак, 273 ак, 274 ак, 275 ак, 276 ак, 277 ак, 278 ак, 279 ак, 280 ак, 281 ак, 282 ак, 283 ак, 284 ак, 285 ак, 286 ак, 287 ак, 288 ак, 289 ак или 290 ак.

В некоторых случаях полипептид ГКГС ТММР представляет собой полипептид ГКГС человека, причем полипептиды ГКГС человека также называют полипептидами «лейкоцитарного антигена человека» (HLA). В некоторых случаях полипептид ГКГС ТММР представляет собой полипептид HLA I класса, например полипептид β 2-микроглобулина или полипептид тяжелой цепи HLA I класса. Полипептиды тяжелой цепи HLA I класса включают полипептиды тяжелой цепи HLA-A, полипептиды тяжелой цепи HLA-B, полипептиды тяжелой цепи HLA-C, полипептиды тяжелой цепи HLA-E, полипептиды тяжелой цепи HLA-F и полипептиды тяжелой цепи HLA-G.

Тяжелые цепи ГКГС I класса

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса, присутствующий в ТММР по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность,

имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со всей или частью (например, 50, 75, 100, 150, 200 или 250 последовательными аминокислотами) аминокислотной последовательности любого из полипептидов тяжелой цепи HLA человека, изображенных на фиг. 7-13. В некоторых случаях тяжелая цепь ГКГС I класса имеет длину 270 ак, 271 ак, 272, ак, 273 ак, 274 ак, 275 ак, 276 ак, 277 ак, 278 ак, 279 ак, 280 ак, 281 ак, 282 ак, 283 ак, 284 ак, 285 ак, 286 ак, 287 ак, 288 ак, 289 ак или 290 ак. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса, присутствующий в ТММР по данному изобретению, содержит 1-30, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25 или 25-30 аминокислотных вставок, делеций и/или замен (в дополнение к тем положениям, указанным как переменные в консенсусных последовательностях тяжелой цепи) любой из аминокислотных последовательностей, изображенных на фиг. 7-13. В некоторых случаях тяжелая цепь ГКГС I класса не содержит трансмембранные или цитоплазматические домены. В качестве примера, полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса ТММР по данному изобретению может содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотами 25–300 (без каких-либо, или частично без каких-либо, из лидерной, трансмембранной или цитоплазматической последовательностей) или аминокислот 25–365 (без лидера) полипептидов тяжелой цепи HLA-A человека, изображенных на фиг. 5A, 5B и 5C.

На фиг. 5A, 5B и 5C представлены аминокислотные последовательности полипептидов тяжелых цепей лейкоцитарного антигена человека (HLA) I класса. Сигнальные последовательности, аминокислоты 1–24, выделены жирным шрифтом и подчеркнуты. На фиг. 5A элемент: 3A.1 представляет собой тяжелую цепь HLA-A (HLA-A*01:01:01:01 или A*0101) (доступ NCBI NP_001229687.1), SEQ ID NO: 35; элемент 3A.2 получен из HLA-A*1101 SEQ ID NO: 36; элемент 3A.3 получен из HLA A*2402 SEQ ID NO: 37 и элемент 3A.4 получен из HLA A*3303 SEQ ID NO: 38. На фиг. 5B представлена последовательность HLA-B*07:02:01 (HLA-B*0702) код доступа GenBank NCBI NP_005505.2 (см. также код GenBank AUV50118.1). На фиг. 5C представлена последовательность HLA- C*0701 (код GenBank NP_001229971.1) (HLA-C*07:01:01:01 или HLA-Cw*070101, HLA-Cw*07 см. код GenBank CAO78194.1).

На фиг. 6 представлено выравнивание последовательностей одиннадцати пептидов

зрелых тяжелых цепей ГКГС I класса без их лидерных последовательностей, или трансмембранных доменов, или внутриклеточных доменов. Выровненные последовательности представляют собой HLA-A, HLA-B и HLA-C человека, последовательность белка H2K мыши, три варианта HLA-A (вар.1, вар. 2C и вар.2CP) и 3 варианта HLA-A человека (HLA-A*1101; HLA-A*2402 и HLA-A*3303). В выравнивании указаны положения (84 и 139 зрелых белков), в которые могут быть вставлены остатки цистеина (например, путем замены) для образования дисульфидной связи для стабилизации комплекса цепи ГКГС-Н — β 2М. В выравнивании также показано положение 236 (зрелого полипептида), которое может быть заменено остатком цистеина, который может образовывать внутрицепочечную дисульфидную связь с β 2М (например, по ак 12). Над каждым из этих мест находится стрелка, а остатки выделены жирным шрифтом. Седьмая последовательность HLA-A, показанная в выравнивании (вар. 2с), демонстрирует последовательность варианта 2, замещенную остатками С в положениях 84, 139 и 236. Рамки, окружающие остатки 84, 139 и 236, показывают группы из пяти аминокислот по обе стороны от этих шести наборов из пяти остатков, обозначенные акк1 (для «аминокислотного кластера 1»), акк2 (для «аминокислотного кластера 2»), акк3 (для «аминокислотного кластера 3»), акк4 (для «аминокислотного кластера 4»), акк5 (для «аминокислотного кластера 5») и акк6 (для «аминокислотного кластера 6»), которые могут быть заменены на 1-5 аминокислот, независимо выбранных из (i) любой встречающейся в природе аминокислоты или (ii) любой встречающейся в природе аминокислоты, за исключением пролина или глицина.

Согласно фиг. 6, в некоторых случаях: i) акк1 (аминокислотный кластер 1) может представлять собой аминокислотную последовательность GTLRG (SEQ ID NO:98) или эту последовательность с одной или двумя аминокислотами, удаленными или замещенными другими встречающимися в природе аминокислотами (например, L замещен на I, V, A или F); ii) акк2 (аминокислотный кластер 2) может представлять собой аминокислотную последовательность YNQSE (SEQ ID NO:99) или эту последовательность с одной или двумя аминокислотами, удаленными или замещенными другими встречающимися в природе аминокислотами (например, N замещен на Q, Q замещен на N и/или E замещен на D); iii) акк3 (аминокислотный кластер 3) может представлять собой аминокислотную последовательность TAADM (SEQ ID NO:100) или эту последовательность с одной или двумя аминокислотами, удаленными или замещенными другими встречающимися в природе аминокислотами (например, T замещен на S, A замещен на G, D замещен на E, и/или M замещен на L, V или I); iv) акк4 (аминокислотный кластер 4) может представлять собой аминокислотную последовательность AQTTK (SEQ ID NO:101) или эту

последовательность с одной или двумя аминокислотами, удаленными или замещенными другими встречающимися в природе аминокислотами (например, А замещен на G, Q замещен на N или Т замещен на S, и/или К замещен на R или Q); v) акк5 (аминокислотный кластер 5) может представлять собой аминокислотную последовательность VETRP (SEQ ID NO:102) или эту последовательность с одной или двумя аминокислотами, удаленными или замещенными другими встречающимися в природе аминокислотами (например, V замещен на I или L, E замещен на D, Т замещен на S, и/или R замещен на K); и/или vi) акк6 (аминокислотный кластер 6) может представлять собой аминокислотную последовательность GDGTF (SEQ ID NO:103) или эту последовательность с одной или двумя аминокислотами, удаленными или замещенными другими встречающимися в природе аминокислотами (например, D замещен на E, Т замещен на S, или F замещен на L, W или Y).

На фиг. 7-9 представлены выравнивания аминокислотных последовательностей тяжелые цепи HLA I класса (без лидерных последовательностей, или трансмембранных доменов, или внутриклеточных доменов). Выровненные аминокислотных последовательности на фиг. 7А представляют собой тяжелые цепи HLA-A I класса следующих аллелей: A*0101, A*0201, A*0301, A*1101, A*2301, A*2402, A*2407, A*3303 и A*3401. Выровненные аминокислотных последовательности на фиг. 8А представляют собой тяжелые цепи HLA-B I класса следующих аллелей: B*0702, B*0801, B*1502, B*3802, B*4001, B*4601 и B*5301. Выровненные аминокислотных последовательности на фиг. 9А представляют собой тяжелые цепи HLA-C I класса следующих аллелей: C*0102, C*0303, C*0304, C*0401, C*0602, C*0701, C*0801 и C*1502. В выравнивании указаны положения (84 и 139 зрелых белков), в которые могут быть вставлены остатки цистеина (например, путем замещения) для образования дисульфидной связи для стабилизации комплекса цепи H HLA — β 2M. В выравнивании также показано положение 236 (зрелого полипептида), которое может быть заменено остатком цистеина, который может образовывать внутрицепочечную дисульфидную связь с β 2M (например, по ак 12). Рамки, окружающие остатки 84, 139 и 236, показывают группы из пяти аминокислот по обе стороны от этих шести наборов из пяти остатков, обозначенные акк1 (для «аминокислотного кластера 1»), акк2 (для «аминокислотного кластера 2»), акк3 (для «аминокислотного кластера 3»), акк4 (для «аминокислотного кластера 4»), акк5 (для «аминокислотного кластера 5») и акк6 (для «аминокислотного кластера 6»), которые могут быть заменены на 1-5 аминокислот, независимо выбранных из (i) любой встречающейся в природе аминокислоты или (ii) любой встречающейся в природе аминокислоты, за исключением пролина или глицина.

На фиг. 7А, 8А и 9А представлены выравнивания аминокислотных последовательностей тяжелых цепей зрелых HLA-A, -B и -C I класса соответственно. Последовательности представлены для внутриклеточной части зрелого белка (без лидерных последовательностей, или трансмембранных доменов, или внутриклеточных доменов). Как описано на фиг. 6, положения ак остатков 84, 139 и 236 и их фланкирующих остатков (от акк1 до акк6), которые могут замещаться от 1 до 5 аминокислотами, независимо выбранными из также показанных (i) любой встречающейся в природе аминокислоты или (ii) любой встречающейся в природе аминокислоты, за исключением пролина или глицина. На фиг. 7В, 8В и 9В представлены консенсусные аминокислотные последовательности для последовательностей HLA-A, -B и -C, соответственно представленные на фиг. 7А, 8А и 9А. Консенсусные последовательности показывают переменные положения аминокислот в виде последовательно пронумерованных остатков «X», а положения аминокислот 84, 139 и 236 дважды подчеркнуты.

Согласно фиг. 7А, в некоторых случаях: i) аас1 (аминокислотный кластер 1) может представлять собой аминокислотную последовательность GTLRG (SEQ ID NO: 98) или последовательность, в которой одна или две аминокислоты удалены или заменены другими встречающимися в природе аминокислотами (например, L заменена на I, V, A или F); ii) аас2 (аминокислотный кластер 2) может представлять собой аминокислотную последовательность YNQSE (SEQ ID NO: 99) или последовательность, в которой одна или две аминокислоты удалены или заменены другими встречающимися в природе аминокислотами (например, N заменена на Q, Q заменена на N, и/или E заменена на D); iii) аас3 (аминокислотный кластер 3) может представлять собой аминокислотную последовательность TAADM (SEQ ID NO: 100) или последовательность, в которой одна или две аминокислоты удалены или заменены другими встречающимися в природе аминокислотами (например, T заменена на S, A заменена на G, D заменена на E, и/или M заменена на L, V или I); iv) аас4 (аминокислотный кластер 4) может представлять собой аминокислотную последовательность AQTTK (SEQ ID NO: 101) или последовательность, в которой одна или две аминокислоты удалены или заменены другими встречающимися в природе аминокислотами (например, A заменена на G, Q заменена на N, или T заменена на S, и или K заменена на R или Q); v) аас5 (аминокислотный кластер 5) может представлять собой аминокислотную последовательность VETRP (SEQ ID NO: 102) или последовательность, в которой одна или две аминокислоты удалены или заменены другими встречающимися в природе аминокислотами (например, V заменена на I или L, E заменена на D, T заменена на S, и/или R заменена на K); и/или vi) аас6 (аминокислотный

кластер 6) может представлять собой аминокислотную последовательность GDGTF (SEQ ID NO: 103) или последовательность, в которой одна или две аминокислоты удалены или заменены другими встречающимися в природе аминокислотами (например, D заменена на E, T заменена на S, или F заменена на L, W или Y).

Согласно фиг. 8А, в некоторых случаях: i) aac1 (аминокислотный кластер 1) может представлять собой аминокислотную последовательность RNLRG (SEQ ID NO: 104) или последовательность, в которой одна или две аминокислоты удалены или заменены другими встречающимися в природе аминокислотами (например, N заменена на Т или I; и/или L заменена на А; и/или вторая R заменена на L; и/или G заменена на R); ii) aac2 (аминокислотный кластер 2) может представлять собой аминокислотную последовательность YNQSE (SEQ ID NO: 99) или последовательность, в которой одна или две аминокислоты удалены или заменены другими встречающимися в природе аминокислотами (например, N заменена на Q, Q заменена на N, и/или E заменена на D); iii) aac3 (аминокислотный кластер 3) может представлять собой аминокислотную последовательность TAADT (SEQ ID NO:105) или эту последовательность с одной или двумя аминокислотами, удаленными или замененными другими встречающимися в природе аминокислотами (например, первая Т заменена на S; и/или А заменена на G; и/или D заменена на E; и/или вторая Т заменена на S); iv) aac4 (аминокислотный кластер 4) может представлять собой аминокислотную последовательность AQITQ (SEQ ID NO:106) или эту последовательность с одной или двумя аминокислотами, удаленными или замененными другими встречающимися в природе аминокислотами (например, А заменена на G); и/или первая Q заменена на N; и/или I заменена на L или V; и/или Т заменена на S; и/или вторая Q заменена на N); v) aac5 (аминокислотный кластер 5) может представлять собой аминокислотную последовательность VETRP (SEQ ID NO: 102) или последовательность, в которой одна или две аминокислоты удалены или заменены другими встречающимися в природе аминокислотами (например, V заменена на I или L, E заменена на D, Т заменена на S, и/или R заменена на K); и/или vi) aac6 (аминокислотный кластер 6) может представлять собой аминокислотную последовательность GDRTF (SEQ ID NO:107) или эту последовательность с одной или двумя аминокислотами, удаленными или замененными другими встречающимися в природе аминокислотами (например, D заменена на E; и/или Т заменена на S; и/или R заменена на K или H; и/или F заменена на L, W или Y).

Согласно фиг. 9А, в некоторых случаях: i) акк1 (аминокислотный кластер 1) может представлять собой аминокислотную последовательность RNLRG (SEQ ID NO:104) или эту последовательность с одной или двумя аминокислотами, удаленными или

замещенными другими встречающимися в природе аминокислотами (например, N заменена на K; и/или L заменена на A или I; и/или вторая R заменена на H; и/или G заменена на T или S); ii) акк2 (аминокислотный кластер 2) может представлять собой аминокислотную последовательность YNQSE (SEQ ID NO:99) или эту последовательность с одной или двумя аминокислотами, удаленными или замещенными другими встречающимися в природе аминокислотами (например, N заменена на Q, Q заменена на N и/или E заменена на D); iii) акк3 (аминокислотный кластер 3) может представлять собой аминокислотную последовательность TAADT (SEQ ID NO:105) или эту последовательность с одной или двумя аминокислотами, удаленными или замещенными другими встречающимися в природе аминокислотами (например, первый T заменена на S, и/или A заменена на G, и/или D заменена на E, и/или второй T заменена на S); iv) акк4 (аминокислотный кластер 4) может представлять собой аминокислотную последовательность AQITQ (SEQ ID NO:106) или эту последовательность с одной или двумя аминокислотами, удаленными или замещенными другими встречающимися в природе аминокислотами (например, A заменена на G, и/или первая Q заменена на N; и/или I заменена на L; и/или вторая Q заменена на N или K); v) акк5 (аминокислотный кластер 5) может представлять собой аминокислотную последовательность VETRP (SEQ ID NO:102) или эту последовательность с одной или двумя аминокислотами, удаленными или замещенными другими встречающимися в природе аминокислотами (например, V заменена на I или L, E заменена на D, T заменена на S, и/или R заменена на K или H); и/или vi) акк6 (аминокислотный кластер 6) может представлять собой аминокислотную последовательность GDGTF (SEQ ID NO:103) или эту последовательность с одной или двумя аминокислотами, удаленными или замещенными другими встречающимися в природе аминокислотами (например, D заменена на E; и/или T заменена на S; и/или F заменена на L, W или Y).

HLA-A

В некоторых случаях TMMP по данному изобретению содержит полипептид тяжелой цепи HLA-A. Последовательности пептида тяжелой цепи HLA-A или их части, которые могут включаться в TMMP по данному изобретению, включают в себя аллели, но не ограничиваются ими: A*0101, A*0201, A*0301, A*1101, A*2301, A*2402, A*2407, A*3303, and A*3401, которые выровнены без каких-либо, или по существу без каких-либо, лидерных, трансмембранных и цитоплазматических последовательностей на фиг. 7A. Любые из таких аллелей могут содержать мутацию в одном или более положениях 84, 139 и/или 236 (как показано на фиг. 7A), выбранную из: замены тирозина на аланин в положении 84 (Y84A); тирозина на цистеин в положении 84 (Y84C); аланина на цистеин в

положении 139 (A139C); и аланина на цистеин в положении 236 (A236C). Кроме того, может также применяться последовательность HLA-A, имеющая по меньшей мере 75% (например, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) или 100% идентичности аминокислотной последовательности со всей или частью (например, 50, 75, 100, 150, 200 или 250 последовательных аминокислот) из последовательности таких аллелей HLA-A (например, она может содержать 1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25 или 25-30 аминокислотных вставок, делеций и/или замен).

В некоторых случаях TMMP по данному изобретению содержит полипептид тяжелой цепи HLA-A, содержащий следующую консенсусную аминокислотную последовательность HLA-A:

GSHSMRYFX1TSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQX2MEPRAPWIE
QEGPEYWDX3X4TX5X6X7KAX8SQX9X10RX11X12LX13X14X15X16X17YYNQSEX18
GSHTX19QX20MX21GCDVGX22DX23RFLRGYX24QX25AYDGKDYIALX26EDLRSWT
AADMAAQX27TX287X29KWEX30X31X32EAEQX33RX34YLX35GX36CVX37X38LRRY
LENGKETLQRTDX39PKTHMTNHX40X41SDHEATLRCWALX42FYPAEITLTWQRDGE
DQTQDTELVETRPAGDGTFQKWAX43VVVPSGX44EQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEX
45 (SEQ ID NO:61), в которой X1 представляет собой F, Y, S или T; X2 представляет собой K или R; X3 представляет собой Q, G, E или R; X4 представляет собой N или E; X5 представляет собой R или G; X6 представляет собой N или K; X7 представляет собой M или V; X8 представляет собой H или Q; X9 представляет собой T или I; X10 представляет собой D или H; X11 представляет собой A, V или E; X12 представляет собой N или D; X13 представляет собой G или R; X14 представляет собой T или I; X15 представляет собой L или A; X16 представляет собой R или L; X17 представляет собой G или R; X18 представляет собой A или D; X19 представляет собой I, L, или V; X20 представляет собой I, R или M; X21 представляет собой F или Y; X22 представляет собой S или P; X23 представляет собой W или G; X24 представляет собой R, H или Q; X25 представляет собой D или Y; X26 представляет собой N или K; X27 представляет собой T или I; X28 представляет собой K или Q; X29 представляет собой R или H; X30 представляет собой A или T; X31 представляет собой A или V; X32 представляет собой H или R; X33 представляет собой R, L, Q или W; X34 представляет собой V или A; X35 представляет собой D или E; X36 представляет собой R или T; X37 представляет собой D или E; X38 представляет собой W или G; X39 представляет собой P или A; X40 представляет собой P или A; X41 представляет собой V или I; X42 представляет собой S или G; X43 представляет собой A или S; X44 представляет собой Q или E; и X45 представляет собой P

или L.

В качестве одного примера, полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса TMMP может содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-A человека:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQE
GPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGLTGRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLR
GYHQAAYDGKDYLKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVE
WLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGED
QTQDTELVETRPAGDGTQKWA AVVVPSGQEQRVTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ
ID NO:108).

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-A, подходящий для включения в TMMP по данному изобретению, содержит следующую аминокислотную последовательность:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQE
GPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGLTGRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLR
GYHQAAYDGKDYLKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVE
WLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGED
QTQDTELVETRPAGDGTQKWA AVVVPSGQEQRVTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ
ID NO:109). Этот полипептид тяжелой цепи HLA-A также называют «HLA-A*0201» или просто «HLA-A02». В некоторых случаях С-концевой Pro не включен в TMMP по данному изобретению. Например, в некоторых случаях, полипептид HLA-A02, подходящий для включения в TMMP по данному изобретению, содержит следующую аминокислотную последовательность:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQE
GPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGLTGRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLR
GYHQAAYDGKDYLKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVE
WLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGED
QTQDTELVETRPAGDGTQKWA AVVVPSGQEQRVTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
NO:110).

HLA-A (Y84A; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса содержит замены Y84A и A236C. Например, в некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса

содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-A человека (Y84A; A236C):

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQE
GPEYWDGETRKVK AHSQTHRVDLGLT LG AYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLR
GYHQAAYDGKD YIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVE
WLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFP AEITLTWQRDGED
QTQDTELVETRP CGDGTFQKWAAVVVPSGQEQR YTCHVQHEGLPKPLTLRWE P (SEQ
ID NO:111), где аминокислота 84 представляет собой Ala, а аминокислота 236
представляет собой Cys. В некоторых случаях Cys-236 образует межцепочечную
дисульфидную связь с Cys-12 варианта β 2M полипептида, который содержит замену
R12C.

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-A, подходящий для
включения в TMMP по данному изобретению, представляет собой полипептид HLA-A02
(Y84A; A236C), содержащий следующую аминокислотную последовательность:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQE
GPEYWDGETRKVK AHSQTHRVDLGLT LG AYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLR
GYHQAAYDGKD YIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVE
WLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFP AEITLTWQRDGED
QTQDTELVETRP CGDGTFQKWAAVVVPSGQEQR YTCHVQHEGLPKPLTLRWE P (SEQ
ID NO:112).

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-A, подходящий для
включения в TMMP по данному изобретению, представляет собой полипептид HLA-A02
(Y84A; A236C), содержащий следующую аминокислотную последовательность:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQE
GPEYWDGETRKVK AHSQTHRVDLGLT LG AYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLR
GYHQAAYDGKD YIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVE
WLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFP AEITLTWQRDGED
QTQDTELVETRP CGDGTFQKWAAVVVPSGQEQR YTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
NO:113).

HLA-A (Y84C; A139C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса содержит замены
Y84C и A139C. Например, в некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса

содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-A человека (Y84C; A139C):

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQE
GPEYWDGETRKVK AHSQTHRVDLGLTLRG CYNQSEAGSHTVQRM YGCDVGSDWRFLR
GYHQA YDYGKD YIALKEDLRSWTAADM CAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVE
WLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYP AEITLTWQRDGED
QTQDTELVETRPAGDGT FQKWA AVVVPSGQEQR YTCHVQHEGLPKPLTLRWE P (SEQ
ID NO:114), где аминокислота 84 представляет собой Cys, а аминокислота 139
представляет собой Cys. В некоторых случаях Cys-84 образует внутрицепочечную
дисульфидную связь с Cys-139.

HLA-A11 (HLA-A*1101)

В качестве одного неограничивающего примера полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса TMMP может содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-A11 человека:

GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQ
EGPEYWDQETRN VKAQSQTDRVDLGLTLRG YYNQSE DGSHTIQIM YGCDVGPDGRFLRG
YRQDAYDYGKD YIALNEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAAHAAEQQRAYLEGTCVEWL
RRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYP AEITLTWQRDGEDQTQ
DTELVETRPAGDGT FQKWA AVVVPSGEEQR YTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
NO:115). Такая тяжелая цепь ГКГС I класса может быть выражена в азиатских
популяциях, включая популяции лиц азиатского происхождения.

HLA-A11 (Y84A; A236C)

В качестве одного неограничивающего примера, в некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса представляет собой аллель HLA-A11, который содержит замены Y84A и A236C. Например, в некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной

последовательностью тяжелой цепи HLA-A A11 человека (Y84A; A236C):

GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQ
EGPEYWDQETRN VKAQSQTDRVDLGT LRGA^YNQSE DGSHTIQIMYGCDVGP DGRFLRG
YRQDAYD GKD YIALNEDLR SWTAADMAAQITKRKWEA AHA AEQQRAYLEGTCVEWL
RRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYP AEITLTWQRDGEDQTQ
DTELVETRP^CGDGTFQKWAAVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
NO:116), где аминокислота 84 представляет собой Ala, а аминокислота 236 представляет
собой Cys. В некоторых случаях Cys-236 образует межцепочечную дисульфидную связь с
Cys-12 варианта β 2M полипептида, который содержит замену R12C.

HLA-A24 (HLA-A*2402)

В одном неограничивающем примере полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса
TMMP по данному изобретению может содержать аминокислотную последовательность,
имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80% по меньшей мере 85%, по
меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%
или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей
аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-A24 человека:

GSHSMRYFSTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQE
GPEYWDEETGKVKAHSQTDRENLR IALRYYNQSEAGSHTLQMMFGCDVGS DGRFLRG
YHQYAYD GKD YIALKEDLR SWTAADMAAQITKRKWEA AHV AEQQRAYLEGTCVDGL
RRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYP AEITLTWQRDGEDQTQ
DTELVETRPAGDGT FQKWAAVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE PSSQPTVPIV
GIIAGLVLLGAVITGAVVAAVMWRRNSSDRKGGSYSQAASSDSAQGS DVSLTACKV
(SEQ ID NO:117). Такая тяжелая цепь ГКГС I класса может быть выражена в азиатских
популяциях, включая популяции лиц азиатского происхождения. В некоторых случаях
аминокислота 84 представляет собой Ala. В некоторых случаях аминокислота 84
представляет собой Cys. В некоторых случаях аминокислота 236 представляет собой Cys.
В некоторых случаях аминокислота 84 представляет собой Ala, а аминокислота 236
представляет собой Cys. В некоторых случаях аминокислота 84 представляет собой Cys, а
аминокислота 236 представляет собой Cys.

HLA-A33 (HLA-A*3303)

В одном неограничивающем примере полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса
TMMP по данному изобретению может содержать аминокислотную последовательность,
имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по
меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%
или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей

аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-A33 человека:

GSHSMRYFTTSVSRPGRGEPRFIAVGYYVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQ
EGPEYWDRNTRNVKAHSQIDRVLDGLTGRGYYNQSEAGSHTIQMMYGCDVGS DGRFLR
GYQQDAYDGKDYIALNEDLRSWTAADMAAQITQRKWEAARVAEQLRAYLEGTCVEW
LRRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQT
QDTELVETRPAGDGTGFKWASVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEPSSQPTIPI
VGIIAGLVLFAGAVFAGAVVAAVRWRRKSSDRKGGSYSQAASSDSAQGS DMSLTACKV
(SEQ ID NO:118). Такая тяжелая цепь ГКТС I класса может быть выражена в азиатских популяциях, включая популяции лиц азиатского происхождения. В некоторых случаях аминокислота 84 представляет собой Ala. В некоторых случаях аминокислота 84 представляет собой Cys. В некоторых случаях аминокислота 236 представляет собой Cys. В некоторых случаях аминокислота 84 представляет собой Ala, а аминокислота 236 представляет собой Cys. В некоторых случаях аминокислота 84 представляет собой Cys, а аминокислота 236 представляет собой Cys.

HLA-B

В некоторых случаях TMMP по данному изобретению содержит полипептид тяжелой цепи HLA-B. Последовательности пептида тяжелой цепи HLA-B или их части, которые могут включаться в TMMP по данному изобретению, включают в себя аллели, но не ограничиваются ими: B*0702, B*0801, B*1502, B*3802, B*4001, B*4601 и B*5301, которые выровнены без каких-либо, или по существу без каких-либо, лидерных, трансмембранных и цитоплазматических последовательностей на фиг. 8А. Любые из таких аллелей могут содержать мутацию в одном или более положениях 84, 139 и/или 236 (как показано на фиг. 8А), выбранную из: замены тирозина на аланин в положении 84 (Y84A); тирозина на цистеин в положении 84 (Y84C); аланина на цистеин в положении 139 (A139C); и аланина на цистеин в положении 236 (A236C). Кроме того, может также применяться полипептид HLA-B, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75% (например, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) или 100% идентичности аминокислотной последовательности со всей или частью (например, 50, 75, 100, 150, 200 или 250 последовательных аминокислот) из последовательности таких аллелей HLA-B (например, она может содержать 1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25 или 25-30 аминокислотных вставок, делеций и/или замен).

В некоторых случаях TMMP по данному изобретению содержит полипептид тяжелой цепи HLA-B, содержащий следующую консенсусную аминокислотную последовательность HLA-B:

GSHSMRYFX1T2X3SRPGRGEPRFX4VGYYVDDT5FVRFDSDA6SPRX7X8PR
 APWIEQEGPEYWDR9TQ10X11KT12X13TQ14Y15X16NL17X18X19X20YYNQ
 SEAGSHX21X22QX23MYGCDLGPDRLLRGHDQSAYDGKDYIALNEDL24SWTAADT
 AAQIX25QRKX26EAARX27AEQX28RX29YLEGX30CVEWLRRYLENGKX31X32LX33R
 ADPPKTHVTHNPX34SDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGD
 RTFQKWAAVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO: 69), в которой
 X1 представляет собой H, Y, или D; X2 представляет собой A или S; X3 представляет
 собой M или V; X4 представляет собой A, S, или T; X5 представляет собой Q или L; X6
 представляет собой A или T; X7 представляет собой E, M K, или T; X8 представляет собой
 A или T; X9 представляет собой E или N; X10 представляет собой I или K; X11
 представляет собой Y, F, S, или C; X12 представляет собой N или Q; X13 представляет
 собой A или T; X14 представляет собой D или Y; X15 представляет собой E или V; X16
 представляет собой S или N; X17 представляет собой T, N, или I; X18 представляет собой
 A или L; X19 представляет собой L, или R; X20 представляет собой R или G; X21
 представляет собой T или I; X22 представляет собой L или I; X23 представляет собой R
 или S; X24 представляет собой R или S; X25 представляет собой S или T; X26
 представляет собой L или W; X27 представляет собой E или V; X28 представляет собой R,
 D, L или W; X29 представляет собой A или T; X30 представляет собой L, E или T; X31
 представляет собой E или D; X32 представляет собой K или T; X33 представляет собой E
 или Q; и X34 представляет собой I или V.

В одном неограничивающем примере полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса
 ТММР по данному изобретению может содержать аминокислотную последовательность,
 имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по
 меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%
 или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей
 аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-B человека:
 gshsmryfttsvrpgrgeprfiavgvddtqfvrfdsaasqrmeprapwieqegpeywdnrnrvkahsqidrvdlgtlrgyynqs
 eagshti qmmygcdvgdgrflrgyqqdaydgkdyialnedlrswtaadmaaqitqrkweaarvaeqlraylegtcvewlrryleng
 ketlqrtdppkthmthhavsdheatlrcwalsfypaeitltwqrdgedqtqdtelvetrpagdgtfqkwasvvvpsgqeerytchvqhe
 glpkpltlrwepssqptipvgiiaglvlfagavvaavrrkssdrkgsysqaassdsaqgsdmsltackv (SEQ ID
 NO:119).

HLA-B (Y84A; A236C)

В качестве одного неограничивающего примера, в некоторых случаях полипептид
 тяжелой цепи ГКГС I класса представляет собой полипептид HLA-B, который содержит
 замены Y84A и A236C. Например, в некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС I

класса содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-B человека (Y84A; A236C):

GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPFISVGYVDDTQFVRFSDAASPREEPRAPWIEQE
GPEYWDRNTQIYKAQAQTDRESLRNLRGAYNQSEAGSHTLQSMYGCDVGPDRLLRG
HDQYAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGECEVWLR
RYLENGKDKLERADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQD
TELVETRPCGDRTFQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:
121), где аминокислота 84 представляет собой Ala, а аминокислота 236 представляет собой Cys. В некоторых случаях Cys-236 образует межцепочечную дисульфидную связь с Cys-12 варианта β 2M полипептида, который содержит замену R12C.

HLA-B (Y84C; A139C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса содержит замены Y84C и A139C. Например, в некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% по меньшей мере 98% по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-B человека (Y84C; A139C):

GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPFISVGYVDDTQFVRFSDAASPREEPRAPWIEQE
GPEYWDRNTQIYKAQAQTDRESLRNLRGCYNQSEAGSHTLQSMYGCDVGPDRLLRG
HDQYAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTCAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGECEVWLR
RYLENGKDKLERADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQD
TELVETRPAGDRTFQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
NO:122), где аминокислота 84 представляет собой Cys, а аминокислота 139 представляет собой Cys. В некоторых случаях Cys-84 образует внутрицепочечную дисульфидную связь с Cys-139.

HLA-B*0702

В качестве примера, в некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса, присутствующий в TMMP по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность HLA-B*0702 (SEQ ID NO:62) на фиг. 8A, или последовательность, имеющую по меньшей мере 75% (например, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере

99%) или 100% идентичности аминокислотной последовательности со всей или частью (например, 50, 75, 100, 150, 200 или 250 последовательными аминокислотами) такой последовательности (например, она может содержать 1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25 или 25-30 аминокислотных вставок, делеций и/или замен). В некоторых случаях, когда полипептид тяжелой цепи HLA-B TMMP по данному изобретению имеет менее 100% идентичности с последовательностью, обозначенной HLA-B на фиг. 6, или обозначенной «B*0702» на фиг. 8A, она может содержать мутацию в одном или более положений 84, 139 и/или 236, выбранных из: замены тирозина на аланин в положении 84 (Y84A); замены тирозина на цистеин в положении 84 (Y84C); аланина на цистеин в положении 139 (A139C); и замены аланина на цистеин в положении 236 (A236C). В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-B TMMP по данному изобретению содержит замены Y84A и A236C. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-B*0702 TMMP по данному изобретению содержит замены Y84C и A139C. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-B TMMP по данному изобретению содержит замены Y84C, A139C и A236C.

HLA-C

В некоторых случаях TMMP по данному изобретению содержит полипептид тяжелой цепи HLA-C. Полипептид тяжелой цепи HLA-C или его части, которые могут включаться в TMMP по данному изобретению, включают в себя аллели, но не ограничиваются ими: C*0102, C*0303, C*0304, C*0401, C*0602, C*0701, C*0801 и C*1502, которые выровнены без каких-либо, или по существу без каких-либо, лидерных, трансмембранных и цитоплазматических последовательностей на фиг. 9A. Любые из таких аллелей могут содержать мутацию в одном или более положениях 84, 139 и/или 236 (как показано на фиг. 9A), выбранную из: замены тирозина на аланин в положении 84 (Y84A); замены тирозина на цистеин в положении 84 (Y84C); замены аланина на цистеин в положении 139 (A139C); и замены аланина на цистеин в положении 236 (A236C). Кроме того, может также применяться полипептид HLA-C, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75% (например, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) или 100% идентичности аминокислотной последовательности со всей или частью (например, 50, 75, 100, 150, 200 или 250 последовательных аминокислот) из последовательности таких аллелей HLA-C (например, она может содержать 1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25 или 25-30 аминокислотных вставок, делеций и/или замен).

В некоторых случаях TMMP по данному изобретению содержит полипептид

тяжелой цепи HLA-C, содержащий следующую консенсусную аминокислотную последовательность HLA-C:

X1SHSMX2YFX3TAVSX4PGRGEPX5FIX6VG YVDDTQFVX7FDSDAASPRGEPRX8PWVEQEGPEYWDRETQX9YKRQAQX10DRVX11LRX12LRGYYNQSEX13X14SHX15X16QX17MX18GCDX19GPDGRLRGX20X21QX22AYDGKD YIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKX23EAARX24AEQX25RAYLEGX26CVEWLRRYLX27NGKX28TLQRAEX29PKTHVTHNPX30SDHEATLRCWALGFYP AEITLTWQX31DGEDQTQDTEL VETRPAGDGT FQKWA AVX32VPSGX33EQRYTCHX34QHEGLX35EPLTLX36WX37P (SEQ ID NO:79), где X1 представляет собой C или G; X2 представляет собой R или K; X3 представляет собой F, Y, S или D; X4 представляет собой R или W; X5 представляет собой H или R; X6 представляет собой A или S; X7 представляет собой Q или R; X8 представляет собой A или E; X9 представляет собой N или K; X10 представляет собой T или A; X11 представляет собой S или N; X12 представляет собой N или K; X13 представляет собой A или D; X14 представляет собой G или R; X15 представляет собой T или I; X16 представляет собой L или I; X17 представляет собой W или R; X18 представляет собой C, Y, F или S; X19 представляет собой L или V; X20 представляет собой Y или H; X21 представляет собой D или N; X22 представляет собой Y, F, S или L; X23 представляет собой L или W; X24 представляет собой E, A или T; X25 представляет собой R, L или W; X26 представляет собой L или T; X27 представляет собой E или K; X28 представляет собой E или K; X29 представляет собой H или P; X30 представляет собой R или V; X31 представляет собой W или R; X32 представляет собой V или M; X33 представляет собой E или Q; X34 представляет собой M или V; X35 представляет собой P или Q; X36 представляет собой R или S; и X37 представляет собой P или G.

В одном неограничивающем примере полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса ТММР по данному изобретению может содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-C человека:

CSHSMRYFD TAVSRPGRGEP RFISVG YVDDTQFVRFDSDAASPRGEPRAPWVEQEGPEYWDRETQ NYKRQAQADRVSLRNLRGYYNQSE DGSHTLQRMYGCDLGP DGRLLRGYDQSAYDGKD YIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKLEAARAAEQ LRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALGFYP AEITLTWQRDGEDQTQDTEL VETRPAGDGT FQKWA AVVVPSGQE QRYTCHMQHEGLQEPLT LSWEP (SEQ ID NO: 123).

HLA-C (Y84A; A236C)

В качестве одного неограничивающего примера, в некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса представляет собой полипептид HLA-C, который содержит замены Y84A и A236C. Например, в некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-C человека (Y84A; A236C):

CSHSMRYFDTA^VSRPGRGEP^RFISVG^YVDDTQFVRFDS^AASPRGEPRAPWVEQ
EGPEYWDRETQNYKRQAQADRVSLRNLRGAYNQSEDGSHTLQRMYGCDLGPDGRLLR
GYDQSAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKLEAARAAEQLRAYLEGTCVEWL
RRYLENGKETLQRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQ
DTELVETRPCGDGDTFQKWAAVVVPSGQEQR^YTCHMQHEGLQEPLT^SWEP (SEQ ID
NO:124), где аминокислота 84 представляет собой Ala, а аминокислота 236 представляет собой Cys. В некоторых случаях Cys-236 образует межцепочечную дисульфидную связь с Cys-12 варианта β 2M полипептида, который содержит замену R12C.

HLA-C (Y84C; A139C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса содержит замены Y84C и A139C. Например, в некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью тяжелой цепи HLA-C человека (Y84C; A139C):

CSHSMRYFDTA^VSRPGRGEP^RFISVG^YVDDTQFVRFDS^AASPRGEPRAPWVEQ
EGPEYWDRETQNYKRQAQADRVSLRNLRGCYNQSEDGSHTLQRMYGCDLGPDGRLLR
GYDQSAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTCAQITQRKLEAARAAEQLRAYLEGTCVEWL
RRYLENGKETLQRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQ
DTELVETRPAGDGT^FQKWAAVVVPSGQEQR^YTCHMQHEGLQEPLT^SWEP (SEQ ID
NO:125), где аминокислота 84 представляет собой Cys, а аминокислота 139 представляет собой Cys. В некоторых случаях Cys-84 образует внутрицепочечную дисульфидную связь с Cys-139.

HLA-C*0701

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса TMMP по данному

изобретению содержит аминокислотную последовательность HLA-C*0701 фиг. 9А (обозначенную HLA-C на фиг. 6), или аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75% (например, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) или 100% идентичности аминокислотной последовательности со всей или частью (например, 50, 75, 100, 150, 200 или 250 последовательными аминокислотами) такой последовательности (например, она может содержать 1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25 или 25-30 аминокислотных вставок, делеций и/или замен). В некоторых случаях, когда полипептид тяжелой цепи HLA-C TMMP по данному изобретению имеет менее 100% идентичности с последовательностью, обозначенной HLA-C*0701 на фиг. 9А, она может содержать мутацию в одном или более положений 84, 139 и/или 236, выбранных из: замены тирозина на аланин в положении 84 (Y84A); замены тирозина на цистеин в положении 84 (Y84C); аланина на цистеин в положении 139 (A139C); и замены аланина на цистеин в положении 236 (A236C). В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-C TMMP по данному изобретению содержит замены Y84A и A236C. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-C*0701 Т-клеточного-MMP или его эпитопный конъюгат содержит замены Y84C и A139C. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-C TMMP по данному изобретению содержит замены Y84C, A139C и A236C.

Неклассические тяжелые цепи HLA-E, -F и -G ГКГС I класса

В некоторых случаях TMMP по данному изобретению содержит неклассический полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса. Среди неклассических полипептидов тяжелой цепи HLA или их частей, которые могут включаться в TMMP по данному изобретению, включают в себя аллели, но не ограничиваются ими, такие из аллелей HLA-E, -F и -G. Аминокислотные последовательности для полипептидов тяжелой цепи HLA-E, -F и -G (и аллелей HLA-A, B и C) могут быть найдены во Всемирной сети Интернета на сайтах hla.alleles.org/nomenclature/index.html, Европейского института биоинформатики (www.ebi.ac.uk), который является частью Европейской молекулярно-биологической лаборатории (EMBL), и Национального центра биотехнологической информации (www.ncbi.nlm.nih.gov).

Неограничивающие примеры подходящих аллелей HLA-E включают в себя, но не ограничиваются ими, HLA-E*0101 (HLA-E*01:01:01:01), HLA-E*01:03 (HLA-E*01:03:01:01), HLA-E*01:04, HLA-E*01:05, HLA-E*01:06, HLA-E*01:07, HLA-E*01:09 и HLA-E*01:10. Неограничивающие примеры подходящих аллелей HLA-F включают в себя, но не ограничиваются ими, HLA-F*0101 (HLA-F*01:01:01:01), HLA-F*01:02, HLA-F*01:03 (HLA-F*01:03:01:01), HLA-F*01:04, HLA-F*01:05 и HLA-F*01:06.

Неограничивающие примеры подходящих аллелей HLA-G включают в себя, но не ограничиваются ими, HLA-G*01:01 (HLA-G*01:01:01:01), HLA-G*01:02, HLA-G*01:03 (HLA-G*01:03:01:01), HLA-G*01:04 (HLA-G*01:04:01:01), HLA-G*01:06, HLA-G*01:07, HLA-G*01:08, HLA-G*01:09, HLA-G*01:10, HLA-G*01:10, HLA-G*01:11, HLA-G*01:12, HLA-G*01:14, HLA-G*01:15, HLA-G*01:16, HLA-G*01:17, HLA-G*01:18, HLA-G*01:19, HLA-G*01:20 и HLA-G*01:22. Консенсусные последовательности для таких аллелей HLA E, -F и -G без каких-либо, или по существу без каких-либо, из лидерных, трансмембранных и цитоплазматических последовательностей представлены на фиг. 10, и выровнены с консенсусными последовательностями вышеупомянутых аллелей HLA-A, -B и -C на фиг. 11.

На фиг. 1 представлена консенсусная последовательность для каждого из HLA-E, -F и -G с переменными положениями ак, показанными в виде последовательно пронумерованных остатков «X», а положения ак 84, 139 и 236 дважды подчеркнуты.

На фиг. 11 представлено выравнивание консенсусных аминокислотных последовательностей для HLA-A, -B, -C, -E, -F и -G, которые даны на фиг. 7-11. Переменные остатки в каждой последовательности перечислены в виде «X» с удаленной последовательной нумерацией. Как указано на фиг. 6, положения ак 84, 139 и 236 указаны с их фланкирующими кластерами из пяти аминокислот, которые могут быть замещены от 1 до 5 аминокислотами, независимо выбранными из также показанных (i) любой встречающейся в природе аминокислоты или (ii) любой встречающейся в природе аминокислоты, за исключением пролина или глицина.

Любые из вышеупомянутых аллелей HLA-E, -F и/или -G могут содержать замену в одном или более положениях 84, 139 и/или 236 как показано на фиг. 11 для консенсусных последовательностей. В некоторых случаях замены могут выбирать из: положения 84 замены тирозина на аланин (Y84A) или цистеин (Y84C), или, в случае HLA-F, замены R84A или R84C; положения 139 замены аланина на цистеин (A139C), или, в случае HLA-F, V139C; и замены аланина на цистеин в положении 236 (A236C). Кроме того, также может применяться последовательность HLA-E, -F и/или -G, имеющая по меньшей мере 75% (например, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) или 100% идентичности аминокислотной последовательности со всей или частью (например, 50, 75, 100, 150, 200 или 250 последовательных аминокислот) любой из консенсусных последовательностей из изложенных на фиг. 11 (например, последовательности могут содержать 1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25 или 25-30 аминокислотных вставок, делеций и/или замен в дополнение к изменениям по переменным остаткам, перечисленным в

данном документе).

H2K мыши

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса, присутствующий в TMMP по данному изобретению, содержит аминокислотную последовательность MOUSE H2K (SEQ ID NO:45) на (MOUSE H2K фиг. 6, или последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со всей или частью (например, 50, 75, 100, 150, 200 или 250 последовательными аминокислотами) такой последовательности (например, она может содержать 1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25 или 25-30 аминокислотных вставок, делеций и/или замен). В некоторых случаях, когда полипептид тяжелой цепи MOUSE H2K TMMP по данному изобретению имеет менее 100% идентичности с последовательностью, обозначенной MOUSE H2K на фиг. 6, она может содержать мутацию в одном или более положений 84, 139 и/или 236, выбранных из: замены тирозина на аланин в положении 84 (Y84A); тирозина на цистеин в положении 84 (Y84C); аланина на цистеин в положении 139 (A139C); и аланина на цистеин в положении 236 (A236C). В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи MOUSE H2K TMMP по данному изобретению содержит замены Y84A и A236C. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи MOUSE H2K TMMP по данному изобретению содержит замены Y84C и A139C. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи MOUSE H2K TMMP по данному изобретению содержит замены Y84C, A139C и A236C.

Примеры комбинаций

Ниже в таблице 1 представлены различные комбинации модификаций последовательности тяжелой цепи ГКГС I класса, которые могут включаться в TMMP по данному изобретению.

Таблица 1

Но- мер п/п	Последователь- ность тяжелой цепи HLA	Диапазон идентичностей последовательностей□	Конкретные замены в ак положении 84, 139 и/или 236
1	HLA-A Консенсусные (фиг. 7B)	75%-99,8%, 80%-99,8%, 85%-99,8%, 90%-99,8%, 95%-99,8%, 98%-99,8% или 99%-99,8%; или 1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20 или 20-25 ак вставок, делеций и/или замен (не учитывая вариабельные остатки)	Отсутствует; Y84C; Y84A; A139C; A236C; (Y84A и A236C); (Y84C и A139C); или (Y84C, A139C и A236C)
2	A*0101, A*0201, A*0301, A*1101, A*2402, A*2301, A*2402, A*2407, A*3303 или A*3401 (фиг. 7A)	75%-99,8%; 80%-99,8%; 85%-99,8%; 90%-99,8%; 95%-99,8%; 98%-99,8% или 99%-99,8%; или 1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20 или 20-25 ак вставок, делеций и/или замен	Отсутствует; Y84C; Y84A; A139C; A236C; (Y84A и A236C); (Y84C и A139C); или (Y84C, A139C и A236C)

Но- мер п/п	Последователь- ность тяжелой цепи HLA	Диапазон идентичностей последовательностей □	Конкретные замены в ак положении 84, 139 и/или 236
3	HLA-B Консенсусные (фиг. 8B)	75%-99,8%, 80%-99,8%, 85%-99,8%, 90%-99,8%, 95%-99,8%, 98%-99,8% или 99%-99,8%; или 1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20 или 20-25 ак вставок, делеций и/или замен (не учитывая вариабельные остатки)	Отсутствует; Y84C; Y84A; A139C; A236C; (Y84A и A236C); (Y84C и A139C); или (Y84C, A139C и A236C)
4	B*0702, B*0801, B*1502, B*3802, B*4001, B*4601 или B*5301 (фиг. 8A)	75%-99,8%; 80%-99,8%; 85%-99,8%; 90%-99,8%; 95%-99,8%; 98%-99,8% или 99%-99,8%; или 1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20 или 20-25 ак вставок, делеций и/или замен	Отсутствует; Y84C; Y84A; A139C; A236C; (Y84A и A236C); (Y84C и A139C); или (Y84C, A139C и A236C)
5	HLA-C Консенсусные (фиг. 9B)	75%-99,8%, 80%-99,8%, 85%-99,8%, 90%-99,8%, 95%-99,8%, 98%-99,8% или 99%-99,8%; или 1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20 или 20-25 ак вставок, делеций и/или замен (не учитывая вариабельные остатки)	Отсутствует; Y84C; Y84A; A139C; A236C; (Y84A и A236C); (Y84C и A139C); или (Y84C, A139C и A236C)
6	C*0102, C*0303, C*0304, C*0401, C*0602, C*0701, C*0801 или C*1502 (фиг. 9A)	75%-99,8%; 80%-99,8%; 85%-99,8%; 90%-99,8%; 95%-99,8%; 98%-99,8% или 99%-99,8%; или 1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20 или 20-25 ак вставок, делеций и/или замен	Отсутствует; Y84C; Y84A; A139C; A236C; (Y84A и A236C); (Y84C и A139C); или (Y84C, A139C и A236C)
7	HLA-E, F или G Консенсусные (фиг. 10)	75%-99,8%, 80%-99,8%, 85%-99,8%, 90%-99,8%, 95%-99,8%, 98%-99,8% или 99%-99,8%; или 1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20 или 20-25 ак вставок, делеций и/или замен (не учитывая вариабельные остатки)	Отсутствует; Y84C; Y84A; A139C; A236C; (Y84A и A236C); (Y84C и A139C); или (Y84C, A139C и A236C)
8	H2K мыши (фиг. 6)	75%-99,8%; 80%-99,8%; 85%-99,8%; 90%-99,8%; 95%-99,8%; 98%-99,8% или 99%-99,8%; или 1-25, 1-5, 5-10, 10-15, 15-20 или 20-25 ак вставок, делеций и/или замен	Отсутствует; Y84C; Y84A; A139C; A236C; (Y84A и A236C); (Y84C и A139C); или (Y84C, A139C и A236C)

□ Диапазон идентичностей последовательностей представляет собой допустимый диапазон идентичности последовательностей полипептидной последовательности ГКГС-Н, включенной в ТММР, относительно соответствующей части последовательностей, перечисленных на фиг. 6-11, не учитывая вариабельные остатки в консенсусных последовательностях.

Бета-2 микроглобулин

Полипептид β 2-микроглобулина (β 2M) ТММР по данному изобретению может представлять собой полипептид β 2M человека, полипептид β 2M примата, отличного от человека, полипептид β 2M мыши и тому подобное. В некоторых случаях полипептид β 2M содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью β 2M, представленной на фиг. 6. В некоторых случаях полипептид β 2M содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере

мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотами 21-119 аминокислотной последовательностью $\beta 2M$, представленной на фиг. 4.

В некоторых случаях пригодный полипептид $\beta 2M$ содержит следующую аминокислотную последовательность:

IQRTPKIQVY SCHPAENGKS NFLNCYVSGF HPSDIEVDLLKNGERIEKVE
HSDLSFSKDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVNHVTLSPQ KIVKWDRDM (SEQ ID
NO:126); а полипептид тяжелой цепи HLA I класса содержит следующую
аминокислотную последовательность:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQE
GPEYWDGETRKYKAHSQTHRVDL(aa1){C}(aa2)AGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGY
HQAAYDGKDYIALKEDLRSW(aa3){C}(aa4)HKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRY
LENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTE
L(aa5)(C)(aa6)QKWAADVVPSPGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID NO:127),
где остатки цистеина, обозначенные как {C} образуют дисульфидную связь между
спиралями $\alpha 1$ и $\alpha 2-1$, а остатки (C) образует дисульфидную связь с цистеином
полипептида $\beta 2M$ в положении 12. В приведенной выше последовательности «акк1»
означает «аминокислотный кластер 1»; «акк2» означает «аминокислотный кластер 2»;
«акк3» означает «аминокислотный кластер 3», «акк4» означает «аминокислотный кластер
4», «акк5» означает «аминокислотный кластер 5»; а «аккб» означает «аминокислотный
кластер б»; см., например, фиг. 8. Каждое появление ак1, ак2, ак3, ак4, ак5 и акб
независимо выбирают из 1-5 аминокислотных остатков, причем аминокислотные остатки
i) выбирают независимо из любой встречающейся в природе (например, кодированной)
аминокислоты или ii) любой встречающейся в природе аминокислоты, кроме пролина или
глицина.

В некоторых случаях полипептид ГКГС содержит одну аминокислотную замену
относительно эталонного полипептида ГКГС (где эталонный полипептид ГКГС может
представлять собой полипептид ГКГС дикого типа), где одиночная аминокислотная
замена заменяет аминокислоту остатком цистеина (Cys). Такие остатки цистеина, когда
они присутствуют в полипептиде ГКГС первого полипептида ТММР по данному
изобретению, могут образовывать дисульфидную связь с остатком цистеина,
присутствующим во второй полипептидной цепи ТММР по данному изобретению.

В некоторых случаях первый полипептид ГКГС в первом полипептиде ТММР по
данному изобретению и/или второй полипептид ГКГС во втором полипептиде ТММР по

данному изобретению содержат аминокислотную замену с заменой аминокислоты цистеином, причем замененный цистеин в первом полипептиде ГКГС образует дисульфидную связь с цистеином во втором полипептиде ГКГС, при этом цистеин в первом полипептиде ГКГС образует дисульфидную связь с замененным цистеином во втором полипептиде ГКГС, или при этом замененный цистеин, находящийся в первом полипептиде ГКГС, образует дисульфидную связь с замененным цистеином во втором полипептиде ГКГС.

Например, в некоторых случаях одна из следующих пар остатков в β 2-микроглобулине HLA и тяжелой цепи HLA I класса заменяется цистеинами (где номера остатков соответствуют номерам в зрелом полипептиде): 1) остаток 12 β 2M, остаток 236 тяжелой цепи HLA I класса; 2) остаток 12 β 2M, остаток 237 тяжелой цепи HLA I класса; 3) остаток 8 β 2M, остаток 234 тяжелой цепи HLA I класса; 4) остаток 10 β 2M, остаток 235 тяжелой цепи HLA I класса; 5) остаток 24 β 2M, остаток 236 тяжелой цепи HLA I класса; 6) остаток 28 β 2M, остаток 232 тяжелой цепи HLA I класса; 7) остаток 98 β 2M, остаток 192 тяжелой цепи HLA I класса; 8) остаток 99 β 2M, остаток 234 тяжелой цепи HLA I класса; 9) остаток 3 β 2M, остаток 120 тяжелой цепи HLA I класса; 10) остаток 31 β 2M, остаток 96 тяжелой цепи HLA I класса; 11) остаток 53 β 2M, остаток 35 тяжелой цепи HLA I класса; 12) остаток 60 β 2M, остаток 96 тяжелой цепи HLA I класса; 13) остаток 60 β 2M, остаток 122 тяжелой цепи HLA I класса; 14) остаток 63 β 2M, остаток 27 тяжелой цепи HLA I класса; 15) остаток Arg3 β 2M, остаток Gly120 тяжелой цепи HLA I класса; 16) остаток His31 β 2M, остаток Gln96 тяжелой цепи HLA I класса; 17) остаток Asp53 β 2M, остаток Arg35 тяжелой цепи HLA I класса; 18) остаток Trp60 β 2M, остаток Gln96 тяжелой цепи HLA I класса; 19) остаток Trp60 β 2M, остаток Asp122 тяжелой цепи HLA I класса; 20) остаток Tyr63 β 2M, остаток Tyr27 тяжелой цепи HLA I класса; 21) остаток Lys6 β 2M, остаток Glu232 тяжелой цепи HLA I класса; 22) остаток Gln8 β 2M, остаток Arg234 тяжелой цепи HLA I класса; 23) остаток Tyr10 β 2M, остаток Pro235 тяжелой цепи HLA I класса; 24) остаток Ser11 β 2M, остаток Gln242 тяжелой цепи HLA I класса; 25) остаток Asn24 β 2M, остаток Ala236 тяжелой цепи HLA I класса; 26) остаток Ser28 β 2M, остаток Glu232 тяжелой цепи HLA I класса; 27) остаток Asp98 β 2M, остаток His192 тяжелой цепи HLA I класса и 28) остаток Met99 β 2M, остаток Arg234 тяжелой цепи HLA I класса. Нумерация аминокислот тяжелой цепи ГКГС/HLA I класса относится к зрелой тяжелой цепи ГКГС/HLA I класса без сигнального пептида. Например, в некоторых случаях, остаток 236 зрелой аминокислотной последовательности HLA-A заменен на Cys. В некоторых случаях, остаток 236 зрелой аминокислотной последовательности HLA-B заменен на Cys. В некоторых случаях, остаток 236 зрелой аминокислотной

последовательности HLA-C заменен на Cys. В некоторых случаях остаток 32 (соответствующий Arg-12 зрелого β 2M) аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 4 заменен на Cys.

В некоторых случаях полипептид β 2M содержит аминокислотную последовательность:

IQRTPKIQVY SRHPAENGKS NFLNCYVSGF HPSDIEVDLLKNGERIEKVE
HSDLSFSKDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVNHVTLSP KIVKWDRDM (SEQ ID
NO:128). В некоторых случаях полипептид β 2M содержит аминокислотную
последовательность:

IQRTPKIQVY SCHPAENGKS NFLNCYVSGF HPSDIEVDLLKNGERIEKVE
HSDLSFSKDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVNHVTLSP KIVKWDRDM (SEQ ID
NO:129).

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA I класса содержит аминокислотную последовательность:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQE
GPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGLTGRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLR
GYHQAAYDGKDYLKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVE
WLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGED
QTQDTELVE^{TR}PAGDGTGFKWA^{AV}VVPSGQE^QRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE^P (SEQ
ID NO:130).

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA I класса содержит аминокислотную последовательность:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQE
GPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGLTGRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLR
GYHQAAYDGKDYLKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVE
WLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGED
QTQDTELVE^{TR}PCGDGTGFKWA^{AV}VVPSGQE^QRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE^P (SEQ
ID NO:131).

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA I класса содержит аминокислотную последовательность:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFSDAASQRMEPRAPWIEQE
GPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGLTGRGAYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLR
GYHQAAYDGKDYLKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVE
WLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGED
QTQDTELVE^{TR}PCGDGTGFKWA^{AV}VVPSGQE^QRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE^P (SEQ ID

NO:132).

В некоторых случаях полипептид β 2М содержит следующую аминокислотную последовательность:

IQRTPKIQVY SCHPAENGKS NFLNCYVSGF HPSDIEVDLLKNGERIEKVE
HSDLSFSKDW SFYLLYYTEF TPTEKDEYAC RVNHVTL SQP KIVKWDRDM (SEQ ID
NO:133); а полипептид тяжелой цепи HLA I класса TMMP по данному изобретению
содержит следующую аминокислотную последовательность:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQE
GPEYWDGETRKVKANHSQTHRVDLGLRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLR
GYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVE
WLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGED
QTQDTEL VETRPCGDGTFQKWA AVVVPSGQEQR YTCHVQHEGLPKPLTLR WEP (SEQ
ID NO:134), где остатки Cys, которые подчеркнуты и выделены жирным шрифтом,
образуют дисульфидную связь друг с другом в TMMP.

В некоторых случаях полипептид β 2М содержит аминокислотную последовательность:

IQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSF
SKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTL SQPKIVKWDRDM (SEQ ID NO:135).

В некоторых случаях первый полипептид и второй полипептид TMMP по данному изобретению связаны дисульфидной связью друг с другом посредством: i) остатка Cys, присутствующего в линкере, соединяющем пептидный эпитоп и полипептид β 2М в первой полипептидной цепи; и ii) остаток Cys, присутствующий в тяжелой цепи ГКГС I класса во второй полипептидной цепи. В некоторых случаях остаток Cys, присутствующий в тяжелой цепи ГКГС I класса, представляет собой Cys, введенный в качестве замены Y84C. В некоторых случаях линкер, соединяющий пептидный эпитоп и полипептид β 2М в первой полипептидной цепи, представляет собой GCGGS(G4S)_n (SEQ ID NO:136), где n представляет собой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9. Например, в некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:137). В качестве другого примера, линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:138). Примеры связанных дисульфидной связью первого и второго полипептидов TMMP по данному изобретению схематически изображены на фиг. 2А-2F.

Связанные множественными дисульфидными связями TMMP

В некоторых случаях первый полипептид и второй полипептид TMMP по данному изобретению связаны друг с другом по меньшей мере двумя дисульфидными связями (т.е.

двумя межцепочечными дисульфидными связями). Примеры таких связанных множественными дисульфидными связями ТММР схематически изображена на фиг. 12А и 12В. Кроме того, когда ТММР по данному изобретению содержит полипептид IgFc, гетеродимерный ТММР может димеризоваться, так что дисульфидные связи соединяют полипептиды IgFc в два гетеродимерных ТММР. Такое расположение схематически изображено на фиг. 12С и 12D, где дисульфидные связи представлены пунктирными линиями. Если не указано иное, по меньшей мере две дисульфидные связи, описанные у связанных множественными дисульфидными связями ТММРР в этой разделе, не относятся к дисульфидным связям, связывающим полипептиды IgFc в димеризованных ТММР.

Как отмечалось выше, в некоторых случаях первый полипептид и второй полипептид ТММР по данному изобретению связаны друг с другом по меньшей мере двумя дисульфидными связями (т.е. двумя межцепочечными дисульфидными связями). Например, в некоторых случаях первый полипептид и второй полипептид ТММР по данному изобретению связаны между собой 2 межцепочечными дисульфидными связями. В качестве другого примера, в некоторых случаях первый полипептид и второй полипептид ТММР по данному изобретению связаны между собой 3 межцепочечными дисульфидными связями. В качестве другого примера, в некоторых случаях первый полипептид и второй полипептид ТММР по данному изобретению связаны между собой 4 межцепочечными дисульфидными связями.

В некоторых случаях, когда пептидный эпитоп в первом полипептиде ТММР по данному изобретению связан с полипептидом $\beta 2M$ линкером, содержащим Cys по меньшей мере одной из двух дисульфидных связей Cys в линкере, с Cys в тяжелой цепи ГКГС I класса во втором полипептиде. В некоторых случаях, когда пептидный эпитоп в первом полипептиде ТММР по данному изобретению связан с полипептидом тяжелой цепи ГКГС I класса линкером, по меньшей мере одной из двух дисульфидных связей Cys в линкере, с Cys в полипептиде $\beta 2M$ во втором полипептиде.

В некоторых случаях связанный множественными дисульфидными связями ТММР по данному изобретению (например, связанный двумя дисульфидными связями ТММР) проявляет повышенную стабильность по сравнению с контрольным ТММР, включающим только одну из по меньшей мере двух дисульфидных связей. В некоторых случаях связанный множественными дисульфидными связями ТММР по данному изобретению (например, связанный двумя дисульфидными связями ТММР) по данному изобретению проявляет повышенную стабильность *in vitro* по сравнению с контрольным ТММР, включающим только одну из по меньшей мере двух дисульфидных связей. Например, в

некоторых случаях связанный множественными дисульфидными связями ТММР по данному изобретению (например, связанный двумя дисульфидными связями ТММР) проявляет по меньшей мере на 5%, по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 15%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 25%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере в 2 раза, по меньшей мере в 5 раз или по меньшей мере в 10 раз большую стабильность *in vitro*, по сравнению с контрольным ТММР, включающим только одну из по меньшей мере двух дисульфидных связей.

Можно определить, проявляет ли связанный множественными дисульфидными связями ТММР по данному изобретению повышенную стабильность *in vitro* по сравнению с контрольным ТММР, включающим только одну из по меньшей мере двух дисульфидных связей, путем измерения количества связанного дисульфидными связями гетеродимерного ТММР по данному изобретению, присутствующего в образце в течение определенного времени и/или при определенном состоянии, и/или во время очистки ТММР.

Например, в некоторых случаях связанный множественными дисульфидными связями ТММР (например, связанный двумя дисульфидными связями ТММР) по данному изобретению проявляет по меньшей мере на 5%, по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 15%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 25%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере в 2 раза, по меньшей мере в 5 раз или по меньшей мере в 10 раз большую устойчивость *in vitro* по сравнению с контрольным ТММР, который включает только одну из по меньшей мере двух дисульфидных связей, когда ТММР хранится при температуре 37°C в течение определенного периода времени (например, в течение периода времени от около 1 недели до около 2 недель, от около 2 недель до около 4 недель или от около 4 недель до около 2 месяцев). Например, в некоторых случаях количество связанного дисульфидной связью гетеродимерного ТММР, оставшееся после хранения связанного множественными дисульфидными связями ТММР (например, связанного двумя дисульфидными связями ТММР) по данному изобретению *in vitro* при 37°C в течение 28 дней составляет по меньшей мере на 5%, по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 15%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 25%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере в 2 раза, по меньшей мере в 5 раз или по меньшей мере в 10 раз большее количество связанного дисульфидными связями гетеродимерного ТММР, оставшегося после хранения контрольного ТММР (ТММР, включающего только одну из по меньшей мере двух дисульфидных связей, присутствующих в связанном множественными дисульфидными связями ТММР) в пробирке при 37°C в течение 28 дней.

В некоторых случаях связанный множественными дисульфидными связями ТММР данному изобретению проявляет повышенную стабильность *in vitro* по сравнению с контрольным ТММР, включающим только одну из по меньшей мере двух дисульфидных связей. Например, в некоторых случаях связанный множественными дисульфидными связями ТММР по данному изобретению проявляет по меньшей мере на 5%, по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 15%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 25%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере в 2 раза, по меньшей мере в 5 раз или по меньшей мере в 10 раз большую стабильность *in vivo*, по сравнению с контрольным ТММР, включающим только одну из по меньшей мере двух дисульфидных связей.

В некоторых случаях наличие двух дисульфидных связей в связанном множественными дисульфидными связями ТММР по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями ТММР) создается для увеличения продуцирования связанного дисульфидными связями гетеродимерного ТММР, по сравнению с количеством связанного дисульфидными связями гетеродимерного ТММР, получаемого когда ТММР представляет собой контрольный ТММР, включающий только одну из по меньшей мере двух дисульфидных связей. Например, связанный множественными дисульфидными связями ТММР по данному изобретению (например, связанный двумя дисульфидными связями ТММР) могут продуцировать в клетке млекопитающего при культивировании клеток *in vitro*, когда клетку млекопитающего культивируют в жидкой среде для культивирования клеток. ТММР может секретироваться в среду для культивирования клеток. Клетки могут лизировать, создавая лизат клеток, и в лизате клеток может присутствовать ТММР. ТММР могут очищать от среды культивирования клеток и/или лизата клеток. Например, когда ТММР содержит полипептид Fc IgG1, среду культивирования клеток и/или лизат клеток могут приводить в контакт с иммобилизованным белком А (например, среду культивирования клеток и/или лизат клеток могут наносить на колонку с белком А, где белок А иммобилизован на гранулах). ТММР, присутствующий в среде культивирования клеток и/или лизате клеток, связывается с иммобилизованным белком А. После промывания колонки для удаления несвязанных веществ элюируют связанный ТММР, получая элюат белка А. Количество связанного дисульфидными связями гетеродимерного ТММР, присутствующего в элюате белка А, составляет по меньшей мере на 0,5%, по меньшей мере на 1%, по меньшей мере на 2%, по меньшей мере на 3%, по меньшей мере на 4%, по меньшей мере на 5%, по меньшей мере на 6%, по меньшей мере на 7%, по меньшей мере на 8%, по меньшей мере на 9% или по меньшей мере на 10% больше количества связанного дисульфидными связями гетеродимерного ТММР, присутствующего в элюате

белка А, когда ТММР представляет собой контрольный ТММР, который содержит только одну из по меньшей мере двух дисульфидных связей, присутствующих в связанном множественными дисульфидными связями ТММР (например, связанном двумя дисульфидными связями ТММР). В некоторых случаях процентное содержание общего белка ТММР в элюате, который представляет собой неагрегированный связанный дисульфидными связями гетеродимерный ТММР, составляет по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 99%. Элюат белка А могут подвергать эксклюзионной хроматографии (SEC) и/или одному или более другим дополнительным этапам очистки.

В некоторых случаях модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по настоящему изобретению содержит по меньшей мере один гетеродимер, содержащий: а) первый полипептид, содержащий: i) пептидный эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; б) второй полипептид, содержащий второй полипептид ГКГС; в) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид, причем первый и/или второй полипептид содержит по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; d) Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig, причем первый и/или второй полипептид содержит Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig; и е) НОП, причем первый и/или второй полипептид содержит НОП; и причем гетеродимер содержит по меньшей мере две дисульфидные связи (например, две дисульфидные связи) между первым полипептидом и вторым полипептидом (например, гетеродимер содержит: i) первую дисульфидную связь, соединяющую первый полипептид и второй полипептид; и ii) вторую дисульфидную связь, соединяющую первый полипептид и второй полипептид). Другими словами, первый полипептид содержит первый остаток Cys, образующий дисульфидную связь (первая дисульфидная связь) с первым остатком Cys во втором полипептиде; и первый полипептид содержит второй остаток Cys, образующий дисульфидную связь (вторую дисульфидную связь) со вторым остатком Cys во втором полипептиде.

В некоторых случаях ТММР по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) пептидный эпитоп; ii) пептидный линкер и iii) полипептид $\beta 2M$; и б) второй полипептид, содержащий полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса, причем один или оба из первого и второго полипептидов содержит по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид, при этом ТММР содержит: а) первую дисульфидную связь между: i) Cys, присутствующим в линкере между пептидным эпитопом и полипептидом $\beta 2M$; и ii) первый Cys, введенный в полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса; и б) по меньшей мере вторую дисульфидную

связь между первым полипептидом и вторым полипептидом, где по меньшей мере вторая дисульфидная связь находится между: i) Cys в первом полипептиде, который является С-концевым к Cys, присутствующему в линкере; и ii) Cys во втором полипептиде, который является С-концевым к первому Cys, введенному в полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса. Как отмечалось выше, ТММР также включает: i) Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig; и ii) НОП.

В некоторых случаях первый и второй образующие дисульфидные связи остатки Cys в первом или втором полипептиде ТММР по данному изобретению находятся на расстоянии от около 10 аминокислот до около 200 аминокислот друг от друга. Например, в некоторых случаях, первый и второй образующие дисульфидные связи остатки Cys в первом или втором полипептиде ТММР по данному изобретению находятся на расстоянии от около 10 аминокислот (ак) до около 15 ак, от около 15 ак до около 20 ак, от около 20 ак до около 25 ак, от около 25 ак до около 30 ак, от около 30 ак до около 40 ак, от около 40 ак до около 50 ак, от около 50 ак до около 60 ак, от около 60 ак до около 70 ак, от около 70 ак до около 80 ак, от около 80 ак до около 90 ак, от около 90 ак до около 100 ак, от около 100 ак до около 110 ак, от около 110 ак до около 120 ак, до около 120 ак до около 130 ак, от около 130 ак до около 140 ак, от около 140 ак до около 150 ак, от около 150 ак до около 160 ак, от около 160 ак до около 170 ак, от около 170 ак до около 180 ак, от около 180 ак до около 190 ак или от около 190 ак до около 200 ак.

В качестве примера, в некоторых случаях первый и второй образующие дисульфидные связи остатки Cys в первом полипептиде ТММР по данному изобретению находятся на расстоянии от около 10 аминокислот до около 80 аминокислотных остатков друг от друга. Например, в некоторых случаях второй образующий дисульфидную связь остаток Cys в первом полипептиде находится на расстоянии от около 10 аминокислот до около 80 аминокислот (например, от около 10 аминокислот (ак) до около 15 ак, от около 15 ак до около 20 ак, от около 20 ак до около 25 ак, от около 25 ак до около 30 ак, от около 30 ак до около 40 ак, от около 40 ак до около 50 ак, от около 50 ак до около 60 ак, от около 60 ак до около 70 ак или от около 70 ак до около 80 ак) в направлении С-конца к первому образующему дисульфидную связь остатку Cys в первом полипептиде. В некоторых случаях второй образующий дисульфидную связь остаток Cys в первом полипептиде является 10 ак, 11 ак, 12 ак, 13 ак, 14 ак, 15 ак, 16 ак, 17 ак, 18 ак, 19 ак, 20 ак, 21 ак, 22 ак, 23 ак, 24 ак или 25 ак в направлении С-конца к первому образующему дисульфидную связь остатку Cys в первом полипептиде. В некоторых случаях второй образующий дисульфидную связь остаток Cys в первом полипептиде является 15 ак в направлении С-конца к первому образующему дисульфидную связь остатку Cys в первом полипептиде. В

некоторых случаях второй образующий дисульфидную связь остаток Cys в первом полипептиде является 20 ак в направлении С-конца к первому образующему дисульфидную связь остатку Cys в первом полипептиде. В некоторых случаях второй образующий дисульфидную связь остаток Cys в первом полипептиде является 25 ак в направлении С-конца к первому образующему дисульфидную связь остатку Cys в первом полипептиде.

В качестве другого примера, в некоторых случаях первый и второй образующие дисульфидные связи остатки Cys во втором полипептиде ТММР по данному изобретению находятся на расстоянии от около 140 аминокислот до около 160 аминокислотных остатков друг от друга. Например, в некоторых случаях второй образующий дисульфидную связь остаток Cys во втором полипептиде находится на расстоянии от около 140 аминокислот до около 160 аминокислот в направлении С-конца к первому образующему дисульфидную связь остатку Cys во втором полипептиде. В некоторых случаях второй образующий дисульфидную связь остаток Cys во втором полипептиде является 140 аминокислотой (ак), 141 ак, 142 ак, 143 ак, 144 ак, 145 ак, 146 ак, 147 ак, 148 ак, 149 ак, 150 ак, 151 ак, 152 ак, 153 ак, 154 ак, 155 ак, 156 ак, 157 ак, 158 ак, 159 ак или 160 ак в направлении С-конца к первому образующему дисульфидную связь остатку Cys во втором полипептиде.

Связанный множественными дисульфидными связями ТММР по данному изобретению (например, связанный двумя дисульфидными связями ТММР) может содержать, например: а) первый полипептид, содержащий: i) пептидный эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС, причем первый полипептид содержит пептидный линкер между пептидом и первым полипептидом ГКГС, причем пептидный линкер содержит остаток Cys, и при этом первый полипептид ГКГС представляет полипептид β2М, содержащий аминокислотную замену, которая вводит остаток Cys; б) и второй полипептид, содержащий второй полипептид ГКГС, причем второй полипептид ГКГС представляет собой тяжелую цепь I класса, содержащую замену Y84C и замену A236C, на основе аминокислотной нумерации HLA-A*0201 (изображенной на фиг. 7А), или в соответствующих положениях другого аллеля тяжелой цепи I класса, причем ТММР содержит дисульфидную связь между остатком Cys в пептидном линкере и остатком Cys в аминокислотном положении 84 тяжелой цепи I класса или соответствующего положения другого аллеля тяжелой цепи I класса, и при этом ТММР содержит дисульфидную связь между введенным остатком Cys в полипептиде β2М и Cys в аминокислотном положении 236 тяжелой цепи I класса или соответствующего положения другого аллеля тяжелой цепи I класса; и с) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид, причем первый

и/или второй полипептид содержит по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид. Примеры схематически изображены на фиг. 12А и фиг. 12В. Как отмечалось выше, ТММР также включает: i) Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig; и ii) НОП.

В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGS (SEQ ID NO:139). В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGS(GGGGS)*n* (SEQ ID NO: 140), где *n* является целым числом от 1 до 10. В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGS(GGGGS)*n* (SEQ ID NO: 140), где *n* равен 1. В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGS(GGGGS)*n* (SEQ ID NO: 140), где *n* равен 2. В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGS(GGGGS)*n* (SEQ ID NO: 140), где *n* равен 3. В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGS(GGGGS)*n* (SEQ ID NO: 140), где *n* равен 4. В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGS(GGGGS)*n* (SEQ ID NO: 140), где *n* равен 5. В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGS(GGGGS)*n* (SEQ ID NO: 140), где *n* равен 6. В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGS(GGGGS)*n* (SEQ ID NO: 140), где *n* равен 7. В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGS(GGGGS)*n* (SEQ ID NO: 140), где *n* равен 8. В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGS(GGGGS)*n* (SEQ ID NO: 140), где *n* равен 9. В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGS(GGGGS)*n* (SEQ ID NO: 140), где *n* равен 10.

В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность CGGGS (SEQ ID NO:141). В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность CGGGS(GGGGS)*n* (SEQ ID NO: 142), где *n* является целым числом от 1 до 10. В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность CGGGS(GGGGS)*n* (SEQ ID NO: 142), где *n* равен 1. В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность CGGGS(GGGGS)*n* (SEQ ID NO: 142), где *n* равен 2. В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность CGGGS(GGGGS)*n* (SEQ ID NO: 142), где *n* равен 3. В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность CGGGS(GGGGS)*n* (SEQ ID NO: 142), где *n* равен 4. В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность CGGGS(GGGGS)*n* (SEQ ID NO: 142), где *n* равен 5. В некоторых случаях пептидный

линкер содержит аминокислотную последовательность CGGGS(GGGGS)_n (SEQ ID NO: 142), где n равен 6. В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность CGGGS(GGGGS)_n (SEQ ID NO: 142), где n равен 7. В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность CGGGS(GGGGS)_n (SEQ ID NO: 142), где n равен 8. В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность CGGGS(GGGGS)_n (SEQ ID NO: 142), где n равен 9. В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность CGGGS(GGGGS)_n (SEQ ID NO: 142), где n равен 10.

Следующие примеры представляют собой неограничивающие примеры тяжелой цепи ГКГС I класса, содержащие замену Y84C и замену A236C, на основе аминокислотной нумерации HLA-A*0201 (изображенной на фиг. 7A), или в соответствующих положениях в другом аллеле тяжелой цепи I класса.

HLA-A

В некоторых случаях связанный множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанный двумя дисульфидными связями TMMP) содержит: а) первый полипептид содержащий: i) пептидный эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС, причем первый полипептид содержит пептидный линкер между пептидным эпитопом и первым полипептидом ГКГС, причем пептидный линкер содержит остаток Cys, и при этом первый полипептид ГКГС представляет полипептид β2M, содержащий аминокислотную замену, которая вводит остаток Cys; б) и второй полипептид, содержащий тяжелую цепь HLA-A ГКГС I класса, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQE
GPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGTLRGCYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLR
GYHQAAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVE
WLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGED
QTQDTELVETRPCGDGTFQKWAADVVPSPGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ
ID NO:143), где аминокислота 84 представляет собой Cys и аминокислота 236
представляет собой Cys; и с) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид,
причем первый и/или второй полипептид содержит по меньшей мере один
иммуномодулирующий полипептид. В некоторых случаях пептидный линкер содержит
аминокислотную последовательность GCGGS (SEQ ID NO:139). В некоторых случаях

пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGS(GGGGS)*n* (SEQ ID NO:140), где *n* является целым числом от 1 до 10. В некоторых случаях полипептид β 2М содержит замену R12C. Например, полипептид β 2М может содержать аминокислотную последовательность имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:

IQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSF SKDWSFYLLYYTEFTPTTEKDEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDM (SEQ ID NO:144), где аминокислота 12 представляет собой Cys. По меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид может быть цитокином, полипептидом 4-1BBL, полипептидом B7-1; полипептидом B7-2, полипептидом ICOS-L, полипептидом OX-40L, полипептидом CD80, полипептидом CD86, полипептидом PD-L1, полипептидом FasL или полипептидом PD-L2. В некоторых случаях по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид является вариантом с пониженной аффинностью, как описанные в другом месте данного документа. Как отмечалось выше, TMMP также включает: i) Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig; и ii) НОП.

В некоторых случаях связанный множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанный двумя дисульфидными связями TMMP) содержит полипептид тяжелой цепи HLA-A I класса. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-A, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-A*0101, HLA-A*0201, HLA-A*0202, HLA-A*1101, HLA-A*2301, HLA-A*2402, HLA-A*2407, HLA-A*3303 или HLA-A*3401, изображенной на фиг. 7А, причем полипептид тяжелой цепи HLA-A содержит замены Y84C и A236C.

HLA-A*0101 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-A, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью HLA-A*0101 (Y84C; A236C):

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQKMEPRAPWIEQ
EGPEYWDQETRNMKAHSQTDRANLGTLRGCYNQSEDGSHTIQIMYGCDVGPDRFLR
GYRQDAYDGKDYIALNEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAVHAAEQRRVYLEGRCVDG
LRRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQT
QDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
NO:145), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет собой Cys.

HLA-A*0201 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-A, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью HLA-A*0201 (Y84C; A236C):

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQE
GPEYWDGETRKVKAHSQTTHRVDLGTLRGCYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLR
GYHQAAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVE
WLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGED
QTQDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYSCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ
ID NO:146), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет собой Cys.

HLA-A*0202 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-A, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью HLA-A*0202 (Y84C; A236C):

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQE
GPEYWDGETRKVKAHSQTTHRVDLGTLRGCYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLR
GYHQAAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVE
WLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGED
QTQDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYSCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
NO:147), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет собой Cys.

HLA-A*1101 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-A, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью HLA-A*1101 (Y84C; A236C):

GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQ
EGPEYWDQETRNVKAQSQTDRVDLGTLRGCYNQSEDSHTIQIMYGCDVGPDGRFLRG
YRQDAYDGKDYIALNEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAANAHAEEQQRAYLEGRCVEWL
RRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQ
DTELVETRPGDGTQKWAADVVPSPGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
NO:148), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет собой Cys.

HLA-A*2301 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-A, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью HLA-A*2301 (Y84C; A236C):

GSHSMRYFSTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQE
GPEYWDEETGKVKAHSQTDRENLRALRCYNQSEAGSHTLQMMFGCDVGS DGRFLRG
YHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQITQRKWEAARVAEQLRAYLEGTCVDGL
RRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQ
DTELVETRPGDGTQKWAADVVPSPGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
NO:149), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет собой Cys.

HLA-A*2402 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-A, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью HLA-A*2402 (Y84C; A236C):

GSHSMRYFSTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQE
 GPEYWDEETGKVKAHSQTDRENLRALRCYNQSEAGSHTLQMMFGCDVGSDGRFLRG
 YHQAAYDGKDYLKEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAAHVAEQQRAYLEGTCVDGL
 RRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQ
 DTELVETRPGDGTQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
 NO:150), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет
 собой Cys.

HLA-A*2407 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-A, присутствующий в
 связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению
 (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную
 последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по
 меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со
 следующей аминокислотной последовательностью HLA-A*2407 (Y84C; A236C):

GSHSMRYFSTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQE
 GPEYWDEETGKVKAQSQTDRENLRALRCYNQSEAGSHTLQMMFGCDVGSDGRFLRG
 YHQAAYDGKDYLKEDLRSWTAADMAAQITKRKWEAAHVAEQQRAYLEGTCVDGL
 RRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQ
 DTELVETRPGDGTQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
 NO:151), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет
 собой Cys.

HLA-A*3303 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-A, присутствующий в
 связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению
 (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную
 последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей
 мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей
 аминокислотной последовательностью HLA-A*3303 (Y84C; A236C):

GSHSMRYFTTSVSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQ
 EGPEYWDRNTRNVKAHSQIDRVDLGTLRG CYNQSEAGSHTIQMMYGCDVGSDGRFLR
 GYQQDAYDGKDYLALNEDLRSWTAADMAAQITQRKWEAARVAEQLRAYLEGTCVEW
 LRRYLENGKETLQRTDPPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGEDQT
 QDTELVETRPGDGTQKWA SVVVPSGQE QRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
 NO:152), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет
 собой Cys.

HLA-A*3401 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-A, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью HLA-A*3401 (Y84C; A236C):

GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQ
EGPEYWDRNTRKVKAAQSQTDRVDLGTLRGCYNQSEDSHTIQRMYGCDVGPDGRFLR
GYQQDAYDGKDYIALNEDLRSWTAADMAAQITQRKWETAHEAEQWRAYLEGTCVEW
LRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGEDQT
QDTELVETRPCGDGTFQKWASVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
NO:153), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет собой Cys.

HLA-B

В некоторых случаях связанный множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанный двумя дисульфидными связями TMMP) содержит: а) первый полипептид содержащий: i) пептидный эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС, причем первый полипептид содержит пептидный линкер между пептидным эпитопом и первым полипептидом ГКГС, причем пептидный линкер содержит остаток Cys, и при этом первый полипептид ГКГС представляет полипептид β 2М, содержащий аминокислотную замену, которая вводит остаток Cys; б) и второй полипептид, содержащий тяжелую цепь HLA-B ГКГС I класса, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:

GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPFISVGYVDDTQFVRFDSDAASPREEPRAPWIEQE
GPEYWDRNTQIYKAQAQTDRESLRNLRGCYNQSEAGSHTLQSMYGCDVGPDGRLLRG
HDQYAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGECEVWLR
RYLENGKDKLERADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQD
TELVETRPCGDRTFQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
NO:154), где аминокислота 84 представляет собой Cys и аминокислота 236 представляет собой Cys; и с) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид, причем первый и/или второй полипептид содержит по меньшей мере один иммуномодулирующий

полипептид. В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGS (SEQ ID NO:139). В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGS(GGGGS)*n* (SEQ ID NO:140), где *n* является целым числом от 1 до 10. В некоторых случаях полипептид β 2М содержит замену R12C. Например, полипептид β 2М может содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью: IQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDW SFYLLYYTEFTPTTEKDEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDM (SEQ ID NO:155), где аминокислота 12 представляет собой Cys. По меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид может быть цитокином, полипептидом 4-1BBL, полипептидом B7-1; полипептидом B7-2, полипептидом ICOS-L, полипептидом OX-40L, полипептидом CD80, полипептидом CD86, полипептидом PD-L1, полипептидом FasL или полипептидом PD-L2. В некоторых случаях по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид является вариантом с пониженной аффинностью, как описанные в другом месте данного документа. Как отмечалось выше, TMMP также включает: i) Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig; и ii) НОП.

В некоторых случаях связанный множественными дисульфидными связями TMMP по настоящему изобретению содержит полипептид тяжелой цепи HLA-B класса I. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-B, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-B*0702, HLA-B*0801, HLA-B*1502, HLA-B*3802, HLA-B*4001, HLA-B*4601 или HLA-B*5301, изображенной на фиг. 8А, причем полипептид тяжелой цепи HLA-B содержит замены Y84C и A236C.

HLA-B*0702 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-B, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью HLA-B*0702 (Y84C; A236C):

GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPFISVGYVDDTQFVRFDSDAASPREEPRAPWIEQE
 GPEYWDRNTQIYKAQAQTDRESLRNLRGCYNQSEAGSHTLQSMYGCDVGPDRLLRG
 HDQYAYDGKDYLALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGECVEWLR
 RYLENGKDKLERADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQD
 TELVETRPGDRTFQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
 NO:156), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет
 собой Cys.

HLA-B*0801 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-B, присутствующий в
 связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению
 (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную
 последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по
 меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со
 следующей аминокислотной последовательностью HLA-B*0801 (Y84C; A236C):

GSHSMRYFDTAMSRPGRGEPFISVGYVDDTQFVRFDSDAASPREEPRAPWIEQE
 GPEYWDRNTQIFKTNTQTDRESLRNLRGCYNQSEAGSHTLQSMYGCDVGPDRLLRGH
 NQYAYDGKDYLALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAARVAEQDRAYLEGTCVEWLR
 RYLENGKDTLERADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQD
 TELVETRPGDRTFQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
 NO:157), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет
 собой Cys.

HLA-B*1502 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-B, присутствующий в
 связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению
 (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную
 последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по
 меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со
 следующей аминокислотной последовательностью HLA-B*1502 (Y84C; A236C):

GSHSMRYFYTAMSRPGRGEPFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASPRMAPRAPWIEQ
 EGPEYWDRNTQISKNTNTQTYRESLRNLRGCYNQSEAGSHIIQRMYGCDVGPDRLLRG
 YDQSAYDGKDYLALNEDLSSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQLRAYLEGLCVEWLR
 RYLENGKETLQRADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQD
 TELVETRPGDRTFQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
 NO:158), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет
 собой Cys.

HLA-B*3802 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-B, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью HLA-B*3802 (Y84C; A236C):

GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPFISVGYVDDTQFVRFSDAASPREEPRAPWIEQE
GPEYWDRNTQICKTNTQTYRENLRALRCYNQSEAGSHTLQRMYGCDVGPDRLLRG
HNQFAYDGKDIALNEDLSSWTAADTAAQITQRKWEAARVAEQLRTYLEGTCVEWLR
RYLENGKETLQRADPPKTHVTNHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQD
TELVETRPGDRTFQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
NO:159), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет собой Cys.

HLA-B*4001 (Y84C; A2346C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-B, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью HLA-B*4001 (Y84C; A236C):

GSHSMRYFH TAMSRPGRGEPFITVGYVDDTLFVRFSDATSPRKEPRAPWIEQE
GPEYWDRETQISKNTNTQTYRESLRNLRG CYNQSEAGSHTLQRMYGCDVGPDRLLRGH
NQYAYDGKDIALNEDLRSWTAADTAAQISQRKLEAARVAEQLRAYLEGECEVWLR
YLENGKDKLERADPPKTHVTNHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDT
ELVETRPGDRTFQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
NO:160) где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет собой Cys.

HLA-B*4601 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-B, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью HLA-B*4601 (Y84C; A236C):

GSHSMRYFYTAMSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASPRMAPRAPWIEQ
EGPEYWDRETQKYKRQAQTDRVSLRNLRGCYNQSEAGSHTLQRMYGCDVGP DGRLLR
GHDQSAYDGKDYIALNEDLSSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQWRAYLEGLC VEW
LRRYLENGKETLQRADPPKTHVTNHHPISDHEATLRCWALGFYP AEITLTWQRDGEDQTQ
DTEL VETRPCGDRTFQKWA AAVVVP SGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
NO:161), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет собой Cys.

HLA-B*5301 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-B, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью HLA-B*5301 (Y84C; A236C):

GSHSMRYFYTAMSRPGRGEPRFIAVG YVDDTQFVRFDSDAASPRTEPRAPWIEQ
EGPEYWDRNTQIFKTNTQTYRENLR IALRCYNQSEAGSHIIQRMYGCDLGPDGRLLRGH
DQSAYDGKDYIALNEDLSSWTAADTAAQITQRKWEAARVAEQLRAYLEGLC VEWLRR
YLENGKETLQRADPPKTHVTNHHPVSDHEATLRCWALGFYP AEITLTWQRDGEDQTQDT
ELVETRPCGDRTFQKWA AAVVVP SGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (SEQ ID
NO:162), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет собой Cys.

HLA-C

В некоторых случаях связанный множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанный двумя дисульфидными связями TMMP) содержит: а) первый полипептид содержащий: i) пептидный эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС, причем первый полипептид содержит пептидный линкер между пептидным эпитопом и первым полипептидом ГКГС, причем пептидный линкер содержит остаток Cys, и при этом первый полипептид ГКГС представляет полипептид β 2M, содержащий аминокислотную замену, которая вводит остаток Cys; б) и второй полипептид, содержащий тяжелую цепь HLA-C ГКГС I класса, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:

CSHSMRYFDTA VSRPGRGEPRFISVG YVDDTQFVRFDSDAASPRGEPRAPWVEQ

EGPEYWDRETQNYKRQAQADRVSLRNLRG CYNQSEDGSHTLQRMYGCDLGPDRLLR
GYDQSAYDYGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKLEAARAAEQLRAYLEGTCVEWL
RRYLENGKETLQRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQ
DTELVETRPCGDGTFQKWA AVVVVPSGQEQR YTCHMQHEGLQEPLTSLWEP (SEQ ID
NO:163), где аминокислота 84 представляет собой Cys и аминокислота 236 представляет
собой Cys; и с) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид, причем
первый и/или второй полипептид содержит по меньшей мере один иммуномодулирующий
полипептид. В некоторых случаях пептидный линкер содержит аминокислотную
последовательность GCGGS (SEQ ID NO:139). В некоторых случаях пептидный линкер
содержит аминокислотную последовательность GCGGS(GGGGS)*n* (SEQ ID NO: 140), где
n является целым числом от 1 до 10. В некоторых случаях полипептид β 2M содержит
замену R12C. Например, полипептид β 2M может содержать аминокислотную
последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей
мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной
последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:
IQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDW
SFYLLYYTEFTPTTEKDEYACRVNHVTLSPKIVKWDRDM (SEQ ID NO:164), где
аминокислота 12 представляет собой Cys. По меньшей мере один иммуномодулирующий
полипептид может быть цитокином, полипептидом 4-1BBL, полипептидом B7-1;
полипептидом B7-2, полипептидом ICOS-L, полипептидом OX-40L, полипептидом CD80,
полипептидом CD86, полипептидом PD-L1, полипептидом FasL или полипептидом PD-L2.
В некоторых случаях по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид является
вариантом с пониженной аффинностью, как описанные в другом месте данного
документа. Как отмечалось выше, TMMP также включает: i) Fc-полипептид Ig или каркас
не от Ig; и ii) НОП.

В некоторых случаях связанный множественными дисульфидными связями TMMP
по данному изобретению (например, связанный двумя дисульфидными связями TMMP)
содержит полипептид тяжелой цепи HLA-C I класса. В некоторых случаях полипептид
тяжелой цепи HLA-C, присутствующий в связанном множественными дисульфидными
связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными
связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей
мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности
аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-
C*0102, HLA-C*0303, HLA-C*0304, HLA-C*0401, HLA-C*0602, HLA-C*0701, HLA-
C*0702, HLA-C*0801 или HLA-C*1502, изображенной на фиг. 9А, причем полипептид

тяжелой цепи HLA-C содержит замены Y84C и A236C.

HLA-C*01:02 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-C, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью HLA-C*01:02 (Y84C; A236C):

CSHSMKYFFTSVSRPGRGEPRFISVGYVDDTQFVRFDSDAASPRGEPRAPWVEQE
GPEYWDRETQKYKRQAQTDRVSLRNLRGCYNQSEAGSHTLQWMCGCDLGPDRLLR
GYDQYAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGTCVEW
LRRYLENGKETLQRAENPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQT
QDTELVETRPGDGTQKWAAMVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWE (SEQ ID
NO:165), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет собой Cys.

HLA-C*03:03 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-C, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью HLA-C*03:03 (Y84C; A236C):

GSHSMRYFYTAVSRPGRGEPHFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASPRGEPRAPWVEQ
EGPEYWDRETQKYKRQAQTDRVSLRNLRGCYNQSEARSHIIQRMYGCDVGPDRLLR
GYDQYAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQLRAYLEGLCVEWL
RRYLKNGKETLQRAENPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQT
QDTELVETRPGDGTQKWAAMVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWE (SEQ ID
NO:166), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет собой Cys.

HLA-C*03:04 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-C, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со

следующей аминокислотной последовательностью HLA-C*03:04 (Y84C; A236C):

GSHSMRYFYTAVSRPGRGEPHFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASPRGEPRAPWVEQ
EGPEYWDRETQKYKRQAQTDRVSLRNLRGCYNQSEAGSHIIQRMYGCDVGPDRLLR
GYDQYAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQLRAYLEGLCWEWL
RRYLKNGKETLQRAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQT
QDTELVETRPGDGTQKWA AVVVP SGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWEP (SEQ ID
NO:167), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет собой Cys.

HLA-C*0401 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-C, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью HLA-C*04:01 (Y84C; A236C):

GSHSMRYFSTSVSWPGRGEPFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASPRGEPREPWVEQ
EGPEYWDRETQKYKRQAQADRVNLRKLRGCYNQSEDGSHTLQRMFGCDLGPDRLLR
GYNQFAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGTCWEWL
RRYLENGKETLQRAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQT
QDTELVETRPGDGTQKWA AVVVP SGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWKP (SEQ ID
NO:168), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет собой Cys.

HLA-C*0602 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-C, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью HLA-C*06:02 (Y84C; A236C):

CSHSMRYFDTA VSRPGRGEPFISVGYVDDTQFVRFDSDAASPRGEPRAPWVEQ
EGPEYWDRETQKYKRQAQADRVNLRKLRGCYNQSEDGSHTLQWMYGCDLGPDRLL
RGYDQSAYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQWRAYLEGTCVE
WLRRYLENGKETLQRAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGED
QTQDTELVETRPGDGTQKWA AVVVP SGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWEP (SEQ
ID NO:169), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236

представляет собой Cys.

HLA-C*0701 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-C, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью HLA-C*07:01 (Y84C; A236C):

CSHSMRYFDTAVSRPGRGEPFISVG YVDDTQFVRFDSDAASPRGEPRAPWVEQ
EGPEYWDRETQNYKRQAQADRVSLRNLRG CYNQSEDGSHTLQRM YGCDLGP DGRLLR
GYDQSAYDYGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKLEAARAAEQ LRAYLEGTCVEWL
RRYLENGKETLQRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALGFYP AEITLTWQRDGEDQTQ
DTELVETRPCGDGTFQKWA AVVVPSGQEQR YTCHMQHEGLQEPLT LSWEP (SEQ ID
NO:170), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет собой Cys.

HLA-C*0702 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-C, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью HLA-C*07:02 (Y84C; A236C):

CSHSMRYFDTAVSRPGRGEPFISVG YVDDTQFVRFDSDAASPRGEPRAPWVEQ
EGPEYWDRETQKYKRQAQADRVSLRNLRG CYNQSEDGSHTLQRM SGC DLGP DGRLLR
GYDQSAYDYGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKLEAARAAEQ LRAYLEGTCVEWL
RRYLENGKETLQRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALGFYP AEITLTWQRDGEDQTQ
DTELVETRPCGDGTFQKWA AVVVPSGQEQR YTCHMQHEGLQEPLT LSWEP (SEQ ID
NO:171), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет собой Cys.

HLA-C*0801 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-C, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со

следующей аминокислотной последовательностью HLA-C*08:01 (Y84C; A236C):

CSHSMRYFYTAVSRPGRGEPFIAVGYVDDTQFVQFSDAASPRGEPAPWVEQ
EGPEYWDRETQKYKRQAQTDRVSLRNLRG CYNQSEAGSHTLQRMYGCDLGPDRLLR
GYNQFAYDYGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAARTAEQLRAYLEGTCVEWL
RRYLENGKKTQLQRAENPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQ
DTELVETRPGDGTQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWGP (SEQ ID
NO:172), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет собой Cys.

HLA-C*1502 (Y84C; A236C)

В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA-C, присутствующий в связанном множественными дисульфидными связями TMMP по данному изобретению (например, связанном двумя дисульфидными связями TMMP), содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью HLA-C*15:02 (Y84C; A236C):

CSHSMRYFYTAVSRPGRGEPHFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASPRGEPAPWVEQ
EGPEYWDRETQNYKRQAQTDRVNLRLRG CYNQSEAGSHIIQRMYGCDLGPDRLLR
GHDQLAYDYGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQLRAYLEGTCVEWL
RRYLENGKETLQRAENPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQ
DTELVETRPGDGTQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWEP (SEQ ID
NO:173), где аминокислота 84 представляет собой Cys, и аминокислота 236 представляет собой Cys.

Каркасные полипептиды

TMMP по настоящему изобретению содержит Fc-полипептид или каркасный полипептид, не принадлежащий к антителу.

Подходящие каркасные полипептиды включают каркасные полипептиды на основе антител и каркасы не на основе антител. Не основанные на антителах каркасы включают, например, альбумин, полипептид XTEN (удлиненный рекомбинантный), трансферрин, полипептид рецептора Fc, эластиноподобный полипептид (см., например, Hassouneh et al. (2012) *Methods Enzymol.* 502:215; например, полипептид, содержащий пентапептидную повторяющуюся единицу (Val-Pro-Gly-X-Gly; SEQ ID NO:174), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от пролина), альбумин-связывающий полипептид, шелкоподобный полипептид (см., например, Valluzzi et al. (2002) *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 357:165), шелк-эластиноподобный полипептид (SELP; см., например, Megeed et al. (2002) *Adv Drug Deliv Rev.* 54:1075) и тому подобное. Подходящие полипептиды XTEN

включают, например, полипептиды, раскрытые в WO 2009/023270, WO 2010/091122, WO 2007/103515, US 2010/0189682 и US 2009/0092582; см. также Schellenberger et al. (2009) *Nat Biotechnol.* 27:1186). Пригодные полипептиды альбумина включают, например, человеческий сывороточный альбумин.

Подходящие каркасные полипептиды в некоторых случаях будут представлять собой полипептиды, увеличивающие период полувыведения. Таким образом, в некоторых случаях подходящий каркасный полипептид увеличивает период полувыведения *in vivo* (например, период полувыведения из сыворотки) ТММР по сравнению с контрольным ТММР, в котором отсутствует каркасный полипептид. Например, в некоторых случаях каркасный полипептид увеличивает период полувыведения *in vivo* (например, период полувыведения из сыворотки) ТММР по сравнению с контрольным ТММР, в котором отсутствует каркасный полипептид, на по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 15%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25%, по меньшей мере около 50%, в по меньшей мере около 2 раза, в по меньшей мере около 2,5 раза, в по меньшей мере около 5 раз, в по меньшей мере около 10 раз, в по меньшей мере около 25 раз, в по меньшей мере около 50 раз, в по меньшей мере около 100 раз или более чем в 100 раз. В качестве примера, в некоторых случаях полипептид Fc увеличивает период полувыведения *in vivo* (например, период полувыведения из сыворотки) ТММР по сравнению с контрольным ТММР, в котором отсутствует полипептид Fc, на по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 15%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25%, по меньшей мере около 50%, в по меньшей мере около 2 раза, в по меньшей мере около 2,5 раза, в по меньшей мере около 5 раз, в по меньшей мере около 10 раз, в по меньшей мере около 25 раз, в по меньшей мере около 50 раз, в по меньшей мере около 100 раз или более чем в 100 раз.

Полипептиды Fc

В некоторых случаях первая и/или вторая полипептидная цепь ТММР по данному изобретению содержит полипептид Fc. Полипептид Fc ТММР может представлять собой Fc IgG1 человека, Fc IgG2 человека, Fc IgG3 человека, Fc IgG4 человека и т.д. В некоторых случаях полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 98%, по меньшей мере около 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности к аминокислотной последовательности области Fc, изображенной на фиг. 3A-3G. В некоторых случаях область Fc содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере

около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 98%, по меньшей мере около 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с полипептидом Fc IgG1 человека, представленным на фиг. 3А. В некоторых случаях область Fc содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 98%, по меньшей мере около 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с полипептидом Fc IgG1 человека, представленным на фиг. 3А; и содержит замену N77; например, полипептид Fc содержит замену N77А. В некоторых случаях полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 98%, по меньшей мере около 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с полипептидом Fc IgG2 человека, представленным на фиг. 3А; например, полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 98%, по меньшей мере около 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотами 99-325 полипептида Fc IgG2 человека, представленного на фиг. 3А. В некоторых случаях полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 98%, по меньшей мере около 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотами 19-246 полипептида Fc IgG3 человека, представленного на фиг. 3А. В некоторых случаях полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 98%, по

меньшей мере около 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с полипептидом Fc IgM человека, представленным на фиг. 3B; например, полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 98%, по меньшей мере около 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотами 1-276 полипептида Fc IgM человека, представленного на фиг. 3B. В некоторых случаях полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 98%, по меньшей мере около 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотами 1-234 полипептида Fc IgA человека, представленного на фиг. 3C.

В некоторых случаях полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 98%, по меньшей мере около 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с полипептидом Fc IgG4 человека, представленным на фиг. 3C. В некоторых случаях полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 98%, по меньшей мере около 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотами от 100 до 327 полипептида Fc IgG4 человека, представленного на фиг. 3C.

В некоторых случаях полипептид Fc IgG4 содержит следующую аминокислотную последовательность:

PPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK

AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV
 LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID
 NO:175).

В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в TMMP, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 3А (Fc IgG1 человека). В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в TMMP, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 3А (Fc IgG1 человека), за исключением замены N297 (N77 аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 3А) аминокислотой, отличной от аспарагина. В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в TMMP, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 3С (Fc IgG1 человека, содержащий замену N297А), которая представляет собой N77 аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 3А). В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в TMMP, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 3А (Fc IgG1 человека), за исключением замены L234 (L14 аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 3А) аминокислотой, отличной от лейцина. В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в TMMP, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 3А (Fc IgG1 человека), за исключением замены L235 (L15 аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 3А) аминокислотой, отличной от лейцина.

В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в TMMP, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 3Е. В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в TMMP, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 3F. В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в TMMP, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 5G (Fc IgG1 человека, содержащий замену L234А и замену L235А, соответствующие положениям 14 и 15 аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 3G). В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в TMMP, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 3А (Fc IgG1 человека), за исключением замены P331 (P111 аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 3А) аминокислотой, отличной от пролина; в некоторых случаях замена представляет собой замену P331S. В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в TMMP, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 3А (Fc IgG1 человека), за исключением замен в L234 и L235 аминокислотами (L14 и L15 аминокислотной последовательности, изображенной на фиг.

3A) с аминокислотами, отличными от лейцина. В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в ТММР, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 3A (Fc IgG1 человека), за исключением замен в L234 и L235 аминокислотами (L14 и L15 аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 3A) аминокислотами, отличными от лейцина, и заменой P331 (P111 аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 3A) аминокислотой, отличной от пролина. В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в ТММР, содержит аминокислотную последовательность, изображенную на фиг. 3E (Fc IgG1 человека, содержащий замены L234F, L235E и P331S (соответствующие аминокислотным положениям 14, 15 и 111 аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 3E)). В некоторых случаях полипептид Fc, присутствующий в ТММР, представляет собой полипептид Fc IgG1, который содержит замены L234A и L235A (замены L14 и L15 аминокислотной последовательности, изображенной на фиг. 3A с Ala), как изображено на фиг. 3G.

Домены CH2 и CH3 тяжелой цепи Fc Ig, такие как показаны на фиг. 3A - 3G, могут также функционировать как последовательности димеризации или мультимеризации (например, когда ТММР состоит из двух или более гетеродимеров). Если желательно асимметричное сопряжение между двумя Fc-полипептидами Ig, Fc-полипептиды Ig могут включать модификации типа «выступ-во-впадину», например, в домене CH3. Одна такая пара «выступ-во-впадину» содержит мутантную пару T366Y и Y407T в интерфейсе домена CH3 IgG1 или соответствующие остатки другого Fc Ig (где «T366» соответствует аминокислоте 146 аминокислотной последовательности Fc IgG1, показанной на фиг. 3A; и «Y407» соответствует аминокислоте 187 аминокислотной последовательности Fc IgG1, показанной на фиг. 3A). См. Ridgway et al., *Protein Engineering* 9:7, 617-621 (1996), (замены обозначены по схеме нумерации EU по Kabat et al. (1991)). Другая пара «выступ-во-впадину» включает образование выступа заменой T366W и впадины тройной заменой T366S, L368A и Y407V в комплементарном Fc-полипептиде (где «T366» соответствует аминокислоте 146 аминокислотной последовательности Fc IgG1, показанной на фиг. 3A; «L368» соответствует аминокислоте 148 аминокислотной последовательности Fc IgG1, показанной на фиг. 3A; и «Y407» соответствует аминокислоте 187 аминокислотной последовательности Fc IgG1, показанной на фиг. 3A). См. Xu et al. *mAbs* 7:1, 231-242 (2015). Например, в некоторых случаях первый гетеродимер ТММР может включать Fc-полипептид IgG1, содержащий замену T366Y (например, замену T146Y на основе аминокислотной последовательности Fc IgG1, показанной на фиг. 3A); и второй гетеродимер ТММР может включать Fc-полипептид IgG1, содержащий замену Y407T (например, замену Y187T на основе аминокислотной последовательности Fc IgG1,

показанной на фиг. 3А). В качестве другого примера, в некоторых случаях первый гетеродимер ТММР может включать Fc-полипептид IgG1, содержащий замену T366W (например, замену T146W на основе аминокислотной последовательности Fc IgG1, показанной на фиг. 3А); и второй гетеродимер ТММР может включать полипептид Fc IgG1, включающий замену T366S, замену L368A и замену Y407V (например, замену T146S, замену L148A и замену Y187V на основе аминокислотной последовательности Fc IgG1, показанной на фиг. 3А). Fc-полипептиды, как с модификациями типа «выступ-во-впадину», так и без них, могут быть стабилизированы путем образования дисульфидных связей между Fc-полипептидами (например, дисульфидных связей в шарнирной области).

Нацеленные на опухоль полипептиды (НОП)

Как обсуждалось выше, ТММР по настоящему изобретению включает в первый и/или второй полипептид, нацеленный на опухоль полипептид (НОП), т.е. полипептид, специфичный для ассоциированного с раком эпитопа. «Ассоциированный с раком» эпитоп - это эпитоп, который присутствует в ассоциированном с раком антигене. В некоторых случаях НОП представляет собой антитело. В некоторых случаях НОП представляет собой одноцепочечный Т-клеточный рецептор (оцТКР).

Цели

В некоторых случаях НОП, присутствующий в ТММР по настоящему изобретению, нацелен на ассоциированный с раком антиген. В некоторых случаях мишенью НОП является комплекс пептид/HLA (pHLA) на поверхности раковой клетки, где пептид может быть ассоциированным с раком пептидом (например, пептидный фрагмент ассоциированного с раком антигена).

Ассоциированные с раком антигены

Ассоциированные с раком антигены, на которые может быть нацелен нацеленный на опухоль полипептид, присутствующий в ТММР по настоящему изобретению, включают, например, NY-ESO (Нью-Йоркская плоскоклеточная карцинома пищевода 1), MART-1 (распознаваемый Т-клетками антиген меланомы 1, также известный как Melan-A), HPV (вирус папилломы человека) Е6, BCMA (антиген созревания В-клеток), CD123, CD133, CD171, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CEA (карциноэмбриональный антиген), EGFR (рецептор эпидермального фактора роста), EGFRvIII (вариант III рецептора эпидермального фактора роста), EphA2 (адгезивная молекула эпителиальных клеток), EphA2 (рецептор 2 эфрина типа А), дисialogанглиозид GD2, GPC3 (глипикан-3), HER2, IL13Ральфа2 (субъединица альфа-2 рецептора интерлейкина 13), LeY (дифукозилированный антиген, связанный с группой крови типа 2), MAGE-A3 (ассоциированный с меланомой антиген 3), гликопротеин меланомы, мезотелин, MUC1

(муцин 1), MUC16 (муцин-16), миелин, лиганды NKG2D (группа естественных киллеров 2D), PSMA (простатаспецифический мембранный антиген) и ROR1 (орфанный рецептор типа рецепторной тирозинкиназы I типа).

Ассоциированные с раком антигены, на которые может быть нацелен НОП, присутствующий в ТМРР по настоящему изобретению, включают, помимо прочего, 17-1А-антиген, альфа-фетопроtein (АФП), альфа-актинин-4, АЗ, антиген, специфичный для антитела АЗ3, ART-4, В7, Ва 733, BAGE, bcl-2, bcl-6, BCMA, BrE3-антиген, CA125, CAMEL, CAP-1, карбоангидраза IX (CAIX), CASP-8/m, CCL19, CCL21, CD1, CD1a, CD2, CD3, CD4, CD5, CD8, CD11A, CD14, CD15, CD16, CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD25, CD29, CD30, CD32b, CD33, CD37, CD38, CD40, CD40L, CD44, CD45, CD46, CD52, CD54, CD55, CD59, CD64, CD66a-e, CD67, CD70, CD70L, CD74, CD79a, CD79b, CD80, CD83, CD95, CD123, CD126, CD132, CD133, CD138, CD147, CD154, CD171, CDC27, CDK-4/m, CDKN2A, CEA, CEACAM5, CEACAM6, клаудин (например, клаудин-1, клаудин-10, клаудин-18 (например, клаудин-18, изоформа 2)), факторы комплемента (такие как C3, C3a, C3b, C5a и C5), колоноспецифический антиген-п (CSAp, англ.: colon-specific antigen-p), c-Met, CTLA-4, CXCR4, CXCR7, CXCL12, DAM, связанный с Диккопфом белок (DKK), фибронектин ED-B, рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), EGFRvIII, EGP-1 (TROP-2), EGP-2, ELF2-M, Eph-CAM, EphA2, EphA3, белок активации фибробластов (FAP), фактор роста фибробластов (FGF), Flt-1, Flt-3, фолат-связывающий белок, фолатный рецептор, антиген G250, ганглиозиды (такие как GC2, GD3 и GM2), GAGE, GD2, gp100, GPC3, GRO-13, HLA-DR, HM1.24, хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) и его субъединицы, HER2, HER3, HMGB-1, индуцируемый гипоксией фактор (HIF-1), HIF-1a, HSP70-2M, HST-2, Ia, ИФН-гамма, ИФН-альфа, ИФН-бета, ИФН-X, IL-4R, IL-6R, IL-13R, IL13Ральфа2, IL-15R, IL-17R, IL-18R, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, IL-23, IL-25, ILGF, ILGF-1R, инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1), IGF-1R, интегрин $\alpha V\beta 3$, интегрин $\alpha 5\beta 1$, Кс4-антиген, иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров (KIR), Kras, KS-1-антиген, KS1-4, LDR/FUT, Le^{gamma}, фактор ингибирования миграции макрофагов (MIF), MAGE, MAGE-3, MART-1, MART-2, mCRP, MCP-1, гликопротеин меланомы, мезотелин, MIP-1A, MIP-1B, MIF, муцины (такие как MUC1, MUC2, MUC3, MUC4, MUC5ac, MUC13, MUC16, MUM-1/2 и MUM-3), NCA66, NCA95, NCA90, Нектин-4, NY-ESO-1, антиген PAM4, муцин рака поджелудочной железы, PD-1, PD-L1, рецептор PD-1, плацентарный фактор роста, p53, PLAGL2, простатическая кислая фосфатаза, PSA, PRAME, PSMA, P1GF, RSS, RANTES, SAGE, 5100, сурвивин, сурвивин-2В, T101, TAC, TAG-72, тенасцин, антигены Томсона-Фриденрейха, Тп-антиген, TNF-альфа, антигены некроза опухоли, TRAG-3, рецепторы

TRAIL, фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF), рецептор VEGF (VEGFR) и WT-1.

В некоторых случаях ассоциированный с раком антиген представляет собой антиген, связанный с гематологическим раком. Примеры таких антигенов включают, помимо прочего, BCMA, C5, CD19, CD20, CD22, CD25, CD30, CD33, CD38, CD40, CD45, CD52, CD56, CD66, CD74, CD79a, CD79b, CD80, CD138, CTLA-4, CXCR4, DKK, EphA3, GM2, HLA-DR бета, интегрин $\alpha V\beta 3$, IGF-R1, IL6, KIR, PD-1, PD-L1, TRAILR1, TRAILR2, рецептор трансферрина и VEGF. В некоторых случаях ассоциированный с раком антиген представляет собой антиген, экспрессируемый злокачественными В-клетками, такими как CD19, CD20, CD22, CD25, CD38, CD40, CD45, CD74, CD80, CTLA-4, IGF-R1, IL6, PD-1, TRAILR2 или VEGF.

В некоторых случаях ассоциированный с раком антиген представляет собой антиген, связанный с солидной опухолью. Примеры таких антигенов включают, помимо прочего, CAIX, кадхерины, CEA, c-MET, CTLA-4, члены семейства EGFR, EpCAM, EphA3, FAP, фолат-связывающий белок, FR-альфа, ганглиозиды (такие как GC2, GD3 и GM2), HER2, HER3, IGF-1R, интегрин $\alpha V\beta 3$, интегрин $\alpha 5\beta 1$, Le^{gamma}, Liv1, мезотелин, муцины, NaPi2b, PD-1, PD-L1, рецептор PD-1, pgA33, PSMA, RANKL, ROR1, TAG-72, тенацин, TRAILR1, TRAILR2, VEGF, VEGFR и другие, перечисленные выше.

Комплексы пептид/HLA

В некоторых случаях мишенью НОП является комплекс пептид/HLA (pHLA) на поверхности раковой клетки, где пептид может быть ассоциированным с раком пептидом (например, пептидный фрагмент ассоциированного с раком антигена). Ассоциированные с раком пептиды известны в данной области. В некоторых случаях ассоциированный с раком пептид связывается с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA-A*0201 и полипептида $\beta 2M$.

В некоторых случаях эпитоп, присутствующий в pHLA на поверхности раковой клетки, связан с комплексом HLA, включающим тяжелую цепь HLA, такую как HLA-A*0101, A*0201, A*0301, A*1101, A*2301, A*2402, A*2407, A*3303 и/или A*3401. В некоторых случаях эпитоп, присутствующий в pHLA на поверхности раковой клетки, связан с комплексом HLA, включающим тяжелую цепь HLA- B*0702, B*0801, B*1502, B*3802, B*4001, B*4601 и/или B*5301. В некоторых случаях эпитоп, присутствующий в pHLA на поверхности раковой клетки, связан с комплексом HLA, включающим тяжелую цепь HLA, такую как C*0102, C*0303, C*0304, C*0401, C*0602, C*0701, C*702, C*0801 и/или C*1502.

В некоторых случаях эпитоп представляет собой ассоциированный с раком эпитоп любого из следующих ассоциированных с раком антигенов: полипептид MUC1,

полипептид LMP2, полипептид vIII рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), полипептид HER-2/neu, семейство антигенов меланомы A, полипептид 3 (MAGE A3), полипептид p53, мутантный полипептид p53, полипептид NY-ESO-1, полипептид фолат-гидролазы (простат-специфический мембранный антиген; PSMA), полипептид карциноэмбрионального антигена (КЭА), полипептид клаудина (например, клаудин-1, клаудин-10, клаудин-18 (например, клаудин-18, изоформа 2)), полипептид нектин-4, полипептид распознаваемого Т-клетками антигена меланомы (melanA/MART1), полипептид Ras, полипептид gp100, полипептид протеиназы3 (PR1), полипептид bcr-abl, полипептид тирозиназы, полипептид сурвивина, полипептид простатаспецифического антигена (ПСА), полипептид hTERT, полипептид, определяющий точки разрыва транслокации саркомы, полипептид точки разрыва синовиальной саркомы X (SSX), полипептид EphA2, кислая фосфатаза, полипептид простаты (PAP), полипептид ингибитора апоптоза меланомы (ML-IAP), полипептид адгезивной молекулы эпителиальных клеток (EpcAM), полипептид ERG (слитый TMPRSS2 ETS), полипептид NA17, полипептид парного бокса-3 (PAX3), полипептид киназы анапластической лимфомы (ALK), полипептид андрогенового рецептора, полипептид циклина B1, полипептид протоонкогена N-мус (MYCN), полипептид члена C (RhoC) семейства гомолога гена Ras, полипептид белка, связанного с тирозиназой-2 (TRP-2), полипептид мезотелина, полипептид антигена стволовых клеток предстательной железы (PSCA), полипептид ассоциированного с меланомой антигена-1 (MAGE A1), полипептид цитохрома P450 1B1 (CYP1B1), полипептид плацента-специфического белка 1 (PLAC1), полипептид BORIS (также известный как CCCTC-связывающий фактор или CTCF), полипептид ETV6-AML, полипептид антигена рака молочной железы NY-BR-1 (также называемый белок 30A, содержащий домен с повторами анкирина), полипептид регулятора G-белковой сигнализации (RGS5), полипептид антигена плоскоклеточной карциномы, распознаваемый Т-клетками (SART3), полипептид карбоангидразы IX, полипептид парного бокса-5 (PAX5), полипептид OY-TES1 (антиген семенников; также известен как акрозин-связывающий белок), полипептид белка 17 спермы, полипептид протеин-тирозинкиназы (LCK), специфичный для клеток лимфоцитов, высокомолекулярный антиген, ассоциированный с меланомой (HMW-MAA), А-киназный якорный белок-4 (AKAP-4), полипептид точки разрыва 2 синовиальной саркомы X (SSX2), полипептид члена 1 семейства антигенов X (XAGE1), гомолог 3 полипептида B7 (B7H3; также известный как CD276), полипептид легумина (LGMN1; также известен как аспарагинилэндопептидаза), полипептид тирозинкиназы с доменами гомологии Ig и EGF-2 (Tie-2; также известен как рецептор ангиопоэтина-1), полипептид члена семейства 4 P-

антигенов (PAGE4), полипептид рецептора 2 фактора роста эндотелия сосудов (VEGF2), полипептид MAD-CT-1, полипептид белка активации фибробластов (FAP), полипептид рецептор тромбоцитарного фактора роста бета (PDGF β), полипептид MAD-CT-2, полипептид Fos-родственного антигена-1 (FOSL); антиген вируса папилломы человека (ВПЧ); антиген альфа-фетопропротеина (АФП) и антиген опухоли Вильмса-1 (WT1).

Например, в некоторых случаях НОП, присутствующий в ТММР по настоящему изобретению, связывается с: а) пептидом WT-1, связанным с комплексом HLA, включающим тяжелую цепь HLA (например, тяжелая цепь HLA-A*0201 или тяжелая цепь HLA-A*2402) и полипептид β 2M; б) пептидом ВПЧ, связанным с комплексом HLA, включающим тяжелую цепь HLA класса I и полипептид β 2M; в) пептидом мезотелина, связанным с комплексом HLA, включающим тяжелую цепь HLA класса I и полипептид β 2M; г) пептидом Her2, связанным с комплексом HLA, включающим тяжелую цепь HLA класса I и полипептид β 2M; или е) пептидом BCMA, связанным с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA класса I и полипептида β 2M.

В некоторых случаях ассоциированный с раком пептид представляет собой пептид полипептида мезотелина, имеющий по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью мезотелина:

LAGE	TGQEAAPLDG	VLANPPNISS	LSPRQLLGFP	CAEVSGLSTE
RVRELAVALA	QKNVKLSTEQ	LRCLAHRLSE	PPEDLDALPL	DLLLFLNPDA
FSGPQACTRF	FSRITKANVD	LLPRGAPERQ	RLLPAALACW	GVRGSLLSEA
DVRALGGLAC	DLPGRFVAES	AEVLLPRLVS	CPGPLDQDQQ	EAARAALQGG
GPPYGPPSTW	SVSTMDALRG	LLPVLGQPII	RSIPQGIVAA	WRQRSSRDPS
WRQPERTILR	PRFRREVEKT	ACPSGKKARE	IDESLIFYKK	WELEACVDAA
LLATQMDRVN	AIPFTYEQLD	VLKHKLDELY	PQGYPESVIQ	HLGYLFLKMS
PEDIRKWNVT	SLETLKALLE	VNKGHEMSPQ	VATLIDRFVK	GRGQLDKDTL
DTLTAFYPGY	LCSLSPEELS	SVPPSSIWAV	RPQDLDTCDP	RQLDVLYPKA
RLAFQNMNGS	EYFVKIQSFL	GGAPTEDLKA	LSQQNVSMDL	ATFMKLRTDA
VLPLTVAEVQ	KLLGPHVEGL	KAEERHRPVR	DWILRQRQDD	LDTLGLGLQG
GIPNGYLVLD	LSMQEALSGT	PCLLGPGPVL	TVLALLLAST	LA (SEQ ID NO:176).

Например, пептид мезотелина, присутствующий в комплексе pHLA, может представлять собой: i) KLLGPHVEGL (SEQ ID NO:526); ii) AFYPGYLCSL (SEQ ID NO:177), который может связывать HLA-A*2402/ β 2M; iii) VLPLTVAEV (SEQ ID NO:178); iv) ELAVALAQK (SEQ ID NO:179); v) ALQGGGPPY (SEQ ID NO:180); vi) FYPGYLCSL (SEQ ID NO:181); vii) LYPKARLAF (SEQ ID NO:182); viii) LLFLLFSLGWVGPSR (SEQ ID NO:183); ix)

VNKGHEMSPQAPRRP (SEQ ID NO:184); x) FMKLRTDAVLPLTVA (SEQ ID NO:185) или xi) DAALLATQMD (SEQ ID NO:186).

В некоторых случаях ассоциированный с раком пептид представляет собой пептид полипептида Her2, имеющий по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью Her2 (рецепторной тирозин-протеиновой киназы erbB2):

MELAALCRWG LLLALLPPGA ASTQVCTGTD MKLRLPASPE THLDMLRHLY
 QGCQVVQGNL ELTYLPTNAS LSFLQDIQEV QGYVLIHNPQ VRQVPLQRLR
 IVRGTQLFED NYALAVLDNG DPLNNTTPVT GASPGLREL QLRSLTEILK
 GGVLIQRNPQ LCYQDTILWK DIFHKNNQLA LTLIDTNRSR ACHPCSPMCK
 GSRCWGESSE DCQSLTRTVC AGGCARCKGP LPTDCCHEQC AAGCTGPKHS
 DCLACLHFNH SGICELHCPA LVTYNTDTFE SMPNPEGRTY FGASCVTACP
 YNYLSTDVGS CTLVCPLHNQ EVTAEDGTQR CEKCSKPCAR VCYGLGMEHL
 REVRAVTSAN IQEFAGCKKI FGSLAFLPES FDGDPASNTA PLQPEQLQVF
 ETLEEITGYL YISAWPDSLP DLSVFQNLQV IRGRILHNGA YSLTLQGLGI
 SWLGLRSLRE LGSGLALHH NTHLCFVHTV PWDQLFRNPH QALLHTANRP
 EDECVGEGLA CHQLCARGHC WGP GPTQCVN CSQFLRGQEC VEECRVLQGL
 PREYVNARHC LPCHPECQPQ NGSVTCFGPE ADQCVACAHY KDPPFCVARC
 PSGVKPDLSY MPIWKFPDEE GACQPCPINC THSCVDLDDK GCPAEQRASP
 LTSIISAVVG ILLVVVLGVV FGILIKRRQQ KIRKYTMRRLL LQETELVEPL
 TPSGAMPNQA QMRILKETEL RKVKVLGSGA FGTVYKGIWI PDGENVKIPV
 AIKVLRENTS PKANKEILDE AYVMAGVGSP YVSRLLGICL TSTVQLVTQL
 MPYGCLLDHV RENRGRLGSQ DLLNWCMQIA KGMSYLEDVR LVHRDLAARN
 VLVKSPNHVK ITDFGLARLL DIDETEYHAD GGKVPIKWMA LESILRRRFT
 HQSDVWSYGV TVWELMTFGA KPYDGIPARE IPDLLEKGER LPQPPICTID
 VYMIMVKCWM IDSECRPRFR ELVSEFSRMA RDPQRFVVIQ NEDLGPA SPL
 DSTFYRSLLE DDDMGDLVDA EEYLVPQQGF FCPDPAPGAG GMVHHRHRSS STRNM
 (SEQ ID NO:187).

В некоторых случаях ассоциированный с раком пептид представляет собой пептид полипептида BCMA, имеющий по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью BCMA:

MLQMAGQCSQ NEYFDSLHA CIPCQLRCSS NTPPLTCQRY CNASVTNSVK
 GTNAILWTCL GLSLIISLAV FVLMFLLRKI SSEPLKDEFK NTGSGLLGMA

NIDLEKSRTG DEILPRGLE YTVEECTCED CIKSKPKVDS DHCFLPAME
EGATILVTTK TNDYCKSLPA ALSATEIEKS ISAR (SEQ ID NO:188).

В некоторых случаях ассоциированный с раком пептид представляет собой пептид полипептида WT-1, имеющий по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью WT-1:

MDFLLLQDPA STCVPEPASQ HTLRSGPGCL QQPEQQGVDR PGGIWAKLGA
AEASAERLQG RRSRGASGSE PQQMGSVDVR LNALLPAVPS LGGGGGCGALP
VSGAAQWAPV LDFAPPGASA YGSLGGPAPP PAPPPPPPPP PHSFIKQEPS
WGGAEPEHEEQ CLSAFTVHFS GQFTGTAGAC RYGPFGPPPP SQASSGQARM
FPNAPYLPSC LESQPAIRNQ GYSTVTFDGT PSYGHTPSHH AAQFPNHSFK
HEDPMGQQGS LGEQQYSVPP PVYGCHTPTD SCTGSQALLL RTPYSSDNLY
QMTSQLECMT WNQMNLGATL KGHSTGYESD NHTTPILCGA QYRIHTHGVF
RGIQDVRRVP GVAPTLVRSА SETSEKRPFM CAYPGCNKRY FKLSHLQMHS
RKHTGEKPYQ CDFKDCERRF SRSDQLKRHQ RRHTGVKPFQ CKTCQRKFSR
SDHLKTHTRT HTGEKPFSCR WPSCQKKFAR SDELVRHHNM HQRNMTKLQL AL (SEQ
ID NO:189).

Неограничивающие примеры пептидов WT-1 включают RMFPNAPYL (SEQ ID NO:190), CMTWNQMN (SEQ ID NO:191), CYTWNQMNL (SEQ ID NO:192), CMTWNQMNLGATLKG (SEQ ID NO:193), WNQMNLGATLKGVAA (SEQ ID NO:194), CMTWNYMNLGATLKG (SEQ ID NO:195), WNYMNLGATLKGVAA (SEQ ID NO:196), MTWNQMNLGATLKG (SEQ ID NO:197), TWNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:198), CMTWNLMNLGATLKG (SEQ ID NO:199), MTWNLMNLGATLKG (SEQ ID NO:200), TWNLMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:201), WNLNMNLGATLKGVAA (SEQ ID NO:202), MNLGATLK (SEQ ID NO:203), MTWNYMNLGATLKG (SEQ ID NO:204), TWNYMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:205), CMTWNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:206), CMTWNLMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:207), CMTWNYMNLGATLKGVA (SEQ ID NO:208), GYLRNPTAC (SEQ ID NO:209), GALRNPTAL (SEQ ID NO:210), YALRNPTAC (SEQ ID NO:211), GLLRNPTAC (SEQ ID NO:212), RYRPHPGAL (SEQ ID NO:213), YQRPHPGAL (SEQ ID NO:214), RLRPHPGAL (SEQ ID NO:215), RIRPHPGAL (SEQ ID NO:216), QFPNHSFKHEDPMGQ (SEQ ID NO:217), HSFKHEDPY (SEQ ID NO:218), QFPNHSFKHEDPM (SEQ ID NO:219), QFPNHSFKHEDPY (SEQ ID NO:220), KRPFMCAYPGCNK (SEQ ID NO:221), KRPFMCAYPGCYK (SEQ ID NO:222), FMCAYPGCY (SEQ ID NO:223), FMCAYPGCK (SEQ ID NO:224), KRPFMCAYPGCNKRY (SEQ ID NO:225), SEKRPFMCAYPGCNK (SEQ ID NO:226), KRPFMCAYPGCYKRY (SEQ

ID NO:227), NLMNLGATL (SEQ ID NO:228) и NYMNLGATL (SEQ ID NO:229).

В некоторых случаях ассоциированный с раком пептид представляет собой пептид полипептида вируса папилломы человека (ВПЧ), имеющий по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с полипептидом ВПЧ. Пептид ВПЧ может быть пептидом полипептида ВПЧ Е6 или полипептида ВПЧ Е7. Эпитоп ВПЧ может быть эпитопом ВПЧ любого из множества генотипов, включая, например, HPV16, HPV18, HPV31, HPV33, HPV35, HPV39, HPV45, HPV51, HPV52, HPV56, HPV58, HPV59, HPV68, HPV73 или HPV82. Неограничивающие примеры пептидов ВПЧ включают: Е6 18-26 (KLPQLCTEL; SEQ ID NO:230); Е6 26-34 (LQTTIHDII; SEQ ID NO:231); Е6 49-57 (VYDFAFRDL; SEQ ID NO:232); Е6 52-60 (FAFRDLCIV; SEQ ID NO:233); Е6 75-83 (KFYSKISEY; SEQ ID NO:234); Е6 80-88 (ISEYRHYCY; SEQ ID NO:235); Е7 7-15 (TLHEYMLDL; SEQ ID NO:236); Е7 11-19 (YMLDLQPET; SEQ ID NO:237); Е7 44-52 (QAEPDRAHY; SEQ ID NO:238); Е7 49-57 (RAHYNIVTF (SEQ ID NO:239); Е7 61-69 (CDSTLRRLCV; SEQ ID NO:240); и Е7 67-76 (LCVQSTHVDI; SEQ ID NO:241); Е7 82-90 (LLMGTLGIV; SEQ ID NO:242); Е7 86-93 (TLGIVCPI; SEQ ID NO:243); и Е7 92-93 (LLMGTLGIVCPI; SEQ ID NO:244).

В некоторых случаях ассоциированный с раком пептид представляет собой пептид полипептида клаудина, имеющий по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью клаудина-18 (изоформа 2) (CLDN 18.2):

MAVTACQGLG FVVSLIGIAG IIAATCMDQW STQDLYNNPV TAVFNYQGLW
RSCVRESSGF TECRGYFTLL GLPAMLQAVR ALMIVGIVLG AIGLLVSIFA
LKCIRIGSME DSAKANMTLT SGIMFIVSGL CAIAGVSVFA NMLVTNFWMS
TANMYTGMGG MVQTVQTRYT FGAALFVGWV AGGLTLIGGV MMCIACRGLA
PEETNYKA VS YHASGHSVAY KPGGFKASTG FGSNTKNKKI YDGGARTEDE
VQSYP SKHDY V (SEQ ID NO:245). В некоторых случаях ассоциированный с раком пептид представляет собой пептид полипептида клаудина, имеющего аминокислотную последовательность TEDEVQSYP SKHDYV (SEQ ID NO:246) (и имеющего длину около 15 аминокислот) или EVQSYP SKHDYV (SEQ ID NO:247) (и имеющего длину около 12 аминокислот).

Антитела

Как отмечалось выше, в некоторых случаях НОП, присутствующий в ТММР по настоящему изобретению, представляет собой антитело. В некоторых случаях НОП

представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком антигена. В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для комплекса пептид/HLA на поверхности раковой клетки, где пептид может быть ассоциированным с раком пептидом (например, пептидом ассоциированного с раком антигена).

Неограничивающие примеры антител, нацеленных на ассоциированный с раком антиген, которые могут быть включены в ТКМП по настоящему изобретению, включают, помимо прочего, абитузумаб (анти-CD51), LL1 (анти-CD74), LL2 или RFB4 (анти-CD22), велтузумаб (hA20, анти-CD20), ритуксумаб (анти-CD20), обинутузумаб (GA101, анти-CD20), даратумумаб (анти-CD38), ламбролизумаб (анти-PD-1 рецептор), ниволумаб (анти-PD-1 рецептор), ипилимумаб (анти-CTLA-4), RS7 (анти-TROP-2), PAM4 или KC4 (оба являются антимуцином), MN-14 (анти-CEA), MN-15 или MN-3 (анти-CEACAM6), Mu-9 (антиколоноспецифический антиген-p), Immu 31 (анти-альфа-фетопротеин), R1 (анти-IGF-1R), A19 (анти-CD19), TAG-72 (например, CC49), Tn, J591 или HuJ591 (анти-PSMA), AB-PG1-XG1-026 (анти-PSMA димер), D2/B (анти-PSMA), G250 (антикарбоангидраза IX), L243 (анти-HLA-DR) алектумумаб (анти-CD52), опортумумаб (анти-EpCAM), бевацизумаб (анти-VEGF), цетуксимаб (анти-EGFR), гемтузумаб (анти-CD33), ибритумумаб тиуксетан (анти-CD20); панитумумаб (анти-EGFR); тоситумумаб (анти-CD20); PAM4 (также известный как кливатузумаб; антимуцин), трастузумаб (анти-HER2), пертузумаб (анти-HER2), полатузумаб (анти-CD79b) и анетумаб (антимезотелин).

В некоторых случаях нацеленный на опухоль пептид представляет собой антитело. В некоторых случаях нацеленный на опухоль пептид представляет собой одноцепочечное антитело. В некоторых случаях нацеленный на опухоль пептид представляет собой scFv. В некоторых случаях нацеленный на опухоль полипептид представляет собой нанотело (также называемое однодоменным антителом (sdAb, англ.: single domain antibody)). В некоторых случаях нацеленный на опухоль полипептид представляет собой нанотело, состоящее только из тяжёлых цепей. В некоторых случаях нацеленный на опухоль полипептид представляет собой нанотело, состоящее только из легких цепей.

Аминокислотные последовательности VH и VL различных антител, связывающих опухолевые антигены, известны в данной области, как и CDR легкой и тяжелой цепи таких антител. См., например, Ling et al. (2018) *Frontiers Immunol.* 9:469; WO 2005/012493; US 2019/0119375; US 2013/0066055. Ниже приведены не ограничивающие примеры антител, связывающих опухолевые антигены.

Анти-Her2

В некоторых случаях анти-Her2 антитело содержит: а) легкую цепь, включающую

аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:248) и b) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичность аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:249).

В некоторых случаях анти-Her2 антитело содержит вариабельную область легкой цепи (VL), присутствующую в аминокислотной последовательности легкой цепи, представленной выше; и вариабельную область тяжелой цепи (VH), присутствующую в аминокислотной последовательности тяжелой цепи, представленной выше. Например, анти-Her2 антитело может содержать: а) VL, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:250) и b) VH, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPT

NGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYW GQGTLVTVSS (SEQ ID NO:251). В некоторых случаях анти-Her2 антитело содержит, в порядке от N-конца к С-концу: а) VH, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPT NGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYW GQGTLVTVSS (SEQ ID NO:252); б) линкер и с) VL, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLY SGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:253). Подходящие линкеры описаны в других разделах настоящего документа и включают, например, (GGGGS)*n* (SEQ ID NO: 254), где *n* - целое число от 1 до 10 (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10).

В некоторых случаях анти-Her2 антитело содержит CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, присутствующие в аминокислотной последовательности легкой цепи, представленной выше; и CDR1, CDR2 и CDR3 VH, присутствующие в аминокислотной последовательности тяжелой цепи, представленной выше. В некоторых случаях CDR V_H и V_L соответствуют определению по Kabat (см., например, таблицу 2, выше; и Kabat 1991). В некоторых случаях CDR V_H и V_L соответствуют определению по Chothia (см., например, таблицу 2, выше; и Chothia 1987).

Например, анти-Her2 антитело может содержать CDR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность RASQDVNTAVA (SEQ ID NO:255); CDR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность SASFLY (SEQ ID NO:256); CDR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность QQHYTTPP (SEQ ID NO:257); CDR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность GFNIKDTY (SEQ ID NO:258); CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность IYPTNGYT (SEQ ID NO:259); и CDR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность SRWGGDGFYAMDY (SEQ ID NO:260).

В некоторых случаях анти-Her2 антитело представляет собой scFv антитела. Например, анти-Her2 scFv может содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по

меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPT
NGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYW
GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDVNTAVA
WYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTT
PPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:261).

В качестве другого примера, в некоторых случаях анти-Her2 антитело содержит: а) вариабельную область легкой цепи (VL), включающую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRY
TGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPRKAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSL
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:262) и б)

вариабельную область тяжелой цепи (VH), включающую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYMMDWVRQAPGKGLEWVADV
PNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWG
QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR
EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:263).

В некоторых случаях анти-Her2 антитело содержит VL присутствующую в аминокислотной последовательности легкой цепи, представленной выше; и VH присутствующую в аминокислотной последовательности тяжелой цепи, представленной выше. Например, анти-Her2 антитело может содержать: а) VL, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:264) и

b) VH, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVADV
PNSGGSIIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGPSFYFDYWG
QGTLVTVSS (SEQ ID NO:265).

В некоторых случаях анти-Her2 антитело содержит CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, присутствующие в аминокислотной последовательности легкой цепи, представленной выше; и CDR1, CDR2 и CDR3 VH, присутствующие в аминокислотной последовательности тяжелой цепи, представленной выше. В некоторых случаях CDR V_H и V_L соответствуют определению по Kabat (см., например, таблицу 2, выше; и Kabat 1991). В некоторых случаях CDR V_H и V_L соответствуют определению по Chothia (см., например, таблицу 2, выше; и Chothia 1987).

Например, анти-HER2 антитело может содержать CDR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность KASQDVSIGVA (SEQ ID NO:266); CDR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность SASYRY (SEQ ID NO:267); CDR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность QQYYIYPY (SEQ ID NO:268); CDR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность GFTFTDYTMD (SEQ ID NO:269); CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность ADVNPNSGGSIIYNQRFK (SEQ ID NO:270); и CDR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность ARNLGPSFYFDY (SEQ ID NO:271).

В некоторых случаях анти-Her2 антитело представляет собой scFv. Например, в некоторых случаях, анти-Her2 scFv содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPT
NGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWG
GGTGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQDVNTAVA
WYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTT
PPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:272).

Анти-CD19

Анти-CD19 антитела известны в данной области; и VH и VL или CDR VH и VL любого анти-CD19 антитела могут быть использованы в ТММР по настоящему изобретению. См., например, WO 2005/012493.

В некоторых случаях анти-CD19 антитело содержит CDR1 VL, содержащую аминокислотную последовательность KASQSVDYDGDSYLN (SEQ ID NO:273); CDR2 VL, содержащую аминокислотную последовательность DASNLVS (SEQ ID NO:274) и CDR3 VL, содержащую аминокислотную последовательность QQSTEDPWT (SEQ ID NO:275). В некоторых случаях анти-CD19 антитело содержит CDR1 VH, содержащую аминокислотную последовательность SYWMN (SEQ ID NO:276); CDR2 VH, содержащую аминокислотную последовательность QIWPGDGDNTYNGKFKG (SEQ ID NO:277) и CDR3 VH, содержащую аминокислотную последовательность RETTTVGRYYYAMDY (SEQ ID NO:278). Например, анти-CD19 антитело содержит CDR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность KASQSVDYDGDSYLN (SEQ ID NO:279); CDR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность DASNLVS (SEQ ID NO:280); CDR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность QQSTEDPWT (SEQ ID NO:281); CDR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность SYWMN (SEQ ID NO:282); CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность QIWPGDGDNTYNGKFKG (SEQ ID NO:283); и CDR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность RETTTVGRYYYAMDY (SEQ ID NO:284).

В некоторых случаях анти-CD19 антитело представляет собой scFv. Например, в некоторых случаях, анти-CD19 scFv содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:

DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWYQQIPGQPPKLLIYDA
SNLVSGIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPVEKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGGKLEIKGGGG
SGGGSGGGGSQVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPQGQLE
WIGQIWPGDGDNTYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTV
GRYYYAMDYWGQGTTVTVS (SEQ ID NO:285).

Анти-мезотелин

Анти-мезотелиновые антитела известны в данной области; и VH и VL или CDR VH и VL любого анти-мезотелин антитела могут быть использованы в ТММР по настоящему изобретению. См., например, US 2019/0000944; WO 2009/045957; WO 2014/031476; USPN 8 460 660; US 2013/0066055 и WO 2009/068204.

В некоторых случаях анти-мезотелиновое антитело содержит: а) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:

DIALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDIGGYNSVSWYQQHPGKAPKLMYGVNNR
PSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYDIESATPVFGGGTKLTVLGQPKA
APSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKGDSSPVKAGVETTTTPSKQSNN
KYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTESS (SEQ ID NO:286); и

б) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:

QVELVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQAPGKGLEWMGIIDPG
DSRTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGQLYGGTYMDGWGQ
GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:287).

В некоторых случаях анти-мезотелиновое антитело содержит VL присутствующую в аминокислотной последовательности легкой цепи, представленной выше; и VH присутствующую в аминокислотной последовательности тяжелой цепи, представленной выше. Например, анти-мезотелиновое антитело может содержать: а) VL, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью: DIALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDIGGYNSVSWYQQHPGKAPKLMYGVNNRPSGV SNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYDIESATPVFGGGTK (SEQ ID NO: 288) и б) VH, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью:

QVELVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQAPGKGLEWMGIIDPG

DSRTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGQLYGGTYMDGWGQ
GTLVTVSS (SEQ ID NO: 289).

В некоторых случаях анти-мезотелиновое антитело содержит CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, присутствующие в аминокислотной последовательности легкой цепи, представленной выше; и CDR1, CDR2 и CDR3 VH, присутствующие в аминокислотной последовательности тяжелой цепи, представленной выше. В некоторых случаях CDR V_H и V_L соответствуют определению по Kabat (см., например, таблицу 2, выше; и Kabat 1991). В некоторых случаях CDR V_H и V_L соответствуют определению по Chothia (см., например, таблицу 2, выше; и Chothia 1987).

Например, анти-мезотелиновое антитело может содержать CDR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность TGTSSDIGGYNSVS (SEQ ID NO:290); CDR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность LMIYGVNNRPS (SEQ ID NO:291); CDR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность SSYDIESATP (SEQ ID NO:292); CDR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность GYSFTSYWIG (SEQ ID NO:293); CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность WMGIIDPGDSRTRYSP (SEQ ID NO:294); и CDR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность GQLYGGTYMDG (SEQ ID NO:295).

Анти-мезотелиновое антитело может представлять собой scFv. В качестве одного не ограничивающего примера, анти-мезотелиновый scFv может включать следующую аминокислотную последовательность:

QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGRIN
PNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSEDAVYYCARGRYYGMDVWGQ
GTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATISCRASQSVSSN
FAWYQQRPGQAPRLLIYDASNRATGIPPRFSGSGSGTDFTLTISSLEPED
FAAYYCHQRSNWLYTFGQGTKVDIK (SEQ ID NO:296), где CDR1, CDR2 и CDR3 VH подчеркнуты; и CDR1, CDR2 и CDR3 VL выделены жирным шрифтом и подчеркнуты.

В качестве одного не ограничивающего примера, анти-мезотелиновый scFv может включать следующую аминокислотную последовательность:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWI
NPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARDLRRTVVTPRA
YYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSTLSASVGDRVTI
TCQASQDISNSLNWYQQKAGKAPKLLIYDASTLETGVPSRFSGSGSGTDFSF
TISSLQPEDIATYYCQQHDNLPLTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:297), где CDR1, CDR2 и CDR3 VH подчеркнуты; и CDR1, CDR2 и CDR3 VL выделены жирным шрифтом и подчеркнуты.

Анти-BCMA

Анти-BCMA (антиген созревания В-клеток) антитела известны в данной области; и VH и VL, или CDR VH и VL, любого анти-BCMA антитела могут быть использованы в ТММР по настоящему изобретению. См., например, WO 2014/089335; US 2019/0153061 и WO 2017/093942.

В некоторых случаях анти-BCMA антитело содержит: а) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIFNYHQRPSGVPDRFSGSKSGSSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPDSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:298); и

б) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFGDYALSWFRQAPGKGLEWVGVSRSKAYGGTTDYAASVKGRFTISRDDSKSTAYLQMNSLKTEDTAVYYCASSGYSSGWTPFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:299).

В некоторых случаях анти-BCMA антитело содержит VL присутствующую в аминокислотной последовательности легкой цепи, представленной выше; и VH присутствующую в аминокислотной последовательности тяжелой цепи, представленной выше. Например, анти-BCMA антитело может содержать: а) VL, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью:

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIFNYHQRPSGVPDRFSGSKSGSSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPDSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (SEQ ID NO:298); и

SGVPDRFSGSKSGSSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLTVLG (SEQ ID NO:300) и b) VH, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью:

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFGDYALSWFRQAPGKGLEWVGVSRS
KAYGGTTDYAASVKGRFTISRDDSKSTAYLQMNSLKTEDTAVYYCASSGYSSGWTPFD
YWGQGTLLTVSSASTKGPSV (SEQ ID NO:301).

В некоторых случаях анти-BCMA антитело содержит CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, присутствующие в аминокислотной последовательности легкой цепи, представленной выше; и CDR1, CDR2 и CDR3 VH, присутствующие в аминокислотной последовательности тяжелой цепи, представленной выше. В некоторых случаях CDR V_H и V_L соответствуют определению по Kabat (см., например, таблицу 2, выше; и Kabat 1991). В некоторых случаях CDR V_H и V_L соответствуют определению по Chothia (см., например, таблицу 2, выше; и Chothia 1987).

Например, анти-BCMA антитело может содержать CDR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность SSNIGSNT (SEQ ID NO:302), CDR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность NYH, CDR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность AAWDDSLNGWV (SEQ ID NO:303), CDR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность GFTFGDYA (SEQ ID NO:304), CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность SRSKAYGGTT (SEQ ID NO:305) и CDR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность ASSGYSSGWTPFDY (SEQ ID NO:306).

Анти-BCMA антитело может представлять собой scFv. В качестве одного не ограничивающего примера, анти-BCMA scFv может включать следующую аминокислотную последовательность:

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSNYWMHWVRQAPGQGLEWMGAT
YRGHSDTYYNQKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGAIYNGYDVLD
NWGQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSAS
QDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSLNLSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY
YCQQYRKLPWTFGQGTKLEIKR (SEQ ID NO:307).

В качестве другого примера, анти-BCMA scFv может включать следующую аминокислотную последовательность:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSLNLS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYRKLPWTFGQGTKLEIKRGGGGSGG
GGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSNYWMHWVRQAPGQ

GLEWMGATYRGHSDTYYNQKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGAI
YNGYDVLDN WGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:308).

В других случаях, анти-BCMA антитело может содержать CDR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность SASQDISNYLN (SEQ ID NO:309); CDR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность YTSNLHS (SEQ ID NO:310); CDR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность QQYRKLPWT (SEQ ID NO:311); CDR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность NYWMH (SEQ ID NO:312); CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность ATYRGHSDTYYNQKFKG (SEQ ID NO:313); и CDR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность GAIYNGYDVLDN (SEQ ID NO:314).

В некоторых случаях анти-BCMA антитело содержит: а) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSNLH
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYRKLPWTFGQGTKLEIKR (SEQ ID
NO:315).

В некоторых случаях анти-BCMA антитело содержит: а) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSNYWMHWVRQAPGQGLEWMGAT
YRGHSDTYYNQKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGAIYDGYDVLD
NWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:316).

В некоторых случаях анти-BCMA антитело (например, антитело, упоминаемое в литературе как белантамаб) содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSNLH
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYRKLPWTFGQGTKLEIKR (SEQ ID
NO:317); и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность:
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSNYWMHWVRQAPGQGLEWMGATYRGHS
DTYYNQKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGAIYDGYDVLDN WGQ
GT LVT VSS (SEQ ID NO:318).

В некоторых случаях анти-BCMA антитело имеет химиотерапевтический агент против рака, связанный с антителом. Например, в некоторых случаях анти-BCMA антитело представляет собой GSK2857916 (белантамаб-мафодотин), где монометил ауристатин F (MMAF) связан через малеимидокапроильный линкер с анти-BCMA антителом белантамабом.

Анти-MUC1

В некоторых случаях НОП, присутствующий в ТММР по настоящему изобретению, представляет собой антитело, специфичное для MUC1. Например, НОП может быть специфичным для полипептида MUC1, присутствующего на раковой клетке. В некоторых случаях НОП специфичен для расщепленной формы MUC1; см. например, Fessler et al. (2009) *Breast Cancer Res. Treat.* 118:113. В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное к гликозилированному пептиду MUC1; см. например, Naito et al. (2017) *ACS Omega* 2:7493 и US 10 017 580.

В качестве одного не ограничивающего примера, НОП может представлять собой одноцепочечный Fv, специфичный для MUC1. См., например, Singh et al. (2007) *Mol. Cancer Ther.* 6:562; Thie et al. (2011) *PLoSOne* 6:e15921; Imai et al. (2004) *Leukemia* 18:676; Posey et al. (2016) *Immunity* 44:1444; EP3130607; EP3164418; WO 2002/044217 и US 2018/0112007. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, специфичный для пептида MUC1 VTSAPDTRPAPGSTAPPANG (SEQ ID NO:319). В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, специфичный для пептида MUC1 SNIKFRPGSVVVQLTLAFREGTINVHDTVETQFNQYKTEAASRY (SEQ ID NO:320). В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, специфичный для пептида MUC1 SVVVQLTLAFREGTINVHDTVETQFNQYKTEAASRY (SEQ ID NO:321). В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, специфичный для пептида MUC1 LAFREGTINVHDTVETQFNQY (SEQ ID NO:322). В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, специфичный для пептида MUC1 SNIKFRPGSVVVQLTLAAFREGTIN (SEQ ID NO:323).

Например, анти-MUC1 антитело может содержать CDR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность RYGMS (SEQ ID NO:324); CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность TISGGGTYYYPDSVKG (SEQ ID NO:325); CDR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность DNYGRNYDYGMDY (SEQ ID NO:326); CDR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность SATSSVSYIH (SEQ ID NO:327); CDR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность STSNLAS (SEQ ID NO:328); и CDR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность QQRSSSPFT (SEQ ID NO:329). См., например, US 2018/0112007.

В другом примере, анти-MUC1 антитело может содержать CDR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность GYAMS (SEQ ID NO:330); CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность TISSGGTYIYYPDSVKG (SEQ ID NO:331); CDR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность LGGDNYEYFDV (SEQ ID NO:332); CDR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность RASKSVSTSGYSYMH (SEQ ID NO:333); CDR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность LASNLES (SEQ ID NO:334); и CDR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность QHSRELPFT (SEQ ID NO:335). См., например, US 2018/0112007.

В другом примере, анти-MUC1 антитело может содержать CDR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность DYAMN (SEQ ID NO:336); CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность VISTFSGNINFNQKFKG (SEQ ID NO:337); CDR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность SDYYGPYFDY (SEQ ID NO:338); CDR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность RSSQTIVHSNGNTYLE (SEQ ID NO:339); CDR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность KVSNRFS (SEQ ID NO:340); и CDR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность FQGSHVPFT (SEQ ID NO:341). См., например, US 2018/0112007.

В другом примере, анти-MUC1 антитело может содержать CDR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность GYAMS (SEQ ID NO:342); CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность TISSGGTYIYYPDSVKG (SEQ ID NO:343); CDR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность LGGDNYEY (SEQ ID NO:344); CDR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность TASKSVSTSGYSYMH (SEQ ID NO:345); CDR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность LVSNLES (SEQ ID NO:346); и CDR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность QHIRELTRSE (SEQ ID NO:347). См., например, US 2018/0112007.

Анти-MUC16

В некоторых случаях НОП, присутствующий в ТММР по настоящему изобретению, представляет собой антитело, специфичное для MUC16 (также известного как CA125). См., например, Yin et al. (2002) *Int. J. Cancer* 98:737. Например, НОП может быть специфичным для полипептида MUC16, присутствующего на раковой клетке. См., например, US 2018/0118848 и US 2018/0112008. В некоторых случаях специфичный для MUC16 НОП представляет собой scFv. В некоторых случаях специфичный для MUC16 НОП представляет собой нанотела.

В одном примере, анти-MUC16 антитело может содержать CDR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность GFTFSNYY (SEQ ID NO:348); CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность ISGRGSTI (SEQ ID NO:349); CDR3 VH, имеющую

аминокислотную последовательность VKDRGGYSPY (SEQ ID NO:350); CDR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность QSISTY (SEQ ID NO:351); CDR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность TAS, и CDR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность QQSYSTPPIT (SEQ ID NO:352). См., например, US 2018/0118848.

Анти-клаудин-18.2

В некоторых случаях НОП, присутствующий в ТММР по настоящему изобретению, представляет собой антитело, специфичное для изоформы 2 клаудина-18 («клаудин-18.2»). См., например, WO 2013/167259. В некоторых случаях клаудин-18.2-специфичный НОП представляет собой scFv. В некоторых случаях клаудин-18.2-специфичный НОП представляет собой нанотело. В некоторых случаях НОП, присутствующий в ТММР по настоящему изобретению, представляет собой антитело, специфичное для TEDEVQSYPSKHDYV (SEQ ID NO:246) или EVQSYPSKHDYV (SEQ ID NO:247).

В одном примере, анти-клаудин-18.2 антитело может содержать CDR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность GYTFTDYS (SEQ ID NO:563); CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность INTETGVP (SEQ ID NO:564); CDR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность ARRTGFDY (SEQ ID NO:565); CDR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность KNLLHSDGITY (SEQ ID NO:566); CDR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность RVS, и CDR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность VQVLELPFT (SEQ ID NO:567).

В другом примере, анти-клаудин-18.2 антитело может содержать CDR1 VH, имеющую аминокислотную последовательность GFTFSSYA (SEQ ID NO:568); CDR2 VH, имеющую аминокислотную последовательность ISDGGSYS (SEQ ID NO:569); CDR3 VH, имеющую аминокислотную последовательность ARDSYYDNSYVRDY (SEQ ID NO:570); CDR1 VL, имеющую аминокислотную последовательность QDINTF (SEQ ID NO:571); CDR2 VL, имеющую аминокислотную последовательность RTN, и CDR3 VL, имеющую аминокислотную последовательность LQYDEFPLT (SEQ ID NO:572).

Одноцепочечные Т-клеточные рецепторы

Как отмечалось выше, в некоторых случаях НОП, присутствующий в ТММР по настоящему изобретению, представляет собой оцТКР. НОП может быть оцТПК, специфичным для комплекса пептид/HLA на поверхности раковой клетки, где пептид может быть ассоциированным с раком пептидом (например, пептидом ассоциированного с раком антигена). Аминокислотные последовательности оцТКР, специфичные для ассоциированных с раком пептидов, связанных с комплексом HLA, известны в данной

области. См., например, US 2019/0135914; US 2019/0062398 и US 2018/0371049.

ОцТКР включает переменную область альфа-цепи ($V\alpha$) и переменную область бета-цепи ($V\beta$), ковалентно связанные через подходящую последовательность пептидного линкера. Например, $V\alpha$ может быть ковалентно связан с $V\beta$ посредством подходящей последовательности пептидного линкера (L), соединенной с С-концом $V\alpha$ и N-концом $V\beta$. ОцТКР может иметь структуру $V\alpha$ -L- $V\beta$. ОцТКР может иметь структуру $V\beta$ -L- $V\alpha$. ОцТКР может также содержать константный домен (также называемый константной областью). В некоторых случаях оцТКР содержат, в порядке от N-конца к С-концу: i) полипептид переменного домена α -цепи ТКР; ii) пептидный линкер; iii) полипептид переменного домена β -цепи ТКР; и iv) полипептид внеклеточного домена константной области β -цепи ТКР. В некоторых случаях оцТКР содержат, в порядке от N-конца к С-концу: i) полипептид переменного домена β -цепи ТКР; ii) пептидный линкер; iii) полипептид переменного домена α -цепи ТКР; и iv) полипептид внеклеточного домена константной области α -цепи ТКР.

Аминокислотные последовательности оцТКР, специфичных для комплексов пептид/HLA, где пептид является ассоциированным с раком пептидом, известны в данной области. См., например, US 2019/0135914; US 2019/0062398; US 2018/0371049; US 2019/0144563 и US 2019/0119350.

Например, оцТКР может быть специфичным для эпитопа NY-ESO, такого как пептид SLLMWITQC, связанный с комплексом HLA, включающим тяжелую цепь HLA-A*0201 и полипептид β 2M. В качестве примера, такой оцТКР может содержать: i) переменную область α -цепи ТКР, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью:

MQEVTQIPAALSVPEGENLVNCSFTDSAIYNLQWFRQDPGKGLTSLLLIQSSQR
EQTSGRNLNASLDKSSGRSTLYIAASQPGDSATYLC AVRPTSGGSYIPTFGRGTSLIVHPY
(SEQ ID NO:353), где аминокислота 20 может быть V или A; аминокислота 51 может быть Q, P, S, T или M; аминокислота 52 может быть S, P, F или G, аминокислота 53 может быть S, W, H или T; аминокислота 94 может быть P, H или A; аминокислота 95 может быть T, L, M, A, Q, Y, E, I, F, V, N, G, S, D или R; аминокислота 96 может быть S, L, T, Y, I, Q, V, E, A, W, R, G, H, D или K; аминокислота 97 может быть G, D, N, V, S, T или A; аминокислота 98 может быть G, P, H, S, T, W или A; аминокислота 99 может быть S, T, Y, D, H, V, N, E, G, Q, K, A, I или R; аминокислота 100 может быть Y, F, M или D; аминокислота 101 может быть I, P, T или M; и аминокислота 103 может быть T или A; и ii)

вариабельную область β -цепи ТКР, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью:

MGVTQTPKFQVLKTGQSMTLQCAQDMNHEYMSWYRQDPGMGLRLIHYSVGA
GITDQGEVPNGYNVSRSTTEDFPLRLLSAAPSQTSVYFCASSYVGNTGELFFGEGSRLTV
L (SEQ ID NO:354), где аминокислота 18 может быть М или V; аминокислота 50 может быть G, V или I; аминокислота 52 может быть G или Q; аминокислота 53 может быть I, T или M; аминокислота 55 может быть D или R; аминокислота 56 может быть Q или R; аминокислота 70 может быть T или I; аминокислота 94 может быть Y, N или F; аминокислота 95 может быть V или L; и аминокислота 97 может быть N, G или D. Например, в некоторых случаях оцТКР может содержать: i) вариабельную область α -цепи ТКР, содержащую аминокислотную последовательность:

MQEVTPQAALSVPEGENLVNCSFTDSAIYNLQWFRQDPGKGLTSLLLIMSHQR
EQTSGRNLNASLDKSSGRSTLYIAASQPGDSATYLC AVRPTSGGSYIPTFGRGTSLIVHPY
(SEQ ID NO:355) и вариабельную область β -цепи ТКР, содержащую аминокислотную последовательность:

MGVTQTPKFQVLKTGQSMTLQCAQDMNHEYMSWYRQDPGMGLRLIHYSVSAG
ITDQGEVPNGYNVSRSTTEDFPLRLLSAAPSQTSVYFCASSYVGNTGELFFGEGSRLTVL
(SEQ ID NO:356).

В качестве другого примера, оцТКР может быть специфичным для эпитопа ВПЧ (например, пептида ВПЧ с аминокислотной последовательностью YPIFVYIPL (HPV 16 E5₆₃₋₇₁; SEQ ID NO:357), KLPQLCTEL (HPV 16 E6₁₁₋₁₉; SEQ ID NO:358), TIHEIILECV (HPV 16 E6; SEQ ID NO:359), YMLDLQPET (HPV 16 E7₁₁₋₁₉; SEQ ID NO:360), TLGIVCPI (HPV 16 E7₈₆₋₉₃) (SEQ ID NO: 361), KCIDFYSRI (HPV 18 E6₆₇₋₇₅; SEQ ID NO:362) или FQQLFLNTL (HPV 18 E7₈₆₋₉₄; SEQ ID NO:363)) связанного с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HL и полипептида β 2M. В качестве примера, такой оцТКР может содержать: i) вариабельную область α -цепи ТКР, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью:

METLLGLLILQLQLQWVSSKQEVTPQAALSVPEGENLVNCSFTDSAIYNLQWF
RQDPGKGLTSLLLIQSSQREQTSGRNLNASLDKSSGRSTLYIAASQPGDSATYLC AVRETS
GSRLTFGEGTQLTVNPD(SEQ ID NO:364) И II) вариабельную область β -цепи ТКР, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по

меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью: MGIRLLCRVAFCLAVGLVDVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQD PGLGLRLIYFSYDVKMKEKGDIPGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLCASSFWGR STDTQYFGPGTRLTVL (SEQ ID NO: 365).

Контрастные агенты

В некоторых случаях НОП из TMMP по настоящему изобретению содержит контрастный агент или радиоизотопную метку, где контрастный агент облегчает визуализацию опухоли, с которой связывается TMMP.

Подходящие агенты включают радиоактивный индикатор для компьютерной томографии (КТ), позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) и однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ). Подходящие контрастные агенты для ПЭТ/ОФЭКТ включают, например, позитронный излучатель, например ^{11}C , ^{13}N , ^{18}F , ^{82}Ru и ^{15}O . Для КТ можно использовать йодированные контрастные агенты. Подходящие контрастные агенты включают гадолиний (Gd), диспрозий и железо. Можно использовать хелаты Gd, такие как Gd-диэтилентриаминпентауксусная кислота (GdDTPA), Gd-тетраазациклододекантетрауксусная кислота (GdDOTA), полилизин-Gd хелаты и их производные. Подходящие радиоизотопы включают ^{123}I (йод), ^{18}F (фтор), ^{99}Tc (технеций), ^{111}In (индий) и ^{67}Ga (галлий).

Линкеры

TMMP по данному изобретению может содержать один или более линкеров, причем один или более линкеров находятся между одним или более из: i) полипептида ГКГС I класса и полипептида Fc Ig, при этом такой линкер упоминается в данном документе как «L1»; ii) иммуномодулирующего полипептида и полипептида ГКГС I класса, при этом такой линкер обозначен в данном документе как «L2»; iii) первого иммуномодулирующего полипептида и второго иммуномодулирующего полипептида, причем такой линкер обозначен в данном документе как «L3»; iv) пептидного антигена («эпитопа») и полипептида ГКГС I класса; v) полипептида ГКГС I класса и димеризационного полипептида (например, первый или второй член димеризующей пары); vi) димеризационного полипептида (например, первый или второй член димеризующей пары) и полипептида IgFc; и vii) Fc-полипептид Ig (или каркас не от Ig) и нацеленный на опухоль полипептид.

Подходящие линкеры (также называемые «спейсерами») могут быть легко выбраны и могут иметь любую из ряда подходящих длин, таких как от 1 аминокислоты до 25 аминокислот, от 3 аминокислот до 20 аминокислот, от 2 аминокислот до 15

аминокислот, от 3 до 12 аминокислот, в том числе от 4 до 10 аминокислот, от 5 до 9 аминокислот, от 6 до 8 аминокислот или от 7 до 8 аминокислот. Подходящий линкер может иметь 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 аминокислот в длину. В некоторых случаях линкер имеет длину от 25 аминокислот до 50 аминокислот, например, от 25 до 30, от 30 до 35, от 35 до 40, от 40 до 45 или от 45 до 50 аминокислот.

Типичные линкеры включают полимеры глицина (G)_n, полимеры глицина-серина (включая, например, (GS)_n, (GSGGS)_n (SEQ ID NO:366) и (GGGS)_n (SEQ ID NO:367), где n представляет собой целое число, по меньшей мере один), полимеры глицин-аланин, полимеры аланин-серин и другие гибкие линкеры, известные в данной области техники. Могут быть использованы полимеры глицина и глицина-серина; как Gly, так и Ser относительно неструктурированы и, следовательно, могут служить нейтральной связью между компонентами. Могут быть использованы полимеры глицина; глицин получает доступ к значительно большему пространству phi-psi, чем даже аланин, и гораздо менее ограничен, чем остатки с более длинными боковыми цепями (см. Scheraga, *Rev. Computational Chem.* 11173-142 (1992)). Примерные линкеры могут содержать аминокислотные последовательности, включая, помимо прочего, GGSG (SEQ ID NO:368), GGSGG (SEQ ID NO: 369), GSGSG (SEQ ID NO:370), GSGGG (SEQ ID NO:371), GGGSG (SEQ ID NO:372), GSSSG (SEQ ID NO:373), и тому подобное. Иллюстративные линкеры могут включать, например, Gly(Ser₄)_n (SEQ ID NO:374), где n представляет собой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность (GSSSS)_n (SEQ ID NO:375), где n равен 4. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность (GSSSS)_n (SEQ ID NO:376), где n равен 5. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность (GGGGS)_n (SEQ ID NO:377), где n равен 1. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность (GGGGS)_n (SEQ ID NO:378), где n равен 2. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность (GGGGS)_n (SEQ ID NO:379), где n равен 3. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность (GGGGS)_n (SEQ ID NO:380), где n равен 4. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность (GGGGS)_n (SEQ ID NO:381), где n равен 5. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность (GGGGS)_n (SEQ ID NO:382), где n равен 6. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность (GGGGS)_n (SEQ ID NO:383), где n равен 7. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность (GGGGS)_n (SEQ ID NO:384), где n равен 8. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную

последовательность (GGGS) n (SEQ ID NO:385), где n равен 9. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность (GGGS) n (SEQ ID NO:386), где n равен 10. В некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность AAAGG (SEQ ID NO:387).

В некоторых случаях линкерный полипептид, присутствующий в первом полипептиде TMMP по данному изобретению, содержит остаток цистеина, который может образовывать дисульфидную связь с остатком цистеина, присутствующим во втором полипептиде TMMP по данному изобретению. В некоторых случаях, например, подходящий линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:388). В качестве другого примера, подходящий линкер может содержать аминокислотную последовательность GCGGS(G4S) n (SEQ ID NO:389), где n равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9. Например, в некоторых случаях линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:390). В качестве другого примера, линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:391).

Эпитопы

TMMP по настоящему изобретению содержит любой из множества пептидных эпитопов. Как обсуждалось выше, пептидный эпитоп, присутствующий в TMMP по настоящему изобретению, представляет собой пептид, который при образовании комплексов с полипептидами ГКГС представляет эпитоп для Т-клеточного рецептора (ТКР). Эпитоп-специфическая Т-клетка связывает эпитоп, имеющий заданную аминокислотную последовательность, т.е. «эталонную» аминокислотную последовательность, но по существу не связывает эпитоп, который отличается от контрольной аминокислотной последовательности. Например, эпитоп-специфическая Т-клетка связывает эпитоп, который отличается от эталонной аминокислотной последовательности, если вообще отличается, с аффинностью, которая составляет меньше, чем 10^{-6} М, меньше, чем 10^{-5} М, или меньше, чем 10^{-4} М. Эпитоп-специфическая Т-клетка может связывать эпитоп, имеющий эталонную аминокислотную последовательность, т.е. для которого она специфична, с аффинностью по меньшей мере 10^{-7} М, по меньшей мере 10^{-8} М, по меньшей мере 10^{-9} М или по меньшей мере 10^{-10} М.

Эпитопы пептидных эпитопов в объеме настоящего изобретения включают, помимо прочего, эпитопы, присутствующие в ассоциированных с раком антигенах, вирусные эпитопы (например, эпитопы, присутствующие в вирусном антигене) и т.д. Ассоциированные с раком антигены известны в данной области; см., например, Cheever et al. (2009) *Clin. Cancer Res.* 15:5323. Ассоциированные с раком антигены включают,

помимо прочего, α -фолатный рецептор; карбоангидразу IX (CAIX); CD19; CD20; CD22; CD30; CD33; CD44v7/8; карциноэмбриональный антиген (CEA); эпителиальный гликопротеин-2 (EGP-2); эпителиальный гликопротеин-40 (EGP-40); фолатсвязывающий белок (ФСБ); фетальный ацетилхолиновый рецептор; ганглиозидный антиген GD2; Her2/neu; IL-13R- α 2; легкая цепь каппа; LeY; молекула клеточной адгезии L1; ассоциированный с меланомой антиген (MAGE); MAGE-A1; мезотелин; MUC1; лиганды NKG2D; онкофетальный антиген (h5T4); антиген стволовых клеток предстательной железы (АСКПЗ); простат-специфический мембранный антиген (ПСМА); опухолеассоциированный гликопротеин-72 (TAG-72); рецептор 2 фактора роста эндотелия сосудов (VEGF-R2). См., например, Vigneron et al. (2013) *Cancer Immunity* 13:15 и Vigneron (2015) *BioMed Res. Int'l* Article ID 948501, и полипептид vIII рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) (см., например, Wong et al. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:2965; и Miao et al. (2014) *PLoSOne* 9:e94281).

В некоторых случаях подходящий пептидный эпитоп представляет собой эпитоп полипептида MUC1, полипептида LMP2, полипептида vIII рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), полипептида HER-2/neu, семейства антигенов меланомы A, полипептида 3 (MAGE A3), полипептида p53, мутантного полипептида p53, полипептида NY-ESO-1, полипептида фолат-гидролазы (простат-специфический мембранный антиген; PSMA), полипептида карциноэмбрионального антигена (КЭА), полипептида распознаваемого Т-клетками антигена меланомы (melanA/MART1), полипептида Ras, полипептида gp100, полипептида протеиназы 3 (PR1), полипептида bcr-abl, полипептида тирозиназы, полипептида сурвивина, полипептида простатаспецифического антигена (ПСА), полипептида hTERT, полипептида, определяющего точки разрыва транслокации саркомы, полипептида точки разрыва синовиальной саркомы X (SSX), полипептида EphA2, кислой фосфатазы, полипептида простаты (PAP), полипептида ингибитора апоптоза меланомы (ML-IAP), полипептида адгезивной молекулы эпителиальных клеток (EpCAM), полипептида ERG (слитый TMPRSS2 ETS), полипептида NA17, полипептида парного бокса-3 (PAX3), полипептида киназы анапластической лимфомы (ALK), полипептида андрогенового рецептора, полипептида циклина B1, полипептида протоонкогена N-мус (MYCN), полипептида члена C (RhoC) семейства гомолога гена Ras, полипептида белка, связанного с тирозиназой-2 (TRP-2), полипептида мезотелина, полипептида антигена стволовых клеток предстательной железы (PSCA), полипептида ассоциированного с меланомой антигена-1 (MAGE A1), полипептида цитохрома P450 1B1 (CYP1B1), полипептида плацента-специфического белка 1 (PLAC1), полипептида BORIS (также известный как CCCTC-связывающий фактор или CTCF), полипептида ETV6-AML,

полипептида антигена рака молочной железы NY-BR-1 (также называемый белок 30A, содержащий домен с повторами анкирина), полипептида регулятора G-белковой сигнализации (RGS5), полипептида антигена плоскоклеточной карциномы, распознаваемый Т-клетками (SART3), полипептида карбоангидразы IX, полипептида парного бокса-5 (PAX5), полипептида OY-TES1 (антиген семенников; также известен как акрозин-связывающий белок), полипептида белка 17 спермы, полипептида протеин-тирозинкиназы (LCK), специфичного для клеток лимфоцитов, высокомолекулярного антигена, ассоциированного с меланомой (HMW-MAA), А-киназного якорного белка-4 (AKAP-4), полипептида точки разрыва 2 синовиальной саркомы X (SSX2), полипептида члена 1 семейства антигенов X (XAGE1), гомолога 3 полипептида B7 (B7H3; также известного как CD276), полипептида легумаина (LGMN1; также известного как аспарагинилэндопептидаза), полипептида тирозинкиназы с доменами гомологии Ig и EGF-2 (Tie-2; также известного как рецептор ангиопоэтина-1), полипептида члена семейства 4 Р-антигенов (PAGE4), полипептида рецептора 2 фактора роста эндотелия сосудов (VEGF2), полипептида MAD-CT-1, полипептида белка активации фибробластов (FAP), полипептида рецептор тромбоцитарного фактора роста бета (PDGFβ), полипептида MAD-CT-2 или полипептида Fos-родственного антигена-1 (FOSL). В некоторых случаях антиген вируса папилломы человека (ВПЧ) специально исключается. В некоторых случаях антиген альфа-фетопротейна (АФП) специально исключается. В некоторых случаях антиген опухоли Вильмса-1 (WT1) специально исключается.

Аминокислотные последовательности ассоциированных с раком антигенов известны в данной области; например, MUC1 (GenBank CAA56734); LMP2 (GenBank CAA47024); EGFRvIII (GenBank NP_001333870); HER-2/neu (GenBank AAI67147); MAGE-A3 (GenBank AAH11744); p53 (GenBank BAC16799); NY-ESO-1 (GenBank CAA05908); PSMA (GenBank AAH25672); CEA (GenBank AAA51967); melan/MART1 (GenBank NP_005502); Ras (GenBank NP_001123914); gp100 (GenBank AAC60634); bcr-abl (GenBank AAB60388); тирозиназа (GenBank AAB60319); сурвивин (GenBank AAC51660); PSA (GenBank CAD54617); hTERT (GenBank BAC11010); SSX (GenBank NP_001265620); Eph2A (GenBank NP_004422); PAP (GenBank AAH16344); ML-IAP (GenBank AAH14475); EpCAM (GenBank NP_002345); ERG (слитый TMPRSS2 ETS) (GenBank ACA81385); PAX3 (GenBank AAI01301); ALK (GenBank NP_004295); андрогенный рецептор (GenBank NP_000035); циклин B1 (GenBank CAO99273); MYCN (GenBank NP_001280157); RhoC (GenBank AAH52808); TRP-2 (GenBank AAC60627); мезотелин (GenBank AAH09272); PSCA (GenBank AAH65183); MAGE A1 (GenBank NP_004979); CYP1B1 (GenBank AAM50512); PLAC1 (GenBank AAG22596); BORIS (GenBank NP_001255969); ETV6

(GenBank NP_001978); NY-BR1 (GenBank NP_443723); SART3 (GenBank NP_055521); карбоангидраза IX (GenBank EAW58359); PAX5 (GenBank NP_057953); OY-TES1 (GenBank NP_115878); белок 17 спермы (GenBank AAK20878); LCK (GenBank NP_001036236); HMW-MAA (GenBank NP_001888); AKAP-4 (GenBank NP_003877); SSX2 (GenBank CAA60111); XAGE1 (GenBank NP_001091073; XP_001125834; XP_001125856; и XP_001125872); B7H3 (GenBank NP_001019907; XP_947368; XP_950958; XP_950960; XP_950962; XP_950963; XP_950965; и XP_950967); LGMN1 (GenBank NP_001008530); TIE-2 (GenBank NP_000450); PAGE4 (GenBank NP_001305806); VEGFR2 (GenBank NP_002244); MAD-CT-1 (GenBank NP_005893 NP_056215); FAP (GenBank NP_004451); PDGF β (GenBank NP_002600); MAD-CT-2 (GenBank NP_001138574); и FOSL (GenBank NP_005429). Эти полипептиды также обсуждаются, например, в Cheever et al. (2009) *Clin. Cancer Res.* 15:5323, и ссылки на них; Wagner et al. (2003) *J. Cell. Sci.* 116:1653; Matsui et al. (1990) *Oncogene* 5:249; Zhang et al. (1996) *Nature* 383:168.

Подходящие эпитопы включают, помимо прочего, эпитопы, присутствующие в агенте инфекционного заболевания, например, эпитоп, представленный кодируемым вирусом полипептидом. Примеры возбудителей вирусных инфекционных заболеваний включают, например, аденовирусы, адено-ассоциированный вирус, альфавирусы (тогавирусы), вирус восточного лошадиного энцефалита, вирус восточного энцефаломиеелита лошадей, вакцинный штамм ТС-83 венесуэльского энцефаломиеелита лошадей, вирус западного лошадиного энцефаломиеелита, аренавирусы, вирус лимфоцитарного хориоменингита (нечейротропные штаммы), вирусный комплекс Такарибе, буньявирусы, вирус Буньямвера, вакцинный штамм МР-12 вируса лихорадки долины Рифт, вирус чикунгунья, кальцивирусы, коронавирусы, вирус коровьей оспы, флавивирусы (тогавирусы)-арбовирусы группы В, вирус Денге серотипы 1, 2, 3 и 4, вакцинный штамм 17D вируса желтой лихорадки, вирусы гепатита А, В, С, D и Е, цитомегаловирус, вирус Эпштейна Барра, вирус восточного лошадиного энцефалита, вирус простого герпеса 1 и 2 типов, вирус опоясывающего герпеса, герпесвирусы человека типов 6 и 7, вирус гепатита С (ВГС), вирус гепатита В (ВГВ), вирусы гриппатипов А, В и С, паповавирусы, вирус болезни Ньюкасла, вирус кори, вирус паротита, вирус парагриппа типа 1, 2, 3 и 4, полиомавирусы (вирус JC, вирус BK), респираторно-синцитиальный вирус, парвовирус человека (В 19), вирусы Коксаки типов А и В, эховирусы, полиовирусы, риновирусы, аластрим (вирус *Variola minor*), оспы (вирус *Variola major*), реовирусы белой оспы, колтивир, ротавирус человека и орбивирус (вирус колорадской клещевой лихорадки), вирус бешенства, вирус везикулярного стоматита, рубивирус (краснуха), вирус леса Семлики, вирус энцефалита Сент-Луис, вирус

венесуэльского энцефалита лошадей, вирус венесуэльского энцефаломиеелита лошадей, аренавирусы (также известный как вирус южноамериканской геморрагической лихорадки), флексал, вирус лимфоцитарного хориоменингита (LCM) (нейротропные штаммы), хантавирусы, включая вирус Хантаан, вирус лихорадки долины Рифт, вирус японского энцефалита, вирус жёлтой лихорадки, вирус оспы обезьян, вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) типов 1 и 2, лимфотропный Т-клеточный вирус человека (HTLV) типов 1 и 2, вирус иммунодефицита обезьян (SIV), вирус везикулярного стоматита, вирус Гуанарито, вирус геморрагической лихорадки Ласса, вирус Хунин, вирус Мачупо, вирус Сабия, вирус конго-крымской геморрагической лихорадки, вирусы Эбола, вирус, вызывающий «марбургскую болезнь», комплекс вируса клещевого энцефалита (flavi), включая центрально-европейский клещевой энцефалит, дальневосточный клещевой энцефалит, Ганзалова, Нург, Кумлинг, кьясанурская лесная болезнь, омская геморрагическая лихорадка и русские вирусы весенне-летнего энцефалита, Herpesvirus simiae (вирус герпеса В или вирус обезьяны В), герпесвирус мартышковых 1 (вирус герпеса В), морбилливирус лошади (вирусы Хендра и Хендра-подобные вирусы), вирус Нипах, вирус Variola major (вирус натуральной оспы), вирус белой оспы (аластрим), вирус африканской чумы свиней, вирус африканской болезни лошадей, вирус Акабане, вирус птичьего гриппа (высокопатогенный), вирус африканской катаральной лихорадки, вирус оспы верблюдов, вирус классической чумы свиней, Cowdria ruminantium (инфекционный гидроперикардит), вирус ящура, вирус козьей оспы, вирус японского энцефалита, вирус болезни кожного отёка у буйволов, вирус злокачественной катаральной лихорадки крупного рогатого скота, вирус Менангле, вирус болезни Ньюкасла (VVND), вирус везикулярного стоматита (экзотический) и вирус Зика. Антигены, кодируемые такими вирусами, известны в данной области; пептидный эпитоп, пригодный для использования в ТММР по настоящему изобретению, может включать пептид из любого известного вирусного антигена. В некоторых случаях антиген ВПЧ специально исключается. В некоторых случаях антиген АФП специально исключается. В некоторых случаях вирусный эпитоп представляет собой эпитоп, присутствующий в вирусном антигене, кодируемом вирусом, который инфицирует большинство человеческой популяции, где такие вирусы включают, например, цитомегаловирус (ЦМВ), вирус Эпштейна-Барра (EBV), вирус папилломы человека, аденовирус и тому подобное.

В некоторых случаях эпитопный пептид, присутствующий в ТММР по настоящему изобретению, представляет собой эпитоп, специфичный для аллеля HLA-A, -B, -C, -E, -F или -G. В одном из вариантов осуществления эпитопный пептид, присутствующий в ТММР, представляет собой эпитоп, ограниченный HLA-A*0101, A*0201, A*0301, A*1101,

A*2301, A*2402, A*2407, A*3303 и/или A*3401. В одном из вариантов осуществления эпитопный пептид, присутствующий в ТММР, представляет собой эпитоп, ограниченный HLA- B*0702, B*0801, B*1502, B*3802, B*4001, B*4601 и/или B*5301. В одном из вариантов осуществления эпитопный пептид, присутствующий в ТММР, представляет собой эпитоп, ограниченный C*0102, C*0303, C*0304, C*0401, C*0602, C*0701, C*702, C*0801 и/или C*1502.

Пептидные эпитопы ЦМВ

В некоторых случаях ТММР по настоящему изобретению включает пептидный эпитоп ЦМВ, т.е. пептид, который, находясь в комплексе ГКГС/пептид (например, комплекс HLA/пептид), представляет эпитоп ЦМВ (т.е. эпитоп, присутствующий в антигене ЦМВ) Т-клетке. Как и другие пептидные эпитопы настоящего раскрытия, пептидный эпитоп ЦМВ имеет длину по меньшей мере 4 аминокислоты, например, от 4 аминокислот до около 25 аминокислот (например, 4 аминокислоты (ак), 5 ак, 6 ак, 7 ак, 8 ак, 9 ак, 10 ак, 11 ак, 12 ак, 13 ак, 14 ак, 15 ак, 16 ак, 17 ак, 18 ак, 19 ак, 20 ак, 21 ак, 22 ак, 23 ак, 24 ак или 25 ак, в том числе в диапазоне от 4 до 20 ак, от 6 до 18 ак, от 8 до 15 ак, от 8 до 12 ак, от 5 до 10 ак, от 10 до 15 ак, от 15 до 20 ак, от 10 до 20 ак или от 15 до 25 ак, в длину).

Данная эпитоп ЦМВ-специфическая Т-клетка связывает эпитоп, имеющий эталонную аминокислотную последовательность данного эпитопа ЦМВ, но по существу не связывает эпитоп, отличающийся от эталонной аминокислотной последовательности. Например, данная эпитоп ЦМВ-специфическая Т-клетка связывает эпитоп ЦМВ, имеющий контрольную аминокислотную последовательность, и связывает эпитоп, который отличается от контрольной аминокислотной последовательности, если в целом имеет, аффинность, которая составляет менее, чем 10^{-6} М, менее, чем 10^{-5} М или менее, чем 10^{-4} М. Данная эпитоп ЦМВ-специфическая Т-клетка может связывать эпитоп, для которого она специфична, с аффинностью, составляющей по меньшей мере 10^{-7} М, по меньшей мере 10^{-8} М, по меньшей мере 10^{-9} М или по меньшей мере 10^{-10} М.

В некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМВ, присутствующий в ТММР по данному изобретению, представляет пептид из ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМВ, присутствующий в ТММР по настоящему изобретению, представляет собой пептид из ЦМВ gB (гликопротеин В).

Например, в некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМВ, присутствующий в ТММР по настоящему изобретению, представляет собой пептид полипептида ЦМВ, имеющий длину по меньшей мере 4 аминокислоты, например, от 4 аминокислот до около 25 аминокислот (например, 4 аминокислоты (ак), 5 ак, 6 ак, 7 ак, 8 ак, 9 ак, 10 ак, 11 ак, 12

ак, 13 ак, 14 ак, 15 ак, 16 ак, 17 ак, 18 ак, 19 ак, 20 ак, 21 ак, 22 ак, 23 ак, 24 ак или 25 ак, в том числе в диапазоне от 4 до 20 ак, от 6 до 18 ак, от 8 до 15 ак, от 8 до 12 ак, от 5 до 10 ак, от 10 до 15 ак, от 15 до 20 ак, от 10 до 20 ак или от 15 до 25 ак, в длину) и включающий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью ЦМБ pp65:

MESRGRRCP E MISVLGPISG HVLKAVFSRG DTPVLPHETR LLQTGIHVRV
 SQPSLILVSQ YTPDSTPCHR GDNQLQVQHT YFTGSEVENV SVNHNPTGR
 SICPSQEPMS IYVYALPLKM LNIPSINVHH YPSAAERKHR HLPVADAVIH
 ASGKQMWQAR LTVSGLAWTR QQNQWKEPDV YYTSAFVFPT KDVALRHVVC
 AHELVCSMEN TRATKMQVIG DQYVKVYLES FCEDVPSGKL FMHVTLGSDV
 EEDLTMTRNP QPFMRPHERN GFTVLC PKNM I KPGKISHI MLDVAFTSHE
 HFGLLCPKSI PGLSISGNLL MNGQQIFLEV QAIRETVELR QYDPVAALFF
 FDIDLLLQRG PQYSEHPTFT SQYRIQGGLE YRHTWDRHDE GAAQGDDDDVW
 TSGSDSDEEL VTTERKTPRV TGGGAMAGAS TSAGRKRKSA SSATACTSGV
 MTRGRLKAES TVAPEEDTDE DSDNEIHNP A VFTWPPWQAG ILARNNLVPMV
ATVQGQNLKY QEFFWDANDI YRIFAELEGV WQPAAQPKRR RHRQDALPGP
 CIASTPKKHR G (SEQ ID NO:392).

В качестве одного не ограничивающего примера пептидный эпитоп ЦМБ, присутствующий в TMMP по настоящему изобретению, имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:393) и имеет длину 9 аминокислот.

В некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМБ, присутствующий в TMMP по настоящему изобретению, представляет собой пептид, имеющий длину по меньшей мере 4 аминокислоты, например, от 4 аминокислот до около 25 аминокислот (например, 4 аминокислоты (ак), 5 ак, 6 ак, 7 ак, 8 ак, 9 ак, 10 ак, 11 ак, 12 ак, 13 ак, 14 ак, 15 ак, 16 ак, 17 ак, 18 ак, 19 ак, 20 ак, 21 ак, 22 ак, 23 ак, 24 ак или 25 ак, в том числе в диапазоне от 4 до 20 ак, от 6 до 18 ак, от 8 до 15 ак, от 8 до 12 ак, от 5 до 10 ак, от 10 до 15 ак, от 15 до 20 ак, от 10 до 20 ак или от 15 до 25 ак, в длину), полипептида ЦМБ, включающего аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью ЦМБ gB:

MESRIWCLVVCVNL CIVCLGA AVSSSSTSHATSSTHNGSHTSRTTSAQTRSVYSQ
 HVTSS EAVSHRANETIYNTTLKYGDVVG VNTTKYPYRVCSMAQGTDLIRFERNICTSM

KPINEDLDEGIMVVYKRNIVAHTFKVRVYQKVLTFRRSYAYIYTTYLLGSNTEYVAPPM
 WEIHHINKFAQCYSSYSRVIGGTVFVAYHRDSYENKTMQLIPDDYSNTHSTRYVTVKDQ
 WHSRGSTWLYRETCNLNCMLTITTARSKYPYHFFATSTGDVVYISPFYNGTNRNASYFG
 ENADKFFIFPNYTIVSDFGRPNAAPETHRLVAFLE RADSVISWDIQDEKNVTCQLTFWEA
 SERTIRSEAEDSYHFSSAKMTATFLSKKQEVNMSDSALDCVRDEAINKLQQIFNTSYNQ
 YEKYGNVSVFETSGGLVFWQGIKQKSLVELERLANRSSLNITHRTRRSTSDNNTTHLSS
 MESVHNLVYAQLQFTYDTRLRGYINRALAQIAEAWCVDQRRTLEVFKELSKINPSAILS
 AINPKPIAARFMGDVGLASCVTINQTSVKVLRDMNVKESPGRCYSRPVVIFNFANSSYVQ
 YGQLGEDNEILLGNHRTEECQLPSLKIFIAGNSAYEYVDYLFKRMIDLSSISTVDSMIALD
 IDPLENTDFRVLELYSQKELRSSNVFDLEEIMREFNSYKQRVKYVEDKVVDPLPPYLKGL
 DDLMSGLGAAGKAVGVAIGAVGGAVASVVEGVATFLKNPFGAFTIILVAIAVVIITYLIY
 TRQRRRLCTQPLQNLFPYLVSADGTTVTSGSTKDTSLQAPPSYEESVYNSSGRKGPSSD
 ASTAAPPYTNEQAYQMLLALARLDAEQRAQQNGTDSL DGGTGTQDKGQKPNLLDRLR
 HRKNGYRHLKDSDEEENV (SEQ ID NO:394).

В некоторых случаях эпитоп ЦМВ, присутствующий в ТММР по настоящему изобретению, представляет собой эпитоп, специфичный для аллеля HLA-A, -B, -C, -E, -F или -G. В некоторых случаях эпитопный пептид, присутствующий в ТММР, представляет собой эпитоп, ограниченный HLA-A*0101, A*0201, A*0301, A*1101, A*2301, A*2402, A*2407, A*3303 и/или A*3401. В некоторых случаях эпитоп ЦМВ, присутствующий в ТММР по настоящему изобретению, представляет собой эпитоп, ограниченный HLA-B*0702, B*0801, B*1502, B*3802, B*4001, B*4601 и/или B*5301. В некоторых случаях эпитоп ЦМВ, присутствующий в ТММР по настоящему изобретению, представляет собой эпитоп, ограниченный C*0102, C*0303, C*0304, C*0401, C*0602, C*0701, C*702, C*0801 и/или C*1502. В качестве одного примера, в некоторых случаях, ТММР по настоящему изобретению содержит: а) пептидный эпитоп ЦМВ, имеющий аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеющий длину 9 аминокислот; б) полипептид тяжелой цепи HLA-A*0201 класса I; и с) полипептид β 2M.

В некоторых случаях ТММР по настоящему изобретению содержит в качестве НОП scFv или нанотело, специфичные для полипептида Her2, присутствующего на поверхности раковой клетки; и включает в себя в качестве эпитопа пептидный эпитоп ЦМВ. В некоторых случаях пептид ЦМВ представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМВ представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМВ имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В некоторых случаях ТММР по настоящему изобретению содержит в качестве НОП scFv или нанотело, специфичные для полипептида MUC1, присутствующего на поверхности раковой клетки; и включает в себя в качестве эпитопа пептидный эпитоп ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМВ представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептид ЦМВ представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях пептид ЦМВ имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В некоторых случаях ТММР по настоящему изобретению содержит в качестве НОП scFv или нанотело, специфичные для полипептида WT1, присутствующего на поверхности раковой клетки; и включает в себя в качестве эпитопа пептидный эпитоп ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМВ представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМВ представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМВ имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В некоторых случаях ТММР по настоящему изобретению содержит в качестве НОП scFv или нанотело, специфичные для полипептида мезотелина, присутствующего на поверхности раковой клетки; и включает в себя в качестве эпитопа пептидный эпитоп ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМВ представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМВ представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМВ имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В некоторых случаях ТММР по настоящему изобретению содержит в качестве НОП scFv или нанотело, специфичные для полипептида CD19, присутствующего на поверхности раковой клетки; и включает в себя в качестве эпитопа пептидный эпитоп ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМВ представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМВ представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМВ имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В некоторых случаях ТММР по настоящему изобретению содержит в качестве НОП scFv или нанотело, специфичные для полипептида ВСМА, присутствующего на поверхности раковой клетки; и включает в себя в качестве эпитопа пептидный эпитоп ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМВ представляет собой пептид

полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМВ представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМВ имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В некоторых случаях ТММР по настоящему изобретению содержит в качестве НОП scFv или нанотело, специфичные для полипептида MUC16, присутствующего на поверхности раковой клетки; и включает в себя в качестве эпитопа пептидный эпитоп ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМВ представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМВ представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях пептидный эпитоп ЦМВ имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

Анализ связывания HLA/пептида

Вопрос о том, связывает ли данный пептид (например, пептид, содержащий эпитоп) HLA I класса (содержащий тяжелую цепь HLA и полипептид β 2M) и, будучи связанным с комплексом HLA, может эффективно презентировать эпитоп для TCR, может быть разрешен с помощью любого из ряда хорошо известных методов. Методы анализа включают в себя анализы связывания и анализы определения активации Т-клеток.

Анализ связывания на основе клеток

В качестве одного примера для определения связывания пептида-HLA I класса могут применять анализ индуцированной пептидом стабилизации на основе клеток. В этом анализе интересующему пептиду обеспечивают возможность связываться с TAP-дефицитной клеткой, т.е. клеткой, которая содержит дефективный транспортер, связанный с механизмом процессинга антигенов (TAP) и, соответственно, редкими поверхностными молекулами I класса. Такие клетки включают в себя, например, линию клеток T2 человека (T2 (174 x CEM.T2; Американская коллекция типовых культур (ATCC) № CRL-1992). Henderson et al. (1992) *Science* 255:1264. Без эффективного TAP-опосредованного транспорта цитозольных пептидов в эндоплазматический ретикулум, собранные комплексы I класса структурно нестабильны и только временно удерживаются на поверхности клетки. Однако, когда клетки T2 инкубируют с экзогенным пептидом, способным связывать антигены I класса, комплексы поверхностного пептида-HLA I класса стабилизируются и могут обнаруживаться методом проточной цитометрии, например с помощью сортированного (pan) моноклонального антитела к антигену I класса. Стабилизация и результирующее увеличение времени жизни комплексов пептид-HLA на поверхности клетки вследствие добавления пептида подтверждает их

идентичность. Анализ могут проводить с использованием проточной цитометрии, например в которой антитело рап-HLA I класса содержит флуоресцентную метку. Связывание пептида с различными аллельными формами цепей H HLA могут тестировать по тому как генетически модифицированные клетки T2 способны экспрессировать интересующую аллельную цепь H HLA.

Ниже приведен неограничивающий пример использования анализа T2 для оценки связывания пептидов с HLA A*0201. Клетки T2 промывают в среде для культивирования клеток, и концентрируют до 10^6 клеток/мл. Готовят интересующие пептиды в среде для культивирования клеток и серийно разводят, обеспечивая концентрации 200 мкМ, 100 мкМ, 20 мкМ и 2 мкМ. Клетки смешивают 1:1 с каждым пептидным разбавлением для получения конечного объема 200 мкМ и конечных концентраций пептидов 100 мкМ, 50 мкМ, 10 мкМ и 1 мкМ. Пептид, связывающий HLA A*0201, GILGFVFTL (SEQ ID NO:396), и пептид, не связанный с HLA A*0201, HPVGEADYF (SEQ ID NO:397) (HLA-B*3501), включены в качестве положительного и отрицательного контроля, соответственно. Смеси клеток/пептидов выдерживают при 37°C 5% CO₂ в течение десяти минут; затем инкубируют при комнатной температуре в течение ночи. Потом клетки инкубируют в течение 2 часов при 37°C и окрашивают флуоресцентно меченным антителом к HLA человека. Клетки дважды промывают фосфатно-солевым буферным раствором и анализируют с использованием проточной цитометрии. Для измерения прочности связывания используется среднее значение средней интенсивности флуоресценции (MFI) окрашивания антителом к HLA.

Биохимический анализ связывания

Полипептиды HLA (полипептид тяжелой цепи HLA в комплексе с полипептидом β 2M) могут тестировать на связывание с интересующим пептидом в системе бесклеточного анализа *in vitro*. Например, меченому эталонному пептиду (например, флуоресцентно меченому) дают возможность связываться с полипептидами HLA (полипептид тяжелой цепи HLA, образовавший комплекс с полипептидом β 2M), чтобы образовывался комплекс HLA-эталонный пептид. Тестируется способность исследуемого интересующего пептида замещать меченый эталонный пептид из комплекса HLA-эталонный пептид. Относительная аффинность связывания рассчитывается как количество исследуемого пептида, необходимое для замещения связанного эталонного пептида. См., например, van der Burg et al. (1995) *Human Immunol.* 44:189.

В качестве другого примера, интересующий пептид могут инкубировать с молекулой HLA (тяжелой цепью HLA, образовавшей комплекс с полипептидом β 2M), а стабилизацию комплекса HLA/пептида могут измерять в иммуноферментном формате.

Способность интересующего пептида стабилизировать молекулу HLA сравнивается со способностью контрольного пептида, презентировать известный Т-клеточный эпитоп. Обнаружение стабилизации основано на наличии или отсутствии нативной конформации HLA/пептидного комплекса, обнаруживаемой с использованием антитела к HLA. См., например, Westrop et al. (2009) *J. Immunol. Methods* 341:76; Steinitz et al. (2012) *Blood* 119:4073; и патент США № 9 205 144.

Анализ активации Т-клеток

Вопрос о том, связывает ли данный пептид HLA I класса (содержащий тяжелую цепь HLA и полипептид $\beta 2M$) и, будучи связанным с комплексом HLA, может эффективно презентировать эпитоп для TCR, может быть разрешен путем оценивания Т-клеточной реакции на комплекс пептид-HLA. Т-клеточные реакции, которые могут измерять включают, например, продукцию интерферона-гамма (IFN γ), цитотоксическую активность и т.п.

Анализ ELISPOT

Подходящие анализы включают, например, иммуноферментный спот-анализ (ELISPOT). В этом анализе продукцию IFN γ Т-клетками CD8⁺ измеряют, добавляя антиген-презентирующую клетку (APC), которая презентует интересующий пептид, образовавший комплекс с HLA I класса. Антитело к IFN γ иммобилизовано на лунках многолуночного планшета. К лункам добавляют APC и инкубируют в течение некоторого периода времени с интересующим пептидом, так что пептид связывает HLA I класса на поверхности APC. В лунки добавляют Т-клетки CD8⁺, специфические для данного пептида, и планшет инкубируют в течение около 24 часов. Затем лунки промывают, и весь IFN γ , связанный с иммобилизованным антителом к IFN γ выявляют с использованием выявляемого меченого антитела к IFN γ . Можно использовать любой колориметрический анализ. Например, выявляемо меченое антитело к IFN γ может представлять собой меченое биотином антитело к IFN γ , которое могут выявлять с использованием, например, стрептавидина, конъюгированного со щелочной фосфатазой. Для проявления анализа добавляют раствор BCIP/NBT (5-бром-4-хлор-3-индолил фосфата/нитросинего тетразолия). Присутствие IFN γ -секретирующих Т-клеток идентифицируют по окрашенным пятнам. Отрицательные контроли включают APC, не контактировавшие с пептидом. APC, экспрессирующие различные аллели цепи H HLA, могут использовать для определения того, действительно ли интересующий пептид эффективно связывается с молекулой HLA I класса, состоящей из конкретной цепи H HLA.

Анализ цитотоксичности

Вопрос о том, связывается ли данный пептид с конкретной цепью H HLA I класса

и, будучи связанным с комплексом HLA I класса, содержащим цепь H, может эффективно представлять эпитоп для TCR, также может быть разрешен с использованием анализа цитотоксичности. Анализ цитотоксичности включает инкубацию клетки-мишени с цитотоксичной Т-клеткой CD8⁺. Клетка-мишень отображает на своей поверхности комплекс пептида/HLA I класса, содержащий интересующий пептид, и молекулу HLA I класса, содержащую цепь H HLA, подлежащую тестированию. Клетки-мишени могут метить радиоактивными изотопами, например ⁵¹Cr. Эффективно ли клетка-мишень презентрует эпитоп для TCR на цитотоксической Т-клетке CD8⁺, таким образом индуцируя цитотоксическую активность от Т-клетки CD8⁺ в направлении клетки-мишени, определяют путем измерения высвобождения ⁵¹Cr из лизируемой клетки-мишени. Специфическую цитотоксичность можно рассчитывать как количество цитотоксической активности в присутствии пептида минус количество цитотоксической активности в отсутствие пептида.

Выявление антиген-специфических Т-клеток с помощью тетрамеров пептид-HLA

В качестве другого примера, создают мультимеры (например, тетрамеры) комплексов пептида-HLA с флуоресцентными маркерами или маркерами тяжелых металлов. Затем мультимеры могут применять для идентификации и количественного определения специфических Т-клеток посредством проточной цитометрии (FACS) или масс-цитометрии (CyTOF). Выявление эпитоп-специфических Т-клеток дает прямое доказательство того, что связанная с пептидом молекула HLA способна связываться со специфической TCR на подмножестве антиген-специфических Т-клеток. См., например, Klenerman et al. (2002) *Nature Reviews Immunol.* 2:263.

Иммуномодулирующие полипептиды

В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид, присутствующий в ТММР по данному изобретению, представляет собой иммуномодулирующий полипептид дикого типа. В других случаях иммуномодулирующий полипептид, присутствующий в ТММР по данному изобретению, представляет собой вариант иммуномодулирующего полипептида, который проявляет пониженную аффинность для ко-иммуномодулирующего полипептида по сравнению с аффинностью соответствующего иммуномодулирующего полипептида дикого типа для ко-иммуномодулирующего полипептида. Подходящие иммуномодулирующие домены, которые проявляют пониженную аффинность к ко-иммуномодулирующему домену, могут иметь от 1 аминокислотного (ак) до 20 ак отличий от иммуномодулирующего домена дикого типа. Например, в некоторых случаях вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующий в ТММР по данному изобретению, отличается по аминокислотной

последовательности на 1 ак, 2 ак, 3 ак, 4 ак, 5 ак, 6 ак, 7 ак, 8 ак, 9 ак или 10 ак от соответствующего иммуномодулирующего полипептида дикого типа. В качестве другого примера, в некоторых случаях вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующий в ТММР по данному изобретению, отличается по аминокислотной последовательности на 11 ак, 12 ак, 13 ак, 14 ак, 15 ак, 16 ак, 17 ак, 18 ак, 19 ак или 20 ак от соответствующего иммуномодулирующего полипептида дикого типа. В качестве примера, в некоторых случаях вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующий в ТММР по данному изобретению, содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислотных замен по сравнению с соответствующим эталонным (например, дикого типа) иммуномодулирующим полипептидом. В некоторых случаях вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующий в ТММР по данному изобретению, содержит одиночную аминокислотную замену по сравнению с соответствующим эталонным (например, дикого типа) иммуномодулирующим полипептидом. В некоторых случаях вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующий в ТММР по данному изобретению, содержит 2 аминокислотные замены (например, не более 2 аминокислотных замен) по сравнению с соответствующим эталонным (например, диким типом) иммуномодулирующим полипептидом. В некоторых случаях вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующий в ТММР по данному изобретению, содержит 3 аминокислотных замен (например, не более 3 аминокислотных замен) по сравнению с соответствующим эталонным (например, диким типом) иммуномодулирующим полипептидом. В некоторых случаях вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующий в ТММР по данному изобретению, содержит 4 аминокислотных замен (например, не более 4 аминокислотных замен) по сравнению с соответствующим эталонным (например, диким типом) иммуномодулирующим полипептидом. В некоторых случаях вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующий в ТММР по данному изобретению, содержит 5 аминокислотных замен (например, не более 5 аминокислотных замен) по сравнению с соответствующим эталонным (например, диким типом) иммуномодулирующим полипептидом. В некоторых случаях вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующий в ТММР по данному изобретению, содержит 6 аминокислотных замен (например, не более 6 аминокислотных замен) по сравнению с соответствующим эталонным (например, диким типом) иммуномодулирующим полипептидом. В некоторых случаях вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующий в ТММР по данному изобретению, содержит 7 аминокислотных замен (например, не более 7 аминокислотных

присутствующий в ТММР по данному изобретению, содержит 16 аминокислотных замен (например, не более 16 аминокислотных замен) по сравнению с соответствующим эталонным (например, диким типом) иммуномодулирующим полипептидом.

В некоторых случаях вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующий в ТММР по данному изобретению, содержит 17 аминокислотных замен (например, не более 17 аминокислотных замен) по сравнению с соответствующим эталонным (например, диким типом) иммуномодулирующим полипептидом.

В некоторых случаях вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующий в ТММР по данному изобретению, содержит 18 аминокислотных замен (например, не более 18 аминокислотных замен) по сравнению с соответствующим эталонным (например, диким типом) иммуномодулирующим полипептидом.

В некоторых случаях вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующий в ТММР по данному изобретению, содержит 19 аминокислотных замен (например, не более 19 аминокислотных замен) по сравнению с соответствующим эталонным (например, диким типом) иммуномодулирующим полипептидом.

В некоторых случаях вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующий в ТММР по данному изобретению, содержит 20 аминокислотных замен (например, не более 20 аминокислотных замен) по сравнению с соответствующим эталонным (например, диким типом) иммуномодулирующим полипептидом.

Как обсуждалось выше, вариант иммуномодулирующего полипептида, подходящий для включения в ТММР по данному изобретению, проявляет пониженную аффинность к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду по сравнению с аффинностью соответствующего иммуномодулирующего полипептида дикого типа к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду.

Типичные пары иммуномодулирующего полипептида и когнатного ко-иммуномодулирующего полипептида включают, но не ограничиваются ими:

- а) 4-1BBL (иммуномодулирующий полипептид) и 4-1BB (когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид);
- б) PD-L1 (иммуномодулирующий полипептид) и PD1 (когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид);
- с) IL-2 (иммуномодулирующий полипептид) и рецептор IL-2 (когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид);
- д) CD80 (иммуномодулирующий полипептид) и CD86 (когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид);
- е) CD86 (иммуномодулирующий полипептид) и CD28 (когнатный ко-

иммуномодулирующий полипептид);

f) OX40L (CD252) (иммуномодулирующий полипептид) и OX40 (CD134) (когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид);

g) лиганд Fas (иммуномодулирующий полипептид) и Fas (когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид);

h) ICOS-L (иммуномодулирующий полипептид) и ICOS (когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид);

i) ICAM (иммуномодулирующий полипептид) и LFA-1 (когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид);

j) CD30L (иммуномодулирующий полипептид) и CD30 (когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид);

k) CD40 (иммуномодулирующий полипептид) и CD40L (когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид);

l) CD83 (иммуномодулирующий полипептид) и CD83L (когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид);

m) HVEM (CD270) (иммуномодулирующий полипептид) и CD160 (когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид);

n) JAG1 (CD339) (иммуномодулирующий полипептид) и Notch (когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид);

o) JAG1 (иммуномодулирующий полипептид) и CD46 (когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид);

p) CD80 (иммуномодулирующий полипептид) и CTLA4 (когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид);

q) CD86 (иммуномодулирующий полипептид) и CTLA4 (когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид); и

г) CD70 (иммуномодулирующий полипептид) и CD27 (когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид).

В некоторых случаях, вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующий в ТММР по данному изобретению имеет аффинность связывания с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом, которая составляет от 100 нМ до 100 мкМ. Например, в некоторых случаях, вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующий в ТММР по данному изобретению имеет аффинность связывания с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом, которая составляет от около 100 нМ до 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 нМ до около 300 нМ, от около 300 нМ до около 350 нМ, от около 350 нМ до около 400

нМ, от около 400 нМ до около 500 нМ, от около 500 нМ до около 600 нМ, от около 600 нМ до около 700 нМ, от около 700 нМ до около 800 нМ, от около 800 нМ до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, до около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 15 мкМ, от около 15 мкМ до около 20 мкМ, от около 20 мкМ до около 25 мкМ, от около 25 мкМ до около 50 мкМ, от около 50 мкМ до около 75 мкМ или от около 75 мкМ до около 100 мкМ.

Вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующий в ТММР по данному изобретению, проявляет пониженную аффинность к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду. Подобным образом, ТММР по данному изобретению, который содержит вариант иммуномодулирующего полипептида, проявляет пониженную аффинность к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду. Таким образом, например, ТММР по данному изобретению, который содержит вариант иммуномодулирующего полипептида, имеет аффинность связывания для когнатного ко-иммуномодулирующего полипептида, которая составляет от 100 нМ до 100 мкМ. Например, в некоторых случаях, ТММР по данному изобретению, содержащий вариант иммуномодулирующего полипептида, имеет аффинность связывания с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом, которая составляет от около 100 нМ до 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 нМ до около 300 нМ, от около 300 нМ до около 350 нМ, от около 350 нМ до около 400 нМ, от около 400 нМ до около 500 нМ, от около 500 нМ до около 600 нМ, от около 600 нМ до около 700 нМ, от около 700 нМ до около 800 нМ, от около 800 нМ до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, до около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 15 мкМ, от около 15 мкМ до около 20 мкМ, от около 20 мкМ до около 25 мкМ, от около 25 мкМ до около 50 мкМ, от около 50 мкМ до около 75 мкМ или от около 75 мкМ до около 100 мкМ.

Варианты PD-L1

В качестве одного неограничивающего примера, в некоторых случаях вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующего в ТММР по данному изобретению, представляет собой вариант полипептида PD-L1. PD-L1 дикого типа связывается с PD1.

Полипептид PD-L1 человека дикого типа может содержать следующую аминокислотную последовательность: MRIFAVFIFM TYWHELLNAFT VTPKDLVVV
EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALIVYWEME DKNIIQFVHG EEDLKVQHSS
YRQARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV
NAPYNKINQR ILVVDPTSE HELTCQAEQY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT

TTNSKREEKL FNVSTSLRIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAELVIPGNI LNVSIIKICLT LSPST (SEQ ID NO:1).

Эктодомен PD-L1 человека дикого типа может содержать следующую аминокислотную последовательность: FT VTPKDLVYV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALIVYWEME DKNIIQFVHG EEDLKVQHSS YRQRARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV NAPYNKINQR ILVVDPTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT TTNSKREEKL FNVSTSLRIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAELVIPGNI LNVSIIKI (SEQ ID NO:2).

Полипептид PD-1 дикого типа может содержать следующую аминокислотную последовательность: PGWFLDSPDR PWNPTTFSPA LLVVTEGDNA TFTCSFSNTS ESFVLNWYRM SPSNQTDKLA AFPEDRSQPG QDCRFRVTQL PNGRDFHMSV VRARRNDSGT YLCGAISLAP KAQIKESLRA ELRVTERRAE VPTAHPSPSP RPAGQFQTLV VGVVGGLLGS LVLLVWVLAV ICSRAARGTI GARRTGQPLK EDPSAVPVFS VDYGELDFQW REKTPEPPVP CVPEQTEYAT IVFPSGMGTS SPARRGSADG PRSAQPLRPE DGHCSWPL (SEQ ID NO:3). В некоторых случаях, когда TMMP по данному изобретению содержит вариант полипептида PD-L1, «когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид» представляет собой полипептид PD-1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:3.

В некоторых случаях вариант полипептида PD-L1 проявляет пониженную аффинность связывания к PD-1 (например, полипептиду PD-1, содержащему аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3), по сравнению с аффинностью связывания полипептида PD-L1, содержащего аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. Например, в некоторых случаях вариант полипептида PD-L1 по данному изобретению связывает PD-1 (например, полипептид PD-1, содержащий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3) с аффинностью связывания, которая на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50% по меньшей мере 55% меньше по меньшей мере на 60% меньше по меньшей мере на 65% меньше, по меньшей мере 70% меньше, по меньшей мере 75% меньше, по меньшей мере 80% меньше, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% меньше, или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания полипептида PD-L1, содержащего аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:1 или SEQ ID NO:2.

В некоторых случаях вариант полипептида PD-L1 обладает аффинностью

связывания с PD-1, которая составляет от 1 нМ до 1 мМ. В некоторых случаях, вариант полипептида PD-L1, присутствующий в ТММР по данному изобретению имеет аффинность связывания с PD-1, которая составляет от 100 нМ до 100 мкМ. В качестве другого примера, в некоторых случаях вариант полипептида PD-L1 имеет аффинность связывания с PD1 (например, полипептидом PD1, содержащим аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 3), которая составляет от около 100 нМ до 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 нМ до около 300 нМ, от около 300 нМ до около 350 нМ, от около 350 нМ до около 400 нМ, от около 400 нМ до около 500 нМ, от около 500 нМ до около 600 нМ, от около 600 нМ до около 700 нМ, от около 700 нМ до около 800 нМ, от около 800 нМ до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, до около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 15 мкМ, от около 15 мкМ до около 20 мкМ, от около 20 мкМ до около 25 мкМ, от около 25 мкМ до около 50 мкМ, от около 50 мкМ до около 75 мкМ или от около 75 мкМ до около 100 мкМ.

В некоторых случаях вариант полипептида PD-L1 имеет одну аминокислотную замену по сравнению с аминокислотной последовательностью PD-L1, представленной в SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. В некоторых случаях вариант полипептида PD-L1 имеет от 2 до 10 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью PD-L1, представленной в SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. В некоторых случаях вариант полипептида PD-L1 имеет 2 аминокислотные замены по сравнению с аминокислотной последовательностью PD-L1, представленной в SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. В некоторых случаях вариант полипептида PD-L1 имеет 3 аминокислотные замены по сравнению с аминокислотной последовательностью PD-L1, представленной в SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. В некоторых случаях вариант полипептида PD-L1 имеет 4 аминокислотные замены по сравнению с аминокислотной последовательностью PD-L1, представленной в SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. В некоторых случаях вариант полипептида PD-L1 имеет 5 аминокислотные замены по сравнению с аминокислотной последовательностью PD-L1, представленной в SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. В некоторых случаях вариант полипептида PD-L1 имеет 6 аминокислотные замены по сравнению с аминокислотной последовательностью PD-L1, представленной в SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. В некоторых случаях вариант полипептида PD-L1 имеет 7 аминокислотные замены по сравнению с аминокислотной последовательностью PD-L1, представленной в SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. В некоторых случаях вариант полипептида PD-L1 имеет 8 аминокислотные замены по сравнению с аминокислотной последовательностью PD-L1, представленной в SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. В

некоторых случаях вариант полипептида PD-L1 имеет 9 аминокислотные замены по сравнению с аминокислотной последовательностью PD-L1, представленной в SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. В некоторых случаях вариант полипептида PD-L1 имеет 10 аминокислотные замены по сравнению с аминокислотной последовательностью PD-L1, представленной в SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2.

Подходящий вариант PD-L1 включает полипептид, который содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:

FT X VTPKDLVYV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALIVYWEME
DKNIIQFVHG DLKVQHSS YRQARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG
VYRCMISYGG ADYKRITVKV NAPYNKINQR ILVDPVTSE HELTCQAEGY
PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT TTNSKREEKL FNVSTSLRIN TTTNEIFYCT
FRRLDPEENH TAELVIPGNI LNVSICKI (SEQ ID NO:398), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Glu. В некоторых случаях X представляет собой Ala. В некоторых случаях X представляет собой Arg.

Подходящий вариант PD-L1 включает полипептид, который содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:

FT VTPKDLVYV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALXIVYWEME DKNIIQFVHG
EEDLKVQHSS YRQARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG
ADYKRITVKV NAPYNKINQR ILVDPVTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS
DHQVLSGKTT TTNSKREEKL FNVSTSLRIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAELVIPGNI
LNVSICKI (SEQ ID NO:399), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Ile. В некоторых случаях X представляет собой Asp.

Подходящий вариант PD-L1 включает полипептид, который содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности со следующей аминокислотной последовательностью:

FT VTPKDLVYV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALIVYWEME DKNIIQFVHG
EXDLKVQHSS YRQARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG

ADYKRITVKV NAPYNKINQR ILVVDPTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS
DHQVLSGKTT TTNSKREEKL FNVSTSLRIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAEVIPGNI
LNVSIIKI (SEQ ID NO:400), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от
Glu. В некоторых случаях X представляет собой Arg.

Варианты CD80

В некоторых случаях вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующего в TMMP по данному изобретению, представляет собой вариант полипептида CD80. CD80 дикого типа связывается с CD28. CD80 дикого типа также связывается с CD86.

Аминокислотная последовательность дикого типа эктодомена CD80 человека может быть следующей:

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVLELA QTRIWQKEK KMVLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYESCVVLK YEKDAFKREN
LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ
ID NO:4).

Аминокислотная последовательность CD28 дикого типа может быть следующей:

MLRLLLALNL FPSIQVTGNK ILVKQSPMLV AYDNAVNLSC KYSYNLFSRE
FRASLHKGLD SAVEVCVVYG NYSQQQLQVYS KTGFNCDGKL GNEVTFYLYQ
NLYVNQTDIY FCKIEVMYPP PYLDNEKSNG TIHVKGKHL CPSPLFPGPS
KPFWVLVVVG GVLACYSLLV TVAFIIFWVR SKRSRLLHSD YMNMTPRRPG
PTRKHYQPYA PPRDFAAYRS (SEQ ID NO:5). В некоторых случаях, когда TMMP по
данному изобретению содержит вариант полипептида CD80, «когнатный ко-
иммуномодулирующий полипептид» представляет собой полипептид CD28, содержащий
аминокислотную последовательность SEQ ID NO:5.

Аминокислотная последовательность CD28 дикого типа может быть следующей:

MLRLLLALNL FPSIQVTGNK ILVKQSPMLV AYDNAVNLSS KHLCPSPFLP
GPSKPFWVLV VVGGLACYS LLVTVAFIIF WVRSKRSRLL HSDYMNMTPR
RPGPTRKHYQ PYAPPRDFAA YRS (SEQ ID NO:6)

Аминокислотная последовательность CD28 дикого типа может быть следующей:

MLRLLLALNL FPSIQVTGKH LCPSPLFPGP SKPFWVLVVV GGVACYSLL
VTVAFIIFWV RSKRSRLLHS DYMNMTPRRP GPTRKHYQPY APPRDFAAAYR S (SEQ ID
NO:7).

В некоторых случаях вариант полипептида CD80 проявляет пониженную
аффинность связывания с полипептидом CD28 по сравнению с аффинностью связывания

полипептида CD80, содержащего аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 4, с CD28. Например, в некоторых случаях вариант полипептида CD80 связывает CD28 с аффинностью связывания, которая на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50% по меньшей мере 55% меньше по меньшей мере на 60% меньше по меньшей мере на 65% меньше, по меньшей мере 70% меньше, по меньшей мере 75% меньше, по меньшей мере 80% меньше, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания полипептида CD80, содержащего аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:4, с CD28 (например, полипептидом CD28, содержащим аминокислотную последовательность, представленную в одной из SEQ ID NO:5, 6 или 7).

В некоторых случаях, вариант полипептида CD80 имеет аффинность связывания с CD28, которая составляет от 100 нМ до 100 мкМ. В качестве другого примера, в некоторых случаях вариант полипептида CD80 по данному изобретению имеет аффинность связывания с CD28 (например, полипептидом CD28, содержащим аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO: 7), которая составляет от около 100 нМ до 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 нМ до около 300 нМ, от около 300 нМ до около 350 нМ, от около 350 нМ до около 400 нМ, от около 400 нМ до около 500 нМ, от около 500 нМ до около 600 нМ, от около 600 нМ до около 700 нМ, от около 700 нМ до около 800 нМ, от около 800 нМ до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, до около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 15 мкМ, от около 15 мкМ до около 20 мкМ, от около 20 мкМ до около 25 мкМ, от около 25 мкМ до около 50 мкМ, от около 50 мкМ до около 75 мкМ или от около 75 мкМ до около 100 мкМ.

В некоторых случаях вариант полипептида CD80 имеет одну аминокислотную замену по сравнению с аминокислотной последовательностью CD80, представленной в SEQ ID NO: 4. В некоторых случаях вариант полипептида CD80 имеет от 2 до 10 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью CD80, представленной в SEQ ID NO: 4. В некоторых случаях вариант полипептида CD80 имеет 2 аминокислотные замены по сравнению с аминокислотной последовательностью CD80, представленной в SEQ ID NO: 4. В некоторых случаях вариант полипептида CD80 имеет 3 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью CD80, представленной в SEQ ID NO: 4. В некоторых случаях вариант полипептида CD80 имеет 4

аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью CD80, представленной в SEQ ID NO: 4. В некоторых случаях вариант полипептида CD80 имеет 5 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью CD80, представленной в SEQ ID NO: 4. В некоторых случаях вариант полипептида CD80 имеет 6 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью CD80, представленной в SEQ ID NO: 4. В некоторых случаях вариант полипептида CD80 имеет 7 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью CD80, представленной в SEQ ID NO: 4. В некоторых случаях вариант полипептида CD80 имеет 8 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью CD80, представленной в SEQ ID NO: 4. В некоторых случаях вариант полипептида CD80 имеет 9 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью CD80, представленной в SEQ ID NO: 4. В некоторых случаях вариант полипептида CD80 имеет 10 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью CD80, представленной в SEQ ID NO: 4.

Подходящие варианты CD80 включают полипептид, который содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с одной из следующих аминокислотных последовательностей:

VIHVTK EVKEVATLSC GHXVSVEELA QTRIWQKEK KMVLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYESCVVLK YEKDAFKREH
LAEVTLVKA DFPTPSISDF EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ
ID NO:401), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asn. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIWQKEK KMVLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITXNLS IVILALRPSD EGTYESCVVLK YEKDAFKREH
LAEVTLVKA DFPTPSISDF EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ
ID NO:402), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asn. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIWQKEK KMVLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS XVILALRPSD EGTYESCVVLK YEKDAFKREH
LAEVTLVKA DFPTPSISDF EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ

ID NO:403), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Ile. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIWQKEK KMVLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYESCVVLX YEKDAFKREH
LAEVTLVKA DFPTPSISDF EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ
ID NO:404), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Lys. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIWQKEK KMVLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYESCVVLK YEKDAFKREH
LAEVTLVKA DFPTPSISDF EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
XDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ
ID NO:405), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Gln. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIWQKEK KMVLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYESCVVLK YEKDAFKREH
LAEVTLVKA DFPTPSISDF EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QXPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ
ID NO:406), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asp. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEEXA QTRIWQKEK KMVLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYESCVVLK YEKDAFKREH
LAEVTLVKA DFPTPSISDF EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ
ID NO:407), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Leu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIXWQKEK KMVLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYESCVVLK YEKDAFKREH
LAEVTLVKA DFPTPSISDF EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ
ID NO:408), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Tyr. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIWXKEK KMVLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYESCVVLK YEKDAFKREH
LAEVTLVKA DFPTPSISDF EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS

QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:409), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Gln. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIYWQKEK KXVLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVVK YEKDAFKREH
LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:410), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Met. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIYWQKEK KMXLTMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVVK YEKDAFKREH
LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:411), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Val. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIYWQKEK KMVLTMMMSGD
MNXWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVVK YEKDAFKREH
LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:412), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Ile. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIYWQKEK KMVLTMMMSGD
MNIWPEXKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVVK YEKDAFKREH
LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:413), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Tyr. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIYWQKEK KMVLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFXITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVVK YEKDAFKREH
LAEVTLSVKA DFPTPSISDF EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS
QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:414), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asp. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIIYWQKEK KMVLTMMMSGD
MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYECVVVK YEKDAFKREH

LAEVTL SVKA DXPTPSISDF EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:415), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Phe. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIYWQKEK KMVLTMMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYESCVVLK YEKDAFKREN LAEVTL SVKA DFPTPSISDF EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVX QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:416), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Ser. В некоторых случаях X представляет собой Ala; и

VIHVTK EVKEVATLSC GHNVSVEELA QTRIYWQKEK KMVLTMMMSGD MNIWPEYKNR TIFDITNNLS IVILALRPSD EGTYESCVVLK YEKDAFKREN LAEVTL SVKA DFPTXSISDF EIPTSNIRRI ICSTSGGFPE PHLSWLENGE ELNAINTTVS QDPETELYAV SSKLDFNMTT NHSFMCLIKY GHLRVNQTFN WNTTKQEHFP DN (SEQ ID NO:417), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Pro. В некоторых случаях X представляет собой Ala.

Варианты CD86

В некоторых случаях вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующего в TMMP по данному изобретению, представляет собой вариант полипептида CD86. CD86 дикого типа связывается с CD28. В некоторых случаях, когда TMMP по данному изобретению содержит вариант полипептида CD86, «когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид» представляет собой полипептид CD28, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:5.

Аминокислотная последовательность полного эктодомена CD86 дикого типа человека может быть следующей:

APLKIQA YFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLV LNEVYLGKEKFDS VHSKYMNRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLANF SQPEIVPISNITENVYINLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYD VSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPPPPDHIP (SEQ ID NO:8).

Аминокислотная последовательность домена IgV CD86 дикого типа человека может быть следующей:

APLKIQA YFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLV LNEVYLGKEKFDS VHSKYMNRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ ID NO:9).

В некоторых случаях вариант полипептида CD86 проявляет пониженную

аффинность связывания с полипептидом CD28 по сравнению с аффинностью связывания полипептида CD86, содержащего аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:8 или SEQ ID NO:9 с CD28. Например, в некоторых случаях вариант полипептида CD86 связывает CD28 с аффинностью связывания, которая на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50% по меньшей мере 55% меньше по меньшей мере на 60% меньше по меньшей мере на 65% меньше, по меньшей мере 70% меньше, по меньшей мере 75% меньше, по меньшей мере 80% меньше, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания полипептида CD86, содержащего аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:8 или SEQ ID NO:9, с CD28 (например, полипептидом CD28, содержащим аминокислотную последовательность, представленную в одной из SEQ ID NO:5, 6 или 7).

В некоторых случаях, вариант полипептида CD86 имеет аффинность связывания с CD28, которая составляет от 100 нМ до 100 мкМ. В качестве другого примера, в некоторых случаях вариант полипептида CD86 по данному изобретению имеет аффинность связывания с CD28 (например, полипептидом CD28, содержащим аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:5, 6 или 7), которая составляет от около 100 нМ до 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 нМ до около 300 нМ, от около 300 нМ до около 350 нМ, от около 350 нМ до около 400 нМ, от около 400 нМ до около 500 нМ, от около 500 нМ до около 600 нМ, от около 600 нМ до около 700 нМ, от около 700 нМ до около 800 нМ, от около 800 нМ до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, до около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 15 мкМ, от около 15 мкМ до около 20 мкМ, от около 20 мкМ до около 25 мкМ, от около 25 мкМ до около 50 мкМ, от около 50 мкМ до около 75 мкМ или от около 75 мкМ до около 100 мкМ.

В некоторых случаях вариант полипептида CD86 имеет одну аминокислотную замену по сравнению с аминокислотной последовательностью CD86, представленной в SEQ ID NO:8. В некоторых случаях вариант полипептида CD86 имеет от 2 до 10 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью CD86, представленной в SEQ ID NO:8. В некоторых случаях вариант полипептида CD86 имеет 2 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью CD86, представленной в SEQ ID NO:8. В некоторых случаях вариант полипептида CD86 имеет 3 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью CD86, представленной в SEQ ID NO:8. В некоторых случаях вариант полипептида CD86 имеет 4

10 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью CD86, представленной в SEQ ID NO:9.

Подходящие варианты CD86 включают полипептид, который содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с одной из следующих аминокислотных последовательностей:

APLKIQA YFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVNEVYLGKEKFDS
VHSKYMXRTSFDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLANF
SQPEIVPISNITENVYINLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYD
VSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ ID NO:418), где
X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asn. В некоторых случаях, X
представляет собой Ala;

APLKIQA YFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVNEVYLGKEKFDS
VHSKYMNRTSFXSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLANF
SQPEIVPISNITENVYINLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYD
VSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ ID NO:419), где
X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asp. В некоторых случаях, X
представляет собой Ala;

APLKIQA YFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVNEVYLGKEKFDS
VHSKYMNRTSFDSXTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLANFS
QPEIVPISNITENVYINLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYD
VSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ ID NO:420), где
X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Trp. В некоторых случаях, X
представляет собой Ala;

APLKIQA YFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVNEVYLGKEKFDS
VHSKYMNRTSFDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHXKKPTGMIRIHQMNSELSVLANF
SQPEIVPISNITENVYINLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYD
VSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ ID NO:421), где
X представляет собой любую аминокислоту, отличную от His. В некоторых случаях, X
представляет собой Ala;

APLKIQA YFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVNEVYLGKEKFDS
VHSKYMXRTSFDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL
(SEQ ID NO:422), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asn. В
некоторых случаях, X представляет собой Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVNEVYLGKEKFDS
VHSKYMNRTSFXSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL
(SEQ ID NO:423), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asp. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVNEVYLGKEKFDS
VHSKYMNRTSFDSDSXTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL (SEQ
ID NO:424), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Trp. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVNEVYLGKEKFDS
VHSKYMNRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHXKKPTGMIRIHQMNSELSVL
(SEQ ID NO:425), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от His. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLXLNEVYLGKEKFDS
VHSKYMNRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLANF
SQPEIVPISNITENVYINLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYD
VSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ ID NO:426), где
X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Val. В некоторых случаях, X
представляет собой Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLXLNEVYLGKEKFDS
VHSKYMNRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL
(SEQ ID NO:427), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Val. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWXDQENLVNEVYLGKEKFDS
VHSKYMNRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLANF
SQPEIVPISNITENVYINLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYD
VSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ ID NO:428), где
X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Gln. В некоторых случаях, X
представляет собой Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWXDQENLVNEVYLGKEKFDS
VHSKYMNRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL
(SEQ ID NO:429), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Gln. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVXWQDQENLVNEVYLGKEKFDS
VHSKYMNRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLANF
SQPEIVPISNITENVYINLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYD

VSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ ID NO:430), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Phe. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

APLKIQAIFYNETADLPCQFANSQNQSLSELVVXWQDQENLVLNEVYLGKEKFDS
VHSKYMNRTSFSDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL
(SEQ ID NO:431), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Phe. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

APLKIQAIFYNETADLPCQFANSQNQSLSELVVF^WQDQENLVLNEVYLGKEKFDS
VHSKYMNRTSFSDSDSWTXRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLANF
SQPEIVPISNITENVYINLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYD
VSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ ID NO:432), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Leu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

APLKIQAIFYNETADLPCQFANSQNQSLSELVVF^WQDQENLVLNEVYLGKEKFDS
VHSKYMNRTSFSDSDSWTXRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL
(SEQ ID NO:433), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Leu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

APLKIQAIFYNETADLPCQFANSQNQSLSELVVF^WQDQENLVLNEVYLGKEKFDS
VHSKXMNRTSFSDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVLANF
SQPEIVPISNITENVYINLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYD
VSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ ID NO:434), где X представляет собой любую аминокислоту, кроме Tyr. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

APLKIQAIFYNETADLPCQFANSQNQSLSELVVF^WQDQENLVLNEVYLGKEKFDS
VHSKXMNRTSFSDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHKKPTGMIRIHQMNSELSVL
(SEQ ID NO:435), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Tyr. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

APLKIQAIFYNETADLPCQFANSQNQSLSELVVF^WQDQENLVLNEVYLGKEKFDS
VHSKYMXRTSFSDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHXKKPTGMIRIHQMNSELSVLANF
SQPEIVPISNITENVYINLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELYD
VSISLSVSFPDVTS_HMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPQPPPDHIP (SEQ ID NO:436), где первый X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asn, а второй X представляет собой любую аминокислоту, отличную от His. В некоторых случаях первый и второй X оба представляют собой Ala;

APLKIQAIFYNETADLPCQFANSQNQSLSELVVF^WQDQENLVLNEVYLGKEKFDS

VHSKYMXRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHXKKPTGMIRIHQMNSELSVL

(SEQ ID NO:437), где первый X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asn, а второй X представляет собой любую аминокислоту, отличную от His. В некоторых случаях первый и второй X оба представляют собой Ala;

APLKIQAIFYNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVNEVYLGKEKFDS
VHSKYMNRTSFX₁SDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHX₂KKPTGMIRIHQMNSELSVLAN
FSQPEIVPISNITENVYINLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTELY
DVSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPPPPDHIP (SEQ ID NO:438),

где X₁ представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asp, а X₂ представляет собой любую аминокислоту, отличную от His. В некоторых случаях, X₁ представляет собой Ala, а X₂ представляет собой Ala;

APLKIQAIFYNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVNEVYLGKEKFDS
VHSKYMNRTSFX₁SDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHX₂KKPTGMIRIHQMNSELSVL

(SEQ ID NO:439), где первый X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asn, а второй X представляет собой любую аминокислоту, отличную от His. В некоторых случаях первый и второй X оба представляют собой Ala;

APLKIQAIFYNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVNEVYLGKEKFDS
VHSKYMX₁RTSFX₂SDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHX₃KKPTGMIRIHQMNSELSVLA
NFSQPEIVPISNITENVYINLTCSSIHGYPEPKKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTEL
YDVSISLSVSFPDVTSNMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPPPPDHIP (SEQ ID NO:440),

где X₁ представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asn, X₂ представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asp, а X₃ представляет собой любую аминокислоту, отличную от His. В некоторых случаях, X₁ представляет собой Ala, X₂ представляет собой Ala, а X₃ представляет собой Ala; и

APLKIQAIFYNETADLPCQFANSQNQSLSELVFWQDQENLVNEVYLGKEKFDS
VHSKYMX₁RTSFX₂SDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIIHX₃KKPTGMIRIHQMNSELSVL

(SEQ ID NO:441), где X₁ представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asn, X₂ представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asp, а X₃ представляет собой любую аминокислоту, отличную от His. В некоторых случаях, X₁ представляет собой Ala, X₂ представляет собой Ala, а X₃ представляет собой Ala.

Варианты 4-1BBL

В некоторых случаях вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующего в TMMP по данному изобретению, представляет собой вариант полипептида 4-1BBL. 4-1BBL дикого типа связывается с 4-1BB (CD137).

Аминокислотная последовательность 4-1BBL дикого типа может быть следующей:

MEYASDASLD PEAPWPPAPR ARACRVLPWA LVAGLLLLLL LAAACAVFLA
 CPWAVSGARA SPGSAASPRL REGPELSPDD PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV
 LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT KELVVAKAGV YYVFFQLELR
 RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA LTVDLPPASS EARNSAFGFQ
 GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE
 (SEQ ID NO:10).

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL представляет собой вариант домена гомологии (THD) фактора некроза опухоли (ФНО) 4-1BBL человека.

Аминокислотная последовательность дикого типа THD 4-1BBL человека может представлять собой, например, одну из SEQ ID NO:11-13, т.е. следующую:

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:11).

D PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:12).

D PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPA (SEQ ID NO:13).

Аминокислотная последовательность 4-1BB дикого типа может быть следующей:
 MGNSCYNIVA TLLVLNFER TRSLQDPCSN CPAGTFCDNN RNQICSPCPP
 NSFSSAGGQR TCDICRQCKG VFRTRKECSS TSNAECDCTP GFHCLGAGCS
 MCEQDCKQGQ ELTKKGCKDC CFGTFNDQKR GICRPWTNCS LDGKSVLVNG
 TKERDVVCGP SPADLSPGAS SVTPPAPARE PGHSPQIISF FLALTSTALL FLLFFLTLRF
 SVVKRGRKKL LYIFKQPFMR PVQTTQEEDG CSCRFPEEEE GGCEL (SEQ ID NO:14). В некоторых случаях, когда TMMP по данному изобретению содержит вариант полипептида 4-1BBL, «когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид» представляет собой полипептид 4-1BB, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:14.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL проявляет пониженную аффинность связывания с полипептидом 4-1BB по сравнению с аффинностью связывания полипептида 4-1BBL, содержащего аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:10-13. Например, в некоторых случаях вариант

полипептида 4-1BBL по данному изобретению связывает 4-1BB с аффинностью связывания, которая на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50% по меньшей мере 55% меньше по меньшей мере, на 60% меньше по меньшей мере на 65% меньше, по меньшей мере 70% меньше, по меньшей мере 75% меньше, по меньшей мере 80% меньше, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% меньше, по меньшей мере 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания полипептида 4-1BBL, содержащего аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:10-13, с полипептидом 4-1BB (например, полипептидом 4-1BB, содержащим аминокислотную последовательность, представленную в одной из SEQ ID NO:14), при анализе в одинаковых условиях.

В некоторых случаях, вариант полипептида 4-1BBL имеет аффинность связывания с 4-1BB, которая составляет от 100 нМ до 100 мкМ. В качестве другого примера, в некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL имеет аффинность связывания с 4-1BB (например, полипептидом 4-1BB, содержащим аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 14), которая составляет от около 100 нМ до 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 нМ до около 300 нМ, от около 300 нМ до около 350 нМ, от около 350 нМ до около 400 нМ, от около 400 нМ до около 500 нМ, от около 500 нМ до около 600 нМ, от около 600 нМ до около 700 нМ, от около 700 нМ до около 800 нМ, от около 800 нМ до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, до около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 15 мкМ, от около 15 мкМ до около 20 мкМ, от около 20 мкМ до около 25 мкМ, от около 25 мкМ до около 50 мкМ, от около 50 мкМ до около 75 мкМ или от около 75 мкМ до около 100 мкМ.

В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL имеет одну аминокислотную замену по сравнению с аминокислотной последовательностью 4-1BBL, представленной в одной из SEQ ID NO: 10 -13. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL имеет от 2 до 10 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью 4-1BBL, представленной в одной из SEQ ID NO: 10 -13. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL имеет 2 аминокислотные замены по сравнению с аминокислотной последовательностью 4-1BBL, представленной в одной из SEQ ID NO: 10 -13. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL имеет 3 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью 4-1BBL, представленной в одной из SEQ ID NO: 10-13. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL имеет 4 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью 4-1BBL,

представленной в одной из SEQ ID NO: 10-13. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL имеет 5 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью 4-1BBL, представленной в одной из SEQ ID NO: 10-13. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL имеет 6 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью 4-1BBL, представленной в одной из SEQ ID NO: 10-13. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL имеет 7 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью 4-1BBL, представленной в одной из SEQ ID NO: 10-13. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL имеет 8 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью 4-1BBL, представленной в одной из SEQ ID NO: 10-13. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL имеет 9 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью 4-1BBL, представленной в одной из SEQ ID NO: 10-13. В некоторых случаях вариант полипептида 4-1BBL имеет 10 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью 4-1BBL, представленной в одной из SEQ ID NO: 10-13.

Подходящие варианты 4-1BBL включают полипептид, который содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с одной из следующих аминокислотных последовательностей:

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYXEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHLHTEA RARHAWQLTQ
GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:442), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Lys. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHLHTEA RARHAWXLTQ
GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:443), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Gln. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG XF AQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVLHLHTEA RARHAWQLTQ
GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:444), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Met. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MXAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:445), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Phe. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAXLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:446), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Gln. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQXVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:447), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Leu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLXAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:448), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Val. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAXNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:449), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Gln. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAXNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:450), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Asn. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNX LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:451), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Val. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV XLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:452), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Leu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LXIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:453), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Leu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLXDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:454), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Ile. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIXGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:455), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Asp. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDXPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:456), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Gly. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGXLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:457), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Pro. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPXSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:458), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Leu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLXWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:459), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Ser. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSXY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:460), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Trp. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWX SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:461), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Tyr. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY X DPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:462), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Ser. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SX PGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:463), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Asp. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDXGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:464), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Pro. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPXLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:465), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Gly. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGXAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:466), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Leu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAXVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:467), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Gly. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGXSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:468), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Val. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVXL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:469), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Ser. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSX TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:470), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Leu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL XGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:471), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Thr. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TXGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:472), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Gly. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGXLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:473), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Gly. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGXSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:474), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Leu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLXYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:475), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Ser. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSXKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:476), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Tyr. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKXDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:477), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Glu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEXT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:478), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Asp. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDX
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:479), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Thr. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
XELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:480), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Lys. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KXLVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:481), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Glu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVXFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:482), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Phe. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFXQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:483), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Phe. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFXLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:484), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Gln. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQXELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:485), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Leu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLXLR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:486), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Glu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLEXR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:487), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Leu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELX RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:488), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Arg. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR XVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:489), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Arg. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RXVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:490), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Val. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVXAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:491), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Val. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAXEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:492), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Gly. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGXGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:493), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Glu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEXSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:494), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Gly. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGXGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:495), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Ser. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVXLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:496), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Asp. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDXPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:497), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Leu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLXPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:498), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Pro. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPAXS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:499), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Ser. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASX EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:500), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Ser. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS XARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:501), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Glu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EAXNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:502), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Arg. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARXSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:503), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Asn. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNXAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:504), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Ser. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAXGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:505), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Phe. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGX RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:506), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Gln. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ XLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:507), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Arg. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RXGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:508), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Leu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLXVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:509), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Gly. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGXHLEHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:510), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Val. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVXLHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:511), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от His. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHXHTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:512), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Leu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLXTEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:513), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от His. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHXEA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:514), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Thr. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTXA RARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:515), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Glu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA XARHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:516), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Arg. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RAXHAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:517), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Arg. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARXAWQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:518), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от His. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAXQLTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:519), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Trp. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQXTQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:520), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Leu. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLXQ
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:521), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Thr. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTX
 GATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:522), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Gln. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
XATVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:523), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Gly. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GAXVLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:524), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Thr. В некоторых случаях X представляет собой Ala; и

PAGLLDLRQG MFAQLVAQNV LLIDGPLSWY SDPGLAGVSL TGGLSYKEDT
 KELVVAKAGV YYVFFQLELR RVVAGEGSGS VSLALHLQPL RSAAGAAALA
 LTVDLPPASS EARNSAFGFQ GRLLHLSAGQ RLGVHLHTEA RARHAWQLTQ
 GATXLGLFRV TPEIPAGLPS PRSE (SEQ ID NO:525), где X представляет собой любую
 аминокислоту, отличную от Val. В некоторых случаях X представляет собой Ala.

Варианты IL-2

В некоторых случаях вариант иммуномодулирующего полипептида, присутствующего в TMMP по данному изобретению, представляет собой вариант полипептида IL-2. IL-2 дикого типа связывается с рецептором IL-2 (IL-2R), то есть гетеротримерным полипептидом, содержащим IL-2R α , IL-2R β и IL-2R γ .

Аминокислотная последовательность IL-2 дикого типа может быть следующей:
 APTSSSTKKT QLQLEEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TEKFYMPKKA
 TELKHLQCLEEELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE
 TTFMCEYADE TATIVEFLNRWITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:15).

IL2 дикого типа связывается с рецептором IL2 (IL2R) на поверхности клетки. Рецептор IL2 представляет собой в некоторых случаях гетеротримерный полипептид, содержащий альфа-цепь (IL-2R α , также называемую CD25), бета-цепь (IL-2R β , также называемую CD122) и гамма-цепь (IL-2R γ , также называемую CD132). Аминокислотные последовательности IL-2R α , IL2R β и IL-2R γ человека могут быть следующими.

IL-2R α человека: ELCDDDPPE IPHATFKAMA YKEGTM LNCE CKRGFRRIKS

GSLYMLCTGN SSHSSWDNQC QCTSSATRNT TKQVTPQPEE QKERKTTEMQ
 SPMQPVDQAS LPGHCREPPP WENEATERIY HFVVGQMVYY QCVQGYRALH
 RGPAESVCKM THGKTRWTQP QLICGTGEMET SQFPGEEKPQ ASPEGRPESE
 TSCLVTTTDF QIQTEMAATM ETSIFTTEYQ VAVAGCVFLL ISVLLLSGLT
 WQRRQRKSRR TI (SEQ ID NO:16).

IL-2R β человека: VNG TSQFTCFYNS RANISCVWSQ DGALQDTSCQ
 VHAWPDRRW NQTCELLPVS QASWACNLIL GAPDSQKLTT VDIVTLRVLC
 REGVRWRVMA IQDFKPFENL RLMAPIQLQV VHVETHRCNI SWEISQASHY
 FERHLEFEAR TLSPGHTWEE APLLTLLKQKQ EWICLETLP DTQYEFQVRV
 KPLQGEFTTW SPWSQPLAFR TKPAALGKDT IPWLGHLLVG LSGAFGFIL
 VYLLINCRNT GPWLKKVLKC NTPDPSKFFS QLSSEHGGDV QKWLSSPFPS
 SSFSPGGLAP EISPLEVLER DKVTQLLLQQ DKVPEPASLS SNHSLTSCFT NQGYFFFHLP
 DALEIEACQV YFTYDPYSEE DPDEGVAGAP TGSSPQPLQP LSGEDDAYCT
 FPSRDDLLLF SPSLLGGPSP PSTAPGGSGA GEERMPPSLQ ERVPRDWDQP
 PLGPPTPGVP DLVDFQPPPE LVLREAGEEV PDAGPREGVS FPWSRPPGQG
 EFRALNARLP LNTDAYLSLQ ELQGQDPTHL V (SEQ ID NO:17).

IL-2R γ человека: LNTTILTP NGNEDTTADF FLTTMPTDSL SVSTLPLPEV
 QCFVFNVEYM NCTWNSSESEP QPTNLTLHYW YKNSDNDKVQ KCSHYLFSEE
 ITSGCQLQKK EIHL YQTFVV QLQDPREPRR QATQMLKLQN LVIPWAPENL
 TLHKLSESQL ELNWNNRFLN HCLEHLVQYR TDWDHSWTEQ SVDYRHKFSL
 PSVDGQKRYT FRVRSRFNPL CGSAQHWSEW SHPIHWGSNT SKENPFLFAL
 EAVVISVGSM GLIISLLCVY FWLERTMPRI PTLKNLEDLV TEYHGNFSAW
 SGVSKGLAES LQPDYSERLC LVSEIPPKGG ALGEGPGASP CNQHSPYWAP
 PCYTLKPET (SEQ ID NO:18).

В некоторых случаях, когда TMMP по данному изобретению содержит вариант полипептида IL-2, «когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид» представляет собой полипептид IL-2R, содержащий полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, 17 и 18.

В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 проявляет пониженную аффинность связывания с полипептидом IL-2R по сравнению с аффинностью связывания полипептида IL-2, содержащего аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:15. Например, в некоторых случаях вариант полипептида IL-2 связывает IL-2R с аффинностью связывания, которая на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50% по меньшей мере

55% меньше по меньшей мере, на 60% меньше по меньшей мере на 65% меньше, по меньшей мере 70% меньше, по меньшей мере 75% меньше, по меньшей мере 80% меньше, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% меньше, по меньшей мере 95% меньше или более чем на 95% меньше, чем аффинность связывания полипептида IL-2, содержащего аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:15, с полипептидом IL-2R (например, полипептидом IL-2R, содержащим полипептид, содержащим аминокислотную последовательность, представленную в одной из SEQ ID NO:16-18), при анализе в одинаковых условиях.

В некоторых случаях, вариант полипептида IL-2 имеет аффинность связывания с IL-2R, которая составляет от 100 нМ до 100 мкМ. В качестве другого примера, в некоторых случаях вариант полипептида IL-2 имеет аффинность связывания с IL-2R (например, полипептидом IL-2R, содержащим полипептид, содержащим аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 16-18), которая составляет от около 100 нМ до 150 нМ, от около 150 нМ до около 200 нМ, от около 200 нМ до около 250 нМ, от около 250 нМ до около 300 нМ, от около 300 нМ до около 350 нМ, от около 350 нМ до около 400 нМ, от около 400 нМ до около 500 нМ, от около 500 нМ до около 600 нМ, от около 600 нМ до около 700 нМ, от около 700 нМ до около 800 нМ, от около 800 нМ до около 900 нМ, от около 900 нМ до около 1 мкМ, до около 1 мкМ до около 5 мкМ, от около 5 мкМ до около 10 мкМ, от около 10 мкМ до около 15 мкМ, от около 15 мкМ до около 20 мкМ, от около 20 мкМ до около 25 мкМ, от около 25 мкМ до около 50 мкМ, от около 50 мкМ до около 75 мкМ или от около 75 мкМ до около 100 мкМ.

В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 имеет одну аминокислотную замену по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2, представленной в SEQ ID NO:15. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 имеет от 2 до 10 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2, представленной в SEQ ID NO:15. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 имеет 2 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2, представленной в SEQ ID NO:15. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 имеет 3 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2, представленной в SEQ ID NO: 15. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 имеет 4 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2, представленной в SEQ ID NO: 15. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 имеет 5 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2, представленной в SEQ ID NO: 15. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 имеет 6 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2,

представленной в SEQ ID NO: 15. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 имеет 7 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2, представленной в SEQ ID NO: 15. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 имеет 8 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2, представленной в SEQ ID NO: 15. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 имеет 9 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2, представленной в SEQ ID NO: 15. В некоторых случаях вариант полипептида IL-2 имеет 10 аминокислотных замен по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2, представленной в SEQ ID NO: 15.

Подходящие варианты IL-2 включают полипептид, который содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности аминокислотной последовательности с одной из следующих аминокислотных последовательностей:

APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TXKFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVN NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE
TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:527), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Phe. В некоторых случаях X представляет собой Ala. В некоторых случаях X представляет собой Met. В некоторых случаях X представляет собой Pro. В некоторых случаях X представляет собой Ser. В некоторых случаях X представляет собой Thr. В некоторых случаях X представляет собой Trp. В некоторых случаях X представляет собой Tyr. В некоторых случаях X представляет собой Val. В некоторых случаях X представляет собой His;

APTSSSTKKT QLQLEHLLLX LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVN NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE
TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:528), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asp. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

APTSSSTKKT QLQLXHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVN NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE
TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:529), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Glu. В некоторых случаях X представляет собой Ala.

APTSSSTKKT QLQLEXLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVN NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE

TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:530), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от His. В некоторых случаях X представляет собой Ala. В некоторых случаях X представляет собой Thr. В некоторых случаях X представляет собой Asp. В некоторых случаях X представляет собой Cys. В некоторых случаях X представляет собой Gln. В некоторых случаях X представляет собой Met. В некоторых случаях X представляет собой Val. В некоторых случаях X представляет собой Trp;

APTSSSTKKT QLQLEXLLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE
TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:531), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от His. В некоторых случаях X представляет собой Ala. В некоторых случаях X представляет собой Arg. В некоторых случаях X представляет собой Asp. В некоторых случаях X представляет собой Cys. В некоторых случаях X представляет собой Glu. В некоторых случаях X представляет собой Gln. В некоторых случаях X представляет собой Gly. В некоторых случаях X представляет собой Ile. В некоторых случаях X представляет собой Lys. В некоторых случаях X представляет собой Leu. В некоторых случаях X представляет собой Met. В некоторых случаях X представляет собой Phe. В некоторых случаях X представляет собой Pro. В некоторых случаях X представляет собой Ser. В некоторых случаях X представляет собой Thr. В некоторых случаях X представляет собой Tyr. В некоторых случаях X представляет собой Trp. В некоторых случаях X представляет собой Val;

APTSSSTKKT QLQLEHLLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFXMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE
TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:532), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Tyr. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

APTSSSTKKT QLQLEHLLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE
TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFCXSIIS TLT (SEQ ID NO:533), где X представляет собой любую аминокислоту, отличную от Gln. В некоторых случаях, X представляет собой Ala;

APTSSSTKKT QLQLEX₁LLLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₂KFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE
TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:534), где X₁ представляет собой любую аминокислоту, отличную от His, и где X₂ представляет собой любую

аминокислоту, отличную от Phe. В некоторых случаях X_1 представляет собой Ala. В некоторых случаях X_2 представляет собой Ala. В некоторых случаях X_1 представляет собой Ala, и X_2 представляет собой Ala. В некоторых случаях X_1 представляет собой Thr, а X_2 представляет собой Ala;

APTSSSTKKT QLQLEHLLL X_1 LQMILNGINN YKNPKLTRML T X_2 KFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE
TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:535), где X_1 представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asp; и где X_2 представляет собой любую аминокислоту, отличную от Phe. В некоторых случаях X_1 представляет собой Ala. В некоторых случаях X_2 представляет собой Ala. В некоторых случаях, X_1 представляет собой Ala, а X_2 представляет собой Ala;

APTSSSTKKT QLQL X_1 HLLL X_2 LQMILNGINN YKNPKLTRML T X_3 KFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE
TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:536), где X_1 представляет собой любую аминокислоту, отличную от Glu; где X_2 представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asp; и где X_3 представляет собой любую аминокислоту, отличную от Phe. В некоторых случаях X_1 представляет собой Ala. В некоторых случаях X_2 представляет собой Ala. В некоторых случаях X_3 представляет собой Ala. В некоторых случаях, X_1 представляет собой Ala, X_2 представляет собой Ala, а X_3 представляет собой Ala;

APTSSSTKKT QLQLE X_1 LLL X_2 LQMILNGINN YKNPKLTRML T X_3 KFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE
TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:537), где X_1 представляет собой любую аминокислоту, отличную от His; где X_2 представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asp; и где X_3 представляет собой любую аминокислоту, отличную от Phe. В некоторых случаях X_1 представляет собой Ala. В некоторых случаях X_2 представляет собой Ala. В некоторых случаях X_3 представляет собой Ala. В некоторых случаях, X_1 представляет собой Ala, X_2 представляет собой Ala, а X_3 представляет собой Ala;

APTSSSTKKT QLQLEHLLL X_1 LQMILNGINN YKNPKLTRML T X_2 KFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE
TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFC X_3 SIIS TLT (SEQ ID NO:538), где X_1 представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asp; где X_2 представляет собой любую аминокислоту, отличную от Phe; и где X_3 представляет собой любую аминокислоту, отличную от Gln. В некоторых случаях X_1 представляет собой Ala. В некоторых случаях

X₂ представляет собой Ala. В некоторых случаях X₃ представляет собой Ala. В некоторых случаях, X₁ представляет собой Ala, X₂ представляет собой Ala, а X₃ представляет собой Ala;

APTSSTKKT QLQLEHLLLX₁ LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₂KFX₃MPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE
TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:539), где X₁ представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asp; где X₂ представляет собой любую аминокислоту, отличную от Phe; и где X₃ представляет собой любую аминокислоту, отличную от Tyr. В некоторых случаях X₁ представляет собой Ala. В некоторых случаях X₂ представляет собой Ala. В некоторых случаях X₃ представляет собой Ala. В некоторых случаях, X₁ представляет собой Ala, X₂ представляет собой Ala, а X₃ представляет собой Ala;

APTSSTKKT QLQLEX₁LLLX₂ LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₃KFX₄MPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE
TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFCQSIIS TLT (SEQ ID NO:540), где X₁ представляет собой любую аминокислоту, отличную от His; где X₂ представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asp; где X₃ представляет собой любую аминокислоту, отличную от Phe; и где X₄ представляет собой любую аминокислоту, отличную от Tyr. В некоторых случаях X₁ представляет собой Ala. В некоторых случаях X₂ представляет собой Ala. В некоторых случаях X₃ представляет собой Ala. В некоторых случаях X₄ представляет собой Ala. В некоторых случаях, X₁ представляет собой Ala, X₂ представляет собой Ala, X₃ представляет собой Ala, а X₄ представляет собой Ala;

APTSSTKKT QLQLEHLLLX₁ LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₂KFX₃MPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE
TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFCX₄SIIS TLT (SEQ ID NO:541), где X₁ представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asp; где X₂ представляет собой любую аминокислоту, отличную от Phe; где X₃ представляет собой любую аминокислоту, отличную от Tyr; и где X₄ представляет собой любую аминокислоту, отличную от Gln. В некоторых случаях X₁ представляет собой Ala. В некоторых случаях X₂ представляет собой Ala. В некоторых случаях X₃ представляет собой Ala. В некоторых случаях X₄ представляет собой Ala. В некоторых случаях, X₁ представляет собой Ala, X₂ представляет собой Ala, X₃ представляет собой Ala, а X₄ представляет собой Ala;

APTSSTKKT QLQLEX₁LLLX₂ LQMILNGINN YKNPKLTRML TX₃KFX₄MPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE
TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFCX₅SIIS TLT (SEQ ID NO:542), где X₁ представляет

собой любую аминокислоту, отличную от His; где X_2 представляет собой любую аминокислоту, отличную от Asp; где X_3 представляет собой любую аминокислоту, отличную от Phe; где X_4 представляет собой любую аминокислоту, отличную от Tug; и где X_5 представляет собой любую аминокислоту, отличную от Gln. В некоторых случаях X_1 представляет собой Ala. В некоторых случаях X_2 представляет собой Ala. В некоторых случаях X_3 представляет собой Ala. В некоторых случаях X_4 представляет собой Ala. В некоторых случаях X_5 представляет собой Ala. В некоторых случаях, X_1 представляет собой Ala, X_2 представляет собой Ala, X_3 представляет собой Ala, X_4 представляет собой Ala, а X_5 представляет собой Ala; и

APTSSSTKKT QLQLEX X_1 LLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TX X_2 KFYMPKKA
TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE
TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFC X_3 SIIS TLT (SEQ ID NO:543), где X_1 представляет собой любую аминокислоту, отличную от His; где X_2 представляет собой любую аминокислоту, отличную от Phe; и где X_3 представляет собой любую аминокислоту, отличную от Gln. В некоторых случаях X_1 представляет собой Ala. В некоторых случаях X_2 представляет собой Ala. В некоторых случаях X_3 представляет собой Ala. В некоторых случаях, X_1 представляет собой Ala, X_2 представляет собой Ala, а X_3 представляет собой Ala.

Дополнительные полипептиды

Полипептидная цепь TMMP по данному изобретению может содержать один или несколько полипептидов в дополнение к тем, которые описаны выше. Подходящие дополнительные полипептиды включают эпитопные метки и аффинные домены. Один или более дополнительных полипептидов могут быть включены на N-конце полипептидной цепи TMMP, на C-конце полипептидной цепи TMMP или внутри полипептидной цепи TMMP.

Эпитопная метка

Подходящие эпитопные метки включают, но не ограничиваются ими, гемагглютинин (HA; например, YPYDVPDYA (SEQ ID NO:544); FLAG (например, DYKDDDDK (SEQ ID NO:545); с-мус (например, EQKLISEEDL; SEQ ID NO:546) и тому подобные.

Домен аффинности

Домены аффинности включают пептидные последовательности, которые могут взаимодействовать с партнером по связыванию, например, таким как иммобилизованный на твердой подложке, полезным для идентификации или очистки. Последовательности ДНК, кодирующие несколько последовательных отдельных аминокислот, таких как

гистидин, при слиянии с экспрессированным белком, могут быть использованы для одностадийной очистки рекомбинантного белка путем связывания с высокой аффинностью с колонкой со смолой, такой как никель-сефароза. Типичные аффинные домены включают His5 (HHHHH) (SEQ ID NO:547), HisX6 (HHHHHH) (SEQ ID NO:548), С-мус (EQKLISEEDL) (SEQ ID NO:549), Flag (DYKDDDDK) (SEQ ID NO:550), StrepTag (WSHPQFEK) (SEQ ID NO:551), гемагглютинин, например, HA Tag (YPYDVPDYA) (SEQ ID NO:552), глутатион-S-трансферазу (GST), тиоредоксинредуктазу, домен связывания целлюлозы, RYIRS (SEQ ID NO:553), Phe-His-His-Thr (SEQ ID NO:554), хитин-связывающий домен, S-пептид, пептид T7, домен SH2, С-концевая РНК-метка, WEAAAREACCRECCARA (SEQ ID NO:555), связывающие металл домены, например, цинк-связывающие домены или кальций-связывающие домены, такие как домены из кальций-связывающих белков, например, кальмодулина, тропонина С, кальцийнейрина В, легкой цепи миозина, реоверина, S-модулина, визинина, VILIP, нейрокальцина, гиппокальцина, фрекенина, кальтрацина, большой субъединицы кальпаина, белков S100, парвальбумина, кальбиндина D9K, кальбиндина D28K и кальретинина, интеины, биотин, стрептавидин, MyoD, Id, последовательности лейциновой молнии и мальтозосвязывающий белок.

Конъюгаты с лекарственным средством

Полипептидная цепь ТММР по данному изобретению может содержать низкомолекулярное лекарственное средство, связанное (например, ковалентно присоединенное) с полипептидной цепью. Например, когда ТММР по данному изобретению содержит полипептид Fc, полипептид Fc может содержать ковалентно связанное низкомолекулярное лекарственное средство. В некоторых случаях низкомолекулярное лекарственное средство представляет собой химиотерапевтический агент против рака, например цитотоксический агент. Полипептидная цепь ТММР по данному изобретению может содержать цитотоксический агент, связанный (например, ковалентно связанный) с полипептидной цепью. Например, когда ТММР по данному изобретению содержит полипептид Fc, полипептид Fc может содержать ковалентно связанный цитотоксический агент. Цитотоксические агенты включают пролекарства.

Лекарственное средство (например, химиотерапевтический противораковый агент) может быть связано прямо или косвенно с полипептидной цепью ТММР по данному изобретению. Например, когда ТММР по данному изобретению содержит полипептид Fc, лекарственное средство (например, химиотерапевтический противораковый агент) может быть связано прямо или косвенно с полипептидом Fc. Прямая связь может включать связь непосредственно с боковой цепью аминокислоты. Косвенная связь может быть связана

через линкер. Лекарственное средство (например, химиотерапевтический противораковый агент) может быть связано с полипептидной цепью (например, полипептидом Fc) ТММР по данному изобретению через тиоэфирную связь, амидную связь, карбаматную связь, дисульфидную связь или эфирную связь.

Линкеры включают расщепляемые линкеры и нерасщепляемые линкеры. В некоторых случаях линкер представляет собой расщепляемый протеазой линкер. Подходящие линкеры включают, например, пептиды (например, длиной от 2 до 10 аминокислот; например, длиной 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот), алкильные цепи, поли(этиленгликоль), дисульфидные группы, тиоэфирные группы, кислотолабильные группы, фотоллабильные группы, пептидазные лабильные группы и эстеразные лабильные группы. Неограничивающими примерами подходящих линкеров являются: i) N-сукцинимидил-[(N-малеимидпропионамид)-тетраэтиленгликоль]сложный эфир (NHS-PEG4-малеимидин); ii) N-сукцинимидил 4-(2-пиридилдитио)бутаноат (SPDB); N-сукцинимидил 4-(2-пиридилдитио)2-сульфобутаноат (сульф-SPDB); N-сукцинимидил 4-(2-пиридилдитио) пентаноат (SPP); N-сукцинимидил-4-(N-малеимидметил)-циклогексан-1-карбокси-(6-амидокапроат) (LC-SMCC); κ-малеимидундеканодная кислота N-сукцинимидиловый сложный эфир (KMUA); γ-малеимид-масляная кислота N-сукцинимидиловый сложный эфир (GMBS); ε-малеимидокапроновая кислота N-гидроксисукцинимидный сложный эфир (EMCS); м-малеимид бензоил-N-гидроксисукцинимидный эфир (MBS); N-(α-малеимидацетокси)-сукцинимидный сложный эфир (AMAS); сукцинимидил-6-(β-малеимидпропионамид)гексаноат (SMPH); N-сукцинимидил 4-(п-малеимидфенил)бутират (SMPB); N-(п-малеимидфенил)изоцианат (PMPI); N-сукцинимидил 4(2-пиридилтио)пентаноат (SPP); N-сукцинимидил(4-йод-ацетил)аминобензоат (SIAB); 6-малеимидкапроил (MC); малеимидпропаноил (MP); п-аминобензилоксткарбонил (PAB); N-сукцинимидил 4-(малеимидметил)циклогексанкарбоксилат (SMCC); N-сукцинимидил-4-(N-малеимидметил)-циклогексан-1-карбокси-(6-амидкапроат), «длинноцепочечный» аналог SMCC (LC-SMCC); N-сукцинимидиловый эфир 3-малеимидпропановой кислоты (BMPS); N-сукцинимидил йодацетат (SIA); N-сукцинимидил бромацетат (SBA) и N-сукцинимидил 3-(бромацетомид)пропионат (SBAP).

Полипептид (например, полипептид Fc) может быть модифицирован сшивающими реагентами, такими как сукцинимидил-4-(N-малеимидометил)-циклогексан-1-карбоксилат (SMCC), сульфо-SMCC, малеимидбензоил-N-гидроксисукцинимидный эфир (MBS), сульфо-MBS или сукцинимидил-йодацетат, как описано в литературе, для введения 1-10 реакционноспособных групп. Затем модифицированный полипептид Fc

реагирует с тиолсодержащим цитотоксическим агентом с образованием конъюгата.

Например, когда ТММР по данному изобретению содержит полипептид Fc, причем полипептидная цепь, содержащая полипептид Fc, может иметь формулу (A)-(L)-(C), где (A) представляет собой полипептидную цепь, содержащую полипептид Fc; где (L), если присутствует, является линкером; и где (C) представляет собой цитотоксический агент. (L), если присутствует, связывает (A) с (C). В некоторых случаях полипептидная цепь, содержащая полипептид Fc, может содержать более одного цитотоксического агента (например, 2, 3, 4 или 5 или более 5 цитотоксических агентов).

Подходящие лекарственные средства включают, например, рапамицин. Подходящие лекарственные средства включают, например, ретиноиды, такие как полностью транс-ретиноевая кислота (ATRA); витамин D3; аналог витамина D3; и тому подобное. Как отмечено выше, в некоторых случаях лекарственное средство представляет собой цитотоксический агент. Цитотоксические агенты известны в данной области техники. Подходящим цитотоксическим агентом может быть любое соединение, которое приводит к гибели клетки или вызывает гибель клетки, или каким-либо образом снижает жизнеспособность клеток и включает, например, мейтанзиноиды и аналоги мейтанзиноидов, бензодиазепины, таксоиды, аналоги CC-1065 и CC -1065, дуокармицины и аналоги дуокармицина, энедины, таких как калихеамицины, аналоги доластатина и доластатина, в том числе ауристатин, производные томаймицина, производные лептомицина, метотрексат, цисплатин, карбоплатин, даунорубин, митохлоруксусный спирт, цуклофинсульфин, моринцилсульфин, моринфинцилоксин, моринфинцилоксин, молибуксин, рифинсульфин, циклофосфин, моринцилсульфин, моринхолуксин, моринфинцил, альбумин, моринфуцин, хлоргин, хлоргин, рифин, хлоргин, рифин, хлоргинцин, молибуксин, циклоксин, хлоргинцин, альфа-хинсульфин доксорубин.

Например, в некоторых случаях цитотоксический агент представляет собой соединение, которое ингибирует образование микротрубочек в эукариотических клетках. Такие агенты включают, например, мейтанзиноид, бензодиазепин, таксоид, CC-1065, дуокармицин, аналог дуокармицина, калихеамицин, доластатин, аналог доластатина, ауристатин, томаймицин и лептомицин или пролекарство любого из вышеперечисленных. Мейтанзиноидные соединения включают, например, N(2')-деацетил-N(2')-(3-меркапто-1-оксопропил)-мейтанзин (DM1); N(2')-деацетил-N(2')-(4-меркапто-1-оксопентил)-мейтанзин (DM3) и N(2')-деацетил-N2-(4-меркапто-4-метил-1-оксопентил)-мейтанзин (DM4). Бензодиазепины включают, например, индолинобензодиазепины и оксазолидинобензодиазепины.

Цитотоксические агенты включают таксол; цитохалазин B; грамицидин D; этидиум

бромид; эметин; митомицин; этопосид; тенопсид; винкристин; винбластин; колхицин; доксорубин; даунорубин; дигидроксид антрациндии; майтанзин или его аналог или производное; ауристатин или функциональный пептидный аналог или его производное; доластатин 10 или 15, или его аналог; иринотекан или его аналог; митоксантрон; митрамицин; актиномицин D; 1-дегидротестостерон; глюкокортикоид; прокаин; тетракаин; лидокаин; пропранолол; пуромицин; калихеамицин или его аналог или производное; антиметаболит; 6 меркаптопурин; 6 тиогуанин; цитарабин; флударабин; 5 фторурацил; декарбазин; гидроксимочевина; аспарагиназа; гемцитабин; кладрибин; алкилирующий агент; производное платины; дуокармицин A; дуокармицин SA; рахелмицин (CC-1065) или его аналог или производное; антибиотик; пиррол[2,1-с][1,4]-бензодиазепины (PDB); дифтерийный токсин; рицин-токсин; холерный токсин; Шига-подобный токсин; токсин LT; токсин C3; Шига токсин; токсин коклюша; столбнячный токсин; соевый ингибитор протеазы Боумана-Бирка; экзотоксин *Pseudomonas*; алорин; сапорин; модекцин; геланин; А-цепь абрина; А-цепь модекцина; альфа-сарцин; белки *Aleurites fordii*; белки диантина; белки *Phytolacca americana*; ингибитор момордики харанской; курцин; кротин; ингибиторы мыльнянки лекарственной; гелонин; митогеллин; рестриктоцин; феномицин; токсины эномицина; рибонуклеазы (РНКазы); ДНКазы I; стафилококковый энтеротоксин A; противовирусный белок фитолакки; дифтерийный токсин и эндотоксин *Pseudomonas*.

Примеры ТММР

ТММР по настоящему изобретению содержит по меньшей мере один гетеродимер, содержащий: а) первый полипептид, содержащий: i) пептидный эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; б) второй полипептид, содержащий второй полипептид ГКГС, в) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид, где первый и/или второй полипептид содержит иммуномодулирующий полипептид; д) Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig, где первый и/или второй полипептид содержит Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig, и е) нацеленный на опухоль полипептид (НОП), где первый и/или второй полипептид содержит НОП. Эти компоненты могут быть расположены в любой из множества конфигураций; Неограничивающие примеры таких конфигураций схематично показаны на фиг. 1А-1J; фиг. 2А-2F и фиг. 12А-12С. Таким образом, в некоторых случаях ТММР по настоящему изобретению содержат по меньшей мере один гетеродимер, содержащий: а) первый полипептид, содержащий: i) пептидный эпитоп; ii) первый полипептид ГКГС; и iii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; б) второй полипептид, содержащий второй полипептид ГКГС; в) Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig, где первый и/или второй полипептид содержит Fc-полипептид Ig или

каркас не от Ig, и d) НОП, где первый и/или второй полипептид содержит НОП. В других случаях ТММР по настоящему изобретению содержит по меньшей мере один гетеродимер, содержащий: а) первый полипептид, содержащий: i) пептидный эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; б) второй полипептид, содержащий: i) второй полипептид ГКГС; и ii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; с) Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig, где первый и/или второй полипептид содержит Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig, и d) НОП, где первый и/или второй полипептид содержит НОП. В некоторых случаях ТММР по настоящему изобретению содержит по меньшей мере один гетеродимер, содержащий: а) первый полипептид, содержащий: i) пептидный эпитоп; ii) первый полипептид ГКГС; и iii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; б) второй полипептид, содержащий: i) второй полипептид ГКГС; и ii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; с) Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig, где первый и/или второй полипептид содержит Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig, и d) НОП, где первый и/или второй полипептид содержит НОП. В некоторых случаях, по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид представляет собой иммуномодулирующий полипептид дикого типа. В других случаях по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант иммуномодулирующего полипептида, который проявляет пониженную аффинность для ко-иммуномодулирующего полипептида по сравнению с аффинностью соответствующего иммуномодулирующего полипептида дикого типа для ко-иммуномодулирующего полипептида. В некоторых случаях ТММР по данному изобретению содержит два иммуномодулирующих полипептида, причем два иммуномодулирующих полипептида имеют одинаковую аминокислотную последовательность. В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР, является ассоциированным с раком пептидом. В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР по данному изобретению, представляет собой пептид, ассоциированный с инфекционным заболеванием (например, кодируемый вирусом пептид). В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv или нанотело. В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком комплекса пептида/HLA (т.е. тяжелой цепи HLA и полипептида $\beta 2M$), присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой однопочечный Т-клеточный рецептор (оцТКР), специфичный для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на

поверхности раковой клетки. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид антигена ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях пептидный эпитоп имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В некоторых случаях TMMP по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) пептидный эпитоп; ii) первый полипептид ГКГС; и iii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) второй полипептид ГКГС; ii) полипептид Fc Ig и iii) НОП. См., например, фиг. 1С. В некоторых случаях первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2М; и второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид тяжелой цепи HLA. В некоторых случаях, тяжелая цепь HLA содержит а) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-A*0101, HLA-A*0201, HLA-A*0201, HLA-A*1101, HLA-A*2301, HLA-A*2402, HLA-A*2407, HLA-A*3303 или HLA-A*3401, показанной на фиг. 7А; или b) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-B*0702, HLA-B*0801, HLA-B*1502, HLA-B*3802, HLA-B*4001, HLA-B*4601 или HLA-B*5301, изображенной на фиг. 8А; или c) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с HLA-C*0102, HLA-C*0303, HLA-C*0304, HLA-C*0401, HLA-C*0602, HLA-C*0701, HLA-C*0702, HLA-C*0801 или HLA-C*1502, изображенной на фиг. 9А. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A*0201. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A24. В некоторых случаях тяжелая цепь HLA содержит замену A236С. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой HLA-A24 с заменой A236С. В некоторых случаях первый полипептид содержит от N-конца к С-концу: i) пептидный эпитоп; ii) первый полипептид ГКГС; и iii) два иммуномодулирующих полипептида, причем два иммуномодулирующих полипептида имеют одинаковую аминокислотную последовательность. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1 человека. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1, содержащий замены L234А и L235А. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом

дисульфидной связью. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом 2 дисульфидными связями. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид содержит аминокислотную последовательность дикого типа; в других случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант, например, как описано выше. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой полипептид 4-1BBL, например, вариант полипептида 4-1BBL. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16A и F42A. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16T и F42A. В некоторых случаях пептидный линкер находится между одним или более из: i) второго полипептида ГКГС и Fc-полипептида Ig; ii) эпитопа и первого полипептида ГКГС; iii) первого полипептида ГКГС и иммуномодулирующего полипептида; iv) (если ТММР содержит два иммуномодулирующих полипептида на первой полипептидной цепи) между двумя иммуномодулирующими полипептидами; и v) Fc-полипептида Ig и НОП. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность AAAGG. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность (GGGGS)_n, где n - целое число от 1 до 10 (например, где n равно 2, 3 или 4). В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР, является ассоциированным с раком пептидом. В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР по данному изобретению, представляет собой пептид, ассоциированный с инфекционным заболеванием (например, кодируемый вирусом пептид). В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv или нанотело. В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком комплекса пептида/HLA (т.е. тяжелой цепи HLA и полипептида β2M), присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой оцТКР, специфичный для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает Her2/HLA (пептид Her2, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида β2M). В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает CD19/HLA (пептид CD19, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида β2M). В

некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид антигена ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях пептидный эпитоп имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В некоторых случаях ТММР по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) пептидный эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) по меньшей мере иммуномодулирующий полипептид; ii) второй полипептид ГКГС; iii) Fc-полипептид Ig и iv) НОП. См., например, фиг. 1А. В некоторых случаях первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид $\beta 2M$; и второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид тяжелой цепи HLA. В некоторых случаях, тяжелая цепь HLA содержит а) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-A*0101, HLA-A*0201, HLA-A*0201, HLA-A*1101, HLA-A*2301, HLA-A*2402, HLA-A*2407, HLA-A*3303 или HLA-A*3401, показанной на фиг. 7А; или b) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-B*0702, HLA-B*0801, HLA-B*1502, HLA-B*3802, HLA-B*4001, HLA-B*4601 или HLA-B*5301, изображенной на фиг. 8А; или c) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с HLA-C*0102, HLA-C*0303, HLA-C*0304, HLA-C*0401, HLA-C*0602, HLA-C*0701, HLA-C*0702, HLA-C*0801 или HLA-C*1502, изображенной на фиг. 9А. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A*0201. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A24. В некоторых случаях тяжелая цепь HLA содержит замену A236C. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой HLA-A24 с заменой A236C. В некоторых случаях второй полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу: i) два иммуномодулирующих полипептида, причем два иммуномодулирующих полипептида имеют одинаковую аминокислотную последовательность; ii) второй полипептид ГКГС; iii) Fc-полипептид Ig и iv) НОП. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1 человека. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1, содержащий замены L234A и L235A. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом дисульфидной связью. В некоторых случаях первый и второй

полипептиды связаны друг с другом 2 дисульфидными связями. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид содержит аминокислотную последовательность дикого типа; в других случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант, например, как описано выше. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой полипептид 4-1BBL, например, вариант полипептида 4-1BBL. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой полипептид 4-1BBL. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16A и F42A. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16T и F42A. В некоторых случаях пептидный линкер находится между одним или более из: i) второго полипептида ГКГС и Fc-полипептида Ig; ii) эпитопа и первого полипептида ГКГС; iii) первого полипептида ГКГС и иммуномодулирующего полипептида; iv) (если ТММР содержит два иммуномодулирующих полипептида на первой полипептидной цепи) между двумя иммуномодулирующими полипептидами; и v) Fc-полипептида Ig и НОП. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность AAAGG. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность (GGGGS) $_n$, где n - целое число от 1 до 10 (например, где n равно 2, 3 или 4). В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР, является ассоциированным с раком пептидом. В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР по данному изобретению, представляет собой пептид, ассоциированный с инфекционным заболеванием (например, кодируемый вирусом пептид). В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv или нанотело. В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком комплекса пептида/HLA (т.е. тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M), присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой оцТКР, специфичный для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает Her2/HLA (пептид Her2, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M). В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает CD19/HLA (пептид CD19, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M). В

некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид антигена ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях пептидный эпитоп имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В некоторых случаях ТММР по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) пептидный эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) второй полипептид ГКГС; ii) Fc-полипептид Ig; iii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид и iv) НОП. См., например, фиг. 1F. В некоторых случаях первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2M; и второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид тяжелой цепи HLA. В некоторых случаях, тяжелая цепь HLA содержит а) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-A*0101, HLA-A*0201, HLA-A*0201, HLA-A*1101, HLA-A*2301, HLA-A*2402, HLA-A*2407, HLA-A*3303 или HLA-A*3401, показанной на фиг. 7A; или b) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-B*0702, HLA-B*0801, HLA-B*1502, HLA-B*3802, HLA-B*4001, HLA-B*4601 или HLA-B*5301, изображенной на фиг. 8A; или c) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с HLA-C*0102, HLA-C*0303, HLA-C*0304, HLA-C*0401, HLA-C*0602, HLA-C*0701, HLA-C*0702, HLA-C*0801 или HLA-C*1502, изображенной на фиг. 9A. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A*0201. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A24. В некоторых случаях тяжелая цепь HLA содержит замену A236C. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой HLA-A24 с заменой A236C. В некоторых случаях второй полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу: i) второй полипептид ГКГС; ii) полипептид Fc Ig; iii) два иммуномодулирующих полипептида, причем два иммуномодулирующих полипептида имеют одинаковую аминокислотную последовательность; и iv) НОП. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1 человека. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1, содержащий замены L234A и L235A. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом дисульфидной связью. В некоторых случаях первый и второй полипептиды

связаны друг с другом 2 дисульфидными связями. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид содержит аминокислотную последовательность дикого типа; в других случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант, например, как описано выше. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой полипептид 4-1BBL, например, вариант полипептида 4-1BBL. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16A и F42A. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16T и F42A. В некоторых случаях пептидный линкер находится между одним или более из: i) второго полипептида ГКГС и Fc-полипептида Ig; ii) эпитопа и первого полипептида ГКГС; iii) Fc-полипептида Ig и иммуномодулирующего полипептида; iv) (если ТММР содержит два иммуномодулирующих полипептида на первой полипептидной цепи) между двумя иммуномодулирующими полипептидами; и v) Fc-полипептида Ig и НОП. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность AAAGG. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность (GGGGS)_n, где n - целое число от 1 до 10 (например, где n равно 2, 3 или 4). В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР, является ассоциированным с раком пептидом. В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv или нанотело. В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком комплекса пептида/HLA (т.е. тяжелой цепи HLA и полипептида β2M), присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой оцТКР, специфичный для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает Her2/HLA (пептид Her2, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида β2M). В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает CD19/HLA (пептид CD19, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида β2M). В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид антигена ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида

ЦМВ gB. В некоторых случаях пептидный эпитоп имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В некоторых случаях ТММР по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) пептидный эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) по меньшей мере иммуномодулирующий полипептид; ii) второй полипептид ГКГС; iii) Fc-полипептид Ig и iv) НОП. См., например, фиг. 1В. В некоторых случаях первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2М; и второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид тяжелой цепи HLA. В некоторых случаях, тяжелая цепь HLA содержит а) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-A*0101, HLA-A*0201, HLA-A*0201, HLA-A*1101, HLA-A*2301, HLA-A*2402, HLA-A*2407, HLA-A*3303 или HLA-A*3401, показанной на фиг. 7А; или b) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-B*0702, HLA-B*0801, HLA-B*1502, HLA-B*3802, HLA-B*4001, HLA-B*4601 или HLA-B*5301, изображенной на фиг. 8А; или c) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с HLA-C*0102, HLA-C*0303, HLA-C*0304, HLA-C*0401, HLA-C*0602, HLA-C*0701, HLA-C*0702, HLA-C*0801 или HLA-C*1502, изображенной на фиг. 9А. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A*0201. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A24. В некоторых случаях тяжелая цепь HLA содержит замену A236С. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1 человека. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1, содержащий замены L234А и L235А. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом дисульфидной связью. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом 2 дисульфидными связями. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид содержит аминокислотную последовательность дикого типа; в других случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант, например, как описано выше. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой полипептид 4-1ВВL, например, вариант полипептида 4-1ВВL. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16А и F42А. В

некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16T и F42A. В некоторых случаях пептидный линкер находится между одним или более из: i) второго полипептида ГКГС и Fc-полипептида Ig; ii) эпитопа и первого полипептида ГКГС; iii) первого полипептида ГКГС и иммуномодулирующего полипептида; iv) (если TMMP содержит два иммуномодулирующих полипептида на первой полипептидной цепи) между двумя иммуномодулирующими полипептидами; и v) Fc-полипептида Ig и НОП. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность AAAGG. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность (GGGGS)_n, где n - целое число от 1 до 10 (например, где n равно 2, 3 или 4). В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в TMMP, является ассоциированным с раком пептидом. В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в TMMP по данному изобретению, представляет собой пептид, ассоциированный с инфекционным заболеванием (например, кодируемый вирусом пептид). В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv или нанотело. В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком комплекса пептида/HLA (т.е. тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M), присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой оцТКР, специфичный для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает Her2/HLA (пептид Her2, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M). В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает CD19/HLA (пептид CD19, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M). В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид антигена ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях пептидный эпитоп имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В некоторых случаях TMMP по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; ii) пептидный эпитоп; и iii) первый полипептид ГКГС; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i)

второй полипептид ГКГС; ii) Fc-полипептид Ig и iii) НОП. См., например, фиг. 1D. В некоторых случаях первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид $\beta 2M$; и второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид тяжелой цепи HLA. В некоторых случаях, тяжелая цепь HLA содержит а) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-A*0101, HLA-A*0201, HLA-A*0201, HLA-A*1101, HLA-A*2301, HLA-A*2402, HLA-A*2407, HLA-A*3303 или HLA-A*3401, показанной на фиг. 7A; или б) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-B*0702, HLA-B*0801, HLA-B*1502, HLA-B*3802, HLA-B*4001, HLA-B*4601 или HLA-B*5301, изображенной на фиг. 8A; или с) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с HLA-C*0102, HLA-C*0303, HLA-C*0304, HLA-C*0401, HLA-C*0602, HLA-C*0701, HLA-C*0702, HLA-C*0801 или HLA-C*1502, изображенной на фиг. 9A. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A*0201. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A24. В некоторых случаях тяжелая цепь HLA содержит замену A236C. В некоторых случаях первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу: i) два иммуномодулирующих полипептида, причем два иммуномодулирующих полипептида имеют одинаковую аминокислотную последовательность; ii) пептидный эпитоп; и iii) первый полипептид ГКГС. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1 человека. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1, содержащий замены L234A и L235A. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом дисульфидной связью. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом 2 дисульфидными связями. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид содержит аминокислотную последовательность дикого типа; в других случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант, например, как описано выше. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой полипептид 4-1BBL, например, вариант полипептида 4-1BBL. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16A и F42A. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16T и F42A. В некоторых случаях пептидный линкер находится

между одним или более из: i) второго полипептида ГКГС и Fc-полипептида Ig; ii) эпитопа и первого полипептида ГКГС; iii) первого полипептида ГКГС и иммуномодулирующего полипептида; iv) (если ТММР содержит два иммуномодулирующих полипептида на первой полипептидной цепи) между двумя иммуномодулирующими полипептидами; и v) Fc-полипептида Ig и НОП. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность AAAGG. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность (GGGGS)_n, где n - целое число от 1 до 10 (например, где n равно 2, 3 или 4). В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР, является ассоциированным с раком пептидом. В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР по данному изобретению, представляет собой пептид, ассоциированный с инфекционным заболеванием (например, кодируемый вирусом пептид). В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv или нанотело. В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком комплекса пептида/HLA (т.е. тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M), присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой оцТКР, специфичный для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает Her2/HLA (пептид Her2, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M). В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает CD19/HLA (пептид CD19, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M). В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид антигена ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях пептидный эпитоп имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В некоторых случаях ТММР по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) пептидный эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) второй полипептид ГКГС; ii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; iii) по меньшей мере Fc-полипептид Ig и iv) НОП. См., например, фиг. 1Е. В некоторых случаях первый полипептид ГКГС представляет

собой полипептид $\beta 2M$; и второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид тяжелой цепи HLA. В некоторых случаях, тяжелая цепь HLA содержит а) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-A*0101, HLA-A*0201, HLA-A*0201, HLA-A*1101, HLA-A*2301, HLA-A*2402, HLA-A*2407, HLA-A*3303 или HLA-A*3401, показанной на фиг. 7А; или б) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-B*0702, HLA-B*0801, HLA-B*1502, HLA-B*3802, HLA-B*4001, HLA-B*4601 или HLA-B*5301, изображенной на фиг. 8А; или с) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с HLA-C*0102, HLA-C*0303, HLA-C*0304, HLA-C*0401, HLA-C*0602, HLA-C*0701, HLA-C*0702, HLA-C*0801 или HLA-C*1502, изображенной на фиг. 9А. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A*0201. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A24. В некоторых случаях тяжелая цепь HLA содержит замену A236C. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой HLA-A24 с заменой A236C. В некоторых случаях второй полипептид содержит в направлении от N-конца до С-конца: i) второй полипептид ГКГС; ii) два иммуномодулирующих полипептида, причем два иммуномодулирующих полипептида имеют одинаковую аминокислотную последовательность; iii) Fc-полипептид Ig и iv) НОП. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1 человека. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1, содержащий замены L234A и L235A. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом дисульфидной связью. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом 2 дисульфидными связями. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид содержит аминокислотную последовательность дикого типа; в других случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант, например, как описано выше. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой полипептид 4-1BBL, например, вариант полипептида 4-1BBL. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16A и F42A. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16T и F42A. В некоторых случаях пептидный линкер находится между одним или более из: i) второго полипептида ГКГС и Fc-

полипептида Ig; ii) эпитопа и первого полипептида ГКГС; iii) первого полипептида ГКГС и иммуномодулирующего полипептида; iv) (если ТММР содержит два иммуномодулирующих полипептида на первой полипептидной цепи) между двумя иммуномодулирующими полипептидами; и v) Fc-полипептида Ig и НОП. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность AAAGG. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность (GGGGS)_n, где n - целое число от 1 до 10 (например, где n равно 2, 3 или 4). В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР, является ассоциированным с раком пептидом. В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР по данному изобретению, представляет собой пептид, ассоциированный с инфекционным заболеванием (например, кодируемый вирусом пептид). В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv или нанотело. В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком комплекса пептида/HLA (т.е. тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M), присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой оцТКР, специфичный для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает Her2/HLA (пептид Her2, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M). В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает CD19/HLA (пептид CD19, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M). В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид антигена ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях пептидный эпитоп имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В некоторых случаях ТММР по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) пептидный эпитоп; ii) первый полипептид ГКГС; и iii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; ii) второй полипептид ГКГС; iii) Fc-полипептид Ig и iv) НОП. В некоторых случаях первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2M; и второй полипептид ГКГС представляет собой

полипептид тяжелой цепи HLA. В некоторых случаях, тяжелая цепь HLA содержит а) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-A*0101, HLA-A*0201, HLA-A*0201, HLA-A*1101, HLA-A*2301, HLA-A*2402, HLA-A*2407, HLA-A*3303 или HLA-A*3401, показанной на фиг. 7А; или б) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-B*0702, HLA-B*0801, HLA-B*1502, HLA-B*3802, HLA-B*4001, HLA-B*4601 или HLA-B*5301, изображенной на фиг. 8А; или с) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с HLA-C*0102, HLA-C*0303, HLA-C*0304, HLA-C*0401, HLA-C*0602, HLA-C*0701, HLA-C*0702, HLA-C*0801 или HLA-C*1502, изображенной на фиг. 9А. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A*0201. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A24. В некоторых случаях тяжелая цепь HLA содержит замену A236C. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой HLA-A24 с заменой A236C. В некоторых случаях второй полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу: i) два иммуномодулирующих полипептида, причем два иммуномодулирующих полипептида имеют одинаковую аминокислотную последовательность; ii) второй полипептид ГКГС; iii) Fc-полипептид Ig и iv) НОП. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1 человека. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1, содержащий замены L234A и L235A. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом дисульфидной связью. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом 2 дисульфидными связями. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид содержит аминокислотную последовательность дикого типа; в других случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант, например, как описано выше. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой полипептид 4-1BBL, например, вариант полипептида 4-1BBL. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16A и F42A. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16T и F42A. В некоторых случаях пептидный линкер находится между одним или более из: i) второго полипептида ГКГС и Fc-полипептида Ig; ii) эпитопа и первого полипептида

ГКГС; iii) первого полипептида ГКГС и иммуномодулирующего полипептида; iv) (если ТММР содержит два иммуномодулирующих полипептида на первой полипептидной цепи) между двумя иммуномодулирующими полипептидами; и v) Fc-полипептида Ig и НОП. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность AAAGG. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность (GGGGS)_n, где n - целое число от 1 до 10 (например, где n равно 2, 3 или 4). В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР, является ассоциированным с раком пептидом. В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР по данному изобретению, представляет собой пептид, ассоциированный с инфекционным заболеванием (например, кодируемый вирусом пептид). В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv или нанотело. В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком комплекса пептида/HLA (т.е. тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M), присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой оцТКР, специфичный для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает Her2/HLA (пептид Her2, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M). В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает CD19/HLA (пептид CD19, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M). В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид антигена ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях пептидный эпитоп имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В некоторых случаях ТММР по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) пептидный эпитоп; ii) первый полипептид ГКГС; и iii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; и б) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) второй полипептид ГКГС; ii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; iii) Fc-полипептид Ig и iv) НОП. В некоторых случаях первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2M; и второй полипептид ГКГС представляет собой

полипептид тяжелой цепи HLA. В некоторых случаях, тяжелая цепь HLA содержит а) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-A*0101, HLA-A*0201, HLA-A*0201, HLA-A*1101, HLA-A*2301, HLA-A*2402, HLA-A*2407, HLA-A*3303 или HLA-A*3401, показанной на ФИГ. 7А; или б) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-B*0702, HLA-B*0801, HLA-B*1502, HLA-B*3802, HLA-B*4001, HLA-B*4601 или HLA-B*5301, изображенной на фиг. 8А; или с) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с HLA-C*0102, HLA-C*0303, HLA-C*0304, HLA-C*0401, HLA-C*0602, HLA-C*0701, HLA-C*0702, HLA-C*0801 или HLA-C*1502, изображенной на фиг. 9А. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A*0201. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A24. В некоторых случаях тяжелая цепь HLA содержит замену A236C. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой HLA-A24 с заменой A236C. В некоторых случаях второй полипептид содержит в направлении от N-конца до C-конца: i) второй полипептид ГКГС; ii) два иммуномодулирующих полипептида, причем два иммуномодулирующих полипептида имеют одинаковую аминокислотную последовательность; iii) Fc-полипептид Ig и iv) НОП. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1 человека. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1, содержащий замены L234A и L235A. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом дисульфидной связью. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом 2 дисульфидными связями. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид содержит аминокислотную последовательность дикого типа; в других случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант, например, как описано выше. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой полипептид 4-1BBL, например, вариант полипептида 4-1BBL. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16A и F42A. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16T и F42A. В некоторых случаях пептидный линкер находится между одним или более из: i) второго полипептида ГКГС и Fc-полипептида Ig; ii) эпитопа и первого полипептида ГКГС; iii) первого полипептида ГКГС

и иммуномодулирующего полипептида; iv) (если ТММР содержит два иммуномодулирующих полипептида на первой полипептидной цепи) между двумя иммуномодулирующими полипептидами; и v) Fc-полипептида Ig и НОП. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность AAAGG. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность (GGGGS)_n, где n - целое число от 1 до 10 (например, где n равно 2, 3 или 4). В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР, является ассоциированным с раком пептидом. В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР по данному изобретению, представляет собой пептид, ассоциированный с инфекционным заболеванием (например, кодируемый вирусом пептид). В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv или нанотело. В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком комплекса пептида/HLA (т.е. тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M), присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой оцТКР, специфичный для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает Her2/HLA (пептид Her2, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M). В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает CD19/HLA (пептид CD19, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M). В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид антигена ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях пептидный эпитоп имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В некоторых случаях ТММР по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) пептидный эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) НОП; ii) второй полипептид ГКГС; iii) Fc-полипептид Ig и iv) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид. См., например, фиг. 1G. В некоторых случаях первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2M; и второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид тяжелой цепи HLA. В некоторых случаях, тяжелая цепь HLA содержит а) аминокислотную последовательность,

имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-A*0101, HLA-A*0201, HLA-A*0201, HLA-A*1101, HLA-A*2301, HLA-A*2402, HLA-A*2407, HLA-A*3303 или HLA-A*3401, показанной на фиг. 7А; или б) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-B*0702, HLA-B*0801, HLA-B*1502, HLA-B*3802, HLA-B*4001, HLA-B*4601 или HLA-B*5301, изображенной на фиг. 8А; или с) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с HLA-C*0102, HLA-C*0303, HLA-C*0304, HLA-C*0401, HLA-C*0602, HLA-C*0701, HLA-C*0702, HLA-C*0801 или HLA-C*1502, изображенной на фиг. 9А. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A*0201. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A24. В некоторых случаях тяжелая цепь HLA содержит замену A236C. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой HLA-A24 с заменой A236C. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1 человека. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1, содержащий замены L234A и L235A. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом дисульфидной связью. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом 2 дисульфидными связями. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид содержит аминокислотную последовательность дикого типа; в других случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант, например, как описано выше. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой полипептид 4-1BBL, например, вариант полипептида 4-1BBL. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16A и F42A. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16T и F42A. В некоторых случаях пептидный линкер находится между одним или более из: i) второго полипептида ГКГС и Fc-полипептида Ig; ii) эпитопа и первого полипептида ГКГС; iii) первого полипептида ГКГС и иммуномодулирующего полипептида; iv) (если ТММР содержит два иммуномодулирующих полипептида на первой полипептидной цепи) между двумя иммуномодулирующими полипептидами; и v) Fc-полипептида Ig и НОП. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность AAAGG. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную

последовательность (GGGGS)_n, где n - целое число от 1 до 10 (например, где n равно 2, 3 или 4). В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР, является ассоциированным с раком пептидом. В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР по данному изобретению, представляет собой пептид, ассоциированный с инфекционным заболеванием (например, кодируемый вирусом пептид). В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv или нанотело. В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком комплекса пептида/HLA (т.е. тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M), присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой оцТКР, специфичный для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает Her2/HLA (пептид Her2, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M). В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает CD19/HLA (пептид CD19, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M). В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид антигена ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях пептидный эпитоп имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В некоторых случаях ТММР по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) пептидный эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) НОП; ii) второй полипептид ГКГС; iii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; и iv) по меньшей мере Fc-полипептид Ig. См., например, фиг. 1Н. В некоторых случаях, тяжелая цепь HLA содержит а) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-A*0101, HLA-A*0201, HLA-A*0201, HLA-A*1101, HLA-A*2301, HLA-A*2402, HLA-A*2407, HLA-A*3303 или HLA-A*3401, показанной на фиг. 7А; или b) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-B*0702, HLA-B*0801, HLA-B*1502, HLA-

В*3802, HLA-B*4001, HLA-B*4601 или HLA-B*5301, изображенной на фиг. 8А; или с) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с HLA-C*0102, HLA-C*0303, HLA-C*0304, HLA-C*0401, HLA-C*0602, HLA-C*0701, HLA-C*0702, HLA-C*0801 или HLA-C*1502, изображенной на фиг. 9А. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A*0201. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A24. В некоторых случаях тяжелая цепь HLA содержит замену A236C. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой HLA-A24 с заменой A236C. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1 человека. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1, содержащий замены L234A и L235A. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом дисульфидной связью. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом 2 дисульфидными связями. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид содержит аминокислотную последовательность дикого типа; в других случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант, например, как описано выше. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой полипептид 4-1BBL, например, вариант полипептида 4-1BBL. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16A и F42A. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16T и F42A. В некоторых случаях пептидный линкер находится между одним или более из: i) второго полипептида ГКГС и Fc-полипептида Ig; ii) эпитопа и первого полипептида ГКГС; iii) первого полипептида ГКГС и иммуномодулирующего полипептида; iv) (если ТММР содержит два иммуномодулирующих полипептида на первой полипептидной цепи) между двумя иммуномодулирующими полипептидами; и v) Fc-полипептида Ig и НОП. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность AAAGG. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность (GGGGS)_n, где n - целое число от 1 до 10 (например, где n равно 2, 3 или 4). В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР, является ассоциированным с раком пептидом. В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР по данному изобретению, представляет собой пептид, ассоциированный с инфекционным заболеванием (например, кодируемый вирусом пептид). В некоторых случаях НОП представляет собой антитело,

специфичное для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv или нанотело. В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком комплекса пептида/HLA (т.е. тяжелой цепи HLA и полипептида $\beta 2M$), присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой оцТКР, специфичный для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает Her2/HLA (пептид Her2, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида $\beta 2M$). В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает CD19/HLA (пептид CD19, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида $\beta 2M$). В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид антигена ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях пептидный эпитоп имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В некоторых случаях ТММР по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) пептидный эпитоп; ii) первый полипептид ГКГС; и iii) НОП; и б) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) по меньшей мере иммуномодулирующий полипептид; ii) второй полипептид ГКГС; iii) Fc-полипептид Ig. См., например, фиг. 1I. В некоторых случаях, тяжелая цепь HLA содержит а) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-A*0101, HLA-A*0201, HLA-A*0201, HLA-A*1101, HLA-A*2301, HLA-A*2402, HLA-A*2407, HLA-A*3303 или HLA-A*3401, показанной на фиг. 7A; или б) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-B*0702, HLA-B*0801, HLA-B*1502, HLA-B*3802, HLA-B*4001, HLA-B*4601 или HLA-B*5301, изображенной на фиг. 8A; или с) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с HLA-C*0102, HLA-C*0303, HLA-C*0304, HLA-C*0401, HLA-C*0602, HLA-C*0701, HLA-C*0702, HLA-C*0801 или HLA-C*1502, изображенной на фиг. 9A. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A*0201. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой

полипептид HLA-A24. В некоторых случаях тяжелая цепь HLA содержит замену A236C. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой HLA-A24 с заменой A236C. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1 человека. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1, содержащий замены L234A и L235A. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом дисульфидной связью. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом 2 дисульфидными связями. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид содержит аминокислотную последовательность дикого типа; в других случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант, например, как описано выше. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой полипептид 4-1BBL, например, вариант полипептида 4-1BBL. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16A и F42A. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16T и F42A. В некоторых случаях пептидный линкер находится между одним или более из: i) второго полипептида ГКГС и Fc-полипептида Ig; ii) эпитопа и первого полипептида ГКГС; iii) первого полипептида ГКГС и иммуномодулирующего полипептида; iv) (если ТММР содержит два иммуномодулирующих полипептида на первой полипептидной цепи) между двумя иммуномодулирующими полипептидами; и v) Fc-полипептида Ig и НОП. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность AAAGG. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность (GGGGS)_n, где n - целое число от 1 до 10 (например, где n равно 2, 3 или 4). В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР, является ассоциированным с раком пептидом. В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР по данному изобретению, представляет собой пептид, ассоциированный с инфекционным заболеванием (например, кодируемый вирусом пептид). В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv или нанотело. В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком комплекса пептида/HLA (т.е. тяжелой цепи HLA и полипептида β 2M), присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой оцТКР, специфичный для

ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает Her2/HLA (пептид Her2, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида $\beta 2M$). В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает CD19/HLA (пептид CD19, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида $\beta 2M$). В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид антигена ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях пептидный эпитоп имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В некоторых случаях ТММР по данному изобретению содержит: а) первый полипептид, содержащий в направлении от N-конца до С-конца: i) пептидный эпитоп; ii) первый полипептид ГКГС; и iii) НОП; и b) второй полипептид, содержащий в направлении от N-конца к С-концу: i) второй полипептид ГКГС; ii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; и iii) по меньшей мере Fc-полипептид Ig. См., например, фиг. 1J. В некоторых случаях, тяжелая цепь HLA содержит а) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-A*0101, HLA-A*0201, HLA-A*0201, HLA-A*1101, HLA-A*2301, HLA-A*2402, HLA-A*2407, HLA-A*3303 или HLA-A*3401, показанной на фиг. 7A; или b) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-B*0702, HLA-B*0801, HLA-B*1502, HLA-B*3802, HLA-B*4001, HLA-B*4601 или HLA-B*5301, изображенной на фиг. 8A; или c) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с HLA-C*0102, HLA-C*0303, HLA-C*0304, HLA-C*0401, HLA-C*0602, HLA-C*0701, HLA-C*0702, HLA-C*0801 или HLA-C*1502, изображенной на фиг. 9A. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A*0201. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой полипептид HLA-A24. В некоторых случаях тяжелая цепь HLA содержит замену A236C. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи HLA представляет собой HLA-A24 с заменой A236C. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1 человека. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1, содержащий замены L234A и L235A. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом дисульфидной

связью. В некоторых случаях первый и второй полипептиды связаны друг с другом 2 дисульфидными связями. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид содержит аминокислотную последовательность дикого типа; в других случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант, например, как описано выше. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой полипептид 4-1BBL, например, вариант полипептида 4-1BBL. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16A и F42A. В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий замены H16T и F42A. В некоторых случаях пептидный линкер находится между одним или более из: i) второго полипептида ГКГС и Fc-полипептида Ig; ii) эпитопа и первого полипептида ГКГС; iii) первого полипептида ГКГС и иммуномодулирующего полипептида; iv) (если ТММР содержит два иммуномодулирующих полипептида на первой полипептидной цепи) между двумя иммуномодулирующими полипептидами; и v) Fc-полипептида Ig и НОП. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность AAAGG. В некоторых случаях пептидный линкер включает аминокислотную последовательность (GGGGS)_n, где n - целое число от 1 до 10 (например, где n равно 2, 3 или 4). В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР, является ассоциированным с раком пептидом. В некоторых случаях пептидный эпитоп, присутствующий в ТММР по данному изобретению, представляет собой пептид, ассоциированный с инфекционным заболеванием (например, кодируемый вирусом пептид). В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv или нанотело. В некоторых случаях НОП представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком комплекса пептида/HLA (т.е. тяжелой цепи HLA и полипептида β2M), присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой оцТКР, специфичный для ассоциированного с раком антигена, например, ассоциированного с раком антигена, присутствующего на поверхности раковой клетки. В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает Her2/HLA (пептид Her2, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида β2M). В некоторых случаях НОП представляет собой scFv, который связывает CD19/HLA (пептид CD19, связанный с комплексом HLA, состоящим из тяжелой цепи HLA и полипептида β2M). В

некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид антигена ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях пептидный эпитоп имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В качестве одного неограничивающего примера, ТММР по настоящему изобретению может содержать: а) первый полипептид, содержащий: i) пептидный эпитоп; ii) полипептид β 2M; и iii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; и b) второй полипептид, обозначенный 3796, как показано на фиг. 13А, где НОП представляет собой анти-Her2 scFv. Например, первый полипептид может содержать аминокислотную последовательность, показанную на фиг. 13F, где первый полипептид содержит два вариантных полипептида IL-2 в качестве по меньшей мере одного иммуномодулирующего полипептида. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид Her2. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях эпитоп имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В качестве еще одного неограничивающего примера, ТММР по настоящему изобретению может содержать: а) первый полипептид, содержащий: i) пептидный эпитоп; и ii) полипептид β 2M; и b) второй полипептид, обозначенный 3797, как показано на фиг. 13В, где НОП представляет собой анти-Her2 scFv. Например, первый полипептид может содержать аминокислотную последовательность, показанную на фиг. 13Е. В некоторых случаях эпитоп представляет собой пептид Her2. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид антигена ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях пептидный эпитоп имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В качестве другого неограничивающего примера, ТММР по настоящему изобретению может содержать: а) первый полипептид, содержащий: i) пептидный эпитоп; ii) полипептид β 2M; и iii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; и b) второй полипептид, обозначенный 3798, как показано на фиг. 13С, где НОП представляет собой анти-CD19 scFv. Например, первый полипептид может содержать аминокислотную последовательность, показанную на фиг. 13F, где первый полипептид содержит два

вариантных полипептида IL-2 в качестве по меньшей мере одного иммуномодулирующего полипептида. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид CD19. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид антигена ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях эпитоп имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В качестве еще одного неограничивающего примера, ТММР по настоящему изобретению может содержать: а) первый полипептид, содержащий: i) пептидный эпитоп; и ii) полипептид β 2M; и b) второй полипептид, обозначенный 3799, как показано на фиг. 13D, где НОП представляет собой анти-CD19 scFv. Например, первый полипептид может содержать аминокислотную последовательность, показанную на фиг. 13E. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид CD19. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид антигена ЦМВ. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ pp65. В некоторых случаях пептидный эпитоп представляет собой пептид полипептида ЦМВ gB. В некоторых случаях эпитоп имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV (SEQ ID NO:395) и имеет длину 9 аминокислот.

В качестве еще одного неограничивающего примера, ТММР по настоящему изобретению может содержать: а) первый полипептид, обозначенный 839, как показано на фиг. 14A; и b) второй полипептид, обозначенный 3796, как показано на фиг. 13A.

В качестве еще одного неограничивающего примера, ТММР по настоящему изобретению может содержать: а) первый полипептид, обозначенный 1717, как показано на фиг. 14B; и b) второй полипептид, обозначенный 3796, как показано на фиг. 13A.

В качестве еще одного неограничивающего примера, ТММР по настоящему изобретению может содержать: а) первый полипептид, обозначенный 2407, как показано на фиг. 14C; и b) второй полипептид, обозначенный 3796, как показано на фиг. 13A.

В качестве еще одного неограничивающего примера, ТММР по настоящему изобретению может содержать: а) первый полипептид, обозначенный 839, как показано на фиг. 14A; и b) второй полипептид, обозначенный 3797, как показано на фиг. 13B.

В качестве еще одного неограничивающего примера, ТММР по настоящему изобретению может содержать: а) первый полипептид, обозначенный 1717, как показано на фиг. 14B; и b) второй полипептид, обозначенный 3797, как показано на фиг. 13B.

В качестве еще одного неограничивающего примера, ТММР по настоящему изобретению может содержать: а) первый полипептид, обозначенный 2407, как показано

на фиг. 14C; и b) второй полипептид, обозначенный 3797, как показано на фиг. 13B.

В качестве еще одного неограничивающего примера, ТММР по настоящему изобретению может содержать: а) первый полипептид, обозначенный 839, как показано на фиг. 14A; и b) второй полипептид, обозначенный 3798, как показано на фиг. 13C.

В качестве еще одного неограничивающего примера, ТММР по настоящему изобретению может содержать: а) первый полипептид, обозначенный 1717, как показано на фиг. 14B; и b) второй полипептид, обозначенный 3798, как показано на фиг. 13C.

В качестве еще одного неограничивающего примера, ТММР по настоящему изобретению может содержать: а) первый полипептид, обозначенный 2407, как показано на фиг. 14C; и b) второй полипептид, обозначенный 3798, как показано на фиг. 13C.

В качестве еще одного неограничивающего примера, ТММР по настоящему изобретению может содержать: а) первый полипептид, обозначенный 839, как показано на фиг. 14A; и b) второй полипептид, обозначенный 3799, как показано на фиг. 13D.

В качестве еще одного неограничивающего примера, ТММР по настоящему изобретению может содержать: а) первый полипептид, обозначенный 1717, как показано на фиг. 14B; и b) второй полипептид, обозначенный 3799, как показано на фиг. 13D.

В качестве еще одного неограничивающего примера, ТММР по настоящему изобретению может содержать: а) первый полипептид, обозначенный 2407, как показано на фиг. 14C; и b) второй полипептид, обозначенный 3799, как показано на фиг. 13D.

В качестве еще одного неограничивающего примера, ТММР по настоящему изобретению может содержать: а) первый полипептид, обозначенный 1717, как показано на фиг. 14B; и b) второй полипептид, обозначенный 4010, как показано на фиг. 15A.

В качестве еще одного неограничивающего примера, ТММР по настоящему изобретению может содержать: а) первый полипептид, обозначенный 1717, как показано на фиг. 14B; и b) второй полипептид, обозначенный 4012, как показано на фиг. 15B.

Способы получения мультимерного модулирующего Т-клетки полипептида

В данном изобретении предложен способ получения ТММР, содержащего один или более вариантов иммуномодулирующих полипептидов, которые проявляют уменьшенную аффинность к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду по сравнению с аффинностью соответствующего родительского иммуномодулирующего полипептида дикого типа к ко-иммуномодулирующему полипептиду, включающий: А) создание библиотеки ТММР, содержащей множество членов, причем каждый член содержит: а) первый полипептид, содержащий: i) эпитоп и ii) первый основной полипептид ГКГС, и b) второй полипептид, содержащий: i) второй полипептид ГКГС; ii) Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig; и iii) НОП, причем каждый член содержит разный

вариант иммуномодулирующего полипептида на первом полипептиде, втором полипептиде или как на первом, так и на втором полипептиде; В) определение аффинности каждого члена библиотеки с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом; и С) выбор члена, который проявляет пониженную аффинность с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом. В некоторых случаях аффинность определяют с помощью биослойной интерферометрии (BLI) с использованием очищенных членов библиотеки ТММР и когнатного ко-иммуномодулирующего полипептида. Методы BLI хорошо известны специалистам в данной области техники. Анализ BLI описан выше. См., например, Lad et al. (2015) *J. Biomol. Screen.* 20(4): 498-507 и Shah and Duncan (2014) *J. Vis. Exp.* 18:e51383.

В данном изобретении предложен способ получения ТММР, который проявляет селективное связывание с Т-клеткой, включающий: А) создание библиотеки ТММР, содержащей множество членов, причем каждый член содержит: а) первый полипептид, содержащий: i) эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; и б) второй полипептид, содержащий: i) второй полипептид ГКГС; ii) Fc-полипептид иммуноглобулина (Ig) или каркас не от Ig; и iii) НОП, причем каждый член включает другой вариант иммуномодулирующего полипептида на первом полипептиде, втором полипептиде, или как на первом, так и на втором полипептиде, при этом вариант иммуномодулирующего полипептида отличается по аминокислотной последовательности 1-10 аминокислотами от родительского иммуномодулирующего полипептида дикого типа; В) приведение в контакт члена библиотеки ТММР с Т-клеткой-мишенью, экспрессирующей на своей поверхности: i) когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид, который связывает родительский иммуномодулирующий полипептид дикого типа; и ii) Т-клеточный рецептор, который связывается с эпитопом, причем член библиотеки ТММР содержит метку эпитопа, так, что член библиотеки ТММР связывается с Т-клеткой-мишенью; С) приведение в контакт члена библиотеки ТММР, связывающегося с Т-клеткой-мишенью с помощью флуоресцентно меченного связывающего агента, который связывается с меткой эпитопа, создание комплекса член библиотеки ТММР/Т-клетка-мишень/связывающий агент; D) измерение средней интенсивности флуоресценции (MFI) комплекса член библиотеки ТММР/Т-клетка-мишень/связывающий агент с использованием проточной цитометрии, при этом MFI, измеряемая в диапазоне концентраций члена библиотеки ТММР, обеспечивает меру аффинности и очевидной авидности; и Е) выбор члена библиотеки ТММР, который выборочно связывает Т-клетку мишень, по сравнению со связыванием члена библиотеки ТММР с контрольной Т-клеткой, которая содержит: i) когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид, который связывает родительский

иммуномодулирующий полипептид дикого типа; и ii) Т-клеточный рецептор, который связывается с эпитопом, отличным от эпитопа, присутствующего в члене библиотеки ТММР. В некоторых случаях член библиотеки ТММР, который идентифицирован как избирательно связывающийся с Т-клеткой-мишенью, выделяются из библиотеки.

В некоторых случаях родительские пары иммуномодулирующего полипептида дикого типа и когнатного иммуномодулирующего полипептида выбирают из:

IL-2 и рецептора IL-2;

4-1BBL и 4-1BB;

PD-L1 и PD-1;

CD70 и CD27;

TGF β и рецептора TGF β ;

CD80 и CD28;

CD86 и CD28;

OX40L и OX40;

FasL и Fas;

ICOS-L и ICOS;

ICAM и LFA-1;

JAG1 и Notch;

JAG1 и CD46;

CD80 и CTLA4; и

CD86 и CTLA4.

В данном изобретении предложен способ получения ТММР, содержащего один или более вариантов иммуномодулирующих полипептидов, которые проявляют пониженную аффинность к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду по сравнению с аффинностью соответствующего родительского иммуномодулирующего полипептида дикого типа к ко-иммуномодулирующему полипептиду, включающий отбор из библиотеки ТММР, включающей множество членов, члена, который проявляет пониженную аффинность к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду, причем множество членов содержит: а) первый полипептид, содержащий: i) эпитоп; и ii) первый полипептид ГКГС; и b) второй полипептид, содержащий: i) второй полипептид ГКГС; ii) Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig; и iii) НОП, при этом члены библиотеки содержат множество вариантов иммуномодулирующего полипептида, присутствующего в первом полипептиде, во втором полипептиде или как в первом, так и во втором полипептиде. В некоторых случаях этап отбора включает определение аффинности с использованием биослойной интерферометрии связывания между членами библиотеки ТММР и

когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом. В некоторых случаях ТММР является таким, как описанный выше.

В некоторых случаях способ дополнительно включает: а) приведение в контакт выбранного члена библиотеки ТММР с Т-клеткой-мишенью, экспрессирующей на своей поверхности: i) когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид, который связывает родительский иммуномодулирующий полипептид дикого типа; и ii) Т-клеточный рецептор, который связывается с эпитопом, причем член библиотеки ТММР содержит метку эпитопа, так что член библиотеки ТММР связывается с Т-клеткой-мишенью; б) приведение в контакт выбранного члена библиотеки ТММР с Т-клеткой-мишенью с флуоресцентно меченным связывающим агентом, который связывается с меткой эпитопа, создавая комплекс выбранный член библиотеки ТММР/Т-клетка-мишень/связывающий агент; и с) измерение средней интенсивности флуоресценции (MFI) комплекс выбранный член библиотеки ТММР/Т-клетка-мишень/связывающий агент с использованием проточной цитометрии, при этом MFI, измеренная в диапазоне концентраций выбранного члена библиотеки ТММР, обеспечивает измерение аффинности и кажущейся avidности. Выбранный член библиотеки ТММР, который специфически связывается с Т-клеткой мишенью, по сравнению со связыванием члена библиотеки ТММР с контрольной Т-клеткой мишенью, содержащей: i) когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид, который связывает родительский иммуномодулирующий полипептид дикого типа; и ii) Т-клеточный рецептор, который связывается с эпитопом, отличным от эпитопа, присутствующего в члене библиотеки ТММР, идентифицируют как селективное связывание с Т-клеткой-мишенью. В некоторых случаях связывающий агент представляет собой антитело, специфическое к метке эпитопа. В некоторых случаях вариант иммуномодулирующего полипептида содержит от 1 до 20 аминокислотных замен (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислотных замен) по сравнению с соответствующим родительским иммуномодулирующим полипептидом дикого типа. В некоторых случаях ТММР содержит два варианта иммуномодулирующих полипептидов. В некоторых случаях два варианта иммуномодулирующих полипептидов содержат одинаковую аминокислотную последовательность. В некоторых случаях первый полипептид содержит один из двух вариантов иммуномодулирующих полипептидов, и при этом второй полипептид содержит второй из двух вариантов иммуномодулирующих полипептидов. В некоторых случаях два варианта иммуномодулирующих полипептидов находятся в одной и той же полипептидной цепи ТММР. В некоторых случаях два варианта иммуномодулирующих полипептидов находятся в первой полипептидной цепи ТММР. В некоторых случаях два

варианта иммуномодулирующих полипептидов находятся во второй полипептидной цепи ТММР.

В некоторых случаях способ дополнительно включает выделение выбранного члена библиотеки ТММР из библиотеки. В некоторых случаях способ дополнительно включает обеспечение нуклеиновой кислоты, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую выбранный член библиотеки ТММР. В некоторых случаях нуклеиновая кислота присутствует в рекомбинантном векторе экспрессии. В некоторых случаях нуклеотидная последовательность функционально связана с элементом контроля транскрипции, который функционирует в эукариотической клетке. В некоторых случаях способ дополнительно включает введение нуклеиновой кислоты в эукариотическую клетку-хозяина и культивирование клетки в жидкой среде для синтеза кодированного выбранного члена библиотеки ТММР в клетке. В некоторых случаях способ дополнительно включает выделение синтезированного выбранного члена библиотеки ТММР из клетки или из жидкой культуральной среды, содержащей клетку. В некоторых случаях выбранный член библиотеки ТММР содержит полипептид Fc Ig. В некоторых случаях способ дополнительно включает конъюгирование лекарственного средства с полипептидом Fc Ig. В некоторых случаях, лекарственное средство представляет собой цитотоксический агент, выбранный из майтанзиноида, бензодиазепа, таксоида, СС-1065, дуокармицина, аналога дуокармицина, калихеамицина, доластатина, аналога доластатина, ауристатина, томаймицина и лептомицина или пролекарства любого из вышеперечисленных. В некоторых случаях лекарственное средство представляет собой ретиноид. В некоторых случаях родительский иммуномодулирующий полипептид дикого типа и когнатные иммуномодулирующие полипептиды выбирают из: IL-2 и рецептора IL-2; 4-1BBL и 4-1BB; PD-L1 и PD-1; CD70 и CD27; TGF β и рецептора TGF β ; CD80 и CD28; CD86 и CD28; OX40L и OX40; FasL и Fas; ICOS-L и ICOS; ICAM и LFA-1; JAG1 и Notch; JAG1 и CD46; CD80 и CTLA4, и CD86 и CTLA4.

В данном изобретении предложен способ получения ТММР, содержащего один или более вариантов иммуномодулирующих полипептидов, которые проявляют сниженную аффинность к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду по сравнению с аффинностью соответствующего родительского иммуномодулирующего полипептида дикого типа к ко-иммуномодулирующему полипептиду, включающий: А) обеспечение библиотеки ТММР, содержащей множество членов, причем множество членов содержит: а) первый полипептид, содержащий: i) эпитоп и ii) первый основной полипептид ГКГС, и б) второй полипептид, содержащий: i) второй полипептид ГКГС; и ii) необязательно полипептид Fc Ig или каркас не от Ig, причем члены библиотеки содержат

разные варианты иммуномодулирующего полипептида, представленного в первом полипептиде, втором полипептиде или как на первом, так и на втором полипептиде; и В) выбор из библиотеки члена, который проявляет пониженную аффинность с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом. В некоторых случаях этап отбора включает определение аффинности с использованием биослойной интерферометрии связывания между членами библиотеки ТММР и когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом. В некоторых случаях ТММР является таким, как описанный выше.

В некоторых случаях способ дополнительно включает: а) приведение в контакт выбранного члена библиотеки ТММР с Т-клеткой-мишенью, экспрессирующей на своей поверхности: i) когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид, который связывает родительский иммуномодулирующий полипептид дикого типа; и ii) Т-клеточный рецептор, который связывается с эпитопом, причем член библиотеки ТММР содержит метку эпитопа, так что член библиотеки ТММР связывается с Т-клеткой-мишенью; б) приведение в контакт выбранного члена библиотеки ТММР с Т-клеткой-мишенью с флуоресцентно меченым связывающим агентом, который связывается с меткой эпитопа, создавая комплекс выбранный член библиотеки ТММР/Т-клетка-мишень/связывающий агент; и с) измерение средней интенсивности флуоресценции (MFI) комплекс выбранный член библиотеки ТММР/Т-клетка-мишень/связывающий агент с использованием проточной цитометрии, при этом MFI, измеренная в диапазоне концентраций выбранного члена библиотеки ТММР, обеспечивает измерение аффинности и кажущейся avidности. Выбранный член библиотеки ТММР, который специфически связывается с Т-клеткой мишенью, по сравнению со связыванием члена библиотеки ТММР с контрольной Т-клеткой мишенью, содержащей: i) когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид, который связывает родительский иммуномодулирующий полипептид дикого типа; и ii) Т-клеточный рецептор, который связывается с эпитопом, отличным от эпитопа, присутствующего в члене библиотеки ТММР, идентифицируют как селективное связывание с Т-клеткой-мишенью. В некоторых случаях связывающий агент представляет собой антитело, специфическое к метке эпитопа. В некоторых случаях вариант иммуномодулирующего полипептида содержит от 1 до 20 аминокислотных замен (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислотных замен) по сравнению с соответствующим родительским иммуномодулирующим полипептидом дикого типа. В некоторых случаях ТММР содержит два варианта иммуномодулирующих полипептидов. В некоторых случаях два варианта иммуномодулирующих полипептидов содержат одинаковую аминокислотную последовательность. В некоторых случаях первый полипептид содержит один из двух

вариантов иммуномодулирующих полипептидов, и при этом второй полипептид содержит второй из двух вариантов иммуномодулирующих полипептидов. В некоторых случаях два варианта иммуномодулирующих полипептидов находятся в одной и той же полипептидной цепи ТММР. В некоторых случаях два варианта иммуномодулирующих полипептидов находятся в первой полипептидной цепи ТММР. В некоторых случаях два варианта иммуномодулирующих полипептидов находятся во второй полипептидной цепи ТММР.

В некоторых случаях способ дополнительно включает выделение выбранного члена библиотеки ТММР из библиотеки. В некоторых случаях способ дополнительно включает обеспечение нуклеиновой кислоты, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую выбранный член библиотеки ТММР. В некоторых случаях нуклеиновая кислота присутствует в рекомбинантном векторе экспрессии. В некоторых случаях нуклеотидная последовательность функционально связана с элементом контроля транскрипции, который функционирует в эукариотической клетке. В некоторых случаях способ дополнительно включает введение нуклеиновой кислоты в эукариотическую клетку-хозяина и культивирование клетки в жидкой среде для синтеза кодированного выбранного члена библиотеки ТММР в клетке. В некоторых случаях способ дополнительно включает выделение синтезированного выбранного члена библиотеки ТММР из клетки или из жидкой культуральной среды, содержащей клетку. В некоторых случаях выбранный член библиотеки ТММР содержит полипептид Fc Ig. В некоторых случаях способ дополнительно включает конъюгирование лекарственного средства с полипептидом Fc Ig. В некоторых случаях, лекарственное средство представляет собой цитотоксический агент, выбранный из майтанзиноида, бензодиазепина, таксоида, СС-1065, дуокармицина, аналога дуокармицина, калихеамицина, доластатина, аналога доластатина, ауристатина, томаймицина и лептомицина или пролекарства любого из вышеперечисленных. В некоторых случаях лекарственное средство представляет собой ретиноид. В некоторых случаях родительский иммуномодулирующий полипептид дикого типа и когнатные иммуномодулирующие полипептиды выбирают из IL-2 и рецептора IL-2; 4-1BBL и 4-1BB; PD-L1 и PD-1; TGF β и рецептора TGF β ; CD80 и CD28; CD86 и CD28; OX40L и OX40; FasL и Fas; ICOS-L и ICOS; CD70 и CD27; ICAM и LFA-1; JAG1 и Notch; JAG1 и CD46; CD80 и CTLA4, и CD86 и CTLA4.

Нуклеиновые кислоты

Данное изобретение относится к нуклеиновой кислоте, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую ТММР по данному изобретению. Данное изобретение относится к нуклеиновой кислоте, содержащей нуклеотидную последовательность,

кодирующую ТММР по данному изобретению.

Данное изобретение относится к нуклеиновым кислотам, содержащим нуклеотидные последовательности, кодирующие ТММР по данному изобретению. В некоторых случаях отдельные полипептидные цепи ТММР по данному изобретению кодируются отдельными нуклеиновыми кислотами. В некоторых случаях все полипептидные цепи ТММР по данному изобретению кодируются одной нуклеиновой кислотой. В некоторых случаях первая нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид ТММР по данному изобретению, а вторая нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид ТММР по данному изобретению. В некоторых случаях одиночная нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид ТММР по данному изобретению и второй полипептид ТММР по данному изобретению.

Отдельные нуклеиновые кислоты, кодирующие отдельные полипептидные цепи мультимерного полипептида

Данное изобретение относится к нуклеиновым кислотам, содержащим нуклеотидные последовательности, кодирующие ТММР по данному изобретению. Как указано выше, в некоторых случаях отдельные полипептидные цепи ТММР по данному изобретению кодируются отдельными нуклеиновыми кислотами. В некоторых случаях нуклеотидные последовательности, кодирующие отдельные полипептидные цепи ТММР по данному изобретению, функционально связаны с элементами контроля транскрипции, например промоторами, такими как промоторы, которые функционируют в эукариотической клетке, причем промотор может быть конститутивным промотором или индуцибельным промотором.

Например, данное изобретение обеспечивает первую нуклеиновую кислоту и вторую нуклеиновую кислоту, причем первая нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид ТММР по данному изобретению, при этом первый полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу: а) пептидный эпитоп; б) первый полипептид ГКГС; и с) иммуномодулирующий полипептид (например, вариант с пониженной аффинностью, как описано выше); и при этом вторая нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид ТММР по данному изобретению, при этом второй полипептид содержит, в направлении от N-конца к С-концу: а) второй полипептид ГКГС; б) Fc-полипептид Ig; и с) НОП. Подходящие пептидные эпитопы, полипептиды ГКГС, иммуномодулирующие полипептиды, Fc-полипептиды Ig и НОП описаны выше. В

некоторых случаях нуклеотидные последовательности, кодирующие первый и второй полипептиды, функционально связаны с элементами контроля транскрипции. В некоторых случаях элемент контроля транскрипции представляет собой промотор, который функционирует в эукариотической клетке. В некоторых случаях нуклеиновые кислоты присутствуют в отдельных векторах экспрессии.

Данное изобретение обеспечивает первую нуклеиновую кислоту и вторую нуклеиновую кислоту, причем первая нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид ТММР по данному изобретению, при этом первый полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу: а) пептидный эпитоп; б) первый полипептид ГКГС; и при этом вторая нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид ТММР по данному изобретению, при этом второй полипептид содержит, в направлении от N-конца к С-концу: а) иммуномодулирующий полипептид (например, вариант с пониженной аффинностью, как описано выше); б) второй полипептид ГКГС; в) Fc-полипептид Ig; и d) НОП. Подходящие пептидные эпитопы, полипептиды ГКГС, иммуномодулирующие полипептиды и полипептиды Fc Ig описаны выше. В некоторых случаях нуклеотидные последовательности, кодирующие первый и второй полипептиды, функционально связаны с элементами контроля транскрипции. В некоторых случаях элемент контроля транскрипции представляет собой промотор, который функционирует в эукариотической клетке. В некоторых случаях нуклеиновые кислоты присутствуют в отдельных векторах экспрессии.

Нуклеиновая кислота, кодирующая два или более полипептида, присутствующих в мультимерном полипептиде

Настоящее изобретение относится к нуклеиновой кислоте, содержащей нуклеотидные последовательности, кодирующие по меньшей мере первый полипептид и второй полипептид ТММР по данному изобретению. В некоторых случаях, когда ТММР по данному изобретению содержит первый, второй и третий полипептид, нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую первый, второй и третий полипептиды. В некоторых случаях нуклеотидные последовательности, кодирующие первый полипептид и второй полипептид ТММР по данному изобретению, включают протеолитически расщепляемый линкер, вставленный между нуклеотидной последовательностью, кодирующей первый полипептид, и нуклеотидной последовательностью, кодирующей второй полипептид. В некоторых случаях нуклеотидные последовательности, кодирующие первый полипептид и второй полипептид ТММР по данному изобретению, включают внутренний участок посадки

рибосомы (IRES), вставленный между нуклеотидной последовательностью, кодирующей первый полипептид, и нуклеотидной последовательностью, кодирующей второй полипептид. В некоторых случаях нуклеотидные последовательности, кодирующие первый полипептид и второй полипептид ТММР по настоящему изобретению, включают сигнал пропуска рибосомы (или действующий в *cis*-положении гидролазный элемент, CHYSEL), расположенный между нуклеотидной последовательностью, кодирующей первый полипептид, и нуклеотидной последовательностью, кодирующей второй полипептид. Примеры нуклеиновых кислот описаны ниже, в которых протеолитически расщепляемый линкер предусмотрен между нуклеотидными последовательностями, кодирующими первый полипептид и второй полипептид ТММР по данному изобретению; в любом из этих вариантов осуществления вместо нуклеотидной последовательности, кодирующей протеолитически расщепляемый линкер, можно использовать IRES или сигнал пропуска рибосомы.

В некоторых случаях первая нуклеиновая кислота (например, рекомбинантный вектор экспрессии, мРНК, вирусная РНК, и т.д.) содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую первую полипептидную цепь ТММР по данному изобретению, а вторая нуклеиновая кислота (например, рекомбинантный вектор экспрессии, мРНК, вирусная РНК, и т.д.) содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую вторую полипептидную цепь мультимерного полипептида по данному изобретению. В некоторых случаях нуклеотидная последовательность, кодирующая первый полипептид, и вторая нуклеотидная последовательность, кодирующая второй полипептид, каждый функционально связана с элементами контроля транскрипции, например, с промоторами, такими как промоторы, которые функционируют в эукариотической клетке, при этом промотор может быть конститутивным промотором или индуцибельным промотором.

Данное изобретение относится к нуклеиновой кислоте, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую рекомбинантный полипептид, причем рекомбинантный полипептид содержит, в направлении от N-конца к С-концу: а) пептидный эпитоп; b) первый полипептид ГКГС; c) иммуномодулирующий полипептид (например, вариант с пониженной аффинностью, как описано выше); d) протеолитически расщепляемый линкер; e) второй полипептид ГКГС; f) Fc-полипептид Ig; и g) НОП. Данное изобретение относится к нуклеиновой кислоте, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую рекомбинантный полипептид, причем рекомбинантный полипептид содержит, в направлении от N-конца к С-концу: а) первый лидерный пептид; b) эпитоп; c) первый полипептид ГКГС; d) иммуномодулирующий полипептид (например, вариант с

пониженной аффинностью, как описано выше); е) протеолитически расщепляемый линкер; f) второй лидерный пептид; g) второй полипептид ГКГС; и h) Fc-полипептид Ig; и i) НОП. Данное изобретение относится к нуклеиновой кислоте, содержащей нуклеотидную последовательность, кодирующую рекомбинантный полипептид, причем рекомбинантный полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу: а) эпитоп; b) первый полипептид ГКГС; с) протеолитически расщепляемый линкер; d) иммуномодулирующий полипептид (например, вариант с пониженной аффинностью, как описано выше); е) второй полипептид ГКГС; f) Fc-полипептид Ig; и g) НОП. В некоторых случаях первый лидерный пептид и второй лидерный пептид представляют собой лидерный пептид $\beta 2$ -М. В некоторых случаях нуклеотидная последовательность функционально связана с элементом контроля транскрипции. В некоторых случаях элемент контроля транскрипции представляет собой промотор, который функционирует в эукариотической клетке.

Подходящие полипептиды ГКГС описаны выше. В некоторых случаях первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид $\beta 2$ -микроглобулина; и при этом второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса. В некоторых случаях полипептид $\beta 2$ -микроглобулина содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью $\beta 2$ М, изображенной на ФИГ. 4. В некоторых случаях полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса представляет собой тяжелую цепь HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, HLA-G, HLA-K или HLA-L.

Подходящие полипептиды Fc описаны выше. В некоторых случаях полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1, полипептид Fc IgG2, полипептид Fc IgG3, полипептид Fc IgG4, полипептид Fc IgA или полипептид Fc IgM. В некоторых случаях Fc-полипептид Ig содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, показанной на фиг. 3A-3G.

Подходящие иммуномодулирующие полипептиды описаны выше.

Подходящие протеолитически расщепляемые линкеры описаны выше. В некоторых случаях протеолитически расщепляемый линкер включает аминокислотную последовательность, выбранную из: а) LEVLFQGP (SEQ ID NO:556); b) ENLYTQS (SEQ ID NO:557); с) DDDDK (SEQ ID NO:558); d) LVPR (SEQ ID NO:559); и е) GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO:560).

В некоторых случаях линкер между эпитопом и первым полипептидом ГКГС содержит первый остаток Cys, а второй полипептид ГКГС содержит аминокислотную

замену для обеспечения второго остатка Cys, так что первый и второй остатки Cys обеспечивают дисульфидную связь между линкером и вторым полипептидом ГКГС. В некоторых случаях первый полипептид ГКГС содержит аминокислотную замену для получения первого остатка Cys, а второй полипептид ГКГС содержит аминокислотную замену для получения второго остатка Cys, так что первый остаток Cys и второй остаток Cys обеспечивают дисульфидную связь между первым полипептидом ГКГС и вторым полипептидом ГКГС.

Рекомбинантные векторы экспрессии

Данное изобретение предоставляет рекомбинантные векторы экспрессии, содержащие нуклеиновые кислоты по данному изобретению. В некоторых случаях рекомбинантный вектор экспрессии является вектором, не происходящим из вируса. В некоторых случаях рекомбинантный вектор экспрессии представляет собой вирусную конструкцию, например рекомбинантную аденоассоциированную вирусную конструкцию (см., например, патент США № 7078387), рекомбинантную аденовирусную конструкцию, рекомбинантную лентивирусную конструкцию, рекомбинантную ретровирусную конструкцию, неинтегрирующий вирусный вектор и др.

Подходящие векторы экспрессии включают, но не ограничиваются ими, вирусные векторы (например, вирусные векторы на основе вируса коровьей оспы; полиовируса; аденовируса (см., например, Li et al., *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35:2543-2549, 1994; Borrás et al., *Gene Ther* 6:515-524, 1999; Li and Davidson, *PNAS* 92:7700-7704, 1995; Sakamoto et al., *Hum Gene Ther* 5:1088-1097, 1999; WO 94/12649, WO 93/03769; WO 93/19191; WO 94/28938; WO 95/11984 и WO 95/00655); аденоассоциированного вируса (см., например, Ali et al., *Hum Gene Ther* 9:81-86, 1998; Flannery et al., *PNAS* 94:6916-6921, 1997; Bennett et al., *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38:2857-2863, 1997; Jomary et al., *Gene Ther* 4:683-690, 1997; Rolling et al., *Hum Gene Ther* 10:641-648, 1999; Ali et al., *Hum Mol Genet* 5:591-594, 1996; Srivastava et al., WO 93/09239, Samulski et al., *J. Virol.* (1989) 63:3822-3828; Mendelson et al., *Virology* (1988) 166:154-165; и Flotte et al., *PNAS* (1993) 90:10613-10617); SV40; вируса простого герпеса; вируса иммунодефицита человека (см., например, Miyoshi et al., *PNAS* 94:10319-23, 1997; Takahashi et al., *J. Virol.* 73:7812-7816, 1999); ретровирусного вектора (например, вируса мышинной лейкемии, вируса некроза селезенки и векторы, полученные из ретровирусов, таких как вирус саркомы Рауса, вирус саркомы Харви, вирус птичьего лейкоза, лентивирус, вирус иммунодефицита человека, вирус миелопролиферативной саркомы и вирус опухоли молочной железы); и тому подобное.

Специалистам в данной области техник известны многочисленные подходящие векторы экспрессии, и многие из них коммерчески доступны. Следующие векторы

представлены в качестве примера; для эукариотических клеток-хозяев: pXT1, pSG5 (Stratagene), pSVK3, pBPV, pMSG и pSVLSV40 (Pharmacia). Однако может использоваться любой другой вектор, если он совместим с клеткой-хозяином.

В зависимости от используемой системы хозяин/вектор, любой из подходящих элементов управления транскрипцией и трансляцией, включая конститутивные и индуцибельные промоторы, элементы энхансера транскрипции, терминаторы транскрипции и т.д., могут использоваться в векторе экспрессии (см., например, Bitter et al., (1987) *Methods in Enzymology*, 153:516-544).

В некоторых случаях нуклеотидная последовательность, кодирующая ДНК-нацеленную РНК и/или сайт-направленный модифицирующий полипептид, функционально связана с контрольным элементом, например, с транскрипционным контрольным элементом, таким как промотор. Элемент контроля транскрипции может быть функциональным в любой эукариотической клетке, например в клетке млекопитающего; или прокариотической клетке (например, бактериальной клетке или клетке архей). В некоторых случаях нуклеотидная последовательность, кодирующая ДНК-нацеленную РНК и/или сайт-направленный модифицирующий полипептид, функционально связана с несколькими контрольными элементами, которые обеспечивают экспрессию нуклеотидной последовательности, кодирующей ДНК-нацеленную РНК, и/или сайт-направленный модифицирующий полипептид как в прокариотических, так и в эукариотических клетках.

Неограничивающие примеры подходящих эукариотических промоторов (промоторы, функционирующие в эукариотической клетке) включают промоторы цитомегаловируса (CMV) с крайне ранней стадии, тимидинкиназу вируса простого герпеса (HSV), ранние и поздние SV40, длинные концевые повторы (LTR) ретровируса и мышинный металлотионеин-I. Выбор подходящего вектора и промотора находится в пределах обычного уровня знаний в данной области техники. Вектор экспрессии также может содержать сайт связывания рибосомы для инициации трансляции и терминатор транскрипции. Вектор экспрессии также может содержать соответствующие последовательности для усиления экспрессии.

Генетически модифицированные клетки-хозяева

Данное изобретение обеспечивает генетически модифицированную клетку-хозяина, причем клетка-хозяин генетически модифицирована нуклеиновой кислотой по данному изобретению.

Подходящие клетки-хозяева включают эукариотические клетки, такие как клетки дрожжей, клетки насекомых и клетки млекопитающих. В некоторых случаях клетка-

хозяин является клеткой линии клеток млекопитающих. Подходящие клеточные линии млекопитающих включают клеточные линии человека, клеточные линии приматов, отличных от человека, клеточные линии грызунов (например, мышей, крыс) и тому подобное. Подходящие клеточные линии млекопитающих включают, но не ограничиваются ими, клетки HeLa (например, № CCL-2 Американской коллекции типовых культур (ATCC)), клетки CHO (например, ATCC № CRL9618, CCL61, CRL9096), клетки 293 (например, ATCC № CRL-1573), клетки Vero, клетки NIH 3T3 (например, ATCC № CRL-1658), клетки Huh-7, клетки BHK (например, ATCC № CCL10), клетки PC12 (ATCC № CRL1721), клетки COS, клетки COS-7 (ATCC № CRL1651), клетки RAT1, клетки L мыши (ATCC № CCL1.3), клетки эмбриональной почки человека (HEK) (ATCC № CRL1573), клетки HLHerG2, и тому подобное.

В некоторых случаях клетка-хозяин представляет собой клетку млекопитающего, которая была генетически модифицирована таким образом, что она не синтезирует эндогенный МНС β 2-М.

В некоторых случаях клетка-хозяин представляет собой клетку млекопитающего, которая была генетически модифицирована таким образом, что она не синтезирует эндогенную тяжелую цепь ГКГС I класса. В некоторых случаях клетка-хозяин представляет собой клетку млекопитающего, которая была генетически модифицирована таким образом, что она не синтезирует эндогенный β 2-М ГКГС, и таким образом, что она не синтезирует эндогенную тяжелую цепь ГКГС I класса.

Композиции

Данное изобретение относится к композициям, включая фармацевтические композиции, содержащие ТММР (synTas) по данному изобретению. Данное изобретение относится к композициям, включая фармацевтические композиции, содержащие ТММР по данному изобретению. Данное изобретение относится к композициям, включая фармацевтические композиции, содержащие нуклеиновую кислоту или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению.

Композиции, содержащие мультимерный полипептид

Композиция по данному изобретению может содержать, помимо ТММР по данному изобретению, один или более из следующих компонентов: соль, например, NaCl, MgCl₂, KCl, MgSO₄, и т.д.; буферный агент, например, Трис-буфер, N-(2-гидроксиэтил) пиперазин-N'-(2-этансульфоновая кислота) (HEPES), 2-(N-морфолино) этансульфоновая кислота (MES), натриевая соль 2-(N-морфолино) этансульфоновой кислоты (MES), 3-(N-морфолино) пропансульфоновая кислота (MOPS), N-трис[гидроксиметил]метил-3-аминопропансульфоновая кислота (TAPS) и т.п.; солюбилизующий агент; детергент,

например, неионный детергент, такой как Tween-20, и т.д.; ингибитор протеазы; глицерин; и тому подобное.

Композиция может содержать фармацевтически приемлемый эксципиент, разнообразие которого известно в данной области техники и не нуждается в подробном обсуждении в данном документе. Фармацевтически приемлемые эксципиенты подробно описаны в различных публикациях, включая, например, "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 19th Ed. (1995), или последнее издание, Mack Publishing Co; A. Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 20th edition, Lippincott, Williams, & Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H.C. Ansel et al., eds 7th ed., Lippincott, Williams, & Wilkins; and Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A.H. Kibbe et al., eds., 3rd ed. Amer. Pharmaceutical Assoc.

Фармацевтическая композиция может содержать ТММР по данному изобретению и фармацевтически приемлемый эксципиент. В некоторых случаях рассматриваемая фармацевтическая композиция будет подходящей для введения субъекту, например будет стерильной. Например, в некоторых случаях рассматриваемая фармацевтическая композиция будет подходящей для введения субъекту-человеку, например, когда композиция является стерильной и не содержит обнаруживаемых пирогенов и/или других токсинов.

Белковые композиции могут содержать другие компоненты, такие как фармацевтические степени чистоты маннита, лактозы, крахмала, стеарата магния, сахарина натрия, талька, целлюлозы, глюкозы, сахарозы, магния, карбоната и тому подобное. Композиции могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, необходимые для приближения к физиологическим условиям, такие как регулирующие рН и буферные агенты, регулирующие токсичность агенты и тому подобное, например, ацетат натрия, хлорид натрия, хлорид калия, хлорид кальция, лактат натрия, гидрохлорид, сульфат соли, сольваты (например, смешанные ионные соли, вода, органика), гидраты (например, вода) и тому подобное.

Например, композиции могут включать водный раствор, порошковую форму, гранулы, таблетки, пилюли, суппозитории, капсулы, суспензии, спреи и тому подобное. Композиция может быть составлена в соответствии с различными путями введения, описанными ниже.

Когда ТММР по данному изобретению вводят в виде инъекций (например, подкожно, внутривенно, внутримышечно и/или внутривенно) непосредственно в ткань, состав может быть предоставлен в виде готовой к употреблению лекарственной формы или в виде водной формы (например, восстанавливаемый стабильный при

хранении порошок) или водной формы, такой как жидкость, состоящая из фармацевтически приемлемых носителей и эксципиентов. Также могут быть предоставлены белоксодержащие препараты для увеличения периода полувыведения ТММР из сыворотки после введения. Например, ТММР может быть представлен в виде липосомной композиции, приготовленной в виде коллоида, или другими общепринятыми способами увеличения периода полувыведения из сыворотки. Существует множество способов получения липосом, как описано, например, в Szoka et al. 1980 *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* 9:467, патентах США № 4235871, 4501728 и 4837028. Препараты могут также предоставляться в формах с контролируемым или замедленным высвобождением.

Другие примеры составов, подходящих для парентерального введения, включают изотонические стерильные инъекционные растворы, антиоксиданты, бактериостатики и растворенные вещества, которые делают состав изотоническим с кровью предполагаемого реципиента, суспендирующие агенты, солюбилизаторы, загустители, стабилизаторы и консерванты. Например, рассматриваемая фармацевтическая композиция может присутствовать в контейнере, например стерильном контейнере, таком как шприц. Композиции могут быть представлены в герметичных контейнерах с единичными или многократными дозами, таких как ампулы и флаконы, и могут храниться в замороженных (лиофилизированных) условиях, требующих только добавления стерильного жидкого эксципиента, например воды, для инъекций, непосредственно перед использованием. Инъекционные растворы и суспензии для немедленного введения могут быть приготовлены из стерильных порошков, гранул и таблеток.

Концентрация ТММР по данному изобретению в композиции может широко варьировать (например, от менее чем около 0,1%, обычно от или от по меньшей мере около 2% вплоть до от 20% до 50% или более по массе) и будет обычно выбираться в основном на основе объемов жидкости, вязкости и факторов, связанных с пациентом, в соответствии с выбранным конкретным способом введения и потребностями пациента.

Данное изобретение обеспечивает контейнер, содержащий композицию по данному изобретению, например жидкую композицию. Контейнер может представлять собой, например, шприц, ампулу и тому подобное. В некоторых случаях контейнер является стерильным. В некоторых случаях как контейнер, так и композиция являются стерильными.

Данное изобретение относится к композициям, включая фармацевтические композиции, содержащие ТММР по данному изобретению. Композиция может содержать: а) ТММР по данному изобретению; и б) эксципиент, как описано выше. В некоторых случаях эксципиент представляет собой фармацевтически приемлемый эксципиент.

В некоторых случаях ТММР по данному изобретению присутствует в жидкой композиции. Таким образом, данное изобретение относится к композициям (например, жидким композициям, включая фармацевтические композиции), содержащие ТММР по данному изобретению. В некоторых случаях композиция по данному изобретению содержит: а) ТММР по данному изобретению; и b) физиологический раствор (например, 0,9% NaCl). В некоторых случаях композиция является стерильной. В некоторых случаях композиция является подходящей для введения субъекту-человеку, например, когда композиция является стерильной и не содержит обнаруживаемых пирогенов и/или других токсинов. Таким образом, данное изобретение относится к композиции, содержащей: а) ТММР по данному изобретению; и b) физиологический раствор (например, 0,9% NaCl), причем композиция является стерильной и не содержит детектируемых пирогенов и/или других токсинов.

Композиции, содержащие нуклеиновую кислоту или рекомбинантный вектор экспрессии

Данное изобретение относится к композициям, например, фармацевтические композиции, содержащие нуклеиновую кислоту или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению. В данной области техники известно широкое разнообразие фармацевтически приемлемых эксципиентов, и нет необходимости подробно обсуждать их в данном документе. Фармацевтически приемлемые эксципиенты подробно описаны в различных публикациях, включая, например, A. Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 20th edition, Lippincott, Williams, & Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H. C. Ansel et al., eds 7th ed., Lippincott, Williams, & Wilkins; and Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A. H. Kibbe et al., eds., 3rd ed. Amer. Pharmaceutical Assoc.

Композиция по данному изобретению может содержать: а) одну или более нуклеиновых кислот или один или более рекомбинантных векторов экспрессии, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие ТММР; и b) один или более из: буфера, поверхностно-активного вещества, антиоксиданта, гидрофильного полимера, декстрина, хелатирующего агента, суспендирующего агента, солюбилизатора, загустителя, стабилизатора, бактериостатического агента, смачивающего агента, и консерванта. Подходящие буферы включают без ограничения, (такие как N,N-бис(2-гидроксиэтил)-2-аминоэтансульфоновая кислота (BES), бис(2-гидроксиэтил)аминотрис(гидроксиметил)метан (BIS-Tris), N-(2-гидроксиэтил)пиперазин-N'-3-пропансульфоновая кислота (EPPS или HEPPS), глицилглицин, N-2-гидроксиэтилпиперазин-N'-2-этансульфоновая кислота (HEPES), 3-(N-

морфолино)пропансульфоновая кислота (MOPS), пиперазин-N,N'-бис(2-этан-сульфоновая кислота) (PIPES), бикарбонат натрия, 3-(N-трис(гидроксиметил)-метил-амино-)-2-гидрокси-пропансульфоновая кислота) TAPSO, (N-трис(гидроксиметил)метил-2-аминоэтансульфоновая кислота (TES), N-трис(гидроксиметил)метил-глицин (Tricine), трис(гидроксиметил)-аминометан (Tris) и т.д.). Подходящие соли включают, например, NaCl, MgCl₂, KCl, MgSO₄, и т.д.

Фармацевтический состав по данному изобретению может включать нуклеиновую кислоту или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению в количестве от около 0,001% до около 90% (мас./мас.). В описании составов ниже «рассматриваемая нуклеиновая кислота или рекомбинантный вектор экспрессии» следует понимать как включающий нуклеиновую кислоту или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению. Например, в некоторых случаях состав по данному изобретению содержит нуклеиновую кислоту или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению.

Целевая нуклеиновая кислота или рекомбинантный вектор экспрессии могут быть смешаны, инкапсулированы, конъюгированы или иным образом связаны с другими соединениями или смесями соединений; такие соединения могут включать, например, липосомы или молекулы, нацеленные на рецепторы. Целевая нуклеиновая кислота или рекомбинантный вектор экспрессии могут быть объединены в составе с одним или более компонентами, которые способствуют поглощению, распределению и/или абсорбции.

Композиция рассматриваемой нуклеиновой кислоты или рекомбинантного вектора экспрессии может быть представлена в виде любой из множества возможных лекарственных форм, таких как, но не ограничиваясь ими, таблетки, капсулы, гелевые капсулы, жидкие сиропы, мягкие гели, суппозитории и клизмы. Целевая композиция нуклеиновой кислоты или рекомбинантного вектора экспрессии также может быть приготовлена в виде суспензии в водной, неводной или смешанной среде. Водные суспензии могут дополнительно содержать вещества, которые увеличивают вязкость суспензии, включая, например, натрий карбоксиметилцеллюлозу, сорбит и/или декстран. Суспензия также может содержать стабилизаторы.

Состав, содержащий нуклеиновую кислоту или рекомбинантный вектор экспрессии, может представлять собой липосомальный состав. Используемый в данном документе термин «липосома» означает везикулу, состоящую из амфифильных липидов, расположенных в сферическом двойном слое или двойных слоях. Липосомы представляют собой однослойные или многослойные везикулы, которые имеют мембрану, образованную из липофильного материала, и водную внутреннюю часть, которая содержит доставляемую композицию. Катионные липосомы представляют собой

положительно заряженные липосомы, которые могут взаимодействовать с отрицательно заряженными молекулами ДНК с образованием стабильного комплекса. Считается, что липосомы, чувствительные к рН или отрицательно заряженные, захватывают ДНК, а не образуют с ней комплексы. Как катионные, так и некатионные липосомы могут быть использованы для доставки целевой нуклеиновой кислоты или рекомбинантного вектора экспрессии.

Липосомы также включают «стерически стабилизированные» липосомы, термин, который при использовании в данном документе относится к липосомам, содержащим один или более специализированных липидов, которые при включении в липосомы приводят к увеличению продолжительности циркуляции по сравнению с липосомами, в которых отсутствуют такие специализированные липиды. Примерами стерически стабилизированных липосом являются те, в которых часть образующей пузырьки липидной части липосомы содержит один или более гликолипидов или дериватизирована одним или более гидрофильными полимерами, такими как фрагмент полиэтиленгликоля (ПЭГ). Липосомы и их применение дополнительно описаны в патенте США № 6287860, который включен в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

Составы и композиции по данному раскрытию могут также включать поверхностно-активные вещества. Использование поверхностно-активных веществ в лекарственных продуктах, составах и эмульсиях хорошо известно в данной области техники. Поверхностно активные вещества и их применение дополнительно описаны в патенте США № 6287860.

В одном варианте осуществления включены различные усилители проникновения для эффективной доставки нуклеиновых кислот. В дополнение к содействию диффузии нелипофильных лекарственных средств через клеточные мембраны усилители проникновения также увеличивают проницаемость липофильных лекарственных средств. Усилители проникновения могут быть классифицированы как принадлежащие к одной из пяти широких категорий, то есть поверхностно-активные вещества, жирные кислоты, желчные соли, хелатообразующие агенты и нехелатообразующие несурфактанты. Усилители проникновения и их применение дополнительно описаны в патенте США № 6287860, который включен в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

Композиции и составы для перорального введения включают порошки или гранулы, микрочастицы, наночастицы, суспензии или растворы в воде или неводной среде, капсулы, гелевые капсулы, саше, таблетки или мини таблетки. Загустители, ароматизаторы, разбавители, эмульгаторы, диспергирующие добавки или связующие вещества могут быть желательны. Подходящие пероральные препараты включают

препараты, в которых указанную антисмысловую нуклеиновую кислоту вводят в сочетании с одним или более усилителями проникновения, поверхностно-активными веществами и хелаторами. Подходящие поверхностно-активные вещества включают, но не ограничиваются ими, жирные кислоты и/или сложные эфиры или их соли, желчные кислоты и/или их соли. Подходящие желчные кислоты/соли и жирные кислоты и их применение дополнительно описаны в патенте США № 6287860. Также подходящими являются комбинации усилителей проникновения, например, жирных кислот/солей в сочетании с желчными кислотами/солями. Примером подходящей комбинации является натриевая соль лауриновой кислоты, каприновой кислоты и UDCA (урсодезоксихолиевая кислота). Другие усилители проникновения включают, но не ограничиваются ими, полиоксиэтилен-9-лауриловый эфир и полиоксиэтилен-20-цетиловый эфир. Подходящие усилители проникновения также включают пропиленгликоль, диметилсульфоксид, триэтаноамин, N, N-диметилацетамид, N, N-диметилформамид, 2-пирролидон и его производные, тетрагидрофуруриловый спирт и AZONE™.

Способы модуляции активности Т-клеток

Данное изобретение обеспечивает способ селективной модуляции активности эпитоп-специфической Т-клетки, включающий приведение в контакт Т-клетки с ТММР по данному изобретению, причем контакт Т-клетки с ТММР по данному изобретению селективно модулирует активность эпитоп-специфической Т-клетки. В некоторых случаях приведение в контакт происходит *in vitro*. В некоторых случаях приведение в контакт происходит *in vivo*. В некоторых случаях приведение в контакт происходит *ex vivo*.

В некоторых случаях, например, когда Т-клетка мишень представляет собой Т-клетку CD8⁺, ТММР содержит полипептиды ГКГС I класса (например, β2-микроглобулин и тяжелую цепь ГКГС I класса).

Когда ТММР по данному изобретению содержит иммуномодулирующий полипептид, который является активирующим полипептидом, контакт Т-клетки с ТММР активирует эпитоп-специфическую Т-клетку. В некоторых случаях эпитоп-специфическая Т-клетка представляет собой Т-клетку, которая специфична для эпитопа, присутствующего на раковой клетке, и контакт эпитоп-специфической Т-клетки с ТММР увеличивает цитотоксическую активность Т-клетки по отношению к раковой клетке. В некоторых случаях эпитоп-специфическая Т-клетка представляет собой Т-клетку, которая специфична для эпитопа, присутствующего на раковой клетке, и контакт эпитоп-специфической Т-клетки с ТММР увеличивает количество эпитоп-специфических Т-клеток.

В некоторых случаях эпитоп-специфическая Т-клетка представляет собой Т-

клетку, которая специфична для эпитопа, присутствующего на клетке, зараженной вирусом, и контакт эпитоп-специфической Т-клетки с ТММР увеличивает цитотоксическую активность Т-клетки по отношению к клетке, зараженной вирусом. В некоторых случаях эпитоп-специфическая Т-клетка представляет собой Т-клетку, которая специфична для эпитопа, присутствующего на клетке, зараженной вирусом, и контакт эпитоп-специфической Т-клетки с ТММР увеличивает количество эпитоп-специфических Т-клеток

В некоторых случаях ТММР по настоящему изобретению содержит: i) иммуномодулирующий полипептид, который является активирующим полипептидом; ii) вирусный пептидный эпитоп (например, кодируемый вирусом пептид); и iii) НОП, направленный против раковой клетки; и ТММР контактирует с Т-клеткой, специфичной для вирусного эпитопа, присутствующего в ТММР. В этих случаях контакт вирусный эпитоп-специфической Т-клетки с ТММР активирует вирусный эпитоп-специфическую Т-клетку и/или увеличивает пролиферацию вирусный эпитоп-специфической Т-клетки. В некоторых случаях контакт вирусный эпитоп-специфической Т-клетки с ТММР увеличивает количество и/или цитотоксическую активность Т-клетки в отношении раковой клетки, мишенью которой является НОП, присутствующий в ТММР. В качестве одного неограничивающего примера, когда ТММР по настоящему изобретению содержит: i) иммуномодулирующий полипептид, который является активирующим полипептидом (например, полипептид IL-2); ii) пептид ЦМВ в качестве пептидного эпитопа; и iii) НОП, который представляет собой scFv, связывающий Her2; контакт ТММР с цитотоксической Т-клеткой, связывающей пептид ЦМВ, активирует Т-клетку и повышает ее цитотоксическую активность в отношении раковой клетки, экспрессирующей Her2.

Когда ТММР по данному изобретению содержит иммуномодулирующий полипептид, который является ингибирующим полипептидом, контакт Т-клетки с ТММР ингибирует эпитоп-специфическую Т-клетку. В некоторых случаях эпитоп-специфическая Т-клетка представляет собой аутореактивную Т-клетку, которая специфична для эпитопа, присутствующего в аутоантигене, и приведение в контакт уменьшает количество аутореактивных Т-клеток.

В данном изобретении предложен способ модулирования иммунного ответа у индивидуума, при этом способ включает введение индивидууму эффективного количества ТММР по данному изобретению. Введение ТММР индуцирует эпитоп-специфический ответ Т-клеток (например, эпитоп-специфический ответ Т-клеток против рака; вирусный эпитоп-специфический) и эпитоп-неспецифический Т-клеточный ответ, где соотношение эпитоп-специфического Т-клеточного ответа к эпитоп-неспецифическому Т-клеточному

ответу составляет по меньшей мере 2:1. В некоторых случаях соотношение эпитоп-специфического Т-клеточного ответа к эпитоп-неспецифическому Т-клеточному ответу составляет по меньшей мере 5:1. В некоторых случаях соотношение эпитоп-специфического Т-клеточного ответа к эпитоп-неспецифическому Т-клеточному ответу составляет по меньшей мере 10:1. В некоторых случаях соотношение эпитоп-специфического Т-клеточного ответа к эпитоп-неспецифическому Т-клеточному ответу составляет по меньшей мере 25:1. В некоторых случаях соотношение эпитоп-специфического Т-клеточного ответа к эпитоп-неспецифическому Т-клеточному ответу составляет по меньшей мере 50:1. В некоторых случаях соотношение эпитоп-специфического Т-клеточного ответа к эпитоп-неспецифическому Т-клеточному ответу составляет по меньшей мере 100:1. В некоторых случаях индивид представляет собой человека. В некоторых случаях модулирование усиливает цитотоксический Т-клеточный ответ на раковую клетку, например, на раковую клетку, экспрессирующую антиген, который отображает тот же эпитоп, отображаемый пептидным эпитопом, присутствующим в ТММР. В некоторых случаях модулирование усиливает цитотоксический ответ Т-клеток на раковую клетку, например, раковую клетку, экспрессирующую антиген, мишенью которого является НОП, присутствующий в ТММР. В некоторых случаях введение является внутривенным, подкожным, внутримышечным, системным, внутрилимфатическим, дистальным по отношению к месту лечения, местным или в месте лечения или рядом с ним.

В данном изобретении предложен способ доставки костимулирующего (т.е. иммуномодулирующего) полипептида, селективного к Т-клеткам-мишеням, включающий приведение в контакт смешанной популяции Т-клеток с ТММР по данному изобретению, причем смешанная популяция Т-клеток содержит Т-клетки-мишени и Т-клетки, не являющиеся мишенями, причем Т-клетка-мишень является специфической для эпитопа, присутствующего в ТММР (например, когда Т-клетка-мишень является специфической для эпитопа, присутствующего в ТММР), и при этом указанный этап приведения в контакт доставляет один или более костимулирующих полипептидов (иммуномодулирующих полипептидов), присутствующих в ТММР, к Т-клетке-мишени. В некоторых случаях популяция Т-клеток представляет собой популяцию *in vitro*. В некоторых случаях популяция Т-клеток представляет собой популяцию *in vivo* у индивидуума. В некоторых случаях способ включает введение индивидууму ТММР. В некоторых случаях Т-клетка представляет собой цитотоксическую Т-клетку. В некоторых случаях смешанная популяция Т-клеток представляет собой *in vitro* популяцию смешанных Т-клеток, полученных от индивидуума, и этап приведения в контакт приводит

к активации и/или пролиферации Т-клетки-мишени, в результате чего образуется популяция активированных и/или пролиферированных Т-клеток-мишеней; в некоторых из этих примеров метод дополнительно содержит введение популяции активированных и/или пролиферированных Т-клеток-мишеней индивидууму.

В данном изобретении предложен способ обнаружения в смешанной популяции Т-клеток, полученных от индивидуума, наличия Т-клетки-мишени, которая связывает интересующий эпитоп (например, эпитоп рака, вирусный эпитоп), способ включает: а) приведение в контакт *in vitro* смешанной популяции Т-клеток с ТММР по данному изобретению, причем ТММР содержит интересующий эпитоп (например, эпитоп рака, вирусный эпитоп); и б) обнаружение активации и/или пролиферации Т-клеток в ответ на упомянутое приведение в контакт, причем активированные и/или пролиферированные Т-клетки указывают на присутствие Т-клетки-мишени.

Способы лечения

Данное изобретение обеспечивает способ лечения индивидуума, включающий введение индивидууму количества ТММР по данному изобретению или одной или более нуклеиновых кислот, кодирующих ТММР, эффективных для лечения индивидуума. Также предоставлен ТММР по данному изобретению для применения в способе лечения организма человека или животного. В некоторых случаях способ лечения по данному изобретению включает введение индивидууму, нуждающемуся в этом, одного или более рекомбинантных экспрессирующих векторов, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие ТММР по данному изобретению. В некоторых случаях способ лечения по данному изобретению включает введение индивидууму, нуждающемуся в этом, одной или более молекул мРНК, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие ТММР по данному изобретению. В некоторых случаях способ лечения по данному изобретению включает введение индивидууму, нуждающемуся в этом, ТММР по данному изобретению. Состояния, которые можно лечить, включают, например, рак и аутоиммунные расстройства, как описано ниже.

ТММР по настоящему изобретению может и то, и другое: 1) модулировать активность эпитоп-специфической Т-клетки (например, Т-клетки, специфичной для эпитопа, присутствующего в ТММР); и 2) нацеливать ТММР на клетку-мишень. Например, в некоторых случаях, ТММР по настоящему изобретению: 1) индуцирует цитотоксический ответ Т-клеток на ассоциированный с раком эпитоп, присутствующий в ТММР; и 2) нацеливает ТММР на раковую клетку. ТММР по настоящему изобретению может и то, и другое: 1) модулировать активность эпитоп-специфической Т-клетки (например, Т-клетки, специфичной для эпитопа, присутствующего в ТММР); и 2)

нацеливать ТММР на клетку-мишень. Например, в некоторых случаях, ТММР по настоящему изобретению: 1) индуцирует цитотоксический ответ Т-клеток на вирусный эпитоп, присутствующий в ТММР; и 2) нацеливает ТММР на раковую клетку.

В некоторых случаях ТММР по данному изобретению, при введении индивидууму, нуждающемуся в этом, индуцирует как эпитоп-специфический Т-клеточный ответ, так и эпитоп-неспецифический Т-клеточный ответ. Другими словами, в некоторых случаях ТММР данному изобретению, при введении индивидууму, нуждающемуся в этом, индуцирует эпитоп-специфический ответ Т-клеток, модулируя активность первой Т-клетки, которая содержит на поверхности как : i) TCR, специфический для эпитопа, присутствующего в ТММР; так и ii) ко-иммуномодулирующий полипептид, который связывается с иммуномодулирующим полипептидом, присутствующим в ТММР; и индуцирует эпитоп-неспецифический ответ Т-клеток путем модулирования активности второй Т-клетки, которая содержит на поверхности: i) TCR, специфический для эпитопа, присутствующего в ТММР; и ii) ко-иммуномодулирующий полипептид, который связывается с иммуномодулирующим полипептидом, присутствующим в ТММР. Отношение эпитоп-специфического Т-клеточного ответа к эпитоп-неспецифическому Т-клеточному ответу составляет по меньшей мере 2:1, по меньшей мере 5:1, по меньшей мере 10:1, по меньшей мере 15:1, по меньшей мере 20:1, по меньшей мере 25:1, по меньшей мере 50:1 или по меньшей мере 100:1. Отношение эпитоп-специфического Т-клеточного ответа к эпитоп-неспецифическому Т-клеточному ответу составляет от около 2:1 до около 5:1, от около 5:1 до около 10:1, от около 10:1 до около 15:1, от около 15:1 до около 20:1, от около 20:1 до около 25:1, от около 25:1 до около 50:1, или от около 50:1 до около 100:1 или более чем 100:1. «Модулирование активности» Т-клетки может включать одно или более из: i) активирование цитотоксической Т-клетки (например, CD8⁺); ii) индукцию цитотоксической активности цитотоксической Т-клетки (например, CD8⁺); iii) индукцию продуцирования и высвобождения цитотоксина (например, перфорина; гранзима; гранулезина) цитотоксической Т-клеткой (например, CD8⁺) iv) ингибирование активности аутореактивной Т-клетки; и тому подобное.

Сочетание пониженной аффинности иммуномодулирующего полипептида с его когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом, и аффинность эпитопа с TCR, обеспечивает улучшенную селективность ТММР по данному изобретению. Таким образом, например, ТММР по данному изобретению связывается с повышенной авидностью с первой Т-клеткой, которая содержит на поверхности как : i) TCR, специфический для эпитопа, присутствующего в ТММР, так и ii) ко-иммуномодулирующий полипептид, который связывается с иммуномодулирующим

полипептидом, присутствующим в ТММР, по сравнению с авидностью с которой он связывается со второй Т-клеткой, которая содержит на поверхности: i) TCR, специфический для эпитопа, отличного от эпитопа, присутствующего в ТММР, и ii) ко-иммуномодулирующий полипептид, который связывается с иммуномодулирующим полипептидом, присутствующим в ТММР.

Настоящее изобретение относится к способу селективной модуляции активности эпитоп-специфической Т-клетки у индивидуума, включающему введение индивидууму эффективного количества мультимерного полипептида по данному изобретению или одной или более нуклеиновых кислот (например, векторов экспрессии; мРНК и т.д.), содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие ТММР, причем ТММР избирательно модулирует активность эпитоп-специфической Т-клетки у индивидуума. Избирательно модулирующая активность эпитоп-специфической Т-клетки может лечить заболевание или расстройство у индивидуума. Таким образом, данное изобретение обеспечивает способ лечения, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму эффективного количества ТММР по данному изобретению.

В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид ("MOD") является активирующим полипептидом, а ТММР активирует эпитоп-специфическую Т-клетку. В некоторых случаях эпитоп представляет собой эпитоп, ассоциированный с раком, и ТММР увеличивает активность Т-клетки, специфической для эпитопа, ассоциированного с раком. В некоторых случаях MOD является активирующим полипептидом, а ТММР активирует эпитоп-специфическую Т-клетку. В некоторых случаях Т-клетка представляет собой Т-хелперные клетки (клетки CD4⁺), цитотоксические Т-клетки (клетки CD8⁺) или NK-Т-клетки. В некоторых случаях эпитоп представляет собой эпитоп рака, и ТММР увеличивает активность Т-клеток специфических для раковой клетки, экспрессирующей эпитоп рака (например, Т-хелперные клетки (клетки CD4⁺), цитотоксические Т-клетки (клетки CD8⁺) и/или NK-Т-клетки). В некоторых случаях эпитоп является вирусным эпитопом, а НОП нацелен на раковую клетку; и ТММР увеличивает активность Т-клеток (например, Т-хелперных клеток (CD4⁺ клеток), цитотоксических Т-клеток (CD8⁺ клеток) и/или NK-Т-клеток), специфичных для вирусного эпитопа, присутствующего в ТММР, где активность Т-клеток направлена на раковую клетку, экспрессирующую раковый эпитоп, связанный НОП. Активация Т-клеток CD4⁺ может включать увеличение пролиферации Т-клеток CD4⁺ и/или включение или усиление высвобождения цитотоксинов Т-клетками CD4⁺. Активация NK-Т-клеток и/или клеток CD8⁺ может включать: увеличение пролиферации NK-Т-клеток и/или клеток CD8⁺; и/или включение высвобождения таких цитокинов, как интерферон γ NK-Т-клетками и/или клетками CD8⁺. В некоторых случаях

ТММР по данному изобретению снижает пролиферацию и/или активность регуляторных Т-клеток (Treg). Treg представляют собой Т-клетки FoxP3⁺, CD4⁺. В некоторых случаях, например, когда ТММР по данному изобретению содержит ингибирующий иммуномодулирующий полипептид (например, PD-L1, FasL и т.п.), ТММР снижает пролиферацию и/или активность Treg.

Если ТММР по настоящему изобретению содержит ассоциированный с раком эпитоп, ТММР может быть введен индивидууму, нуждающемуся в этом, для лечения рака у индивидуума, где рак экспрессирует эпитоп рака, присутствующий в ТММР. Данное изобретение обеспечивает способ лечения рака у индивидуума, причем способ включает введение индивидууму эффективного количества ТММР по данному изобретению или одной или более нуклеиновых кислот (например, векторов экспрессии; мРНК и т.д.), содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие ТММР, причем ТММР содержит Т-клеточный эпитоп, который является злокачественным эпитопом, и при этом ТММР содержит стимулирующий иммуномодулирующий полипептид.

Раковые заболевания, которые можно лечить с помощью способа по настоящему изобретению, включают любой рак, на который можно нацелить НОП. Раковые заболевания, которые можно лечить с помощью способа по настоящему изобретению, включают карциномы, саркомы, меланомы, лейкомии и лимфомы. Раковые заболевания, которые можно лечить с помощью способа по настоящему изобретению, включают солидные опухоли. Раковые заболевания, которые можно лечить с помощью способа по настоящему изобретению, включают метастатические раковые заболевания.

Карциномы, которые можно лечить способом, раскрытым в настоящем документе, включают, помимо прочего, карциному пищевода, гепатоцеллюлярную карциному, базальноклеточную карциному (форма рака кожи), плоскоклеточную карциному (различных тканей), карциному мочевого пузыря, включая переходноклеточную карциному (злокачественное новообразование мочевого пузыря), бронхогенную карциному, карциному толстой кишки, колоректальную карциному, карциному желудка, карциному легких, включая мелкоклеточную карциному и немелкоклеточную карциному легких, аденокарциному, карциному щитовидной железы, карциному поджелудочной железы, карциному молочной железы, карциному яичников, карциному предстательной железы, аденокарциному, карциному потовой железы, карциному сальной железы, папиллярную карциному, папиллярную аденокарциному, цистаденокарциному, медуллярную карциному, почечно-клеточную карциному, протоковую карциному *in situ* или карциному желчных протоков, хориокарциному, семиному, эмбриональную карциному, опухоль Вильмса, карциному шейки матки, карциному матки, карциному

яичек, остеогенную карциному, эпителиальную карциному и карциному носоглотки.

Саркомы, которые можно лечить с помощью раскрытого в настоящем документе способа, включают, помимо прочего, фибросаркому, миксосаркому, липосаркому, хондросаркому, хордому, остеогенную саркому, остеосаркому, ангиосаркому, эндотелиосаркому, лимфангиосаркому, лимфангиоэндотелиосаркому, синовиому, мезотелиому, саркому Юинга, лейомиосаркому, рабдомиосаркому и другие саркомы мягких тканей.

Другие солидные опухоли, которые можно лечить способом, раскрытым в настоящем документе, включают, помимо прочего, глиому, астроцитому, медуллобластому, краниофарингиому, эпендимому, пинеалому, гемангиобластому, акустическую неврому, олигодендроглиому, менангиому, меланому, нейробластому и ретинобластому.

Лейкемии, которые могут поддаваться терапии с помощью способа, раскрытого в настоящем документе, включают, помимо прочего, а) хронические миелопролиферативные синдромы (неопластические заболевания мультипотентных гемопоэтических стволовых клеток); б) острые миелогенные лейкозы (неопластическая трансформация мультипотентных гемопоэтических стволовых клеток или гемопоэтических клеток с ограниченным линейным потенциалом; с) хронические лимфоцитарные лейкозы (ХЛЛ; клональная пролиферация иммунологически незрелых и функционально некомпетентных малых лимфоцитов), включая В-клеточный ХЛЛ, Т-клеточный пролимфоцитарный лейкоз ХЛЛ и волосатоклеточную лейкемию; и d) острые лимфобластные лейкозы (характеризуются накоплением лимфобластов). Лимфомы, которые можно лечить с помощью заявленного способа, включают, помимо прочего, В-клеточные лимфомы (например, лимфому Беркитта); лимфому Ходжкина; неходжкинскую лимфому и тому подобное.

Другие виды рака, которые можно лечить в соответствии с раскрытыми в данном документе способами, включают атипичную менингиому, островковоклеточную карциному, медуллярную карциному щитовидной железы, мезенхимому, гепатоцеллюлярную карциному, гепатобластому, светлоклеточную карциному почки и нейрофибром у средостения.

Если ТММР по настоящему изобретению содержит: i) пептидный эпитоп, который, находясь в комплексе ГКГС/пептид ТММР, представляет вирусный эпитоп; и ii) НОП, который нацелен на ассоциированный с раком антиген, ТММР может быть введен индивидууму, нуждающемуся в этом, для лечения рака у индивидуума, где: i) ТММР активирует Т-клетку, специфичную для вирусного эпитопа; и ii) рак экспрессирует

раковый эпитоп, связанный НОП. В настоящем изобретении предложен способ лечения рака у человека, способ включает введение человеку эффективного количества ТММР по настоящему изобретению, или одной или более нуклеиновых кислот (например, векторов экспрессии; мРНК; и т.д.), включающих нуклеотидные последовательности, кодирующие ТММР, где ТММР содержит: i) пептидный эпитоп, который, находясь в комплексе ГКГС/пептид ТММР, представляет вирусный эпитоп; ii) НОП, мишенью которого является ассоциированный с раком антиген; и iii) стимулирующий иммуномодулирующий полипептид (например, полипептид IL-2; полипептид 4-1BBL; и т.д.).

В некоторых случаях «эффективное количество» ТММР по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или более дозах нуждающемуся в этом индивидууму уменьшает количество раковых клеток у индивидуума. Например, в некоторых случаях «эффективное количество» ТММР по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или более дозах нуждающемуся в этом индивидууму уменьшает количество раковых клеток у индивидуума на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% по сравнению с количеством раковых клеток у индивидуума перед введением ТММР или при отсутствии введения ТММР. В некоторых случаях «эффективное количество» ТММР по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или более дозах нуждающемуся в этом индивидууму уменьшает количество раковых клеток у индивидуума до неопределяемых уровней.

В некоторых случаях «эффективное количество» ТММР по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или более дозах нуждающемуся в этом индивидууму уменьшает массу опухоли у индивидуума. Например, в некоторых случаях «эффективное количество» ТММР по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или более дозах нуждающемуся в этом индивидууму (индивидууму, имеющему опухоль) уменьшает массу опухоли у индивидуума на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% по сравнению с массой опухоли у индивидуума перед введением ТММР или при отсутствии введения ТММР. В некоторых случаях «эффективное количество» ТММР по данному изобретению представляет собой

количество, которое при введении в одной или более дозах нуждающемуся в этом индивидууму (индивидууму, имеющему опухоль) уменьшает объем опухоли у индивидуума. Например, в некоторых случаях «эффективное количество» ТММР по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или более дозах нуждающемуся в этом индивидууму (индивидууму, имеющему опухоль) уменьшает объем опухоли у индивидуума на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% по сравнению с объемом опухоли у индивидуума перед введением ТММР или при отсутствии введения ТММР. В некоторых случаях «эффективное количество» ТММР по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или более дозах нуждающемуся в этом индивидууму увеличивает время выживания у индивидуума. Например, в некоторых случаях «эффективное количество» ТММР по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или более дозах нуждающемуся в этом индивидууму увеличивает время выживания индивидуума на по меньшей мере 1 месяц, по меньшей мере 2 месяца, по меньшей мере 3 месяца, от 3 месяцев до 6 месяцев, от 6 месяцев до 1 года, от 1 года до 2 лет, от 2 лет до 5 лет, от 5 лет до 10 лет или более 10 лет, по сравнению с ожидаемым временем выживания индивидуума при отсутствии введения мультимерного полипептида.

В некоторых случаях эпитоп-специфическая Т-клетка представляет собой Т-клетку, которая специфична для эпитопа, присутствующего на клетке, зараженной вирусом, и контакт эпитоп-специфической Т-клетки с ТММР увеличивает цитотоксическую активность Т-клетки по отношению к клетке, зараженной вирусом. В некоторых случаях эпитоп-специфическая Т-клетка представляет собой Т-клетку, которая специфична для эпитопа, присутствующего на клетке, зараженной вирусом, и контакт эпитоп-специфической Т-клетки с ТММР увеличивает количество эпитоп-специфических Т-клеток

Таким образом, данное изобретение обеспечивает способ лечения вирусной инфекции у индивидуума, причем способ включает введение индивидууму эффективного количества ТММР по данному изобретению или одной или более нуклеиновых кислот, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие ТММР, причем ТММР содержит Т-клеточный эпитоп, который является вирусным эпитопом, и при этом ТММР содержит стимулирующий иммуномодулирующий полипептид. В некоторых случаях «эффективное количество» ТММР представляет собой количество, которое при введении

в одной или более дозах нуждающемуся в этом индивидууму уменьшает количество пораженных вирусом клеток у индивидуума. Например, в некоторых случаях «эффективное количество» ТММР по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или более дозах нуждающемуся в этом индивидууму уменьшает количество пораженных вирусом клеток у индивидуума на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% по сравнению с количеством пораженных вирусом клеток у индивидуума перед введением ТММР или при отсутствии введения ТММР. В некоторых случаях «эффективное количество» ТММР по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или более дозах нуждающемуся в этом индивидууму уменьшает количество пораженных вирусом клеток у индивидуума до неопределяемых уровней.

Таким образом, данное изобретение обеспечивает способ лечения инфекции у индивидуума, причем способ включает введение индивидууму эффективного количества ТММР по данному изобретению или одной или более нуклеиновых кислот, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие ТММР, причем ТММР содержит Т-клеточный эпитоп, который является патоген-ассоциированным эпитопом, и при этом ТММР содержит стимулирующий иммуномодулирующий полипептид. В некоторых случаях «эффективное количество» ТММР по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или более дозах нуждающемуся в этом индивидууму уменьшает количество патогенов у индивидуума. Например, в некоторых случаях «эффективное количество» ТММР по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или более дозах нуждающемуся в этом индивидууму уменьшает количество патогенов у индивидуума на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% по сравнению с количеством патогенов у индивидуума перед введением ТММР или при отсутствии введения ТММР. В некоторых случаях «эффективное количество» ТММР по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или более дозах нуждающемуся в этом индивидууму уменьшает количество патогенов у индивидуума до невыявляемых уровней. Патогены включают вирусы, бактерии, простейшие и тому подобное.

В некоторых случаях иммуномодулирующий полипептид является ингибирующим полипептидом, а ТММР ингибирует активность эпитоп-специфической Т-клетки. В некоторых случаях эпитоп является аутоэпитопом, а ТММР избирательно ингибирует активность Т-клеток, специфических для этого эпитопа.

Данное изобретение обеспечивает способ лечения аутоиммунного нарушения у индивидуума, причем способ включает введение индивидууму эффективного количества ТММР по данному изобретению или одной или более нуклеиновых кислот, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие ТММР, причем ТММР содержит Т-клеточный эпитоп, который является аутоэпитопом, и при этом ТММР содержит ингибирующий иммуномодулирующий полипептид. В некоторых случаях «эффективное количество» ТММР по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или более дозах нуждающемуся в этом индивидууму уменьшает количество аутореактивных Т-клеток у индивидуума на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% по сравнению с количеством аутореактивных Т-клеток у индивидуума перед введением ТММР или при отсутствии введения ТММР. В некоторых случаях «эффективное количество» ТММР представляет собой количество, которое при введении в одной или более дозах нуждающемуся в этом индивидууму уменьшает продуцирование цитокинов Th2 у индивидуума. В некоторых случаях «эффективное количество» ТММР по данному изобретению представляет собой количество, которое при введении в одной или более дозах нуждающемуся в этом индивидууму облегчает один или более симптомов, связанных с аутоиммунным заболеванием у индивидуума.

Как отмечено выше, в некоторых случаях при осуществлении способа лечения субъекта ТММР по данному изобретению вводят нуждающемуся в этом индивидууму в качестве ТММР *per se*. В других случаях при осуществлении способа лечения субъекта одну или более нуклеиновых кислот, содержащих нуклеотидные последовательности, кодирующие ТММР по данному изобретению, вводят индивидууму, нуждающемуся в этом. Таким образом, в других случаях одну или более нуклеиновых кислот по данному изобретению, например один или несколько рекомбинантных векторов экспрессии по данному изобретению, вводят индивидууму, нуждающемуся в этом.

Составы

Подходящие составы описаны выше, причем подходящие составы включают фармацевтически приемлемый эксципиент. В некоторых случаях подходящая композиция

содержит: а) ТММР по данному изобретению; и б) фармацевтически приемлемый эксципиент. В некоторых случаях подходящая композиция содержит: а) нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую ТММР по данному изобретению; и б) фармацевтически приемлемый эксципиент; в некоторых случаях нуклеиновая кислота представляет собой мРНК. В некоторых случаях подходящая композиция содержит: а) первую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид ТММР по данному изобретению; б) вторую нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид ТММР по данному изобретению; и с) фармацевтически приемлемый эксципиент. В некоторых случаях подходящая композиция содержит: а) нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеотидную последовательность, кодирующую мультимерный полипептид по данному изобретению; и б) фармацевтически приемлемый эксципиент; в некоторых случаях нуклеиновая кислота представляет собой мРНК. В некоторых случаях подходящая композиция содержит: а) первый рекомбинантный векторы экспрессии, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид ТММР по данному изобретению; б) второй рекомбинантный векторы экспрессии, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид ТММР по данному изобретению; и с) фармацевтически приемлемый эксципиент.

Подходящие фармацевтически приемлемые эксципиенты описаны выше.

Дозы

Подходящая доза может быть определена лечащим врачом или другим квалифицированным медицинским персоналом, основываясь на различных клинических факторах. Как хорошо известно в области медицины, дозы для любого пациента зависят от многих факторов, включая размер пациента, площадь поверхности тела, возраст, конкретный полипептид или нуклеиновую кислоту, которые следует вводить, пол пациента, время и путь введения, общее состояние здоровья и другие лекарственные средства, вводимые одновременно. ТММР по данному изобретению может вводиться в количествах от 1 нг/кг массы тела до 20 мг/кг массы тела на дозу, например, от 0,1 мг/кг массы тела до 10 мг/кг массы тела, например, от 0,5 мг/кг массы тела до 5 мг кг массы тела; однако предусмотрены дозы ниже или выше этого примерного диапазона, особенно с учетом вышеупомянутых факторов. Если режим представляет собой непрерывную инфузию, она также может составлять от 1 мкг до 10 мг на килограмм массы тела в минуту. ТММР по настоящему изобретению можно вводить в количестве от около 1 мг/кг массы тела до 50 мг/кг массы тела, например, от около 1 мг/кг массы тела до около 5 мг/кг

массы тела, от около 5 мг/кг массы тела до около 10 мг/кг массы тела, от около 10 мг/кг массы тела до около 15 мг/кг массы тела, от около 15 мг/кг массы тела до около 20 мг/кг массы тела, от около 20 мг/кг массы тела до около 25 мг/кг массы тела, от около 25 мг/кг массы тела до около 30 мг/кг массы тела, от около 30 мг/кг массы тела до около 35 мг/кг массы тела, от около 35 мг/кг массы тела до около 40 мг/кг массы тела или от около 40 мг/кг массы тела до около 50 мг/кг массы тела.

В некоторых случаях подходящая доза ТММР по данному изобретению составляет от 0,01 мкг до 100 г на кг массы тела, от 0,1 мкг до 10 г на кг массы тела, от 1 мкг до 1 г на кг массы тела. масса от 10 мкг до 100 мг на кг массы тела, от 100 мкг до 10 мг на кг массы тела или от 100 мкг до 1 мг на кг массы тела. Специалисты в данной области техники могут легко оценить частоту повторения для дозирования на основании измеренных времен пребывания и концентраций введенного агента в жидкостях или тканях организма. После успешного лечения может быть желательно, чтобы пациент проходил поддерживающую терапию для предотвращения рецидива болезненного состояния, при котором ТММР по данному изобретению вводят в поддерживающих дозах, начиная от 0,01 мкг до 100 г на кг массы тела, от 0,1 мкг до 10 г на кг массы тела, от 1 мкг до 1 г на кг массы тела. масса от 10 мкг до 100 мг на кг массы тела, от 100 мкг до 10 мг на кг массы тела или от 100 мкг до 1 мг на кг массы тела.

Специалистам в данной области техники легко понять, что уровни доз могут варьировать в зависимости от конкретного ТММР, степени выраженности симптомов и подверженности субъекта побочным эффектам. Предпочтительные дозы для данного соединения легко могут быть определены специалистами в данной области техники с помощью различных средств.

В некоторых случаях вводят множественные дозы ТММР по данному изобретению, нуклеиновой кислоты по данному изобретению или рекомбинантного вектора экспрессии по данному изобретению. Частота введения ТММР по данному изобретению, нуклеиновой кислоты по данному изобретению или рекомбинантного вектора экспрессии по данному изобретению может варьировать в зависимости от любого из множества факторов, например, серьезности симптомов и т.д. Например, в некоторых случаях ТММР по данному изобретению, нуклеиновая кислота по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению вводят один раз в месяц, два раза в месяц, три раза в месяц, каждую вторую неделю (qow), один раз в неделю (qw), два раза в неделю (biw), три раза в неделю (tiw), четыре раза в неделю, пять раз в неделю, шесть раз в неделю, каждые двое суток (qod), ежедневно (qd), два раза в сутки (qid) или три раза в сутки (tid).

Продолжительность введения ТММР по данному изобретению, нуклеиновой кислоты по данному изобретению или рекомбинантного вектора экспрессии по данному изобретению, например, период времени, в течение которого ТММР по данному изобретению, нуклеиновую кислоту по данному изобретению, или вводимый рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению может варьировать в зависимости от любого из множества факторов, например реакции пациента и т.д. Например, ТММР по данному изобретению, нуклеиновая кислота по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению можно вводить в течение периода времени, составляющего от около одних суток до около одной недели, от около двух недель до четырех недель, от одного месяца до двух месяцев, от двух месяцев до четырех месяцев, от четырех месяцев до шести месяцев, от шести месяцев до восьми месяцев, от восьми месяцев до 1 года, от около 1 года до около 2 лет или от около 2 лет до около 4 лет или более.

Пути введения

Активный агент (ТММР по данному изобретению, нуклеиновая кислота по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению) вводят индивидууму с использованием любого доступного способа и пути, подходящего для доставки лекарственного средства, включая методы *in vivo* and *ex vivo*, а также системные и локализованные пути введения.

Обычные и фармацевтически приемлемые пути введения включают внутриопухолевое, перитуморальное, внутримышечное, внутрилимфатическое, внутритрахеальное, внутричерепное, подкожное, внутрикожное, местное применение, внутривенное, внутриартериальное, ректальное, назальное, оральное и другие энтеральные и парентеральные пути введения. Пути введения могут быть объединены, если желательно, или скорректированы в зависимости от ТММР и/или желаемого эффекта. ТММР по данному изобретению или нуклеиновую кислоту или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению можно вводить в однократной или многократных дозах.

В некоторых случаях ТММР по данному изобретению, нуклеиновую кислоту по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению вводят внутривенно. В некоторых случаях ТММР по данному изобретению, нуклеиновую кислоту по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению вводят внутримышечно. В некоторых случаях ТММР по данному изобретению, нуклеиновую кислоту по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению вводят интралимфатически. В некоторых случаях

ТММР по данному изобретению, нуклеиновую кислоту по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению вводят местно. В некоторых случаях ТММР по данному изобретению, нуклеиновую кислоту по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению вводят через опухоль. В некоторых случаях ТММР по данному изобретению, нуклеиновую кислоту по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению вводят внутрь опухоли. В некоторых случаях ТММР по данному изобретению, нуклеиновую кислоту по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению вводят внутрь черепа. В некоторых случаях ТММР по данному изобретению, нуклеиновую кислоту по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению вводят подкожно.

В некоторых случаях ТММР по данному изобретению вводят внутривенно. В некоторых случаях ТММР по данному изобретению вводят внутримышечно. В некоторых случаях ТММР по данному изобретению применяют местно. В некоторых случаях ТММР по данному изобретению вводят через опухоль. В некоторых случаях ТММР по данному изобретению вводят внутрь опухоли. В некоторых случаях ТММР по данному изобретению применяют внутрь черепа. В некоторых случаях ТММР вводят подкожно. В некоторых случаях ТММР по данному изобретению вводят интралимфатически.

ТММР по данному изобретению, нуклеиновая кислота по данному изобретению или рекомбинантный вектор экспрессии по данному изобретению могут быть введены хозяину с использованием любых доступных общепринятых способов и путей, подходящих для доставки обычных лекарственных средств, включая системные или местные пути. В общем, способы введения, предполагаемые для применения в способе по данному изобретению, включают, но не ограничиваются ими, энтеральный, парентеральный и ингаляционный пути.

Парентеральные пути введения, отличные от ингаляционного введения, включают, но не ограничиваются ими, местный, трансдермальный, подкожный, внутримышечный, внутриорбитальный, внутрикапсулярный, внутриспинальный, внутрисстенный, внутриопухолевый, внутрилимфатический, перитуморальный и внутривенный пути, т.е. любой путь введения, кроме как через пищеварительный канал. Парентеральное введение может быть осуществлено для осуществления системной или местной доставки ТММР по данному изобретению, нуклеиновой кислоты по данному изобретению или рекомбинантного вектора экспрессии по данному изобретению. Там, где желательна системная доставка, введение обычно включает инвазивное или системно абсорбированное местное или слизистое введение фармацевтических препаратов.

Подходящие для лечения субъекты

Субъекты, подходящие для лечения способом по данному изобретению, включают индивидуумов, у которых присутствует рак, включая индивидуумов, у которых был диагностирован рак, индивидуумов, которых лечили от рака, но которые не смогли ответить на лечение, и индивидуумов, которых лечили от рака и который первоначально ответил, но впоследствии стал невосприимчивым к лечению. Субъекты, подходящие для лечения способом по настоящему изобретению, включают индивидуумов, у которых есть инфекция (например, инфекция патогеном, таким как бактерия, вирус, простейший и т.д.), включая индивидуумов, у которых была диагностирована инфекция и индивидуумов, которые прошли лечение от инфекции, но не смогли ответить на лечение. Субъекты, подходящие для лечения способом по данному изобретению, включают индивидуумов, у которых есть бактериальная инфекция, включая индивидуумов, у которых была диагностирована бактериальная инфекция, и индивидуумов, которых лечили от бактериальной инфекции, но которые не смогли ответить на лечение. Субъекты, подходящие для лечения способом по данному изобретению, включают индивидуумов, у которых есть вирусная инфекция, включая индивидуумов, у которых была диагностирована вирусная инфекция, и индивидуумов, которых лечили от вирусной инфекции, но которые не смогли ответить на лечение. Субъекты, подходящие для лечения способом по данному изобретению, включают индивидуумов, у которых есть аутоиммунное заболевание, включая индивидуумов, у которых диагностировали аутоиммунное заболевание, и индивидуумов, которых лечили от аутоиммунного заболевания, но которые не смогли ответить на лечение.

Примеры неограничивающих аспектов изобретения

Аспекты, включая варианты осуществления, данного изобретения, описанного выше, могут быть полезны отдельно или в комбинации с одним или более другими аспектами или вариантами осуществления. Не ограничивая вышеприведенное описание, некоторые неограничивающие аспекты изобретения, пронумерованные 1-49, представлены ниже. Как будет понятно специалистам в данной области техники после прочтения данного описания, каждый из отдельно пронумерованных аспектов может использоваться или комбинироваться с любым из предшествующих или следующих отдельно пронумерованных аспектов. Это предназначено для обеспечения поддержки всех таких комбинаций аспектов и не ограничивается комбинациями аспектов, явно предоставленными ниже:

Аспект 1. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид, содержащий:
по меньшей мере один гетеродимер, содержащий:

а) первый полипептид, содержащий: i) пептидный эпитоп, при этом длина пептида составляет по меньшей мере 4 аминокислоты; и ii) первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС);

b) второй полипептид, содержащий второй полипептид ГКГС;

c) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид, при этом первый и/или второй полипептид содержит по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид;

d) Fc-полипептид иммуноглобулина (Ig) или каркас не от Ig, причем первый и/или второй полипептид содержит Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig; и

e) нацеленный на опухоль полипептид, причем первый и/или второй полипептид содержит нацеленный на опухоль полипептид.

Аспект 2. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по аспекту 1, в котором по меньшей мере один из одного или более иммуномодулирующих доменов представляет собой вариант иммуномодулирующего полипептида, который проявляет пониженную аффинность к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду по сравнению с аффинностью соответствующего иммуномодулирующего полипептида дикого типа для когнатного ко-иммуномодулирующего полипептида, и при этом эпитоп связывается с Т-клеточным рецептором (TCR) на Т-клетке с аффинностью, равной по меньшей мере 10^{-7} М так, что: i) модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид связывается с первой Т-клеткой с аффинностью, которая на по меньшей мере 25% выше, чем аффинность с которой модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид связывает вторую Т-клетку, при этом первая Т-клетка экспрессирует на своей поверхности когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид и TCR, который связывает эпитоп с аффинностью, равной по меньшей мере 10^{-7} М, и при этом вторая Т-клетка экспрессирует на своей поверхности когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид, но не экспрессирует на своей поверхности TCR, который связывает эпитоп с аффинностью, равной по меньшей мере 10^{-7} М; и/или ii) соотношение аффинности связывания контрольного модулирующего Т-клетки мультимерного полипептида, когда контроль содержит иммуномодулирующий полипептид дикого типа, с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом к аффинности связывания модулирующего Т-клетки мультимерного полипептида, содержащего вариант иммуномодулирующего полипептида дикого типа, с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом, которое измеряют с помощью биослойной интерферометрии, находится в диапазоне от 1,5:1 до $10^6:1$.

Аспект 3. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по аспекту 2, в

котором а) модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид связывается с первой Т-клеткой с аффинностью, которая составляет не по меньшей мере 50%, не по меньшей мере 2 раза, не по меньшей мере 5 раз или не по меньшей мере 10 раз больше аффинности, с которой он связывает вторую Т-клетку; и/или б) вариант иммуномодулирующего полипептида связывает ко-иммуномодулирующий полипептид с аффинностью от около 10^{-4} М до около 10^{-7} М, от около 10^{-4} М до около 10^{-6} М, от около 10^{-4} М до около 10^{-5} М; и/или с) причем соотношение аффинности связывания контрольного модулирующего Т-клетки мультимерного полипептида, когда контроль содержит иммуномодулирующий полипептид, с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом к аффинности связывания модулирующего Т-клетки мультимерного полипептида, содержащего вариант иммуномодулирующего полипептида дикого типа, с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом, которое измеряют бислойной интерферометрией, составляет не по меньшей мере 10:1, не по меньшей мере 50:1, не по меньшей мере 10^2 :1 или не по меньшей мере 10^3 :1.

Аспект 4. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-3, в котором первый или второй полипептид содержит Fc-полипептид Ig.

Аспект 5. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по аспекту 4, в котором полипептид Fc Ig представляет собой полипептид Fc IgG1.

Аспект 6. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по аспекту 5, в котором Fc IgG1 содержит одну или более аминокислотных замен, выбранных из N297A, L234A, L235A, L234F, L235E и P331S.

Аспект 7. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-6, в котором

а1) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:

- i) пептидный эпитоп;
- ii) первый полипептид ГКГС; и
- iii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; и

б1) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:

- i) второй полипептид ГКГС;
- ii) полипептид Fc Ig; и
- iii) нацеленный на опухоль полипептид; или

а2) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:

- i) пептидный эпитоп; и
- ii) первый полипептид ГКГС; и

б2) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:

- i) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид;
- ii) второй полипептид ГКГС;
- iii) Fc-полипептид Ig; и
- iv) нацеленный на опухоль полипептид; или
- a3) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) пептидный эпитоп; и
 - ii) первый полипептид ГКГС;
 - iii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид и
- b3) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) второй полипептид ГКГС;
 - ii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид;
 - iii) Fc-полипептид Ig; и
 - iv) нацеленный на опухоль полипептид; или
- a4) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) пептидный эпитоп;
 - ii) первый полипептид ГКГС;
 - iii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; и
- b4) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид;
 - ii) второй полипептид ГКГС;
 - iii) Fc-полипептид Ig; и
 - iv) нацеленный на опухоль полипептид; или
- a5) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид;
 - ii) пептидный эпитоп; и
 - ii) первый полипептид ГКГС; и
- b5) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) второй полипептид ГКГС;
 - ii) Fc-полипептид Ig; и
 - iii) нацеленный на опухоль полипептид; или
- a6) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) пептидный эпитоп; и
 - ii) первый полипептид ГКГС; и
- b6) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) второй полипептид ГКГС;

- ii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид;
- iii) Fc-полипептид Ig; и
- iv) нацеленный на опухоль полипептид; или
- a7) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) пептидный эпитоп;
 - ii) первый полипептид ГКГС; и
 - iii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; и
- b7) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид;
 - ii) второй полипептид ГКГС;
 - iii) Fc-полипептид Ig; и
 - iv) нацеленный на опухоль полипептид; или
- a8) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) пептидный эпитоп;
 - ii) первый полипептид ГКГС; и
 - iii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; и
- b8) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) второй полипептид ГКГС;
 - ii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид;
 - iii) Fc-полипептид Ig; и
 - iv) нацеленный на опухоль полипептид; или
- a9) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) пептидный эпитоп; и
 - ii) первый полипептид ГКГС; и
- b9) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) нацеленный на опухоль полипептид;
 - ii) второй полипептид ГКГС;
 - iii) Fc-полипептид Ig; и
 - iv) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; или
- a10) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) пептидный эпитоп; и
 - ii) первый полипептид ГКГС; и
- b10) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) нацеленный на опухоль полипептид;
 - ii) второй полипептид ГКГС;

- iii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; и
- iv) Fc-полипептид Ig; или
- a11) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) пептидный эпитоп;
 - ii) первый полипептид ГКГС; и
 - iii) нацеленный на опухоль полипептид; и
- b11) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид;
 - ii) второй полипептид ГКГС; и
 - iii) Fc-полипептид Ig; или
- a12) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) пептидный эпитоп;
 - ii) первый полипептид ГКГС; и
 - iii) нацеленный на опухоль полипептид; и
- b12) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) второй полипептид ГКГС;
 - ii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; и
 - iii) полипептид Fc Ig.

Аспект 8. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-7, в котором первый полипептид содержит пептидный линкер между эпитопом и первым полипептидом ГКГС и/или в котором второй полипептид содержит пептидный линкер между иммуномодулирующим полипептидом и вторым полипептидом ГКГС.

Аспект 9. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по аспекту 8, в котором пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность (GGGGS)_n, где n является целым числом от 1 до 10.

Аспект 10. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-9, в котором первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β2-микроглобулина; и в котором второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса.

Аспект 11. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-10, в котором по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид выбран из группы, состоящей из цитокина, полипептида 4-1BBL, полипептида B7-1, полипептида B7-2, полипептида ICOS-L, полипептида OX-40L, полипептида CD80, полипептида CD86, полипептида PD-L1, полипептида FasL, полипептида PD-L2 и их комбинаций.

Аспект 12. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-11, в котором по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид представляет собой полипептид IL-2.

Аспект 13. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-12, причем мультимерный полипептид содержит по меньшей мере два иммуномодулирующих полипептида, и при этом по меньшей мере два из иммуномодулирующих полипептидов одинаковы.

Аспект 14. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по аспекту 13, в котором 2 или более иммуномодулирующих полипептидов находятся в тандеме.

Аспект 15. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-14, в котором нацеливающий на опухоль полипептид представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком антигена на поверхности раковой клетки.

Аспект 16. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по аспекту 15, в котором антитело является специфичным для Her2.

Аспект 17. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по аспекту 15, в котором антитело является специфичным для CD19.

Аспект 18. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 15-17, в котором антитело представляет собой scFv.

Аспект 19. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 15-17, в котором антитело представляет собой нанотело.

Аспект 20. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-14, в котором нацеливающий на опухоль полипептид представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком пептида/комплекса ГКГС, присутствующего на поверхности раковой клетки.

Аспект 21. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-14, в котором нацеливающий на опухоль полипептид представляет собой одноцепочечный Т-клеточный рецептор, специфичный для ассоциированного с раком антигена на поверхности раковой клетки.

Аспект 22. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-21, в котором первый полипептид и второй полипептид ковалентно связаны друг с другом.

Аспект 23. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по аспекту 22, в котором ковалентная связь осуществляется через дисульфидную связь.

Аспект 24. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по аспекту 23, в

котором полипептид $\beta 2M$ и полипептид тяжелой цепи ГКГС соединены дисульфидной связью, которая соединяет остаток Cys в полипептиде $\beta 2M$ и остаток Cys в полипептиде тяжелой цепи ГКГС.

Аспект 25. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по аспекту 24, в котором Cys в аминокислотном остатке 12 полипептида $\beta 2M$ связан дисульфидной связью с Cys в аминокислотном остатке 236 полипептида тяжелой цепи ГКГС.

Аспект 26. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по аспекту 23, в котором первая полипептидная цепь содержит линкер между пептидным эпитопом и полипептидом $\beta 2M$, и дисульфидная связь связывает Cys, присутствующий в линкере, с Cys тяжелой цепи полипептида ГКГС.

Аспект 27. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по аспекту 23, в котором первая полипептидная цепь содержит линкер между пептидным эпитопом и полипептидом $\beta 2M$, и дисульфидная связь связывает Cys, замещающий Gly2 в линкере, с Cys, замещающим Tyr84, тяжелой цепи полипептида ГКГС.

Аспект 28. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-27, в котором первый и второй полипептиды ковалентно связаны друг с другом по меньшей мере 2 дисульфидными связями.

Аспект 29. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по аспекту 28, в котором: а) первая дисульфидная связь находится между: i) Cys, присутствующим в линкере между пептидным эпитопом и первым полипептидом ГКГС I класса, причем первый полипептид ГКГС I класса представляет собой полипептид $\beta 2M$; и ii) остатком Cys, введенным посредством замены Y84C во второй полипептид ГКГС I класса, при этом второй полипептид ГКГС I класса представляет собой полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса; и б) вторая дисульфидная связь находится между: i) остатком Cys, введенным в полипептид $\beta 2M$ посредством замены R12C; и ii) остатком Cys, введенным в полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса посредством замены A236C.

Аспект 30. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по аспекту 29, в котором линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGS (SEQ ID NO:139).

Аспект 31. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по аспекту 29, в котором линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGS(GGGGS) n (SEQ ID NO:140), где n является целым числом от 1 до 10.

Аспект 32. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-31, в котором пептидный эпитоп имеет длину от около 4 аминокислот до около 25 аминокислот (например, 4 аминокислоты (ак), 5 ак, 6 ак, 7 ак, 8 ак, 9 ак, 10 ак, 11 ак, 12 ак, 13 ак, 14 ак, 15 ак, 16 ак, 17 ак, 18 ак, 19 ак, 20 ак, 21 ак, 22 ак, 23 ак, 24 ак или 25 ак, в

том числе в диапазоне от 4 до 20 ак, от 6 до 18 ак, от 8 до 15 ак, от 8 до 12 ак, от 5 до 10 ак, от 10 до 15 ак, от 15 до 20 ак, от 10 до 20 ак или от 15 до 25 ак, в длину).

Аспект 33. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-32, в котором пептидный эпитоп представляет собой раково-ассоциированный пептидный эпитоп.

Аспект 34. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-32, в котором пептидный эпитоп представляет собой вирус-ассоциированный пептидный эпитоп.

Аспект 35. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-34, в котором первый или второй полипептид ГКГС содержит: а) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-A*0101, HLA-A*0201, HLA-A*0201, HLA-A*1101, HLA-A*2301, HLA-A*2402, HLA-A*2407, HLA-A*3303 или HLA-A*3401, изображенной на фиг. 7А; или б) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-B*0702, HLA-B*0801, HLA-B*1502, HLA-B*3802, HLA-B*4001, HLA-B*4601 или HLA-B*5301, изображенной на фиг. 8А; или с) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с HLA-C*0102, HLA-C*0303, HLA-C*0304, HLA-C*0401, HLA-C*0602, HLA-C*0701, HLA-C*0702, HLA-C*0801 или HLA-C*1502, изображенной на фиг. 9А.

Аспект 36. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-35, в котором первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2М; и в котором второй полипептид ГКГС содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с полипептидом HLA-A*2402.

Аспект 37. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-35, в котором первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2М; и в котором второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид HLA-A*1101.

Аспект 38. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-35, в котором первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2М; и в котором второй полипептид ГКГС содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с полипептидом HLA-A*3303.

Аспект 39. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из

аспектов 1-35, в котором первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид $\beta 2M$; и в котором второй полипептид ГКГС содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с полипептидом HLA-A*0201.

Аспект 40. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-39, в котором иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий: i) замену H16A и замену F42A; или ii) замену H16T и замену F42A.

Аспект 41. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-40, причем мультимерный полипептид содержит первый и второй гетеродимеры, и в котором первый и второй гетеродимеры ковалентно связаны одной или более дисульфидными связями между полипептидами Fc Ig первого и второго гетеродимеров.

Аспект 42. Нуклеиновая кислота, содержащая нуклеотидную последовательность, кодирующую первый или второй полипептид по любому из аспектов 1-41, при этом первый или второй полипептид содержит по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид.

Аспект 43. Вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту по аспекту 42.

Аспект 44. Способ селективного модулирования активности Т-клетки, специфической для эпитопа, включающий приведение в контакт Т-клетки с модулирующим Т-клетки мультимерным полипептидом по любому из аспектов 1-41, при этом указанное приведение в контакт селективно модулирует активность эпитоп-специфической Т-клетки.

Аспект 45. Способ лечения пациента с раковым заболеванием, включающий введение пациенту эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из аспектов 1-41,

Аспект 46. Способ по аспекту 45, в котором раковое заболевание представляет собой рак шейки матки, рак предстательной железы или рак яичников.

Аспект 47. Способ по аспекту 45 или 46, в котором указанное введение осуществляется внутримышечно.

Аспект 48. Способ по аспекту 45 или 46, в котором указанное введение осуществляется внутривенно.

Аспект 49. Способ модулирования иммунного ответа у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества модулирующего Т-клетку мультимерного полипептида по любому из аспектов 1-41, причем указанное введение

индуцирует эпитоп-специфический Т-клеточный ответ и эпитоп-неспецифический Т-клеточный ответ, причем соотношение эпитоп-специфического Т-клеточного ответа к эпитоп-неспецифическому Т-клеточному ответу составляет по меньшей мере 2:1.

Примеры

Следующие примеры приводятся с тем, чтобы предоставить специалистам в данной области техники полное раскрытие и описание того, как осуществлять и применять настоящее изобретение, однако они не претендуют ни на ограничение объема того, что авторы рассматривают как свое изобретение, ни на то, что нижеприведенные эксперименты представляют собой все или единственные проведенные эксперименты. Были приняты меры для того, чтобы сохранить точность в отношении используемых чисел (например, количеств, значений температуры и т.д.), однако следует учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иное, части означают массовые части, молекулярная масса означает среднюю молекулярную массу, температура выражена в градусах Цельсия, а давление представляет атмосферное давление или давление, близкое к атмосферному. Могут употребляться стандартные сокращения, например, п. о., пара(-ы) оснований; т.п. н., тысяча(-и) пар нуклеотидов; пл, пиколитр(-ы); с или сек, секунда(-ы); мин, минута(-ы); ч или час, час(-ы); ак, аминокислота(-ы); тысяча(-и) пар нуклеотидов; п. о., пара(-ы) оснований; нт, нуклеотид(-ы); в/м, внутримышечный(-о); в/б, внутрибрюшинный(-о); п/к, подкожный(-о) и т.п.

Пример

TMMP, содержащий полипептид 1717 (фиг. 14В) и полипептид 4012 (фиг. 15В) был изготовлен и испытан. Этот TMMP содержит два гетеродимера, каждый гетеродимер содержит полипептид 1717 и полипептид 4012. Затем эти два гетеродимера самостоятельно собираются через Fc-полипептид IgG1, присутствующий в полипептиде 4012, образуя TMMP 4012-1717.

4012: Этот полипептид содержит: i) две копии полипептида IL2 с пониженной аффинностью (IL-2 (H16A; F42A), разделенные линкером (GGGGSGGGSGGGSGGGGS; SEQ ID NO:380); ii) тяжелую цепь HLA-A02 (Y84C; A236C); iii) Fc IgG1 человека (L234A; L235A); iv) анти-CD19 scFv, а также линкер (AAAGG; SEQ ID NO:387) между HLA-A02 (Y84C; A236C) и Fc IgG1 (L234A; L235A), и линкер (GGGGSGGGGGSGGGGS; SEQ ID NO:379) между IgG1 и анти-CD19 scFv.

1717: Этот полипептид содержит: i) пептидный эпитоп ЦМВ; ii) полипептид β 2M (R12C); и линкер (GCGGSGGGGGSGGGGS; SEQ ID NO:138) между пептидным эпитопом ЦМВ и полипептидом β 2M (R12C).

Каждый гетеродимер содержит: (i) первую дисульфидную связь между Cys,

присутствующим в линкере между пептидным эпитопом ЦМВ и полипептидом $\beta 2\text{M}$ (R12C), и остатком Cys, введенным через Y84C альфа-цепи HLA-A02, и (ii) вторую дисульфидную связь между остатком Cys, введенным в полипептид $\beta 2\text{M}$ через замену R12C, и остатком Cys, введенным в полипептид тяжелой цепи МНС класса I через замену A236C. Два гетеродимера соединяли дисульфидными связями, образованными между соответствующими Fc-полипептидами IgG1.

Было протестировано влияние TMMP 4012-1717 на цитолитическую активность CD8^+ Т-клеток из моноклеарных клеток периферической крови (МКПК) в отношении CD19^+ клеток Рамоса. CD8^+ Т-клетки были очищены из двух МКПК здоровых доноров («лейкопак 37» и «лейкопак 38»). Меченные сукцинимидиловым эфиром карбоксифлуоресцеина (CFSE, англ.: carboxyfluorescein succinimidyl ester) клетки Рамоса инкубировали с очищенными CD8^+ Т-клетками при соотношении эффекторов и мишеней 20:1 в присутствии возрастающих концентраций 4012-1717. В качестве положительного контроля цитолитическую активность оценивали в присутствии анти-CD3-анти-CD19 биспецифического рекрутера Т-клеток (BiTE). В качестве отрицательного контроля цитолитическую активность оценивали в присутствии βGal -антиCD19 BiTE. Через 48 часов культивирования клетки промывали и помечали с помощью окрашивания живых/мертвых клеток. Процент живых клеток-мишеней оценивали с помощью проточной цитометрии. Данные показаны на фиг. 16А и фиг. 16В.

Как показано на фиг. 16А и 16В, обработка 4012-1717 индуцировала цитолитическую активность CD8^+ Т-клеток у обоих тестируемых доноров. Положительные и отрицательные контроли продемонстрировали ожидаемую активность.

Хотя данное изобретение было описано со ссылкой на его конкретные варианты осуществления, специалистам в данной области техники должно быть понятно, что могут быть сделаны различные изменения и могут быть заменены эквиваленты без отклонения от истинной сущности и объема изобретения. Кроме того, может быть сделано множество модификаций для адаптации конкретной ситуации, материала, состава вещества, процесса, этапа или этапов процесса к цели, сущности и объему данного изобретения. Предполагается, что все такие модификации находятся в пределах объема прилагаемой формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид, содержащий:

по меньшей мере один гетеродимер, содержащий:

a) первый полипептид, содержащий:

i) пептидный эпитоп, причем пептидный эпитоп представляет собой пептид, длиной по меньшей мере 4 аминокислоты; и

ii) первый полипептид главного комплекса гистосовместимости (ГКГС);

b) второй полипептид, содержащий второй полипептид ГКГС;

c) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид, причем первый и/или второй полипептид содержит по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид;

d) Fc-полипептид иммуноглобулина (Ig) или каркас не от Ig, причем первый и/или второй полипептид содержит Fc-полипептид Ig или каркас не от Ig; и

e) нацеленный на опухоль полипептид, причем первый и/или второй полипептид содержит нацеленный на опухоль полипептид.

2. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по п. 1, в котором по меньшей мере один из одного или более иммуномодулирующих полипептидов представляет собой вариант иммуномодулирующего полипептида, который проявляет пониженную аффинность к когнатному ко-иммуномодулирующему полипептиду по сравнению с аффинностью соответствующего иммуномодулирующего полипептида дикого типа для когнатного ко-иммуномодулирующего полипептида,

3. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по п. 2, в котором эпитоп связывается с Т-клеточным рецептором (ТКР) на Т-клетке с аффинностью, равной по меньшей мере 10^{-7} M,

так, что:

i) модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид связывается с первой Т-клеткой с аффинностью, которая на по меньшей мере 25% выше, чем аффинность, с которой модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид связывает вторую Т-клетку,

при этом первая Т-клетка экспрессирует на своей поверхности когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид и TCR, который связывает эпитоп с аффинностью, равной по меньшей мере 10^{-7} M, и

при этом вторая Т-клетка экспрессирует на своей поверхности когнатный ко-иммуномодулирующий полипептид, но не экспрессирует на своей поверхности TCR, который связывает эпитоп с аффинностью, равной по меньшей мере 10^{-7} M, и/или

ii) соотношение аффинности связывания контрольного модулирующего Т-клетки

мультимерного полипептида, когда контроль содержит иммуномодулирующий полипептид дикого типа, с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом к аффинности связывания модулирующего Т-клетки мультимерного полипептида, содержащего вариант иммуномодулирующего полипептида дикого типа, с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом, которое измеряют с помощью биослойной интерферометрии, находится в диапазоне от 1,5:1 до 10^6 :1.

4. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по п. 3, в котором:

a) модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид связывается с первой Т-клеткой с аффинностью, которая по меньшей мере на 50%, по меньшей мере в 2 раза, по меньшей мере в 5 раз или по меньшей мере в 10 раз выше, чем аффинность, с которой он связывает со второй Т-клеткой; и/или

b) вариант иммуномодулирующего полипептида связывается с ко-иммуномодулирующим полипептидом с аффинностью от около 10^{-4} М до около 10^{-7} М, от около 10^{-4} М до около 10^{-6} М, от около 10^{-4} М до около 10^{-5} М; и/или

c) при этом соотношение аффинности связывания контрольного модулирующего Т-клетки мультимерного полипептида, когда контроль содержит иммуномодулирующий полипептид дикого типа, с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом к аффинности связывания модулирующего Т-клетки мультимерного полипептида, содержащего вариант иммуномодулирующего полипептида дикого типа, с когнатным ко-иммуномодулирующим полипептидом, которое измеряют с помощью биослойной интерферометрии, составляет по меньшей мере 10:1, по меньшей мере 50:1, по меньшей мере 10^2 :1 или по меньшей мере 10^3 :1.

5. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-4, в котором второй полипептид содержит Fc-полипептид Ig, и необязательно Fc-полипептид Ig представляет собой Fc-полипептид IgG1.

6. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по п. 5, в котором Fc-полипептид IgG1 содержит одну или более аминокислотных замен, выбранных из N297A, L234A, L235A, L234F, L235E и P331S.

7. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-6, в котором:

a5) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:

i) пептидный эпитоп;

ii) первый полипептид ГКГС; и

iii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; и

b5) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:

- i) второй полипептид ГКГС;
- ii) Fc-полипептид Ig; и
- iii) нацеленный на опухоль полипептид; или
- a1) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) пептидный эпитоп; и
 - ii) первый полипептид ГКГС; и
- b1) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид;
 - ii) второй полипептид ГКГС;
 - iii) Fc-полипептид Ig; и
 - iv) нацеленный на опухоль полипептид; или
- a6) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) пептидный эпитоп; и
 - ii) первый полипептид ГКГС;
 - iii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид и
- b6) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) второй полипептид ГКГС;
 - ii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид;
 - iii) Fc-полипептид Ig; и
 - iv) нацеленный на опухоль полипептид; или
- a7) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) пептидный эпитоп;
 - ii) первый полипептид ГКГС;
 - iii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; и
- b7) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид;
 - ii) второй полипептид ГКГС;
 - iii) Fc-полипептид Ig; и
 - iv) нацеленный на опухоль полипептид; или
- a4) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид;
 - ii) пептидный эпитоп; и
 - ii) первый полипептид ГКГС; и
- b4) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) второй полипептид ГКГС;

- ii) Fc-полипептид Ig; и
- iii) нацеленный на опухоль полипептид; или
- a2) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) пептидный эпитоп; и
 - ii) первый полипептид ГКГС; и
- b2) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) второй полипептид ГКГС;
 - ii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид;
 - iii) Fc-полипептид Ig; и
 - iv) нацеленный на опухоль полипептид; или
- a8) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) пептидный эпитоп;
 - ii) первый полипептид ГКГС; и
 - iii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; и
- b8) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид;
 - ii) второй полипептид ГКГС;
 - iii) Fc-полипептид Ig; и
 - iv) нацеленный на опухоль полипептид; или
- a9) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) пептидный эпитоп;
 - ii) первый полипептид ГКГС; и
 - iii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; и
- b9) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) второй полипептид ГКГС;
 - ii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид;
 - iii) Fc-полипептид Ig; и
 - iv) нацеленный на опухоль полипептид; или
- a3) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) пептидный эпитоп; и
 - ii) первый полипептид ГКГС; и
- b3) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) нацеленный на опухоль полипептид;
 - ii) второй полипептид ГКГС;
 - iii) Fc-полипептид Ig; и

- iv) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; или
- a10) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) пептидный эпитоп; и
 - ii) первый полипептид ГКГС; и
- b10) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) нацеленный на опухоль полипептид;
 - ii) второй полипептид ГКГС;
 - iii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; и
 - iv) Fc-полипептид Ig; или
- a11) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) пептидный эпитоп;
 - ii) первый полипептид ГКГС; и
 - iii) нацеленный на опухоль полипептид; и
- b11) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид;
 - ii) второй полипептид ГКГС; и
 - iii) Fc-полипептид Ig; или
- a12) первый полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) пептидный эпитоп;
 - ii) первый полипептид ГКГС; и
 - iii) нацеленный на опухоль полипептид; и
- b12) второй полипептид содержит в направлении от N-конца к C-концу:
 - i) второй полипептид ГКГС;
 - ii) по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид; и
 - iii) полипептид Fc Ig.

8. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-7, в котором первый полипептид содержит пептидный линкер между эпитопом и первым полипептидом ГКГС, и/или в котором второй полипептид содержит пептидный линкер между иммуномодулирующим полипептидом и вторым полипептидом ГКГС.

9. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по п. 8, в котором пептидный линкер содержит аминокислотную последовательность (GGGGS)_n, где n является целым числом от 1 до 10.

10. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-9, в котором первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β2-микроглобулина; и в котором второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид тяжелой цепи ГКГС I

класса.

11. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-10, в котором по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид выбран из группы, состоящей из цитокина, полипептида 4-1BBL, полипептида ICOS-L, полипептида OX-40L, полипептида CD80, полипептида CD86, полипептида PD-L1, полипептида FasL, полипептида PD-L2 и их комбинаций.

12. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-11, в котором по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид представляет собой полипептид IL-2.

13. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-12, причем мультимерный полипептид содержит по меньшей мере два иммуномодулирующих полипептида, и при этом по меньшей мере два из иммуномодулирующих полипептидов одинаковы.

14. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по п. 13, в котором 2 или более иммуномодулирующих полипептидов находятся в тандеме.

15. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-14, в котором нацеливающий на опухоль полипептид представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком антигена на поверхности раковой клетки.

16. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по п. 15, в котором антитело является специфичным для полипептида Her2, CD19, WT1, MUC1, BCMA, мезотелина или клаудина.

17. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по п. 15 или п. 16, в котором антитело представляет собой scFv.

18. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по п. 15 или п. 16, в котором антитело представляет собой нанотело.

19. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-14, в котором нацеливающий на опухоль полипептид представляет собой антитело, специфичное для ассоциированного с раком пептида/комплекса ГКГС, присутствующего на поверхности раковой клетки.

20. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-14, в котором нацеливающий на опухоль полипептид представляет собой одноцепочечный Т-клеточный рецептор, специфичный для ассоциированного с раком антигена на поверхности раковой клетки.

21. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-20, в котором первый полипептид и второй полипептид ковалентно связаны друг с другом.

22. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по п. 21, в котором ковалентная связь осуществляется через дисульфидную связь.

23. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по п. 22, в котором полипептид $\beta 2M$ и полипептид тяжелой цепи ГКГС соединены дисульфидной связью, которая соединяет остаток Cys в полипептиде $\beta 2M$ и остаток Cys в полипептиде тяжелой цепи ГКГС.

24. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по п. 23, в котором Cys в аминокислотном остатке 12 полипептида $\beta 2M$ связан дисульфидной связью с Cys в аминокислотном остатке 236 полипептида тяжелой цепи ГКГС.

25. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по п. 22, в котором первая полипептидная цепь содержит линкер между пептидным эпитопом и полипептидом $\beta 2M$, и в котором дисульфидная связь связывает Cys, присутствующий в линкере, с Cys тяжелой цепи полипептида ГКГС.

26. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по п. 22, в котором первая полипептидная цепь содержит линкер между пептидным эпитопом и полипептидом $\beta 2M$, и в котором дисульфидная связь связывает Cys, замещающий Gly2 в линкере, с Cys, замещающим Tyr84, тяжелой цепи полипептида ГКГС.

27. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-26, в котором первый и второй полипептиды ковалентно связаны друг с другом по меньшей мере 2 дисульфидными связями.

28. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по п. 27, в котором:

a) первая дисульфидная связь находится между: i) Cys, присутствующим в линкере между пептидным эпитопом и первым полипептидом ГКГС I класса, причем первый полипептид ГКГС I класса представляет собой полипептид $\beta 2M$; и ii) остатком Cys, введенным посредством замены Y84C во второй полипептид ГКГС I класса, при этом второй полипептид ГКГС класса I представляет собой полипептид тяжелой цепи ГКГС I класса; и

b) вторая дисульфидная связь находится между: i) остатком Cys, введенным в полипептид $\beta 2M$ посредством замены R12C; и ii) остатком Cys, введенным в полипептид тяжелой цепи МНС класса I посредством замены A236C.

29. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по п. 28, в котором линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGS.

30. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по п. 29, в котором линкер содержит аминокислотную последовательность GCGGS(GGGGS) n , где n является целым числом от 1 до 10.

31. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-30, в котором пептидный эпитоп имеет длину от около 4 аминокислот до около 25 аминокислот (например, 4 аминокислоты (ак), 5 ак, 6 ак, 7 ак, 8 ак, 9 ак, 10 ак, 11 ак, 12 ак, 13 ак, 14 ак, 15 ак, 16 ак, 17 ак, 18 ак, 19 ак, 20 ак, 21 ак, 22 ак, 23 ак, 24 ак или 25 ак, в том числе в диапазоне от 4 до 20 ак, от 6 до 18 ак, от 8 до 15 ак, от 8 до 12 ак, от 5 до 10 ак, от 10 до 15 ак, от 15 до 20 ак, от 10 до 20 ак или от 15 до 25 ак, в длину).

32. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-31, в котором первый или второй полипептид ГКГС содержит:

а) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-A*0101, HLA-A*0201, HLA-A*0201, HLA-A*1101, HLA-A*2301, HLA-A*2402, HLA-A*2407, HLA-A*3303 или HLA-A*3401, изображенной на фиг. 7А; или

б) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью HLA-B*0702, HLA-B*0801, HLA-B*1502, HLA-B*3802, HLA-B*4001, HLA-B*4601 или HLA-B*5301, изображенной на фиг. 8А; или

с) аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с HLA-C*0102, HLA-C*0303, HLA-C*0304, HLA-C*0401, HLA-C*0602, HLA-C*0701, HLA-C*0702, HLA-C*0801 или HLA-C*1502, изображенной на фиг. 9А.

33. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-32, в котором первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2М; и в котором второй полипептид ГКГС содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с полипептидом HLA-A*2402.

34. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-32, в котором первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2М; и в котором второй полипептид ГКГС представляет собой полипептид HLA-A*1101.

35. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-32, в котором первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид β 2М; и в котором второй полипептид ГКГС содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с полипептидом HLA-A*3303.

36. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-32, в

котором первый полипептид ГКГС представляет собой полипептид $\beta 2M$; и в котором второй полипептид ГКГС содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности аминокислотной последовательности с полипептидом HLA-A*0201.

37. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-36, в котором иммуномодулирующий полипептид представляет собой вариант полипептида IL-2, содержащий: i) замену H16A и замену F42A; или ii) замену H16T и замену F42A.

38. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-37, в котором эпитоп представляет собой ассоциированный с раком эпитоп.

39. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-37, в котором эпитоп представляет собой пептид вирусного антигена.

40. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по п. 39, в котором вирусный антиген представляет собой полипептид цитомегаловируса (ЦМВ).

41. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по п. 40, в котором полипептид ЦМВ представляет собой полипептид pp65 ЦМВ.

42. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по п. 41, в котором пептид имеет аминокислотную последовательность NLVPMVATV и имеет длину 9 аминокислот.

43. Модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-42, в котором мультимерный полипептид содержит первый и второй гетеродимер, и

в котором первый и второй гетеродимеры ковалентно связаны одной или более дисульфидными связями между Fc-полипептидами Ig первого и второго гетеродимеров.

44. Нуклеиновая кислота, содержащая нуклеотидную последовательность, кодирующую первый или второй полипептид по любому из пп. 1-43, при этом первый или второй полипептид содержит по меньшей мере один иммуномодулирующий полипептид.

45. Вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту по п. 44.

46. Способ селективного модулирования активности Т-клетки, специфической для эпитопа, включающий приведение в контакт Т-клетки с модулирующим Т-клетки мультимерным полипептидом по любому из пп. 1-43, при этом указанное приведение в контакт селективно модулирует активность эпитоп-специфической Т-клетки.

47. Способ лечения пациента с раковым заболеванием, включающий введение пациенту эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей модулирующий Т-клетки мультимерный полипептид по любому из пп. 1-43,

48. Способ по п. 47, в котором рак представляет собой карциному, саркому, меланому, лейкемию или лимфому.

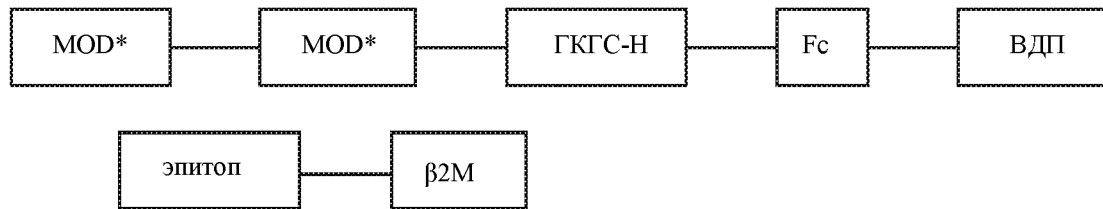
49. Способ по п. 47 или 48, в котором введение осуществляют внутримышечно, внутривенно, перитуморально или интратуморально.

50. Способ модуляции иммунного ответа у индивидуума, включающий введение индивидууму эффективного количества модулирующего Т-клетки мультимерного полипептида по любому из пп. 1-43,

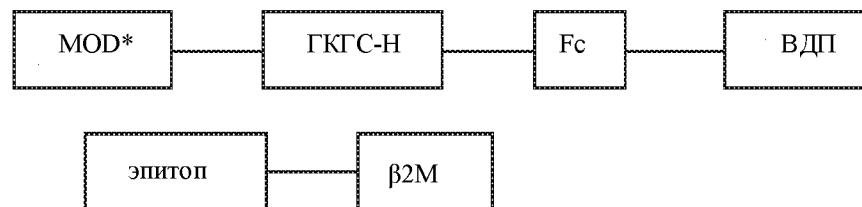
причем указанное введение индуцирует эпитоп-специфический Т-клеточный ответ и эпитоп-неспецифический Т-клеточный ответ,

при этом соотношение эпитоп-специфического Т-клеточного ответа к эпитоп-неспецифическому Т-клеточному ответу составляет по меньшей мере 2:1.

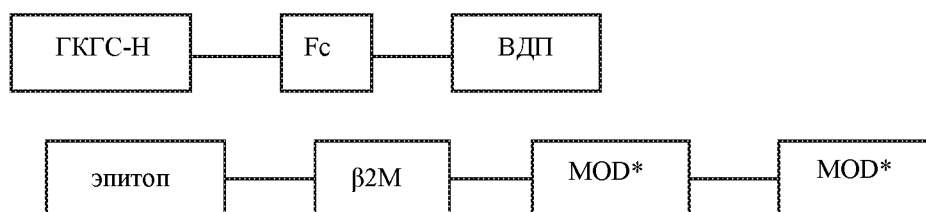
ФИГ. 1А



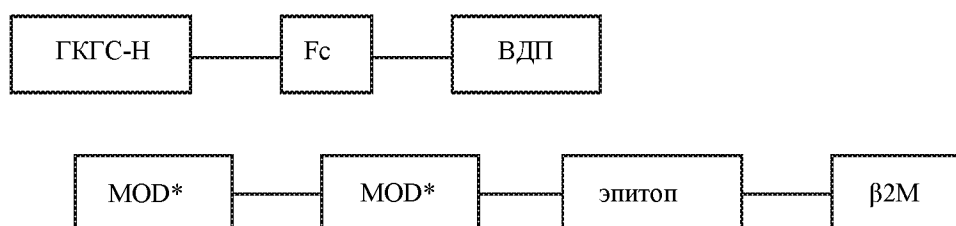
ФИГ. 1В



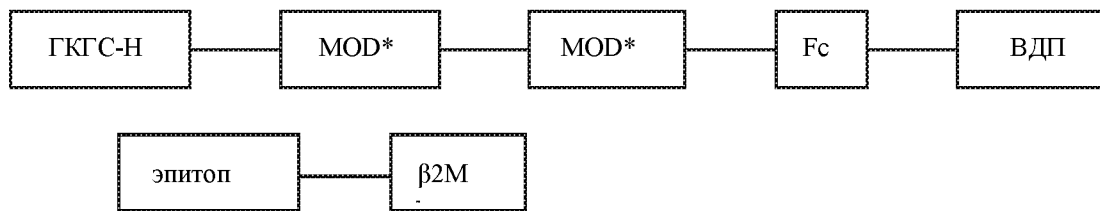
ФИГ. 1С



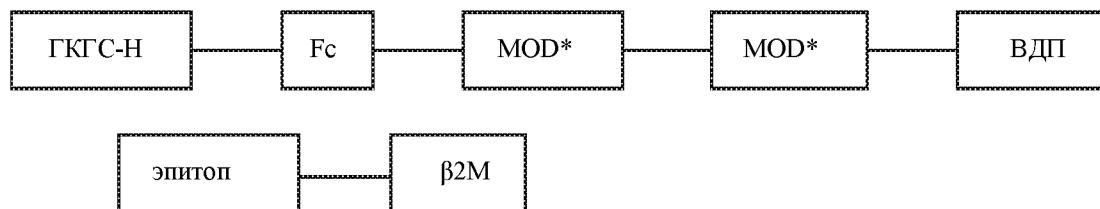
ФИГ. 1D



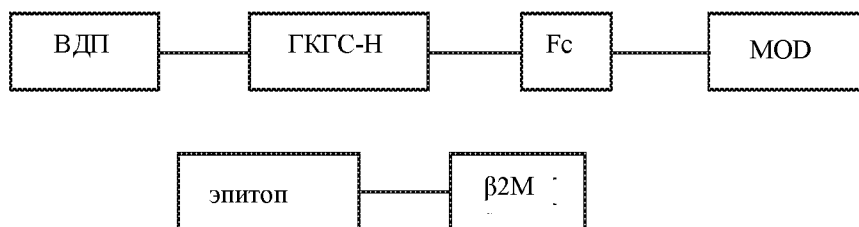
ФИГ. 1Е



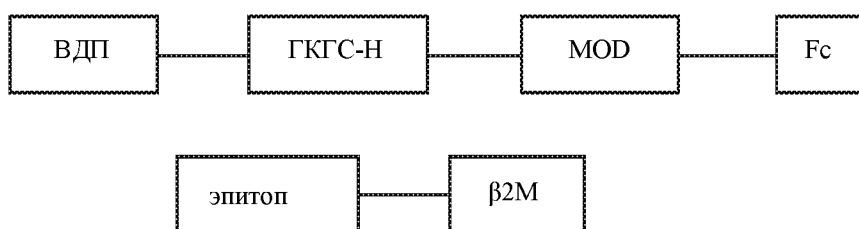
ФИГ. 1F



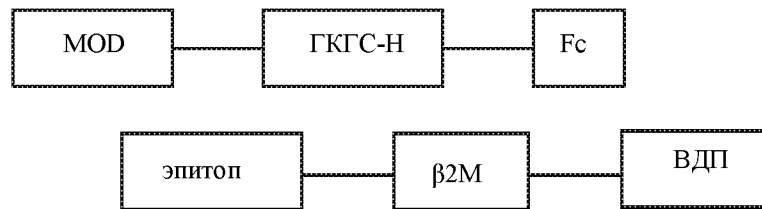
ФИГ. 1G



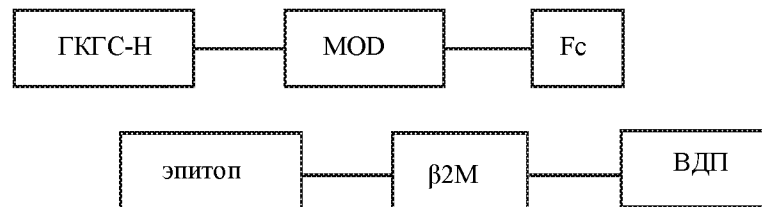
ФИГ. 1H



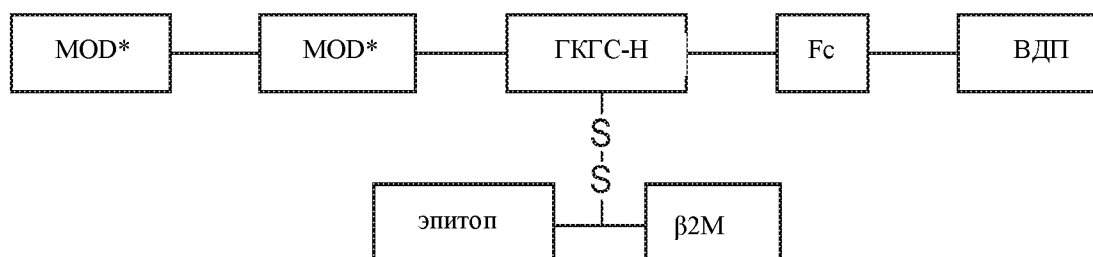
ФИГ. 1I



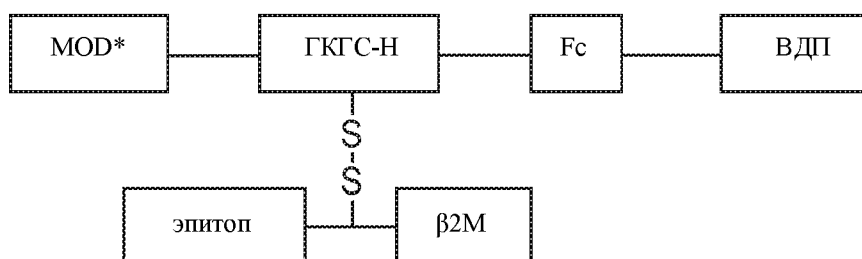
ФИГ. 1J



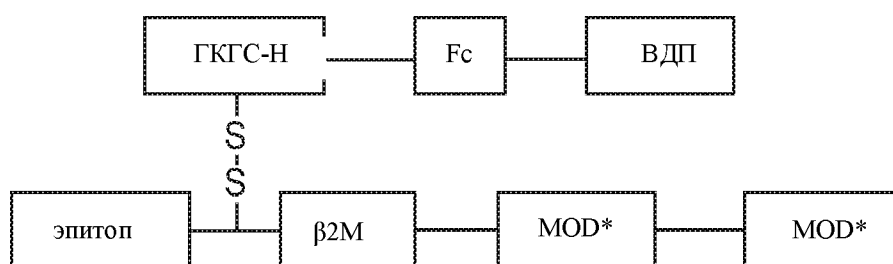
ФИГ. 2А



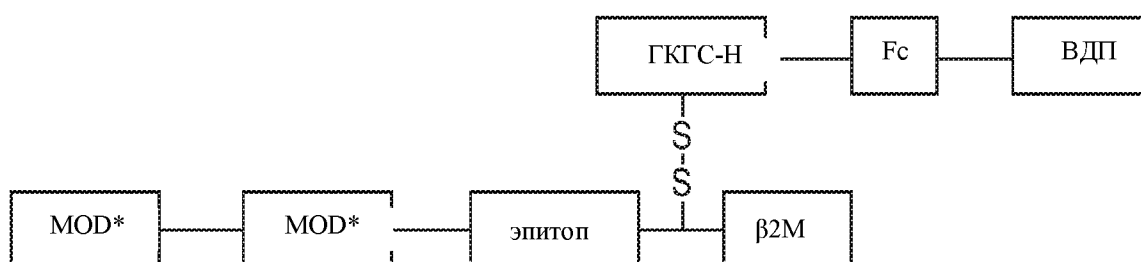
ФИГ. 2В



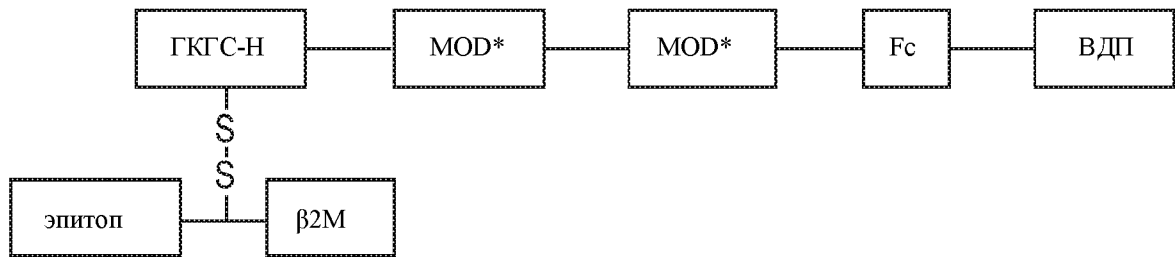
ФИГ. 2С



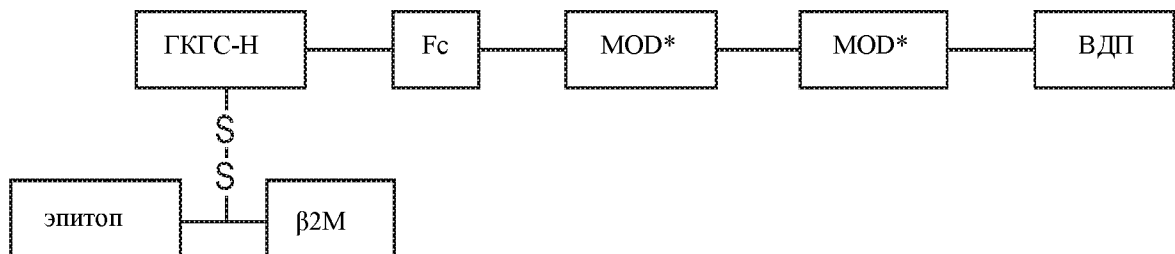
ФИГ. 2D



ФИГ. 2Е



ФИГ. 2F



ФИГ. 3А

GenBank 3S7G_A

Fc **IgC1** *Homo sapiens* (SEQ ID NO://)

ак 227

```
1 dkthtcppcp apellggpsv flfppkpkdt lmisrtpevt cvvvdvshed pevkfnwyvd
61 gvevhnaktk preeqynsty rvsvltvlh qdwlngkeyk ckvsnkappa piektiskak
121 qqprepvyt lpsrdeltk nqsltlclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds
181 dgsfflyskl tvdkrwqgg nvfscsvmhe alnhytqks lslspgk
```

GenBank AAN76044

Fc **IgG2** *Homo sapiens* (аминокислоты 99-325) (SEQ ID NO://)

ак 227

```
1 stkgpsvfpl apcsrsts taalgclvkd yfpepvtvsw nsgaltsgvh tfpavlqssg
61 lyslssvvtv pssnfgtqty tcnvdhkpsn tkvdktkverk ccvecppcpa ppvagpsvfl
121 fppkpkdtlm isrtpevtcv vdvshedpe vqfnwyvdgv evhnaktkpr eeqfnstfrv
181 vsvltvvhqd wlngkeykck vsnkglpapi ektisktkgq prepqvytlp psreemtknq
241 vsltlclvkgf ypsdiavewe sngqpennyk ttpmldsdg sfflyskltv dksrwqqgnv
301 fscsvmheal hnhytqksls lspgk
```

GenBank AAW65947

Fc **IgG3** *Homo sapiens* (аминокислоты 19-246) (SEQ ID NO://)

ак 238

```
1 hkpsntkvdk rvelktplgd tthtcppcpa pellggpsvf lfppkpkdtl misrtpevtc
61 vvdvshedp evkfnwyvdg vevhnaktkp reeqynstyr vvsvltvlhq dwlngkeykc
121 kvsnkappa iektiskakg qprepvytl ppsrdeltkn qvsltlclvk fypsdiavew
181 esngqpenny kttppvlds dgsfflysklt vdkrwqqgn vfscsvmhea lnhytqksl
241 slspgk
```

ФИГ. 3В

GenBank AAA52770

Fc **IgD** *Homo sapiens* (аминокислоты 162-383) (SEQ ID NO://)

ак 222

```
1 ptkapdvfpi isgcrhpkdn spvvlacilit gyhptsvtvt wymgtqsqpq rtfpeiqrdd
61 syymtssqls tplqqwrqge ykcvvqhtas kskkeifrwp espkaqassv ptaqpqaegs
121 lakattapat trntgrggee kkkekekeeq eeretktpec pshtqplgvy lltpavqdlw
181 lrdkatftcf vvgSDLkdah ltwevagkvp tggveeglle rhsngsqsqh srltlprslw
241 nagtsvtctl nhpslppqrl malrepaaqa pvklslnlla ssdppeaasw llcevsgfsp
301 pnillmwled grevntsgfa parpppqprs ttfwawsvlr vpappspqpa tytcvvhed
361 srltlnasrs levsyvtdhg pmk
```

GenBank 0308221A

Fc **IgM** *Homo sapiens* (SEQ ID NO://)

ак 276

```
1 vtstltikzs dwlgesmftc rvdhrgltfq qnassmcvpd qdtairvfai ppsfasiflt
61 kstkltclvt dltybsvti swtreengav kthtnisesh pnatfsavge asicedbdws
121 gerftctvth tdlpsplkqt isrpkgvalh rpbvylppa rzzlnlresa titclvtgfs
181 padvfivewmq rgeplspqky vtsapmpepq apgryfahsi ltvseeewnt ggytctcvah
241 ealpnrvter tvdkstgkpt lynvslvmsd tagtcy
```

ФИГ. 3С

GenBank P01876

Fc **IgA** *Homo sapiens* (аминокислоты 120-353) (SEQ ID NO://)

ак 234

```
1 asptspkvfp lslcstqpdg nvviaclvqg ffpqeplsvt wsesgggvta rnfppsqqdas
61 gdlyttssql tlpatqclag ksvtchvkhy tnpsqdvtp cpvpstpptp spstpptpsp
121 scchprlslh rpaledlllg seanltctlt glrdasgvtf twtpssgksa vggppperdlc
181 gcysvssvlp gcaepwnhgk tftctaaype sktpltatls ksgntfrpev hllpppseel
241 alnelvtltc largfspkdv lvrwlqgsqe lprekyltwa srqepsqggt tfavtsilrv
301 aaedwkkgdt fscmvghcal plaftqktid rlagkpthvn vsvmaevdg tcy
```

GenBank IF6A_B

Fc **IgE** *Homo sapiens* (аминокислоты 6-222) (SEQ ID NO://)

ак 212

```
1 adpcdsnprg vsaylsrsp fdlfirkspt itclvvdlap skgtvnltws rasgkpvnhs
61 trkeekqrng tltvtstlpv gtrdwieget yqcrvthphl pralmrsttk tsqpraapev
121 yafatpewpg srdkrtlacl iqnfmpedis vqwlhnevql pdarhsttqp rktkgsgffv
181 fsrlevtrae weqkdeficr avheaaspsq tvqgravsvnp gk
```

GenBank P01861

Fc **IgG4** *Homo sapiens* (аминокислоты 100-327) (SEQ ID NO://)

ак 228

```
1 astkgpsvfp lapcsrstse staalgclvk dyfpepvtvs wnsгалtsgv htfpavlqss
61 glyslssvvt vpssslgkt ytcnvdhkps ntkvdkrves kygppcpscp apeflggpsv
121 flfpkpdkdt lmisrtpevt cvvvdvsqed pevqfnwyvd gvevhnaktk preeqfnsty
181 rvsvltvlh qdwlngkeyk ckvsnkglps siektiskak gqprepqvvt lppsqeemtk
241 nqvsltclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds dgsfflysrl tvdksrwqeg
301 nvfscsvmhe alhnhytqks lsllslgk
```

ФИГ. 3D

Последовательность Fc IgG1 человека ДТ: (SEQ ID NO://)

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

ФИГ. 3E

Мутантный Fc IgG1 человека: L234F/L235E/P331S (тройной мутант «ТМ») (SEQ ID NO://)

DKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

ФИГ. 3F

Мутантный Fc IgG1 человека: N297A (SEQ ID NO://)

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

ФИГ. 3G

Мутантный Fc IgG1 человека: L234A/L235A («LALA») (SEQ ID NO://)

DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Остаток пронумерован в соответствии с индексом EU (нумерация по Kabat)

ФИГ. 4

NP_004039.1 msrsvalavlallslsgleaiqrtpkiqvysrhpaengksnflncyvsgfhpsdievdll 60
 NP_001009066.1 msrsvalavlallslsgleaiqrtpkiqvysrhpaengksnflncyvsgfhpsdievdll 60
 NP_001040602.1 msrsvalavlallslsgleaiqrtpkiqvysrhppengkpnflncyvsgfhpsdievdll 60
 NP_776318.1 marfvalvllgllslsgldaiqrppkiqvysrhppedgkpnynlncyvygfhppqieidl 60
 NP_033865.2 marsvtlvflvlvsltglyaiqktpqiqvysrhppengkpnlnlncyvtqfhpphieiqml 60
 : *:*. * *:*** ***: *:***** *:** * ***** *** .**:::*

 NP_004039.1 kngeriekvehsdlsfskdwsfylllyteftptekdeyacrnhvtlsqpkivkwdrdm 119 (SEQ ID NO://)
 NP_001009066.1 kngeriekvehsdlsfskdwsfylllyteftptekdeyacrnhvtlsqpkivkwdrdm 119 (SEQ ID NO://)
 NP_001040602.1 kngekmgkvehsdlsfskdwsfylllyteftptnekdeyacrnhvtlsqprtvmkwdrdm 119 (SEQ ID NO://)
 NP_776318.1 kngekik-seqsdlsfskdwsfyllshaftptnskdqyscrvkhvtlegprivkwdrdl 118 (SEQ ID NO://)
 NP033865 kngkkipkvemsdmsfskdwsfyilahtftptetdtyacrvmkhasmaepktvywdrdm 119 (SEQ ID NO://)
 ::: * **:**:* :;*****..* *:***:*.::: *: * *****:

ФИГ. 5А

HLA-A *Homo sapiens*

5A.1 HLA-A*01:01:01:01 (Национальный центр биотехнологической информации) номер доступа NCBI NP 001229687.1

(SEQ ID NO://)

1 **MAVMAPRTLL LLLSGALALT QTWAGSHSMR** YFFTSVSRPG RGEPRFIAVG YVDDTQFVRF
 61 DSDAASQKME PRAPWIEQEG PEYWDQETRN MKAHSQTDRA NLGTLRGYIN QSEEDGSHTIQ
 121 IMYGCDVGPD GRFLRGYRQD AYDGKDYIAL NEDLRSWTAA DMAAQITKRK WEAVHAAEQR
 181 RVYLEGRCVD GLRRYLENGK ETLQRTDPPK THMTHHPISD HEATLRCWAL GFYPAEITLT
 241 WQDGEDQTQ DTELVEPTRPA GDGTFQKWAA VVPSGEEQR YTCHVQHEGL PKPLTLRWEL
 301 SSQPTPIVIG IIAGLVLLGA VITGAVVAHV MWRRKSSDRK GGSYTQAASS DSAQGSQVSL
 361 TACKV

5A.2 HLA-A*1101 номер доступа NCBI P137411 (SEQ ID NO://)

1 **MAVMAPRTLL LLLSGALALT QTWAGSHSMR** YFYTSTVSRPG RGEPRFIAVG YVDDTQFVRF
 61 DSDAASQKME PRAPWIEQEG PEYWDQETRN VKAQSQTDRV DLGTLRGYIN QSEEDGSHTIQ
 121 IMYGCDVGPD GRFLRGYRQD AYDGKDYIAL NEDLRSWTAA DMAAQITKRK WEAHAAEQQ
 181 RAYLEGRCVE WLRRYLENGK ETLQRTDPPK THMTHHPISD HEATLRCWAL GFYPAEITLT
 241 WQDGEDQTQ DTELVEPTRPA GDGTFQKWAA VVPSGEEQR YTCHVQHEGL PKPLTLRWEL
 301 SSQPTPIVIG IIAGLVLLGA VITGAVVAHV MWRRKSSDRK GGSYTQAASS DSAQGSQVSL
 361 TACKV

5A.3 HLA-A*2402 номер доступа NCBI P05534.2 (SEQ ID NO://)

1 **MAVMAPRTL V LLLSGALALT QTWAGSHSMR** YFSTSTVSRPG RGEPRFIAVG YVDDTQFVRF
 61 DSDAASQKME PRAPWIEQEG PEYWDEETGK VKAHSQTDRE NLRALRYIN QSEAGSHTLQ
 121 MMFGCDVGS D GRFLRGYHQY AYDGKDYIAL KEDLRSWTAA DMAAQITKRK WEAHVAAEQQ
 181 RAYLEGTCVD GLRRYLENGK ETLQRTDPPK THMTHHPISD HEATLRCWAL GFYPAEITLT
 241 WQDGEDQTQ DTELVEPTRPA GDGTFQKWAA VVPSGEEQR YTCHVQHEGL PKPLTLRWEF
 301 SSQPTPIVIG IIAGLVLLGA VITGAVVAHV MWRRNSSDRK GGSYSQAASS DSAQGSQVSL
 361 TACKV

5A.4 HLA-A*3303 номер доступа NCBI AAA79865.1 (SEQ ID NO://)

1 **MAVMAPRTLL LLLLGALALT QTWAGSHSMR** YFTTSTVSRPG RGEPRFIAVG YVDDTQFVRF
 61 DSDAASQKME PRAPWIEQEG PEYWDNRNTRN VKAHSQIDRV DLGTLRGYIN QSEAGSHTIQ
 121 MMYGCDVGS D GRFLRGYQQD AYDGKDYIAL NEDLRSWTAA DMAAQITQRK WEARVAEQL
 181 RAYLEGTCVE WLRRYLENGK ETLQRTDPPK THMTHHAVSD HEATLRCWAL SFYPAEITLT
 241 WQDGEDQTQ DTELVEPTRPA GDGTFQKWA S VVPSGQEQ R YTCHVQHEGL PKPLTLRWEF
 301 SSQPTPIVIG IIAGLVLF GA VFAGAVVAHV RWRRKSSDRK GGSYSQAASS DSAQGSQMSL
 361 TACKV

ФИГ. 5B

Homo sapiens HLA-B*07:02:01 HLA-B номер доступа GenBank NP.005505.2

(SEQ ID NO://)

```
1 mlvmaprtvl lllsaalalt etwagshsmr yfytsvsrpg rgeprfisvg yvddtqfvrf
61 dsdaaspree prapwiegeg peywdrntqi ykaqaqtdre slrnlrgyyn qseagshtlq
121 smygcdvgpd grllrghdgy aydgkdyial nedlrswtaa dtaaaitqrk weaareaegr
181 raylegecve wlrrylengk dkleradppk thvthhpisd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedqtq dtelvetrpa gdrtfqlkwa vvvpsgeegr ytchvqhegl pkpltlrwep
301 ssqstvpivg ivaglavlav vvigavvaav mcrckssggk ggsysqaacs dsaggsdvs1
361 ta
```

ФИГ. 5C

Homo sapiens HLA-C

HLA-C номер доступа GenBank NP_001229971.1,

w (SEQ ID NO://)

```
1 mrvmaprall lllsgglalt etwacshsmr yfdtavsrpg rgeprfisvg yvddtqfvrf
61 dsdaasprge prapwvegeg peywdretqn ykrqaqadv slrnlrgyyn qsedgshtlq
121 rmygcdlqpd grllrgydqs aydgkdyial nedlrswtaa dtaaaitqrk leaaraaeql
181 raylegtcve wlrrylengk etlqraepk thvthhplsd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrdgedqtq dtelvetrpa gdgtfqlkwa vvvpsgqegr ytchmqhegl qepltlswep
301 ssqptipimg ivaglavlv lavlgavvta mmcrckssgg kggscsqaac snsaggsdes
361 litck
```

ФИГ. 6

HLA-A	GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQKMEPRAPWIEQEGPEYW
HLA-B	GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRIISVGYVDDTQFVRFDSDAASPREEPAPWIEQEGPEYW
HLA-C	CSHSMRYFDTAVSRPGRGEPRIISVGYVDDTQFVRFDSDAASPRGEPAPWVEQEGPEYW
HLA-A*0201	GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQKMEPRAPWIEQEGPEYW
H2K мыши	GPHSLRYFVTAVSRPGLGEPRIAVGYVDDTQFVRFDSDADNPRFEPRAPWMEQEGPEYW
HLA_A(вар. 2)	GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQKMEPRAPWIEQEGPEYW
HLA_A(вар. 2C)	GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQKMEPRAPWIEQEGPEYW
HLA_A(вар.2CP)	GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQKMEPRAPWIEQEGPEYW
HLA-A*1101	GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQKMEPRAPWIEQEGPEYW
HLA-A*2402	GSHSMRYFSTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQKMEPRAPWIEQEGPEYW
HLA-A*3303	GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQKMEPRAPWIEQEGPEYW

*:*** *:***** *****:*****:***** . : *****:*****

	84
	↓
HLA-A	DQETRNKAHSQTDRLNLGTLRGYNNQSEAGSHTIQIMYGCDVGPGRFLRGYRQDAYDG
HLA-B	DRNTQIYKAQAQTDRESLRNLRGYNNQSEAGSHTLQSMYGCDVGPGRLLRGHDQYAYDG
HLA-C	DRETQNYKRAQAQDRVSLRNLRGYNNQSEAGSHTLQRMYGCDLGPGRLLRGYDQSAAYDG
HLA-A*0201	DGETRKVKAHSQTHRVDLGLTRGYNNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSWDRFLRGYHQYAYDG
H2K мыши	EEQTQRAKSDEQWFRVSLRTAQRYNNQSKGGSHTFQRMFGCDVGSWDRLLRGYQQFAYDG
HLA_A(вар. 2)	DGETRKVKAHSQTHRVDLGLTRGYNNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSWDRFLRGYHQYAYDG
HLA_A(вар. 2C)	DGETRKVKAHSQTHRVDLGLTRGYNNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSWDRFLRGYHQYAYDG
HLA_A(вар.2CP)	DGETRKVKAHSQTHRVDLGLTRGYNNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSWDRFLRGYHQYAYDG
HLA-A*1101	DQETRNKAHSQTDRLNLGTLRGYNNQSEAGSHTIQIMYGCDVGPGRFLRGYRQDAYDG
HLA-A*2402	DEETGKVKASQTDRENLRALRYNNQSEAGSHTLQMMFGCDVGSWDRFLRGYHQYAYDG
HLA-A*3303	DRNTRNVKAHSQIDRVDLGLTRGYNNQSEAGSHTIQIMYGCDVGSWDRFLRGYQQDAYDG

: : * * , * * * ****: ****: * * : * * : * * : * * : *

aac1

aac2

	139
	↓
HLA-A	KDYIALNEDLRSWTAADMAAQITKPKWEAAVHAAEQRRVYLEGRCVDGLRRYLENGKETLQ
HLA-B	KDYIALNEDLRSWTAADTAQITQKWEAAAREAEQRRAYLEGECEVWLRRLYLENGKDKLE
HLA-C	KDYIALNEDLRSWTAADTAQITQKLEAARAAEQRLAYLEGTCEVWLRRLYLENGKETLQ
HLA-A*0201	KDYIALKEDLRSWTAADMAAQITKPKWEAAHVAEQRLAYLEGTCEVWLRRLYLENGKETLQ
H2K мыши	RDYIALNEDLKTWTAADTAALITRKWEAQAGDAEYRAYLEGECEVWLRRLYLELGNETLL
HLA_A(вар. 2)	KDYIALKEDLRSWTAADMAAQITKPKWEAAHVAEQRLAYLEGTCEVWLRRLYLENGKETLQ
HLA_A(вар. 2C)	KDYIALKEDLRSWTAADMAAQITKPKWEAAHVAEQRLAYLEGTCEVWLRRLYLENGKETLQ
HLA_A(вар.2CP)	KDYIALKEDLRSWTAADMAAQITKPKWEAAHVAEQRLAYLEGTCEVWLRRLYLENGKETLQ
HLA-A*1101	KDYIALNEDLRSWTAADMAAQITKPKWEAAHAAEQRRAYLEGRCVWLRRLYLENGKETLQ
HLA-A*2402	KDYIALKEDLRSWTAADMAAQITKPKWEAAHVAEQRRAYLEGTCEVDGLRRYLENGKETLQ
HLA-A*3303	KDYIALNEDLRSWTAADMAAQITQKWEAAARVAEQRLAYLEGTCEVWLRRLYLENGKETLQ

: *****: *****: ***** * * : * * . * * * ***** *: ***** * : *

aac3

aac4

ФИГ. 6 (продолжение)

		236 ↓
HLA-A	RTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETREAGDGT
HLA-B	RADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETREAGDRT
HLA-C	RAEPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETREAGDGT
HLA-A*0201	RTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETREAGDGT
H2K мыши	RTDSPKAHVTYHPRSQVDVTLRCWALGFYPADITLTWQLNGEDLTQDMEL	VETREAGDGT
HLA_A(вар. 2)	RTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETREAGDGT
HLA_A(вар. 2C)	RTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETREAGDGT
HLA-A(вар.2CP)	RTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETREAGDGT
HLA-A*1101	RTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETREAGDGT
HLA-A* 2402	RTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETREAGDGT
HLA-A* 3303	RTDPPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETREAGDGT
	*:: **::**::* * : .***** ,***** ,***** :*** ** *	***** ** **
		aac5 aac6

HLA-A	QKWAAVVVP SGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE	(SEQ ID NO://)
HLA-B	QKWAAVVVP SGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE	(SEQ ID NO://)
HLA-C	QKWAAVVVP SGQE QRYTCHM QHEGLQEPLTLSWE	(SEQ ID NO://)
HLA-A*0201	QKWAAVVVP SGQE QRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE	(SEQ ID NO://)
H2K мыши	QKWAAVVVP LGKEQNYTCHVHHKGLPEPLTLRW	(SEQ ID NO://)
HLA_A(вар. 2)	QKWAAVVVP SGQE QRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE	(SEQ ID NO://)
HLA_A(вар. 2C)	QKWAAVVVP SGQE QRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE	(SEQ ID NO://)
HLA-A(вар.2CP)	QKWAAVVVP SGQE QRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE	(SEQ ID NO://)
HLA-A*1101	QKWAAVVVP SGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEL	(SEQ ID NO://)
HLA-A* 2402	QKWAAVVVP SGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE	(SEQ ID NO://)
HLA-A* 3303	QKWAASVVVP SGQE QRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE	(SEQ ID NO://)
	****:**** *:*.*****::*:** :***** *	

* . * . * * . * * * . * | * * * * * | * * * * . * * . * * * * * * * * * * . * * * * *

39

* * * * *

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)

ФИГ. 7А (Продолж.)

236

A*0101	RTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGT	241
A*0201	RTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGT	241
A*0301	RTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGT	241
A*1101	RTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGT	241
A*2301	RTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGT	241
A*2402	RTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGT	241
A*2407	RTDPPKTHMTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGT	241
A*3303	RTDPPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGT	241
A*3401	RTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGT	241

*** :*****.*****

aac5 aac6

A*0101	QKWAAVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEL	276
A*0201	QKWAAVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP	276
A*0301	QKWAAVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEL	276
A*1101	QKWAAVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEL	276
A*2301	QKWAAVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP	276
A*2402	QKWAAVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP	276
A*2407	QKWAAVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP	276
A*3303	QKWAASVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP	276
A*3401	QKWAASVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP	276

****:*****:*****

ФИГ. 7В

GSHSMRYFX1TSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQX2MEPRAPWIEQEGPEYWDX
3X4TX5X6X7KAX8SQX9X10RX11X12LX13X14X15X16X17YYNQSEX18GSHTX19QX20
MX21GCDVGX22DX23RFLRGYX24QX25AYDGKDYIALX26EDLRSWTAADMAAQX27TX287
X29KWEX30X31X32EAEQX33RX34YLX35GX36CVX37X38LRRYLENGKETLQRTDX39PK
THMTHX40X41SDHEATLRCWALX42FYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGTFQKW
AX43VVVPSGX44EQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEX45

X1 представляет собой F, Y, S или T; X2 представляет собой K или R; X3 представляет собой Q, G, E или R; X4 представляет собой N или E; X5 представляет собой R или G; X6 представляет собой N или K; X7 представляет собой M или V; X8 представляет собой H или Q; X9 представляет собой T или I; X10 представляет собой D или H; X11 представляет собой A, V или E; X12 представляет собой N или D; X13 представляет собой G или R; X14 представляет собой T или I; X15 представляет собой L или A; X16 представляет собой R или L; X17 представляет собой G или R; X18 представляет собой A или D; X19 представляет собой I, L, или V; X20 представляет собой I, R или M; X21 представляет собой F или Y; X22 представляет собой S или P; X23 представляет собой W или G; X24 представляет собой R, H или Q; X25 представляет собой D или Y; X26 представляет собой N или K; X27 представляет собой T или I; X28 представляет собой K или Q; X29 представляет собой R или H; X30 представляет собой A или T; X31 представляет собой A или V; X32 представляет собой H или R; X33 представляет собой R, L, Q или W; X34 представляет собой V или A; X35 представляет собой D или E; X36 представляет собой R или T; X37 представляет собой D или E; X38 представляет собой W или G; X39 представляет собой P или A; X40 представляет собой P или A; X41 представляет собой V или I; X42 представляет собой S или G; X43 представляет собой A или S; X44 представляет собой Q или E; и X45 представляет собой P или L.

ФИГ. 8А

B*0702	GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPFRISVGYVDDTQFVRFDSDAASPREEPRAPWIEQEGPEYW	60
B*0801	GSHSMRYFDTAMSRPGRGEPFRISVGYVDDTQFVRFDSDAASPREEPRAPWIEQEGPEYW	60
B*1502	GSHSMRYFYTAMSRPGRGEPFRIVGYVDDTQFVRFDSDAASPRMAPRAPWIEQEGPEYW	60
B*3802	GSHSMRYFYTSVSRPGRGEPFRISVGYVDDTQFVRFDSDAASPREEPRAPWIEQEGPEYW	60
B*4001	GSHSMRYFHTAMSRPGRGEPFRITVGYVDDTQFVRFDSDATSPRKEPRAPWIEQEGPEYW	60
B*4601	GSHSMRYFYTAMSRPGRGEPFRIVGYVDDTQFVRFDSDAASPRMAPRAPWIEQEGPEYW	60
B*5301	GSHSMRYFYTAMSRPGRGEPFRIVGYVDDTQFVRFDSDAASPRTEPRAPWIEQEGPEYW	60
	***** *:*****:***** *****:*** *****	

		89	
B*0702	DRNTQIYKAQQTDRSLRNLRGMYNQSEAGSHTLQSMYGCDVGPDRLLRGHDQYAYDG	120	
B*0801	DRNTQIFKTNTQTDRESLRNLRGMYNQSEAGSHTLQSMYGCDVGPDRLLRGHNQYAYDG	120	
B*1502	DRNTQISKTNTQTYRESLRNLRGMYNQSEAGSHIIQRMYGCDVGPDRLLRGYDQSAAYDG	120	
B*3802	DRNTQICKTNTQTYRENIRLALRMYNQSEAGSHTLQRMYGCDVGPDRLLRGHNQFAYDG	120	
B*4001	DRETQISKTNTQTYRESLRNLRGMYNQSEAGSHTLQRMYGCDVGPDRLLRGHNQYAYDG	120	
B*4601	DRETQYKQQAQTDRLSLRNLRGMYNQSEAGSHTLQRMYGCDVGPDRLLRGHDQSAAYDG	120	
B*5301	DRNTQIFKTNTQTYRENIRLALRMYNQSEAGSHIIQRMYGCDLGPDRLLRGHDQSAAYDG	120	
	:* * ::* * . ***** :* *****:*****:.* ****		
	aac1 aac2		

		139	
B*0702	KDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGECEVWLRRYLENGKDKLE	180	
B*0801	KDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQHKWEAARVAEQDRAYLEGTCVEWLRRYLENGKDTLE	180	
B*1502	KDYIALNEDLSSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQLRAYLEGLCEVWLRRYLENGKETLQ	180	
B*3802	KDYIALNEDLSSWTAADTAAQITQRKWEAARVAEQLRTYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQ	180	
B*4001	KDYIALNEDLRSWTAADTAAQISQRKLEAARVAEQLRAYLEGECEVWLRRYLENGKDKLE	180	
B*4601	KDYIALNEDLSSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQWRAYLEGLCEVWLRRYLENGKETLQ	180	
B*5301	KDYIALNEDLSSWTAADTAAQITQRKWEAARVAEQLRAYLEGLCEVWLRRYLENGKETLQ	180	
	***** *****:*** ***** * :***** *****:*****:.* :		
	aac3 aac4		

ФИГ. 8А (Продолж.)

236

B*0702	RADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETREAGDRTF	241
B*0801	RADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETREAGDRTF	241
B*1502	RADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETREAGDRTF	241
B*3802	RADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETREAGDRTF	241
B*4001	RADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETREAGDRTF	241
B*4601	RADPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETREAGDRTF	241
B*5301	RADPPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETREAGDRTF	241
*****:*****		

aac5 aac6

B*0702	QKWAAVVVP SGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE	276
B*0801	QKWAAVVVP SGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE	276
B*1502	QKWAAVVVP SGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE	276
B*3802	QKWAAVVVP SGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE	276
B*4001	QKWAAVVVP SGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE	276
B*4601	QKWAAVVVP SGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE	276
B*5301	QKWAAVVVP SGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE	276

ФИГ. 8В

GSHSMRYFX1TX2X3SRPGRGEPFIX4VGyvDDTX5FVRFDSDAX6SPRX7X8PRAPWIEQEG
 PEYWDRX9TQX10X11KTX12X13TQX14YX15X16NLX17X18X19X20YYNQSEAGSHX21X
22X23MYGCDLGPDGRLLRGHDQSAYDGKDYIALNEDLX24SWTAADTAAQIX25QRKX26EA
 ARX27AEQX28RX29YLEGX30CVEWLRRYLENGKX31X32LX33RADPPKTHVTNHPX34SDH
 EATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVTETRPAGDRTFQKWA^{AVV}VPSGEEQRYTCHV
 QHEGLPKPLTLRWEF

X1 представляет собой H, Y или D; X2 представляет собой A или S; X3 представляет собой M или V; X4 представляет собой A, S или T; X5 представляет собой Q или L; X6 представляет собой A или T; X7 представляет собой E, M K или T; X8 представляет собой A или T; X9 представляет собой E или N; X10 представляет собой I или K; X11 представляет собой Y, F, S или C; X12 представляет собой N или Q; X13 представляет собой A или T; X14 представляет собой D или Y; X15 представляет собой E или V; X16 представляет собой S или N; X17 представляет собой T, N или I; X18 представляет собой A или L; X19 представляет собой L или R; X20 представляет собой R или G; X21 представляет собой T или I; X22 представляет собой L или I; X23 представляет собой R или S; X24 представляет собой R или S; X25 представляет собой S или T; X26 представляет собой L или W; X27 представляет собой E или V; X28 представляет собой R, D, L или W; X29 представляет собой A или T; X30 представляет собой L, E или T; X31 представляет собой E или D; X32 представляет собой K или T; X33 представляет собой E или Q; и X34 представляет собой I или V.

[illegible]

* * * * *

* * * * *

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)

ФИГ. 9А (Продолж.)

		236	
C*0102	RAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGTF	241
C*0303	RAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGTF	241
C*0304	RAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGTF	241
C*0401	RAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQWDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGTF	241
C*0602	RAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGTF	241
C*0701	RAEPPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGTF	241
C*0702	RAEPPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGTF	241
C*0801	RAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGTF	241
C*1502	RAEHPKTHVTHHPVSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL	VETRPAGDGTF	241
	***	*****.*****	*****
		aac5	aac6

C*0102	QKWAAMVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWEF	276
C*0303	QKWAAMVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWEF	276
C*0304	QKWAAMVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWEF	276
C*0401	QKWAAMVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWK	276
C*0602	QKWAAMVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWEF	276
C*0701	QKWAAMVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWEF	276
C*0702	QKWAAMVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWEF	276
C*0801	QKWAAMVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWGP	276
C*1502	QKWAAMVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLTLRWEF	276
	*****.*****.*****	***** * *

ФИГ. 9B

X1SHSMX2YFX3TAVSX4PGRGEPX5FIX6VGyvDDTQFVX7FDSDAASPRGEPX8PWVEQEG
 PEYWDRETQX9YKRQAQX10DRVX11LRX12LRGYYNQSEX13X14SHX15X16QX17MX18GC
 DX19GPDGRLLRGX20X21QX22AYDGKDYIALNEDLRSWTAADTAAQITQRKX23EAARX24A
 EQX25RAYLEGX26CVEWLRRYLX27NGKX28TLQRAEX29PKTHVTNHPX30SDHEATLRCWA
 LGFYPAEITLTWQX31DGEDQTQDTLVETRPAGDGTFOKWA^{AV}X32VPSGX33EQRYTCHX34
 QHEGLX35EPLTLX36WX37P

X1 представляет собой С или G; X2 представляет собой R или K; X3 представляет собой F, Y, S или D; X4 представляет собой R или W;

X5 представляет собой H или R; X6 представляет собой A или S; X7 представляет собой Q или R; X8 представляет собой A или E; X9 представляет собой N или K; X10 представляет собой T или A; X11 представляет собой S или N; X12 представляет собой N или K; X13 представляет собой A или D; X14 представляет собой G или R; X15 представляет собой T или I; X16 представляет собой L или I; X17 представляет собой W или R; X18 представляет собой C, Y, F или S; X19 представляет собой L или V; X20 представляет собой Y или H; X21 представляет собой D или N; X22 представляет собой Y, F, S или L; X23 представляет собой L или W; X24 представляет собой E, A или T; X25 представляет собой R, L или W; X26 представляет собой L или T; X27 представляет собой E или K; X28 представляет собой E или K; X29 представляет собой H или P; X30 представляет собой R или V; X31 представляет собой W или R; X32 представляет собой V или M; X33 представляет собой E или Q; X34 представляет собой M или V; X35 представляет собой P или Q; X36 представляет собой R или S; и X37 представляет собой P или G.

ФИГ. 10

HLA-E					
GSHSLKYFHT	SVSRPGRGEP	RFISVGYVDD	TQFVRFDND	ASPRMVPRAP	
WMEQEGSEYW	DRETRSARDT	AQIFRVNLRT	LRG <u>Y</u> YNQ <u>S</u> <u>X1</u> A	GSHTLQWMHG	
CELGPD <u>X2</u> RFL	RGYEQFAYDG	KDYLTLNEDL	RSWTAVDT <u>AA</u>	QISEQKSND	
SEAEHQ <u>X3</u> <u>X4</u> YL	EDTCVEWLHK	YLEKGKETLL	HLEPPKTHVT	HHPISDHEAT	
LRCWALGFYP	AEITLTWQQD	GEGHTQDTEL	VETRP <u>AG</u> DGT	FQKWAADVVP	
SGEE <u>X5</u> RYTCH	VQHEGL <u>X6</u> EPV	TLRWKPASQP	TIP		
X1 = K или E; X2= R или G; X3= R или G; X4= A или V; X5= Q или P; и X6= P или S					
Включения: HLA-E*0101 (HLA-E*01:01:01:01); HLA-E*01:03(HLA- E*01:03:01:01); HLA-E*01:04; HLA-E*01:05; HLA-E*01:06; HLA-E*01:07; HLA-E*01:09; HLA-E*01:10					

HLA-F					
GSHSLR <u>X1</u> FST	AVSRPGRGEP	RYIAVEYVDD	TQFLRFDSDA	AIPRMEPRE <u>X2</u>	
WVEQEGPQYW	EWTTGYAKAN	AQTDRAVALRN	LLR <u>R</u> YNQSEA	GSHTLQGMNG	
CDMGPDGRLL	RGYHQHAYDG	KDYISLNEDL	RSWTAADT <u>VA</u>	QITQRFYEAE	
EYAEFRFTYL	EGECLELLRR	YLENGKETLQ	RADPPKAHVA	HHPISDHEAT	
LRCWALGFYP	AEITLTWQWD	GEEQTQDTEL	VETRP <u>AG</u> DGT	FQKWAADVVP	
<u>X3</u> GEEQRYTCH	VQHEGLPQPL	ILRWEQS <u>X4</u> QP	TIP		
X1= Y или F; X2= P или Q; X3= S или P; и X4= P или L					
Включения: HLA-F*0101 (HLA-F*01:01:01:01); HLA-F*01:02; HLA- F*01:03(HLA-F*01:03:01:01); HLA-F*01:04; HLA-F*01:05; HLA-F*01:06;					

ФИГ. 10 (продолжение)

HLA-G

GSHSMRYFSA	AV <u>X1</u> RPGRGEP	RFIAMG <u>X2</u> VDD	<u>X3</u> QF <u>X4</u> RFDSDS	ACPRMEPRAP
WVE <u>X5</u> EGPEYW	EEETRNTKAH	AQTDRMNLQT	<u>X6</u> RG <u>X7</u> YNQSEA	SSHTLQWM <u>X8</u>
CDL <u>X9</u> DGRL <u>X10</u>	RGYEQYAYDG	KDYALNEDL	RSWTAADT <u>X11</u>	QISKRRKCEAA
NVAEQRR <u>X12</u> L	EGTCVEWL <u>X13</u> R	<u>X14</u> LENGKE <u>X15</u> LQ	RADP <u>X16</u> SKTHVT	HHPVFDYEAT
LRCWALGFYP	AEIILTQW <u>X17</u> D	GEDQTQDVEL	VETRP <u>X18</u> AGDGT	FQKWAAVVVP
SGEEQRY <u>X19</u> CH	VQHEGLPEPL	MLRW <u>X20</u> QSSLP	TIP	

X1= S или F; X2= Y или H; X3= T, S или M; X4= L или V; X5= Q или R; X6= P или L; X7= G или D; X8= G или V; X9= S или C; X10= L или I; X11= Y или H; X12= H или R; X13= Y или H; X14= M или T; X15= P или A; X16= R, W или Q; X17= T или M; X18= K или E;

Включения: HLA-G*0101 (HLA-G*01:01:01:01); HLA-G*01:02; HLA-G*01:03(HLA-G*01:03:01:01); HLA-G*01:04 (HLA-G*01:04:01:01); HLA-G*01:06; HLA-G*01:07; HLA-G*01:08; HLA-G*01:09; HLA-G*01:10; HLA-G*01:10; HLA-G*01:11; HLA-G*01:12; HLA-G*01:14; HLA-G*01:15; HLA-G*01:16; HLA-G*01:17; HLA-G*01:18; HLA-G*01:19; HLA-G*01:20; HLA-G*01:22

ФИГ. 11

HLA-A GSHSMRYFXTSVSRPGRGEPREFIAVGIVDDTQFVRFSDAASQXMEPRAPWIEQEGPEYW 60
 HLA-B GSHSMRYFXTXXSRPGRGEPREFIXVGIVDDTQFVRFSDAXSPRXXPRAPWIEQEGPEYW 60
 HLA-C XSHSMXYFXTAVSXPRGGEPRFXIXVGIVDDTQFVXFSDAASPRGEPRXPWVEQEGPEYW 60
 HLA-E GSHSLKYFHTSVSRPGRGEPREFISVGIVDDTQFVRFNDAAASPRMVPAPWMEQEGSEYW 60
 HLA-F GSHSLRXFSTAVSRPGRGEPRIYAVEIVDDTQFLRFSDAAIPRMEPREXWVEQEGPQYW 60
 HLA-G GSHSMRYFSAAVXRPGRGEPREFIAMGXVDDXQFXRFSDSACPRMEPRAPWVEXEGPEYW 60

: * : ** : * : *** * **.*: ** *:* ** : **

84

HLA-A DXXTXXXKAXSQXXRXLLXXXXXYYNQSEHXSHTXQXMXGCDVGXDRLRGYXQXAYDG 120
 HLA-B DRXTQXXKTXXTQXYXNLXXXXXYYNQSEHAGSHXXQXMYGCDLGPDRLLRGHDQSAYDG 120
 HLA-C DRETQXYKRQAQXDRVXLRLRGYXYYNQSEHXXSHXXQXMXGCDXGPDGRLLRGXXQXAYDG 120
 HLA-E DRETRSARDTAQIFRVNLRITLRGYXYYNQSEHAGSHTLQWMHGCELGPDXRFLRGYEQFAYDG 120
 HLA-F EWTGTYAKANAQTDRAVLRNLLRYYNQSEHAGSHTLQGMNGCDMGPDRLLRGYHQHAYDG 120
 HLA-G EEETRNTKAHAQTDRLNLQTXRGYXYYNQSEHAGSHTLQWMIXCDLXXDGRLLRGYEQYAYDG 120

: * : ***** ** * * *: * *: ** * *****

aac1

aac2

139

HLA-A KDYIALXEDLRSWTAADMAAQXTXKXWEXXXEAEQXRXYLXGXCXXLRRYLENGKETLQ 180
 HLA-B KDYIALNEDLRSWTAADTAQIXQRKXEAARXAEQXRXYLEGXCVEWLRRYLENGKXXLX 180
 HLA-C KDYIALNEDLRSWTAADTAQITQRKXEAARXAEQXRAYLEGXCVEWLRRYLXNGKXTLQ 180
 HLA-E KDYLTLNEDLRSWTAVDTAQISEQKSNDAEAEHQXXYLEDTCEWELHXYLEKGGKETLL 180
 HLA-F KDYISLNEDLRSWTAADTAQITQRFYEAEEYAEFRTYLEGECLELLRRYLENGKETLQ 180
 HLA-G KDYLALNEDLRSWTAADTAQISKRKCEANVAEQRRAXLEGTCVEWLXRXLENGKEXLQ 180

***:.* *** ***.** : ** . * .*: * : * : ** *

aac3

aac4

236

HLA-A RTDXPKTHMTHHXXSDHEATLRCWALXFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGT 241
 HLA-B RADPPKTHVTHHPXSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDRT 241
 HLA-C RAEXPKTHVTHHPXSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQXDGEDQTQDTELVETRPAGDGT 241
 HLA-E HLEPPKTHVTHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQQDGEHTQDTELVETRPAGDGT 241
 HLA-F RADPPKAHVHHPISDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEETQDTELVETRPAGDGT 241
 HLA-G RADPXKTHVTHHPVFDYEATLRCWALGFYPAEITLTWQXDGEDQTQDVELVETRPAGDGT 241

: : *:*:* ** :***** ***** ***** *** :***.***** **

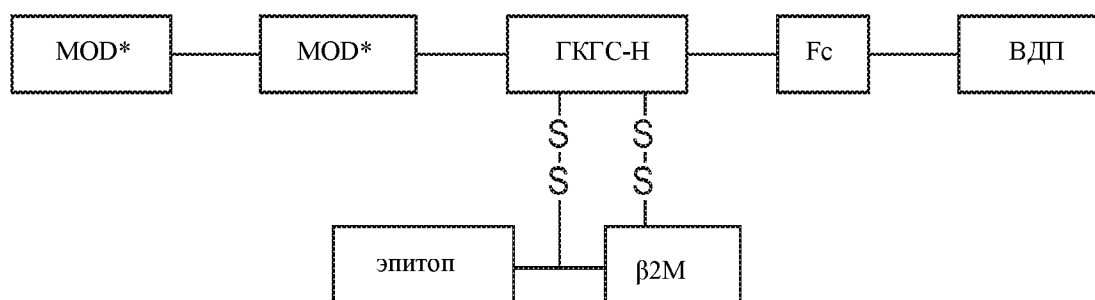
aac5

aac6

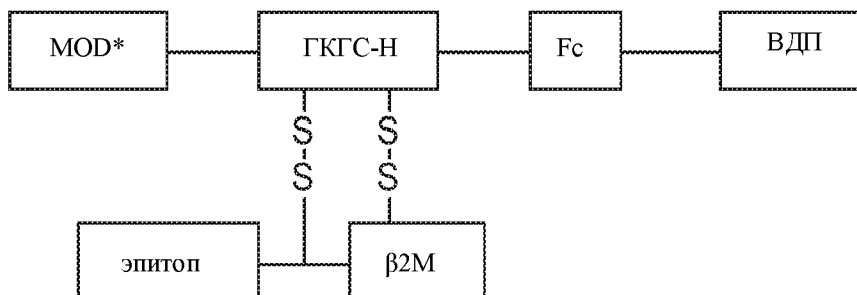
ФИГ. 11 (продолжение)

HLA-A	QKWAXVVVPSGXEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEX-----	276
HLA-B	QKWAAVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEP-----	276
HLA-C	QKWAAVXVPSGXEQRYTCHXQHEGLXEPLTLXWXP-----	276
HLA-E	QKWAAVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLXEPVTLRWKPSQPTIPI	284
HLA-F	QKWAAVVVPXGEEQRYTCHVQHEGLPQPLILRWESXQPTIPI	284
HLA-G	QKWAAVVVPSGEEQRYXCHVQHEGLPEPLMLRWXQSSLPTIPI	284
	**** *	

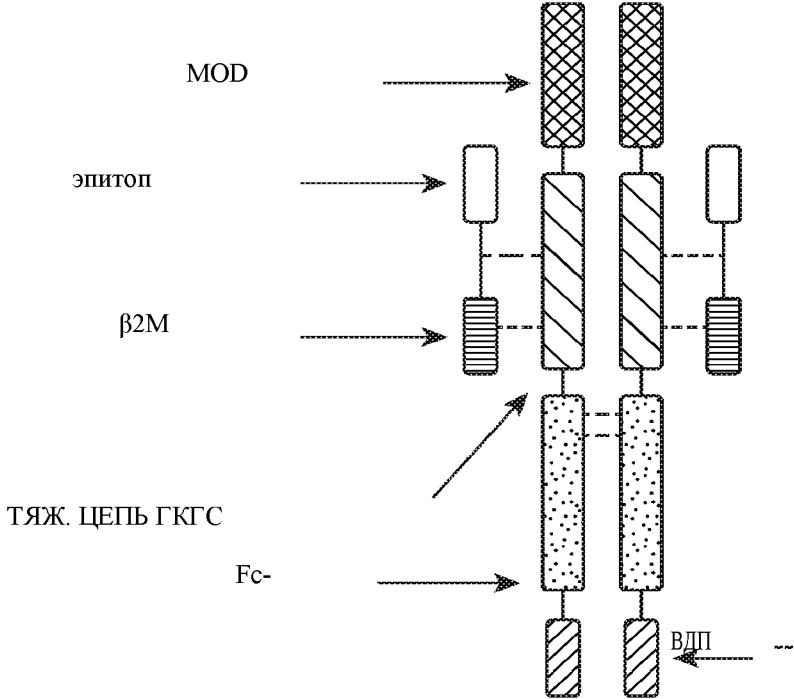
ФИГ. 12А



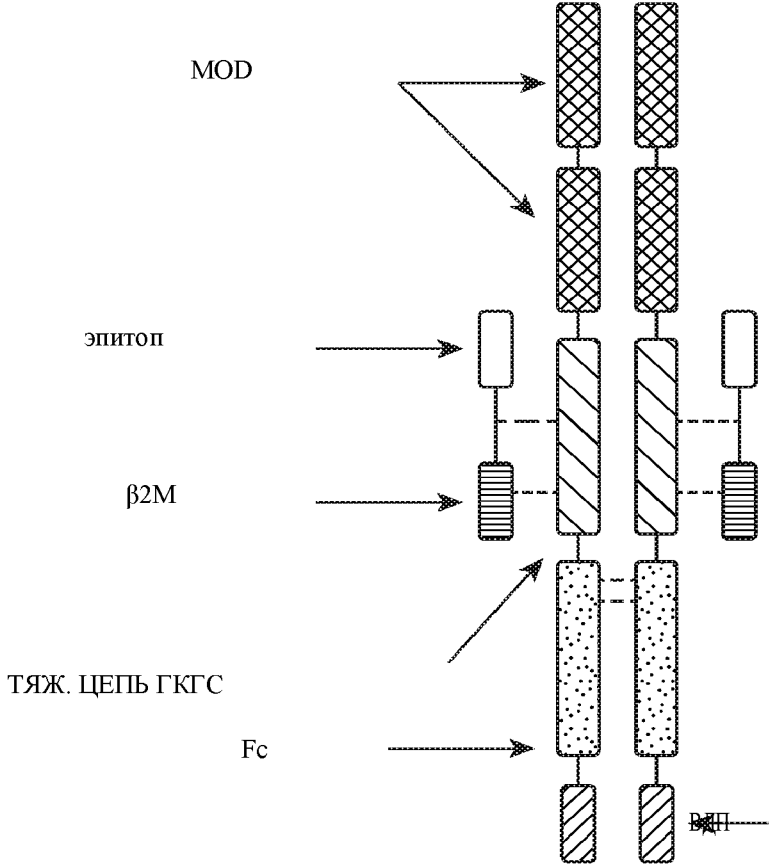
ФИГ. 12В



ФИГ. 12D



ФИГ. 12С



ФИГ. 13А

3796

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMENRAPWIEQE
 GPEYWDGETRKVKASHQTHRVDLGTLRGAYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSD
 WRFLRGYHQYAYDGKDYLKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLR
 AYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFP
 AEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQH
 EGLPKPLTLRWEAAAGGDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
 VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS
 LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSevqlvesggglvqp
 ggslrlscaasgfnikdtyihwvrqapgkglewvariypntgytryadsvkgrftisadtskntaylqmnsraedtavyycs
 rwggdgyfiamdywgqgtlvtvssggggsgggsggggsdiqmtqspsslsasvgdrvtitcrasqdvntavawyyqkq
 gkapklliysasflysgvpsrfsgrsgtdftltisslqpedfatyyccqghytpptfgqgkveik

HLA-A0201 (Y84A; A236C) - заглавными
 линкер AAGG - жирным и подчеркнутым
 Fc (L234A; L235A) - подчеркнутым
 (GGGGS)3- жирным
 анти-Her2 scFv - строчными

ФИГ. 13В

3797

APTSSSTKKTQLQLEALLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELK
HLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADE
TATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQL
QLEALLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPL
EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWI
TFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPFI
 AVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMERAPWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHR
 VDLGTLRGAYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYLAL
 EDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETL
 QRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVE
 TRPCGDGTFQKWA AVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEAAAGGDKTH
 TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
 DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
 EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
 ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSV MHEALHNHYTQKS
LSLSPGGGGSGGGGSGGGGSevqlvesggglvqpggsrlscaasgfnikdtyihwvrqapgkglewv
 ariyptngytryadsvkgrftisadtskntaylqmnsraedtavyycsrwggdgyamdywgqgtltvssggggsggg
 gsggggsdiqmtqspsslsasvgdrvtitcrasqdvntavawyqqkpgkapklliysasflysgvpsrfsgrsgtdftltissl
 qpedfatyyccqhytptfpgggtkveik

IL-2 (H16A; F42A) - двойным подчеркиванием
 HLA-A0201 (Y84A; A236C) - заглавными
 линкер AAGG - жирным и подчеркнутым
 Fc (L234A; L235A) - подчеркнутым
 (GGGGS)3 и (GGGGS)4 - жирным
 анти-Her2 scFv - строчными

ФИГ. 13С

3798

GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMENRAPWIEQE
 GPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGTLRGAYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSD
 WRFLRGYHQYAYDGKDYLKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLR
 AYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFP
 AEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQH
 EGLPKPLTLRWEAAAGGDKTHTCPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
 VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS
 LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPAS
 LAVSLGQRATISCKASQSVDDYDGSYLNWYQIQIPGPQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGS
 GSGTDFTLNIHPVEKVDAAATYHCQQSTEDPWTFGGGKLEIKGGGGSGGGGSGGGG
 SQVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDG
 DTNYNGKFKGKATLTADESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYW
 GQGTTVTVSS

HLA-A0201 (Y84A; A236C) - заглавными
 линкер AAGG - жирным и подчеркнутым
 Fc (L234A; L235A) - подчеркнутым
 (GGGGS)3- жирным
 анти-CD 19 scFv - курсивом

ФИГ. 13D

3799

APTSSSTKKTQLQLEALLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELK
HLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADE
TATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQL
QLEALLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPL
EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWI
TFCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFI
AVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKKVKAHSQTHR
VDLGTLRGAYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALK
EDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRLRYLENGKETL
QRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGEDQTQDTELVE
TRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEAAAGGDKTH
TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTTPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
LSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDS
YLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPVEKVDAATYHCQQ
STEDPWTFGGGTKLEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGQVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKAS
GYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADESSSTAYM
QLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQGTTVTVSS

IL-2 (H16A; F42A) - двойным подчеркиванием
 HLA-A0201 (Y84A; A236C) - заглавными
 линкер AAGG - жирным и подчеркнутым
 Fc (L234A; L235A) - подчеркнутым
 (GGGGS)3 и (GGGGS)4 - жирным
 анти-CD 19 scFv - курсивом

ФИГ. 13Е

эпитоп-β2М

(X)_nGGGGSGGGSGGGGSIQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDL
LKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSQPKIVKWDR
DM

эпитоп: (X)_n, где n = 5-15

(G4S)3 - подчеркиванием

β2М (R12C) - курсив

ФИГ. 13F

эпитоп-β2М-MOD

(X)_nGGGGSGGGSGGGGSIQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGE
RIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSQPKIVKWDRDMGGGGSGG
GGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEALLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKAT
ELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETA
TIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQLQLEALL
DLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNF
HLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT

эпитоп: (X)_n, где n = 5-15

(G4S)3 - подчеркивание

β2М (R12C) - курсив

(GGGGS)4- жирным

IL-2 (H16A; F42A) - двойным подчеркиванием

ФИГ. 14А

839

NLVPMVATVGGGASGGGGSGGGGSIQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSG
FHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNH
VTLSQPKIVKWDRDM

Эпитоп: ЦМВ pp65 (495-503) - NLVPMVATV

Линкер: жирным

β2М(R12C)

ФИГ. 14В

1717

NLVPMVATVGC~~CG~~SGGGSGGGGSIQRTPKIQVYSCHPAENGKSNFLNCYVSG
FHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNH
VTLSQPKIVKWDRDM

Эпитоп: ЦМВ pp65 (495-503) - NLVPMVATV

Линкер: жирным

β2М(R12C)

ФИГ. 14С

2407

NLVPMVATVGC~~CG~~SGGGSGGGGSIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSG
FHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNH
VTLSQPKIVKWDRDM

Эпитоп: ЦМВ pp65 (495-503) - NLVPMVATV

Линкер: жирным

β2М

ФИГ. 15А

4010

APTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELK
HLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADE
TATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQL
QLEALLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPL
EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWI
TFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFI
AVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMERAPWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHR
VDLGTLRGCYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALK
EDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETL
QRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGEDQTQDTELVE
TRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEAAAGGDKTH
TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
LSLSPGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYI
HWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAV
YYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSAS
VGDRVITICRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFVSGVPSRFSRSGTDFTL
TISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK

IL-2 (H16A; F42A)

Линкер (GGGS) - жирным

A0201 человека (Y84C; A236C)

линкер AAAGG - жирным и подчеркнутым

Fc IgG1 человека (L234A; L235A) - подчеркиванием

Анти-Her2 scFv -- курсивом

ФИГ. 15В

4012

APTSSSTKKTQLQLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELK
HLOCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADE
TATIVEFLNRWITFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTQL
QLEALLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPL
EEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWI
TFCQSIISTLTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFI
AVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHR
VDLGTLRGCYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIALK
EDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRLYLENGKETL
QRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVE
TRPCGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEAAAGGDKTH
TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTTPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQOGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
LSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDDGDS
YLNWYQQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPVEKVDAATYHCQQ
STEDPWTFGGGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKAS
GYAFSSYWMNWVKQRPQGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADESSSTAYM
QLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDIYWGQGTTVTVSS

IL-2 (H16A; F42A) - двойным подчеркиванием

A0201 человека (Y84C; A236C)

линкер AAAGG - жирным и подчеркнутым

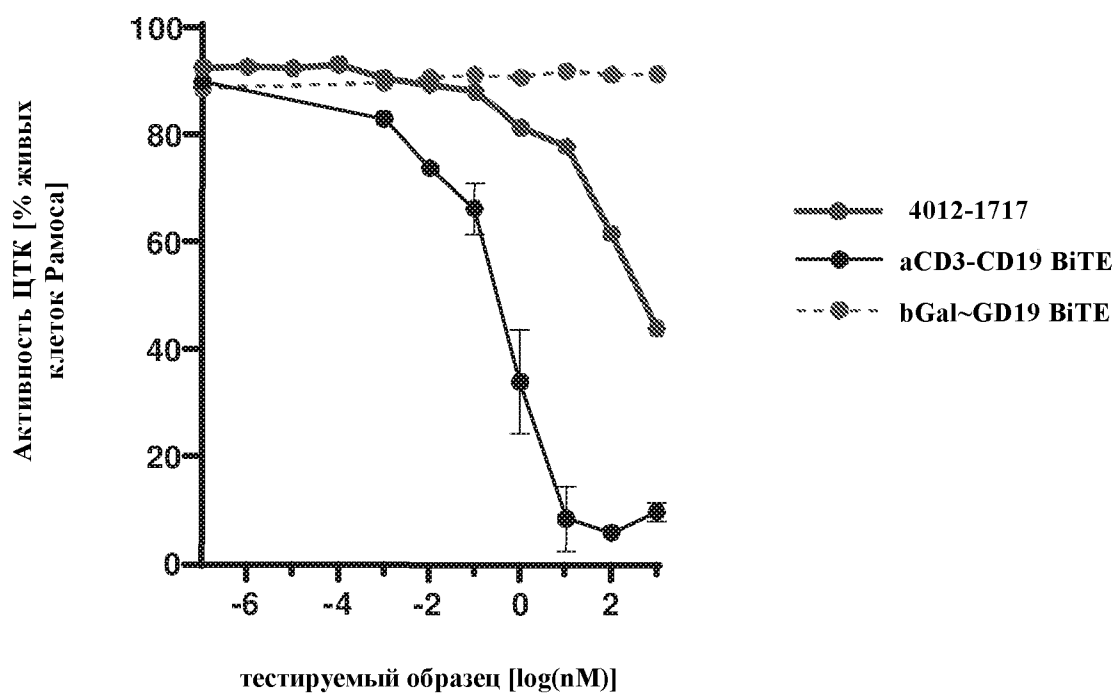
Fc IgG1 человека (L234A; L235A) - подчеркиванием

Линкер (GGGGS) - жирным

Анти-CD 19 scFv - курсивом

ФИГ. 16А

Цитолитическая активность МКПК (лейкопак 37) в
отношении клеток Рамоса



ФИГ. 16В

