

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202292439** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.11.09

(51) Int. Cl. **A61K 39/395** (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.02.24

(54) ПОПУЛЯЦИИ ГАММА-ДЕЛЬТА Т-КЛЕТОК EX VIVO

(31) **2002581.3**

(32) **2020.02.24**

(33) **GB**

(86) **PCT/GB2021/050460**

(87) **WO 2021/171003 2021.09.02**

(71) Заявитель:

**ГАММАДЕЛЬТА ТЕРАПЬЮТИКС
ЛИМИТЕД (GB)**

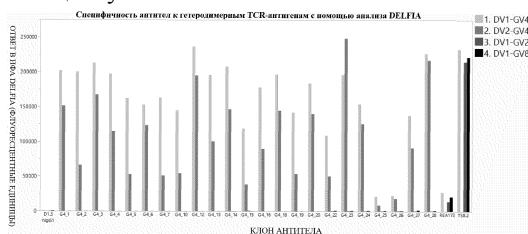
(72) Изобретатель:

**Нусбаумер Оливер, Полякова Оксана,
Хэйдэй Адриан, Венторут Пьер (GB)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к способам ex vivo модуляции Т-клеток с вариабельной гамма-цепью 4 подтипа (Vγ4) с использованием антител или их фрагментов, которые специфически связываются с цепью Vγ4 γδ Т-клеточного рецептора (TCR), а не с вариабельной гамма-цепью 2 подтипа (Vγ2) γδ ТCR. Также предложены способы лечения и другие применения размноженных популяций Vγ4 Т-клеток, полученных с помощью указанных способов.



A1

202292439

202292439

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-575407EA/042

ПОПУЛЯЦИИ ГАММА-ДЕЛЬТА Т-КЛЕТОК EX VIVO

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Изобретение относится к популяциям гамма-дельта Т-клеток, приведенных в контакт с антителами к вариабельной гамма-цепи 4 подтипа (к V γ 4) TCR.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Растущий интерес к Т-клеточной иммунотерапии рака сфокусирован на очевидной способности субпопуляций CD8⁺ и CD4⁺ альфа-бета ($\alpha\beta$) Т-клеток распознавать раковые клетки и опосредовать иммунологические защитные функциональные потенциалы, в частности при дерепрессии клинически опосредованным антагонизмом ингибирующих путей, определяющихся PD-1, CTLA-4 и другими рецепторами. Однако $\alpha\beta$ Т-клетки являются МНС-ограниченными, что может привести к болезни «трансплантат против хозяина».

Гамма-дельта Т-клетки ($\gamma\delta$ Т-клетки) представляют собой субпопуляцию Т-клеток, которые экспрессируют на своей поверхности отдельный определяющий $\gamma\delta$ Т-клеточный рецептор (TCR). Этот TCR состоит из одной гамма (γ) и одной дельта (δ) цепи, каждая из которых подвергается перестройке цепи, однако имеет ограниченное количество V-генов по сравнению с $\alpha\beta$ Т-клетками. Основными сегментами гена TRVG, кодирующими V γ , являются TRGV2, TRGV3, TRGV4, TRGV5, TRGV8, TRGV9 и нефункциональные гены TRGV10, TRGV11, TRGVA и TRGVB. Наиболее частые сегменты гена TRDV кодируют V δ 1, V δ 2 и V δ 3, а также несколько V-сегментов, которые имеют обозначение V δ и V α (Adams et al., 296:30-40 (2015) Cell Immunol.). Человеческие $\gamma\delta$ Т-клетки можно в общих чертах классифицировать на основании их цепей TCR, так как определенные типы γ и δ обнаруживаются на клетках чаще, хоть и не исключительно, в одном или более типах тканей. Например, большинство присущих крови $\gamma\delta$ Т-клеток экспрессируют V δ 2 TCR, обычно V γ 9V δ 2, тогда как это является менее распространенным среди присущих тканям $\gamma\delta$ Т-клеток, таких как клетки кожи, которые чаще используют V δ 1 TCR, спаренную с гамма-цепями, например, часто спаренную с V γ 4 в кишечнике.

Однако на сегодняшний день вследствие высокой гомологии между V γ 4 TCR и другими членами семейства TRGV, такими как V γ 2 TCR, модальности, способные нацеливаться только на V γ 4 TCR, не были возможны. Таким образом, существует неудовлетворенная потребность в антителах, специфичных к V γ 4, включая такие специфичные антитела, которые специфически связывают или модулируют V γ 4 TCR.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В соответствии с первым аспектом изобретения предложен способ ex vivo модуляции Т-клеток с вариабельной гамма-цепью 4 подтипа (V γ 4), включающий введение антитела или его фрагмента, которые специфически связываются с цепью V γ 4 $\gamma\delta$ Т-клеточного рецептора (TCR), а не с вариабельной гамма-цепью 2 подтипа (V γ 2) $\gamma\delta$ TCR, в популяцию клеток, содержащую V γ 4 Т-клетки. Следует понимать, что это относится к

цепи V γ 4 и V γ 2 одного и того же вида. Предпочтительно, в соответствии со всеми аспектами и вариантами осуществления, описанными в настоящем документе, вид представляет собой *Homo sapiens* (человек), таким образом, в изобретении также предложен способ *ex vivo* модуляции Т-клеток с вариабельной гамма-цепью 4 подтипа (V γ 4), включающий введение антитела или его фрагмента, которые специфически связываются с человеческой вариабельной гамма-цепью 4 подтипа (V γ 4) $\gamma\delta$ Т-клеточного рецептора (TCR), а не с человеческой вариабельной гамма-цепью 2 подтипа (V γ 2) $\gamma\delta$ TCR. Например, цепь V γ 4 человека может иметь последовательность в соответствии с аминокислотами 1-99 из SEQ ID NO. 1, а цепь V γ 2 человека может иметь последовательность в соответствии с SEQ ID NO. 335. У других видов антитело или его фрагмент специфически связываются с видоспецифическим ортологом человеческой вариабельной гамма-цепи 4 подтипа (V γ 4) $\gamma\delta$ Т-клеточного рецептора (TCR), а не с видоспецифическим ортологом человеческой вариабельной гамма-цепи 2 подтипа (V γ 2) $\gamma\delta$ TCR. Таким образом, антитело или его фрагмент могут специфически связываться с человеческой вариабельной гамма-цепью 4 подтипа (V γ 4) $\gamma\delta$ Т-клеточного рецептора (TCR), имеющей последовательность, соответствующую аминокислотам 1-99 из SEQ ID NO. 1, или с ее ортологом, не принадлежащим человеку, а не с человеческой вариабельной гамма-цепью 2 подтипа (V γ 2) $\gamma\delta$ TCR, имеющей последовательность, соответствующую SEQ ID NO. 335, или с ее ортологом, не принадлежащим человеку. Ортолог в этом контексте может означать последовательность гамма-цепи с наивысшим сходством последовательностей с эталонной последовательностью, или предпочтительно последовательность, которая обладает такой же функцией (например, взаимодействие с ортологичными распознаваемыми лигандами *in vivo*). Например, у мыши белок, обозначаемый согласно номенклатуре Хайлига и Тонегавы как V γ 7, функционально наиболее тесно связан с V γ 4 человека (Barros et al. (2016) Cell, 167:203-218.e17).

Это представляет собой значительный успех в данной области техники. Например, у людей цепь V γ 4 и цепь V γ 2 являются высоко гомологичными (идентичность последовательности 91%), отличаясь только 9 аминокислотами. Три из этих девяти изменений картируются на протяжении CDR1 и CDR2, тогда как четыре из этих изменений картируются на субобласти каркасной области 3 (FR3) - аминокислотах 67-82 из SEQ ID NO: 1. Вследствие очень высокого сходства последовательностей между цепью V γ 4 и цепью V γ 2 ранее полагали, что невозможно будет разработать антитело или его фрагмент, способные специфически отличать человеческую цепь V γ 4 от цепи V γ 2 $\gamma\delta$ TCR. Неожиданно и вопреки преобладающему мнению в данной области техники, авторы настоящего изобретения смогли разработать такие антитела с помощью способов, более подробно описанных в настоящем документе. Таким образом, в изобретении предложены способы *ex vivo* применения антител и их фрагментов, которые способны специфически модулировать $\gamma\delta$ TCR, содержащие V γ 4.

Антитела или их фрагменты, описанные в настоящем документе, могут связываться с эпитопом человеческой цепи V γ 4 $\gamma\delta$ TCR, содержащим один или более

аминокислотных остатков в пределах области аминокислот 67-82 из SEQ ID NO: 1.

В соответствии с дополнительным аспектом изобретения предложен способ *ex vivo* модуляции Т-клеток с вариабельной гамма-цепью 4 подтипа (V γ 4), включающий введение антитела к V γ 4 или его фрагмента, которые содержат одно или более из:

CDR3, содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 2-47, предпочтительно с SEQ ID NO: 10 и/или 33;

CDR2, содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 48-70 и последовательностями: A1-A23 (на Фиг. 1), предпочтительно с SEQ ID NO: 56 и/или A9; и/или

CDR1, содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 71-116, предпочтительно с SEQ ID NO: 79 и/или 102,

в популяцию клеток, содержащую V γ 4 Т-клетки.

В некоторых вариантах осуществления антитело к V γ 4 или его фрагмент могут содержать одно или более из:

CDR3 тяжелой цепи (HCDR3), содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 2-24, предпочтительно с SEQ ID NO: 10;

CDR2 тяжелой цепи (HCDR2), содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 48-70, предпочтительно с SEQ ID NO: 56; и/или

CDR1 тяжелой цепи (HCDR1), содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 71-93, предпочтительно с SEQ ID NO: 79.

Альтернативно или дополнительно, антитело к V γ 4 или его фрагмент могут содержать одно или более из:

CDR3 легкой цепи (LCDR3), содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 25-47, предпочтительно с SEQ ID NO: 33;

CDR2 легкой цепи (LCDR2), содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из последовательностей: A1-A23 (на Фиг. 1), предпочтительно с SEQ ID NO: A9; и/или

CDR1 легкой цепи (LCDR1), содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 94-116, предпочтительно с SEQ ID NO: 102.

В некоторых вариантах осуществления антитело к V γ 4 или его фрагмент содержат аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 117-162. В некоторых вариантах осуществления антитело к V γ 4 или его фрагмент могут содержать аминокислотную

последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH), имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 117-139, предпочтительно с SEQ ID NO: 125. Альтернативно или дополнительно, антители к V γ 4 или его фрагмент могут содержать аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи (VL), имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 140-162, предпочтительно с SEQ ID NO: 148.

В некоторых вариантах осуществления антители к V γ 4 или его фрагмент содержат одно или более из:

(a) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 79, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 56, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 10, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 125; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 102, LCDR2, имеющую последовательность A9 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 33, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 148;

(b) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 86, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 63, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 17, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 132; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 109, LCDR2, имеющую последовательность A16 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 40, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 155;

(c) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 73, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 50, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 4, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 119; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 96, LCDR2, имеющую последовательность A3 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 27, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 142;

(d) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 83, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 60, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 14, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 129; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 106, LCDR2, имеющую последовательность A13 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 37, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 152;

(e) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 84, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 61, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 15, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 130; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 107, LCDR2, имеющую последовательность A14 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 38, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 153;

(f) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 88, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 65, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 19, причем необязательно VH содержит SEQ ID

NO: 134; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 111, LCDR2, имеющую последовательность A18 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 42, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 157;

(g) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 92, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 69, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 23, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 138; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 115, LCDR2, имеющую последовательность A22 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 46, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 161;

(h) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 71, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 48, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 2, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 117; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 94, LCDR2, имеющую последовательность A1 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 25, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 140;

(i) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 72, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 49, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 3, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 118; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 95, LCDR2, имеющую последовательность A2 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 26, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 141;

(j) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 74, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 51, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 5, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 120; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 97, LCDR2, имеющую последовательность A4 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 28, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 143;

(k) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 75, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 52, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 6, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 121; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 98, LCDR2, имеющую последовательность A5 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 29, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 144;

(l) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 76, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 53, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 7, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 122; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 99, LCDR2, имеющую последовательность A6 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 30, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 145;

(m) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 77, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 54, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 8, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 123; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 100, LCDR2, имеющую последовательность A7 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 31, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 146;

(n) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 78, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 55, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 9, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 124; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 101, LCDR2, имеющую последовательность A8 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 32, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 147;

(o) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 80, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 57, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 11, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 126; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 103, LCDR2, имеющую последовательность A10 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 34, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 149;

(p) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 81, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 58, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 12, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 127; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 104, LCDR2, имеющую последовательность A11 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 35, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 150;

(q) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 82, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 59, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 13, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 128; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 105, LCDR2, имеющую последовательность A12 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 36, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 151;

(r) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 85, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 62, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 16, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 131; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 108, LCDR2, имеющую последовательность A15 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 39, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 154;

(s) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 87, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 64, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 18, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 133; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 110, LCDR2, имеющую

последовательность A17 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 41, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 156;

(t) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 89, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 66, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 20, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 135; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 112, LCDR2, имеющую последовательность A19 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 43, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 158;

(u) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 90, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 67, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 21, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 136; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 113, LCDR2, имеющую последовательность A20 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 44, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 159;

(v) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 91, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 68, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 22, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 137; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 114, LCDR2, имеющую последовательность A21 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 45, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 160;

и/или

(w) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 93, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 70, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 24, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 139; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 116, LCDR2, имеющую последовательность A23 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 47, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 162.

В некоторых вариантах осуществления антитело к V γ 4 или его фрагмент содержат аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 163-185.

В некоторых вариантах осуществления антитело к V γ 4 содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 233-255. В связанном варианте осуществления антитело к V γ 4 содержит или состоит из аминокислотной последовательности тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 284-306, и/или аминокислотной последовательности легкой цепи, имеющей по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 307-329.

В некоторых вариантах осуществления антитело к V γ 4 или его фрагмент специфически связываются с цепью V γ 4 $\gamma\delta$ Т-клеточного рецептора (TCR) и конкурируют за связывание с цепью V γ 4 $\gamma\delta$ Т-клеточного рецептора (TCR) с антителом или его

фрагментом, как определено в настоящем документе.

В соответствии с дополнительным аспектом изобретения предложена популяция V γ 4 T-клеток, полученная с помощью способа *ex vivo*, как определено в настоящем документе.

В соответствии с дополнительным аспектом изобретения предложена композиция, содержащая популяцию V γ 4 T-клеток, как определено в настоящем документе.

В соответствии с дополнительным аспектом изобретения предложена фармацевтическая композиция, содержащая популяцию V γ 4 T-клеток, как определено в настоящем документе, необязательно вместе с фармацевтически приемлемым разбавителем или носителем.

В соответствии с дополнительным аспектом изобретения предложена фармацевтическая композиция по изобретению, как определено в настоящем документе, для применения в качестве лекарственного препарата. Аналогично, предложен способ лечения заболевания или нарушения (например, рака, инфекционного заболевания или воспалительного заболевания) у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества популяции V γ 4 T-клеток по изобретению или фармацевтической композиции по изобретению, как определено в настоящем документе.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Фиг. 1. Последовательности определяющей комплементарности области (CDR) иллюстративных антител к V γ 4. Показаны последовательности CDR иллюстративных антител к V γ 4, описанных в настоящем документе. Соответствующий SEQ ID NO. показан справа от каждой последовательности.

Фиг. 2. Специфичность антител против гетеродимерных TCR-антигенов с помощью анализа ИФА DELFIA. (A) Приведены результаты для всех антител, которые прошли оценку контроля качества (аналитическая ЭХ-ВЭЖХ) и которые также продемонстрировали специфичность к цепи V γ 4 человека. Эти антитела (ось X) были протестированы в отношении связывания с четырьмя различными рекомбинантными гетеродимерными TCR человека, соответственно (DV1-GV4; DV2-GV4; DV1-GV2; DV1-GV8). Контроли включают в себя изотипически контролируемое антитело против лизоцима D1.3 курицы (полученное самостоятельно, крайнее слева) и антитела к V δ 1 REA173 (Miltenyi) и TS8.2 (Fisher) - крайние справа. (B) Количественное определение данных, приведенных в (A), дополнительно демонстрирует кратное увеличение связывания каждого иллюстративного клона с цепью V γ 4 человека по сравнению с цепью V γ 2 человека.

Фиг. 3. Сравнение связывания антител с TCR V γ 4V δ 1, представленными как рекомбинантные антигены или как рекомбинантные рецепторы клеточной поверхности. (A) Нормализованный и логарифмически преобразованный график X/Y связывания антител с антигеном DV1-GV4 с помощью ИФА Delfia (ось Y) или с клетками JRT3-hu17 (ось X). Серая вертикальная пунктирная линия обозначает предел для mAb,

считающихся отрицательными (слева) и положительными (справа) для связывания JRT3-hu17 в данном исследовании. Сигнал gMFI по оси X был нормализован к CD3, чтобы учесть вариацию экспрессии TCR среди всех конструкций. (В) График проточных данных для дополнительной иллюстрации отрицательного/положительного предела. Антитело G4_26 (панель посередине слева) демонстрирует самое высокое нормализованное значение gMFI среди отрицательной группы и демонстрирует аналогичный график для отрицательного изотипического контроля (D1.3; крайняя панель слева). G4_15 (панель посередине) имеет самое низкое нормализованное значение gMFI среди положительной группы и демонстрирует явное, хоть и слабое, увеличение окрашивания по сравнению с изотипическим контролем D1.3. Примеры промежуточных (G4_16; посередине справа) и сильных (G4_18; крайние справа) сигналов также приведены в качестве справки.

Фиг. 4. Связывание антител с панелью рекомбинантно экспрессированных TCR $\gamma 4$, содержащих различные последовательности CDR3 и/или спаренных с различными дельта-цепями. (А) Изображение в виде гистограммы сигналов связывания антител, генерируемых в отношении рекомбинантных TCR, экспрессируемых на клетках Jurkat. Последовательный анализ представлен следующим образом: сигнал связывания антитела в отношении V γ 4V δ 1-hu17 (черные столбцы); сигнал связывания антитела в отношении V γ 4V δ 1-hu20 (столбцы с горизонтальными полосками); сигнал связывания антитела в отношении V γ 4V δ 2 hu20 γ -PB δ (столбцы с диагональными полосками); сигнал связывания антитела в отношении V γ 4V δ 5-LES (белые столбцы). Все сигналы связывания нормализованы к CD3, чтобы учесть вариацию экспрессии TCR между различными конструкциями TCR в клетках JRT3. (В) Пример проточных данных для двух основных антител в данном исследовании, чтобы дополнительно продемонстрировать различие между иллюстративным антителом (G4_3), оказавшимся положительным для всех TCR V γ 4, и другим основным антителом (G4_4), оказавшимся положительным только для некоторых TCR V γ 4.

Фиг. 5. Связывание антител и картирование эпитопов в отношении химерных TCR hu17, экспрессируемых на клетках JRT3. (А) Показано выравнивание переменных гамма-областей, кодируемых зародышевой линией, указанных химерных конструкций hu17. Следует отметить, что в связи с пространственной ограниченностью первые 10 аминокислот зрелых последовательностей V γ 2/3/4 (аминокислоты 1-10 из SEQ ID NO: 256 [SSNLEGRTKS]) пропущены, однако они являются идентичными для всех конструкций. Указаны аминокислоты, которые отличаются от эталонной последовательности hu17 (TCR V γ 4 дикого типа). (В) Сводная таблица реактивности каждого антитела с указанными химерными конструкциями TCR. Результаты подчеркивают относительную специфичность связывания каждого указанного антитела с отдельными TCR, экспрессируемыми на клетках JRT3. (С) Пример проточных данных картирования эпитопов для иллюстрации дифференциальных сигналов связывания, наблюдаемых в данном исследовании.

Фиг. 6. Пример связывания антитела и приданной функции клеток,

экспрессирующих TCR V γ 4 (hu17). (A) Титрованное связывание антител с JRT3-hu17, причем показаны все иллюстративные антитела, связанные с клетками JRT3-hu17. Нетрансдуцированные клетки JRT3 (без TCR), используемые в качестве отрицательного контроля, демонстрирующие тот факт, что экспрессия hu17 является важной для связывания антител. (B) Снижение уровня TCR, обеспеченное титрованными антителами, по сравнению со снижением уровня, обеспеченным антителами положительного контроля: к CD3 ϵ (UCHT-1, Biolegend) или к пан-TCR $\gamma\delta$ (B1, Biolegend). (C) Повышение уровня CD69, обеспеченное титрованными антителами, по сравнению с повышением уровня, наблюдаемым для антител сравнения: к CD3 ϵ (UCHT-1, Biolegend) или к пан-TCR $\gamma\delta$ (B1, Biolegend).

Фиг.7. Пример нацеливания антител и модуляции первичных V γ 4-положительных клеток.(A) Титрованное связывание антител к V γ 4 с первичными V γ 4+ Т-клетками, размноженными из кожи двух отдельных доноров, демонстрирующее, что все иллюстративные антитела могут связываться с первичными полученными из кожи V γ 4+ Т-клетками дозозависимым образом. Изотипический контроль использовали в качестве отрицательного контроля, демонстрируя специфичность к V γ 4 иллюстративных антител. (B) Связывание антител к V γ 4 с V γ 4+ Т-клетками, полученными из мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК), демонстрирующее, что по существу все иллюстративные антитела могут связываться с первичными полученными из крови V γ 4+ Т-клетками. Изотипический контроль RSV использовали в качестве отрицательного контроля. (C) Связывание антител к V γ 4 G4_3, G4_12 и G4_18 с кишечными интраэпителиальными лимфоцитами (ИЭЛ), полученными от пациентов с колоректальным раком (КРР), что демонстрирует связывание всех трех иллюстративных антител с этой популяцией клеток. Клетки гейтировали как отдельные, живые, $\gamma\delta^+$, IgG1 $^+$ (V γ 4) $^+$. (D) Фенотипирование V γ 4+ $\gamma\delta$ Т-клеток в кишечнике перед стимуляцией антителами к V γ 4, демонстрирующее, что иллюстративное антитело G4_18 можно использовать для идентификации V γ 4+ клеток. 1,4% живых отдельных клеток были V δ 1+. Из них 44,2% были спарены с V γ 4, и они демонстрировали маркеры пребывания в тканях (CD69+ CD103+). (E) Снижение уровня TCR, обеспеченное иллюстративными антителами G4_12 и G4_18, соответственно, по сравнению со снижением уровня, обеспечиваемым изотипическим отрицательным контролем, сопровождающееся репрезентативными графиками FACS.

Фиг. 8. Применение V γ 4-специфических антител для увеличения числа первичных человеческих V γ 4 Т-клеток. (A) Типовые динамические данные для иллюстрации увеличения числа V γ 4 Т-клеток (определяемого по окрашиванию клоном G4_18) после 14-дневного культивирования МКПК со связанным с планшетом клоном G4_12 антитела к V γ 4 по сравнению с изотипическим контролем в присутствии IL-2 или IL-2+IL-15. (B) Сводная информация по увеличению числа V γ 4 Т-клеток (определяемому по окрашиванию клоном G4_18) после 7-дневного (верхний ряд) и 14-дневного (нижний ряд) культивирования МКПК от двух доноров со связанным с планшетом клоном G4_12

антитела к V γ 4 по сравнению с изотипическим контролем в присутствии IL-2 или IL-2+IL-15.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Определения

Если не указано иное, все употребляемые в настоящем документе технические и научные термины имеют общепринятое значение, понятное специалисту в данной области техники, к которой относится настоящее изобретение. В контексте настоящего документа, следующие термины имеют значения, присвоенные им ниже.

Гамма-дельта ($\gamma\delta$) Т-клетки представляют собой небольшую субпопуляцию Т-клеток, которые экспрессируют на своей поверхности отдельный определяющий Т-клеточный рецептор (TCR). Этот TCR состоит из одной гамма (γ) и одной дельта (δ) цепи. Каждая цепь содержит переменную (V) область, константную (C) область, трансмембранную область и цитоплазматический хвост. V-область содержит антигенсвязывающий сайт. Существует два основных подтипа $\gamma\delta$ Т-клеток человека: один, который доминирует в периферической крови, и второй, который доминирует в негематопоэтических тканях. Эти два подтипа могут определяться по типу δ и/или γ , присутствующих на клетках. Например, большинство присущих крови $\gamma\delta$ Т-клеток экспрессируют V δ 2 TCR, например, V γ 9V δ 2, тогда как это является менее распространенным среди присущих тканям $\gamma\delta$ Т-клеток, которые чаще используют V δ 1, например, в коже, и V γ 4 в кишечнике. Ссылки на «V γ 4 Т-клетки» относятся к $\gamma\delta$ Т-клеткам с цепью V γ 4, т. е. V γ 4⁺ клеткам.

Ссылки на «переменную гамма-цепь 4 подтипа» также могут называться V γ 4 или Vg4. Переменный гамма-полипептид 4; или нуклеотид, кодирующий цепь TCR, содержащую эту область; или белковый комплекс TCR, содержащий эту область, могут называться «TRGV4». Все антитела или их фрагменты, которые взаимодействуют с цепью V γ 4 $\gamma\delta$ TCR, являются эффективными антителами или их фрагментами, которые связываются с V γ 4, и могут называться «антителами к переменной гамма-цепи 4 подтипа TCR или их фрагментами» или «антителами к V γ 4 или их фрагментами». Ссылка на полипептид V γ 4 человека может означать полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, соответствующую аминокислотам 1-99 из SEQ ID NO: 1. Эта последовательность из 99 аминокислот также соответствует SEQ ID NO: 334. Таким образом, следует понимать, что ссылка в настоящем документе на аминокислоты 1-99 из SEQ ID NO: 1 может использоваться взаимозаменяемо со ссылкой на SEQ ID NO: 334 в соответствии со всеми аспектами и вариантами осуществления изобретения. Например, ссылка в настоящем документе на область аминокислот 67-82 из SEQ ID NO: 1 эквивалентна области аминокислот 67-82 из SEQ ID NO: 334 и может использоваться взаимозаменяемо в настоящем документе.

Ссылки на «переменную дельта-цепь 1 подтипа» также могут называться V δ 1 или Vd1. Переменная дельта-полипептид 1; или нуклеотид, кодирующий цепь TCR, содержащую эту область; или белковый комплекс TCR, содержащий эту область, могут

называться «TRDV1». Все антитела или их фрагменты, которые взаимодействуют с цепью V δ 1 $\gamma\delta$ TCR, являются эффективными антителами или их фрагментами, которые связываются с V δ 1, и могут называться «антителами к вариабельной дельта-цепи 1 подтипа TCR или их фрагментами» или «антителами к V δ 1 или их фрагментами». Ссылка на полипептид V δ 1 человека может означать полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, соответствующую SEQ ID NO. 337.

Ссылки на «вариабельную гамма-цепь 2 подтипа» также могут называться V γ 2 или V γ 2. Вариабельный гамма-полипептид 2; или нуклеотид, кодирующий цепь TCR, содержащую эту область; или белковый комплекс TCR, содержащий эту область, могут называться «TRGV2». Все антитела или их фрагменты, которые взаимодействуют с цепью V γ 2 $\gamma\delta$ TCR, являются эффективными антителами или их фрагментами, которые связываются с V γ 2, и могут называться «антителами к вариабельной гамма-цепи 2 подтипа TCR или их фрагментами» или «антителами к V γ 2 или их фрагментами». Ссылка на полипептид V γ 2 человека может означать полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, соответствующую SEQ ID NO. 335.

Ссылки на «вариабельную гамма-цепь 8 подтипа» также могут называться V γ 8 или V γ 8. Вариабельный гамма-полипептид 8; или нуклеотид, кодирующий цепь TCR, содержащую эту область; или белковый комплекс TCR, содержащий эту область, могут называться «TRGV8». Все антитела или их фрагменты, которые взаимодействуют с цепью V γ 8 $\gamma\delta$ TCR, являются эффективными антителами или их фрагментами, которые связываются с V γ 8, и могут называться «антителами к вариабельной гамма-цепи 8 подтипа TCR или их фрагментами» или «антителами к V γ 8 или их фрагментами». Ссылка на полипептид V γ 8 человека может означать полипептид, имеющий аминокислотную последовательность, соответствующую SEQ ID NO. 336.

Термин «антитело» включает в себя любую белковую конструкцию антитела, содержащую по меньшей мере один вариабельный домен антитела, содержащий по меньшей мере один антигенсвязывающий сайт (antigen binding site - ABS). Антитела включают в себя, помимо прочего, иммуноглобулины типов IgA, IgG, IgE, IgD, IgM (а также все их подтипы). Общая структура иммуноглобулинов G (IgG), собранных из двух идентичных полипептидов тяжелой (H) цепи и двух идентичных полипептидов легкой (L) цепи, хорошо известна и является высококонсервативной у млекопитающих (Padlan (1994) Mol. Immunol. 31:169-217).

Обычное антитело или иммуноглобулин (Ig) представляет собой белок, содержащий четыре полипептидные цепи: две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи. Каждая цепь разделена на константную область и вариабельный домен. Вариабельные домены тяжелой (H) цепи в настоящем документе сокращенно обозначаются как VH, а вариабельные домены легкой (L) цепи в настоящем документе сокращенно обозначаются как VL. Эти домены, родственные им домены и домены, полученные из них, могут обозначаться в настоящем документе как вариабельные домены цепей иммуноглобулина. Домены VH и VL (также называемые области VH и VL) могут быть дополнительно

поделены на области, называемые «определяющими комплементарность областями» («CDR»), перемежающиеся более консервативными областями, называемыми «каркасными областями» («FR»). Каркасные и определяющие комплементарность области были точно определены (Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition U.S. Department of Health and Human Services, (1991) NIH Publication Number 91-3242). Существуют также альтернативные системы нумерации для последовательностей CDR, например, описанные у Chothia et al. (1989) Nature 342: 877-883. В обычном антителе каждый VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от amino-конца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Тетрамер обычного антитела из двух тяжелых цепей иммуноглобулина и двух легких цепей иммуноглобулина образуется тяжелой и легкой цепями иммуноглобулина, связанными между собой, *например*, дисульфидными связями, и тяжелыми цепями, связанными аналогичным образом. Константная область тяжелой цепи включает в себя три домена CH1, CH2 и CH3. Константная область легкой цепи состоит из одного домена - CL. Варибельный домен тяжелых цепей и варибельный домен легких цепей представляют собой связывающие домены, которые взаимодействуют с антигеном. Константные области антител обычно опосредуют связывание антитела с тканями или факторами организма-хозяина, включая различные клетки иммунной системы (*например*, эффекторные клетки) и первый компонент (C1q) классической системы комплемента.

Фрагмент антитела (который также может называться «фрагмент антитела», «фрагмент иммуноглобулина», «антигенсвязывающий фрагмент» или «антигенсвязывающий полипептид») в контексте настоящего документа относится к части антитела (или конструкции, которая содержит указанную часть), которая специфически связывается с мишенью варибельной гамма-цепью 4 подтипа (V γ 4) $\gamma\delta$ Т-клеточного рецептора (*например*, молекула, в которой одна или более цепей иммуноглобулина не являются полноразмерными, однако которая специфически связывается с мишенью). Примеры связывающих фрагментов, охватываемых термином фрагмент антитела, включают в себя:

- (i) Fab-фрагмент (одновалентный фрагмент, состоящий из доменов VL, VH, CL и CH1);
- (ii) F(ab')₂-фрагмент (двухвалентный фрагмент, состоящий из двух Fab-фрагментов, связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области);
- (iii) Fd-фрагмент (состоящий из доменов VH и CH1);
- (iv) Fv-фрагмент (состоящий из доменов VL и VH одного плеча антитела);
- (v) одноцепочечный варибельный фрагмент scFv (состоящий из доменов VL и VH, соединенных с использованием рекомбинантных способов с помощью синтетического линкера, который позволяет им быть в виде единой белковой цепи, в которой пары областей VL и VH образуют одновалентные молекулы);
- (vi) VH (варибельный домен цепи иммуноглобулина, состоящий из домена VH);
- (vii) VL (варибельный домен цепи иммуноглобулина, состоящий из домена VL);

- (viii) однодоменное антитело (dAb, состоящее из домена VH или VL);
- (ix) минитело (состоящее из пары фрагментов scFv, которые соединены посредством доменов CH3); и
- (x) диатело (состоящее из нековалентного димера фрагментов scFv, которые состоят из домена VH одного антитела, соединенного посредством небольшого пептидного линкера с доменом VL другого антитела).

Термин «антитело человека» относится к антителам, которые имеют переменные и константные области, полученные из последовательностей иммуноглобулина человеческой зародышевой линии. Субъекты-люди, которым вводят указанные антитела человека, не генерируют межвидовые гуморальные ответы (например, ответы человеческого антимышиного антитела (НАМА)) на первичные аминокислоты, содержащиеся в указанных антителах. Указанные антитела человека могут включать в себя аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулинов человеческой зародышевой линии (например, мутации, вводимые случайным или сайт-специфическим мутагенезом или соматической мутацией), например, в CDR и, в частности, в CDR3. Однако термин не предназначен для включения антител, в которых последовательности CDR, полученные из зародышевой линии другого вида млекопитающих, такого как мышь, были привиты к человеческим каркасным последовательностям. Антитела человека, которые получены, экспрессированы, созданы или выделены рекомбинантными способами, например, антитела, экспрессируемые с использованием рекомбинантного вектора экспрессии, трансфицированного в клетку-хозяина, антитела, выделенные из рекомбинантной библиотеки комбинаторных антител человека, антитела, выделенные из животного (например, мыши), трансгенного по генам иммуноглобулина человека, или антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные любым другим способом, который включает сплайсинг последовательностей генов иммуноглобулина человека с другими последовательностями ДНК, также могут называться «рекомбинантными антителами человека».

Замена по меньшей мере одного аминокислотного остатка в каркасной области переменного домена иммуноглобулина нечеловеческого происхождения соответствующим остатком переменного домена человека называется «гуманизацией». Гуманизация переменного домена может снизить иммуногенность у людей.

«Специфичность» относится к числу разных типов антигенов или антигенных детерминант, с которыми может связываться определенное антитело или его фрагмент. Специфичность антитела - это способность антитела распознавать конкретный антиген как уникальный молекулярный объект и отличать его от других. Антитело, которое «специфически связывается» с антигеном или эпитопом, является термином, хорошо известным в данной области техники. Молекула, как сообщается, проявляет «специфическое связывание», если она реагирует чаще, быстрее, с большей продолжительностью и/или с большей аффинностью с конкретным целевым антигеном или эпитопом, чем с альтернативными мишенями. Антитело «специфически связывается»

с целевым антигеном или эпитопом, если оно связывается с большей аффинностью, авидностью, более легко и/или с большей продолжительностью, чем оно связывается с другими веществами. Антитело (или его фрагмент) может считаться таким, которое специфически связывается с мишенью, если связывание является статистически значимым по сравнению с нерелевантным связующим веществом.

«Аффинность», представленная равновесной константой для диссоциации антигена с антигенсвязывающим полипептидом (KD), является мерой силы связывания между антигенной детерминантой и антигенсвязывающим сайтом антитела (или его фрагмента): чем ниже значение KD, тем сильнее сила связывания между антигенной детерминантой и антигенсвязывающим полипептидом. В альтернативном варианте, аффинность также может быть выражена как константа аффинности (KA), которая составляет $1/KD$. Аффинность может быть определена известными способами в зависимости от конкретного антигена, представляющего интерес. Например, KD может быть определена с помощью поверхностного плазмонного резонанса.

Считается, что любое значение KD менее 10^{-6} указывает на связывание. Специфическое связывание антитела или его фрагмента с антигеном или антигенной детерминантой может определяться любым пригодным способом, включая, например, анализ Скэтчарда и/или анализы конкурентного связывания, такие как радиоиммуноанализы (РИА), иммуноферментные анализы (ИФА) и конкурентные сэндвич-анализы, равновесный диализ, равновесное связывание, гель-фильтрацию, ИФА, поверхностный плазмонный резонанс или спектроскопию (например, с помощью флуоресцентного анализа) и их различные варианты, известные в данной области техники.

«Авидность» является мерой силы связывания между антителом или его фрагментом и соответствующим антигеном. Авидность связана как с аффинностью между антигенной детерминантой и антигенсвязывающим сайтом на антителе, так и числом соответствующих сайтов связывания, присутствующих на антителе.

«V γ 4⁺ клетки тканей человека», и «гемопозитические и кровяные V γ 4⁺ клетки», и «V γ 4⁺ инфильтрирующие опухоль лимфоциты (TIL)» определены как V γ 4⁺ клетки, содержащиеся или полученные из тканей человека, или гемопозитической и кровеносной систем, или опухолей человека, соответственно. Все указанные типы клеток могут быть идентифицированы по их (i) местоположению или месту, откуда они были получены, и (ii) их экспрессии V γ 4⁺ TCR.

Предпочтительно, антитело или его фрагмент (*т. е.* полипептид) являются выделенными. «Выделенный» полипептид представляет собой полипептид, удаленный из первоначального окружения. Термин «выделенный» может использоваться для обозначения антитела, которое по существу не содержит других антител, обладающих другой антигенной специфичностью (*например*, выделенное антитело, которое специфически связывается с V γ 4, или его фрагмент по существу не содержат антител, которые специфически связываются с антигенами, отличными от V γ 4). Термин «выделенный» также может быть использован для обозначения препаратов, в которых

выделенное антитело является достаточно чистым для терапевтического введения, когда оно составлено в виде активного ингредиента фармацевтической композиции, или по меньшей мере на 70-80% (масс./масс.) чистым, более предпочтительно по меньшей мере на 80-90% (масс./масс.) чистым, еще более предпочтительно на 90-95% чистым; и наиболее предпочтительно по меньшей мере на 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% (масс./масс.) чистым.

Предпочтительно, полинуклеотиды, используемые в настоящем изобретении, являются выделенными. «Выделенный» полинуклеотид представляет собой полинуклеотид, удаленный из первоначального окружения. Например, встречающийся в природе полинуклеотид является выделенным, если он отделен от некоторых или всех сосуществующих материалов в естественной системе. Полинуклеотид считается выделенным, если, например, он клонируется в вектор, который не является частью его естественного окружения, или если он содержится внутри кДНК.

Антитело или его фрагмент могут представлять собой «функционально активный вариант», который также включает в себя встречающиеся в природе аллельные варианты, а также мутанты или любые другие не встречающиеся в природе варианты. Как известно в данной области техники, аллельный вариант представляет собой альтернативную форму (поли)пептида, который характеризуется как имеющий замену, делецию или добавление одной или более аминокислот, которые существенным образом не меняют биологическую функцию полипептида. В качестве неограничивающего примера, указанные функционально активные варианты могут при этом функционировать, когда каркасы, содержащие CDR, подвергаются модификации, когда CDR сами по себе подвергаются модификации, когда указанные CDR прививаются к альтернативным каркасам или когда включаются N- или С-концевые удлинения. Более того, содержащие CDR связывающие домены могут быть спарены с различными партнерскими цепями, например, общими с другим антителом. При одинаковых так называемых «общих» легких или «общих» тяжелых цепях указанные связывающие домены при этом могут функционировать. Более того, указанные связывающие домены могут функционировать при мультимеризации. Более того, «антитела или их фрагменты» могут также содержать функциональные варианты, причем VH, или VL, или константные домены были модифицированы в направлении от или к отличной канонической последовательности (например, как указано в IMGT.org) и при этом функционируют.

В целях сравнения двух близкородственных полипептидных последовательностей «% идентичности последовательности» между первой полипептидной последовательностью и второй полипептидной последовательностью может быть рассчитан с помощью NCBI BLAST v2.0, используя стандартные настройки для полипептидных последовательностей (BLASTP). В целях сравнения двух близкородственных полинуклеотидных последовательностей «% идентичности последовательности» между первой полинуклеотидной последовательностью и второй полинуклеотидной последовательностью может быть рассчитан с помощью NCBI BLAST

v2.0, используя стандартные настройки для полинуклеотидных последовательностей (BLASTN).

Полипептидные или полинуклеотидные последовательности считаются такими же или «идентичными» другим полипептидным или полинуклеотидным последовательностям, если они имеют 100% идентичности последовательности по всей своей длине. Остатки в последовательностях нумеруются слева направо, *т. е.* от N- к С-концу для полипептидов; от 5' - к 3'-концу для полинуклеотидов.

В некоторых вариантах осуществления любой указанный % идентичности последовательности рассчитывается без последовательностей всех 6 CDR антитела. Например, антитело к V γ 4 или его антигенсвязывающий фрагмент могут содержать последовательность вариабельной области тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с указанной последовательностью вариабельной области тяжелой цепи, и/или последовательность вариабельной области легкой цепи, имеющую по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с указанной последовательностью вариабельной области легкой цепи, причем любые аминокислотные вариации существуют только в каркасных областях последовательностей вариабельных областей тяжелой и легкой цепей. В таких вариантах осуществления антитело к V γ 4 или его фрагмент, имеющие определенные идентичности последовательности, сохраняют полные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой и легкой цепей соответствующего антитела к V γ 4 или его фрагмента.

«Различие» между последовательностями относится к вставке, делеции или замене одного аминокислотного остатка в положении второй последовательности по сравнению с первой последовательностью. Две полипептидные последовательности могут содержать одно, два или более таких аминокислотных различий. Вставки, делеции или замены во второй последовательности, которая в остальном идентична (100% идентичности последовательности) первой последовательности, приводит к снижению % идентичности последовательностей. Например, если идентичные последовательности состоят из 9 аминокислотных остатков, одна замена во второй последовательности приводит к идентичности последовательностей в 88,9%. Если первая и вторая полипептидные последовательности состоят из 9 аминокислотных остатков и имеют 6 одинаковых остатков, первая и вторая полипептидные последовательности имеют более чем 66% идентичности (первая и вторая полипептидные последовательности имеют 66,7% идентичности).

В качестве альтернативы, для целей сравнения первой эталонной полипептидной последовательности со второй сравниваемой полипептидной последовательностью может быть установлено количество добавлений, замен и/или делеций, сделанных в первой последовательности для получения второй последовательности. «Добавление» представляет собой добавление одного аминокислотного остатка в последовательность первого полипептида (включая добавление на любом конце первого полипептида).

«Замена» представляет собой замену одного аминокислотного остатка в последовательности первого полипептида на один другой аминокислотный остаток. Указанная замена может быть консервативной или неконсервативной. «Делеция» представляет собой делецию одного аминокислотного остатка из последовательности первого полипептида (включая делецию на любом конце первого полипептида).

Используя трехбуквенные и однобуквенные коды, встречающиеся в природе аминокислоты могут быть обозначены следующим образом: глицин (G или Gly), аланин (A или Ala), валин (V или Val), лейцин (L или Leu), изолейцин (I или Ile), пролин (P или Pro), фенилаланин (F или Phe), тирозин (Y или Tyr), триптофан (W или Trp), лизин (K или Lys), аргинин (R или Arg), гистидин (H или His), аспарагиновая кислота (D или Asp), глутаминовая кислота (E или Glu), аспарагин (N или Asn), глутамин (Q или Gln), цистеин (C или Cys), метионин (M или Met), серин (S или Ser) и треонин (T или Thr). Когда остаток может представлять собой аспарагиновую кислоту или аспарагин, могут использоваться символы Asx или B. Когда остаток может представлять собой глутаминовую кислоту или глутамин, могут использоваться символы Glx или Z. Ссылки на аспарагиновую кислоту включают в себя аспартат, а на глутаминовую кислоту - глутамат, если в контексте не указано иное.

«Консервативная» аминокислотная замена представляет собой аминокислотную замену, в которой аминокислотный остаток заменен другим аминокислотным остатком сходной химической структуры и которая, как ожидается, не будет оказывать значительного влияния на функцию, активность или другие биологические свойства полипептида. Такие консервативные замены предпочтительно представляют собой замены, в которых одна аминокислота из следующих групп заменена другим аминокислотным остатком из этой же группы:

Группа	Аминокислотный остаток
Неполярные алифатические	Глицин
	Аланин
	Валин
	Метионин
	Лейцин
	Изолейцин
Ароматические	Фенилаланин
	Тирозин
	Триптофан
Полярные незаряженные	Серин
	Треонин
	Цистеин

	Пролин
	Аспарагин
	Глутамин
Отрицательно заряженные	Аспартат
	Глутамат
Положительно заряженные	Лизин
	Аргинин
	Гистидин

Предпочтительно, гидрофобный аминокислотный остаток представляет собой неполярную аминокислоту. Более предпочтительно, гидрофобный аминокислотный остаток выбран из V, I, L, M, F, W или C. В некоторых вариантах осуществления гидрофобный аминокислотный остаток выбран из глицина, аланина, валина, метионина, лейцина, изолейцина, фенилаланина, тирозина или триптофана.

В контексте настоящего документа нумерация полипептидных последовательностей и определения CDR и FR осуществляются в соответствии с системой Kabat (Kabat et al., 1991, полностью включена в настоящий документ посредством ссылки). «Соответствующий» аминокислотный остаток между первой и второй полипептидными последовательностями представляет собой аминокислотный остаток в первой последовательности, который имеет одинаковое положение в соответствии с системой Kabat с аминокислотным остатком во второй последовательности, тогда как аминокислотный остаток во второй последовательности может отличаться по идентичности от первой. Предпочтительно, соответствующие остатки будут иметь одинаковую цифру (и букву), если каркас и CDR будут одинаковой длины в соответствии с определением по Kabat. Выравнивание может быть выполнено вручную или с помощью, например, известного компьютерного алгоритма для выравнивания последовательностей, такого как NCBI BLAST v2.0 (BLASTP или BLASTN), используя стандартные настройки.

Ссылки в настоящем документе на «эпитоп» относятся к части мишени, которая специфически связана антителом или его фрагментом. Эпитопы также могут называться «антигенными детерминантами». Антитело связывается «по существу с тем же эпитопом», что и другое антитело, когда они оба распознают идентичные или стерически перекрывающиеся эпитопы. Широко применяемые способы определения того, связываются ли два антитела с идентичными или перекрывающимися эпитопами, представляют собой конкурентные анализы, которые могут быть сконфигурированы в различных форматах (*например*, планшеты с лунками с использованием радиоактивных или ферментных меток или проточная цитометрия на экспрессирующих антигены клетках) с использованием меченого антигена или меченого антитела. Антитело связывается с «тем же эпитопом», что и другое антитело, когда они оба распознают идентичные эпитопы (т. е. все точки контакта между антигеном и антителом являются одинаковыми). Например, антитело может связываться с тем же эпитопом, что и другое

антитело, когда все точки контакта в указанной области антигена определяются как одинаковые с помощью способа характеристики, такого как перекрестное сшивание антитела с антигеном в комбинации с МС, HDX, рентгеновская кристаллография, крио-ЭМ или мутагенез.

Более того, с помощью таких способов характеристики также возможно характеризовать антитела, которые связываются по существу с тем же эпитопом, путем распознавания некоторых, но не всех идентичных точек контакта. В частности, такие антитела могут иметь достаточное количество идентичных точек контакта в указанной антигенной области, чтобы обеспечить широко эквивалентный технический эффект и/или эквивалентную селективность взаимодействия с антигеном. Кроме того, в некоторых случаях, когда антитела распознают по существу тот же эпитоп и обеспечивают широко эквивалентный технический эффект и/или селективность взаимодействия, также может быть полезным определить область связывания эпитопа по общему количеству контактов антигена, включая от крайней N-концевой точки контакта антигена до крайней С-концевой точки контакта антигена.

Эпитопы, обнаруживаемые на белках-мишенях, могут быть определены как «линейные эпитопы» или «конформационные эпитопы». Линейные эпитопы образуются непрерывной последовательностью аминокислот в белковом антигене. Конформационные эпитопы образуются из аминокислот, которые являются прерывистыми в последовательности белка, но которые объединяются при сворачивании белка в его трехмерную структуру.

Термин «вектор» в контексте настоящего документа предназначен для обозначения молекулы нуклеиновой кислоты, способной переносить другую нуклеиновую кислоту, с которой она связана. Один тип вектора представляет собой «плазмиду», которая относится к кольцевой двухцепочечной петле ДНК, в которую могут быть лигированы дополнительные сегменты ДНК. Другой тип вектора представляет собой вирусный вектор, причем дополнительные сегменты ДНК могут быть лигированы в вирусный геном. Некоторые векторы способны к независимой репликации в клетке-хозяине, в которую они введены (*например*, бактериальные векторы, имеющие бактериальную природу репликации, и эписомные векторы млекопитающего и дрожжевые векторы). Другие векторы (*например*, неэписомальные векторы млекопитающих) могут быть интегрированы в геном клетки-хозяина после внесения в клетку-хозяина и, таким образом, реплицируются вместе с геномом хозяина. Более того, некоторые векторы способны направлять экспрессию генов, с которыми они функционально связаны. Такие векторы называются в настоящем документе «рекомбинантными векторами экспрессии» (или просто «векторами экспрессии»). В целом, векторы экспрессии, используемые в технологиях рекомбинантных ДНК, часто имеют форму плазмид. В настоящем описании «плазида» и «вектор» могут использоваться взаимозаменяемо, поскольку плазида является наиболее часто используемой формой вектора. Однако также включены другие формы векторов экспрессии, такие как вирусные векторы (*например*, ретровирусы с

дефектной репликацией, аденовирусы и аденоассоциированные вирусы), которые выполняют эквивалентные функции, а также бактериофаги и фагмидные системы. Термин «рекомбинантная клетка-хозяин» (или просто «клетка-хозяин») в контексте настоящего документа предназначен для обозначения клетки, в которую был введен рекомбинантный вектор экспрессии. Такие термины предназначены для обозначения не только конкретной рассматриваемой клетки, но и потомства такой клетки, например, когда указанное потомство используют для создания линии клеток или банка клеток, которые затем необязательно хранят, предоставляют, продают, переносят или используют для производства антитела или его фрагмента, как описано в настоящем документе.

Ссылки на «субъекта», «пациента» или «индивидуума» относятся к субъекту, в частности, субъекту-млекопитающему, подлежащему лечению. Субъекты-млекопитающие включают в себя людей, отличных от человека приматов, сельскохозяйственных животных (таких как коровы), спортивных животных или домашних питомцев, таких как собаки, кошки, морские свинки, кролики, крысы или мыши. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой человека. В альтернативных вариантах осуществления субъект представляет собой отличное от человека млекопитающее, такое как мышь.

Термин «достаточное количество» означает количество, достаточное для получения желаемого эффекта. Термин «терапевтически эффективное количество» означает количество, которое эффективно для облегчения симптома заболевания или нарушения. Терапевтически эффективное количество может представлять собой «профилактически эффективное количество», поскольку профилактика может считаться терапией.

Заболевание или нарушение «облегчается», если тяжесть признака или симптома заболевания или нарушения, частота, с которой такой признак или симптом проявляются у субъекта, или и то, и другое уменьшаются.

В контексте настоящего документа термин «лечить заболевание или нарушение» означает снижение частоты и/или тяжести по меньшей мере одного признака или симптома заболевания или нарушения, испытываемого субъектом.

«Рак» в контексте настоящего документа относится к аномальному росту или делению клеток. Как правило, рост и/или срок жизни раковых клеток превышают рост и/или срок жизни нормальных клеток и тканей вокруг них и не согласуются с ними. Раковые заболевания могут быть доброкачественными, предзлокачественными или злокачественными. Рак возникает в различных клетках и тканях.

«Воспаление» относится к хроническому или острому запуску иммунной системы, что приводит к воспаленной клетке, типу клеток, ткани или органу.

В контексте настоящего документа термин «около» включает в себя значение вплоть до 10% больше и вплоть до 10% меньше, чем указанное значение, предпочтительно, вплоть до 5% больше и вплоть до 5% меньше, чем указанное значение, особенно указанное значение. Термин «между» включает в себя значения в указанных

границах.

Способы модуляции $\gamma\delta$ Т-клеток

В соответствии с первым аспектом изобретения предложен способ *ex vivo* модуляции Т-клеток с вариабельной гамма-цепью 4 подтипа ($V\gamma 4$), включающий введение антитела к $V\gamma 4$ или его фрагмента, определенных в настоящем документе, в популяцию клеток, содержащую $V\gamma 4$ Т-клетки. Следует понимать, что «введение» антитела или его фрагмента включает в себя «приведение в контакт» с $V\gamma 4$ Т-клетками.

Модуляция $V\gamma 4$ Т-клеток может включать:

- размножение $V\gamma 4$ Т-клеток, например, путем селективного увеличения числа $V\gamma 4$ Т-клеток или стимуляции выживаемости $V\gamma 4$ Т-клеток;
- стимуляцию $V\gamma 4$ Т-клеток, *например*, путем повышения активности $V\gamma 4$ Т-клеток, *т. е.* повышения уничтожения клеток-мишеней;
- предотвращение истощения $V\gamma 4$ Т-клеток, *например*, путем повышения персистенции $V\gamma 4$ Т-клеток;
- дегрануляцию $V\gamma 4$ Т-клеток;
- иммуносупрессию $V\gamma 4$ Т-клеток, *например*, путем снижения уровня поверхностной экспрессии клеток $V\gamma 4$ TCR, *т. е.* вызывая интернализацию или сниженную экспрессию белка $V\gamma 4$ TCR, либо блокируя связывание $V\gamma 4$ TCR;
- уменьшение числа $V\gamma 4$ Т-клеток, *например*, путем ингибирования пролиферации $V\gamma 4$ Т-клеток или путем индуцирования гибели $V\gamma 4$ Т-клеток (*т. е.* уничтожения $V\gamma 4$ Т-клеток).

Такая модуляция $V\gamma 4$ Т-клеток может включать, например, активацию $V\gamma 4$ Т-клеток или ингибирование $V\gamma 4$ Т-клеток. В одном варианте осуществления $V\gamma 4$ Т-клетки активируют путем введения антитела к $V\gamma 4$ или его фрагмента, определенного в данном документе. В альтернативном варианте осуществления $V\gamma 4$ Т-клетки ингибируют путем введения антитела к $V\gamma 4$ или его фрагмента, определенного в данном документе. В альтернативном варианте осуществления $V\gamma 4$ Т-клетки не ингибируются при введении антитела к $V\gamma 4$ или его фрагмента, определенных в настоящем документе.

В одном варианте осуществления модуляция $V\gamma 4$ Т-клеток включает введение антитела к вариабельной гамма-цепи 4 подтипа TCR или его фрагмента в культуру $V\gamma 4$ Т-клеток (*т. е. in vitro* или *ex vivo*). $V\gamma 4$ Т-клетки могут присутствовать в смешанной клеточной популяции, *например*, в популяции клеток, содержащей другие типы лимфоцитов (*например*, $\alpha\beta$ Т-клетки или NK-клетки).

В одном варианте осуществления популяция клеток, содержащая $V\gamma 4$ Т-клетки, была выделена (*т. е.* из образца, описанного в настоящем документе) перед введением антитела к $V\gamma 4$ или его фрагмента. В дополнительном варианте осуществления популяцию клеток обогащают Т-клетками перед введением антитела к $V\gamma 4$ или его фрагмента. В еще одном дополнительном варианте осуществления популяцию клеток обогащают $\gamma\delta$ Т-клетками перед введением антитела к $V\gamma 4$ или его фрагмента.

Способ также может быть выполнен с использованием популяции клеток,

содержащей очищенную фракцию $\gamma\delta$ Т-клеток. В таких вариантах осуществления популяцию клеток деплетируют относительно типов клеток, отличных от $\gamma\delta$ Т-клеток, присутствующих в образце, таких как $\alpha\beta$ Т-клетки и/или NK-клетки, перед введением антитела к V γ 4 или его фрагмента. Популяцию клеток могут дополнительно, или альтернативно, обогащать типами клеток, которые могут содержать V γ 4, например, Т-клетками и/или $\gamma\delta$ -клетками, перед введением антитела к V γ 4 или его фрагмента. Например, перед культивированием образец могут обогащать Т-клетками, или обогащать $\gamma\delta$ Т-клетками, или деплетировать относительно $\alpha\beta$ Т-клеток, или деплетировать относительно клеток, отличных от $\gamma\delta$ Т-клеток. В одном варианте осуществления образец сначала деплетируют относительно $\alpha\beta$ Т-клеток, а затем обогащают CD3⁺ клетками. Обогащение или деплетирование могут достигаться с помощью методов, известных в данной области техники, таких как использование магнитных гранул, покрытых антителами, которые связываются с молекулами на клеточной поверхности в соответствии с фенотипом, подлежащим обогащению/деплетированию.

Присутствие типов клеток, отличных от лимфоцитов, в клеточной культуре может ингибировать размножение V γ 4 клеток. Такие клетки, например, стромальные, эпителиальные, опухолевые и/или питающие клетки, могут быть удалены перед культивированием. Таким образом, в одном варианте осуществления популяция клеток не находится в непосредственном контакте со стромальными клетками во время культивирования. Примеры стромальных клеток включают в себя фибробласты, перициты, мезенхимальные клетки, кератиноциты, эндотелиальные клетки и негематологические опухолевые клетки. Предпочтительно, лимфоциты не находятся в непосредственном контакте с фибробластами во время культивирования. В одном варианте осуществления популяция клеток не находится в непосредственном контакте с эпителиальными клетками во время культивирования. В одном варианте осуществления популяция клеток не находится в непосредственном контакте с опухолевыми клетками и/или питающими клетками во время культивирования.

В одном варианте осуществления способ включает культивирование V γ 4 Т-клеток в отсутствие значительного контакта со стромальными клетками. В дополнительном варианте осуществления способ включает культивирование V γ 4 Т-клеток в отсутствие значительного контакта с фибробластными клетками.

В одном варианте осуществления способ включает культивирование V γ 4 Т-клеток в среде, по существу не содержащей сыворотки (*например*, в среде, не содержащей сыворотки, или в среде, содержащей заменитель сыворотки (SR)). Таким образом, в одном варианте осуществления способ включает культивирование в среде, не содержащей сыворотки. Такая среда, не содержащая сыворотки, может также включать в себя среду, содержащую заменитель сыворотки, при этом заменитель сыворотки основан на химически определенных компонентах, чтобы избежать применения сыворотки человеческого или животного происхождения. В альтернативном варианте осуществления способ включает культивирование в среде, содержащей сыворотку (*например*,

человеческую сыворотку АВ или фетальную бычью сыворотку (FBS)). В одном варианте осуществления среда содержит заменитель сыворотки. В одном варианте осуществления среда не содержит продуктов животного происхождения.

Следует понимать, что образец, культивируемый в среде, не содержащей сыворотки, обладает преимуществом, позволяющим избежать проблем с фильтрацией, преципитацией, контаминацией и поставкой сыворотки. Кроме того, продукты животного происхождения не являются предпочтительными для использования при изготовлении медицинских препаратов клинического уровня для людей.

В одном варианте осуществления антитело к V γ 4 или его фрагмент находятся в растворимой или иммобилизованной форме. Например, антитело или его фрагмент могут вводиться к V γ 4 Т-клеткам в растворимой форме. Альтернативно, антитело или его фрагмент могут вводиться к V γ 4 Т-клеткам, когда антитело или его фрагмент связаны или ковалентно связаны с поверхностью, такой как гранула или планшет (*т. е.* в иммобилизованной форме). В одном варианте осуществления антитело иммобилизовано на поверхности, такой как лунки, покрытые Fc. Альтернативно, антитело или его фрагмент связаны с поверхностью клетки (*например*, иммобилизованы на поверхности антигенпрезентирующей клетки (antigen presenting cell - APC)). В другом варианте осуществления антитело не является иммобилизованным на поверхности, когда популяцию клеток приводят в контакт с антителом.

Популяцию клеток, приведенную в контакт с антителом к V γ 4 или его фрагментом, можно получить из различных типов клеток (способы выделения дополнительно описаны ниже). В одном варианте осуществления образец представляет собой образец негематопозитической ткани. Ссылки в настоящем документе на «негематопозитические ткани» или «образец негематопозитической ткани» включают в себя кожу (*например*, кожу человека) и кишечник (*например*, кишечник человека). Негематопозитическая ткань представляет собой ткань, отличную от крови, костного мозга, лимфоидной ткани, ткани лимфатических узлов или ткани тимуса. В одном варианте осуществления образец негематопозитической ткани представляет собой кожу (*например*, кожу человека). В некоторых вариантах осуществления популяцию клеток (*например*, $\gamma\delta$ Т-клеток) не получают из определенных типов образцов биологических жидкостей, таких как кровь или синовиальная жидкость. В некоторых вариантах осуществления популяцию клеток (*например*, $\gamma\delta$ Т-клеток) получают из кожи (*например*, кожи человека), которую можно получить с помощью способов, известных в данной области техники. Например, популяцию клеток можно получить из образца негематопозитической ткани путем культивирования образца негематопозитической ткани на синтетическом каркасе, выполненном с возможностью способствовать выходу клеток из образца негематопозитической ткани. Альтернативно, способы могут применяться к популяции клеток (*например*, $\gamma\delta$ Т-клеток), полученных из желудочно-кишечного тракта (*например*, толстой кишки или кишечника), молочной железы, легкого, предстательной железы, печени, селезенки, поджелудочной железы, матки, влагалища и других кожных,

слизистых или серозных оболочек.

В альтернативном варианте осуществления образец представляет собой гематопозитический образец или его фракцию (*т. е.* популяцию клеток получают из гематопозитического образца или его фракции). Ссылки в настоящем документе на «гематопозитический образец» или «образец гематопозитической ткани» включают в себя кровь (например, периферическую кровь или пуповинную кровь), костный мозг, лимфоидную ткань, ткань лимфатических узлов, ткань тимуса, а также их фракции или обогащенные части. Образец предпочтительно представляет собой кровь, включая периферическую кровь или пуповинную кровь или их фракции, включая клетки лейкоцитарной пленки, продукты лейкофереза, моноклеарные клетки периферической крови (МКПК) и моноклеарные клетки низкой плотности (low density mononuclear cells - LDMC). В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой кровь человека или ее фракцию. Клетки могут быть получены из образца крови с помощью методов, известных в данной области техники, таких как центрифугирование в градиенте плотности. Например, цельная кровь может быть нанесена слоями на равный объем FICOLL-HYPAQUE с последующим центрифугированием при 400xg в течение 15-30 минут при комнатной температуре. Материал среды раздела будет содержать моноклеарные клетки низкой плотности, которые можно собрать и промыть в культуральной среде и центрифугировать при 200xg в течение 10 минут при комнатной температуре.

Популяцию клеток можно получить из образца раковой ткани (*т. е.* $\gamma\delta$ Т-клетки также могут находиться в образцах раковых тканей), *например*, опухолей кишечника, молочной железы или предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления популяция клеток может происходить из образцов раковой ткани человека (*например*, тканей солидной опухоли). В других вариантах осуществления популяция клеток может происходить из образца, отличного от раковой ткани человека (*например*, ткани без значительного количества опухолевых клеток). Например, популяция клеток может происходить из участка кожи (*например*, здоровой кожи), отделенного от близлежащей или соседней раковой ткани. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления популяцию клеток получают не из раковой ткани (*например*, раковой ткани человека).

Популяция клеток может быть получена из ткани человека или отличного от человека животного. Таким образом, способ может дополнительно включать этап получения популяции клеток из ткани человека или отличного от человека животного. В одном варианте осуществления образец был получен от человека. В альтернативном варианте осуществления образец был получен от субъекта-животного, отличного от человека.

Размножение $\gamma\delta$ Т-клеток

В одном варианте осуществления модуляция включает активацию $V\gamma 4$ Т-клеток, в частности, размножение $V\gamma 4$ Т-клеток. Следовательно, в соответствии с аспектом изобретения предложен способ *ex vivo* размножения $V\gamma 4$ Т-клеток, включающий введение

антитела к V γ 4 или его фрагмента, определенных в настоящем документе, в популяцию клеток, содержащую V γ 4 Т-клетки. Такое размножение V γ 4 Т-клеток можно обеспечить путем селективного увеличения числа V γ 4 Т-клеток и/или посредством стимуляции выживаемости V γ 4 Т-клеток. В одном варианте осуществления размножение V γ 4 Т-клеток включает введение антитела к вариабельной гамма-цепи 4 подтипа TCR или его фрагмента в культуру V γ 4 Т-клеток (*m. e.* in vitro или ex vivo). V γ 4 Т-клетки могут присутствовать в смешанной клеточной популяции, *например*, в популяции клеток, содержащей другие типы лимфоцитов (*например*, $\alpha\beta$ Т-клетки или NK-клетки).

В изобретении, следовательно, предложены способы ex vivo получения популяции обогащенных $\gamma\delta$ Т-клеток (*например*, V γ 4 Т-клеток). Обогащенную популяцию можно получить из выделенных смешанных клеточных популяций (*например*, полученных из образцов, взятых от пациентов/доноров) с помощью способа, включающего приведение в контакт смешанной клеточной популяции, или ее очищенной фракции, с антителом или его фрагментом. Указанное антитело (или его фрагмент) избирательно размножает V γ 4 Т-клетки путем связывания с эпитопом, специфичным к цепи V γ 4 $\gamma\delta$ TCR.

Также предложена размноженная популяция V γ 4 Т-клеток, полученная в соответствии со способом, определенным в настоящем документе. В соответствии с этим аспектом изобретения следует понимать, что такая размноженная популяция V γ 4 Т-клеток может быть получена и/или размножена in vitro или ex vivo. В одном аспекте предложена размноженная популяция V γ 4, полученная в соответствии со способом, определенным в настоящем документе, причем популяцию V γ 4 выделяют и размножают in vitro или ex vivo.

Антитела или их фрагменты, описанные в настоящем документе, можно использовать в способах размножения $\gamma\delta$ Т-клеток (*например*, V γ 4 Т-клеток). Эти способы могут быть осуществлены in vitro. Если способы размножения осуществляются in vitro, антитела (или их фрагменты) могут применяться к выделенным $\gamma\delta$ Т-клеткам (*например*, V γ 4 Т-клеткам), полученным, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления $\gamma\delta$ Т-клетки размножают из популяции клеток, которая была выделена из образца негематопоэтической ткани. В альтернативном варианте осуществления $\gamma\delta$ Т-клетки размножают из популяции клеток, которая была выделена из образца гематопоэтической ткани, такого как образец крови.

Размножение $\gamma\delta$ Т-клеток (*например*, V γ 4 Т-клеток) может включать в себя культивирование образца в присутствии антитела или его фрагмента, описанных в настоящем документе, и цитокина. Цитокины могут включать в себя интерлейкины, лимфокины, интерфероны, колониестимулирующие факторы и хемокины. В одном варианте осуществления цитокин выбран из группы, состоящей из интерлейкина-2 (IL-2), интерлейкина-4 (IL-4), интерлейкина-6 (IL-6), интерлейкина-7 (IL-7), интерлейкина-8 (IL-8), интерлейкина-9 (IL-9), интерлейкина-12 (IL-12), интерлейкина-18 (IL-18), интерлейкина-21 (IL-21), интерлейкина-33 (IL-33), инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1), интерлейкина-1 β (IL-1 β), интерферона- γ (IFN- γ) и фактора-1, полученного из

стромальных клеток (SDF-1). Следует понимать, что ссылки на цитокины, описанные в настоящем документе, могут включать в себя любое соединение, которое обладает той же активностью, что и указанный цитокин, в отношении его способности стимулировать аналогичные физиологические эффекты на V γ 4 Т-клетки в культуре и включает в себя, помимо прочего, миметики или любой их функциональный эквивалент.

В одном варианте осуществления указанный цитокин принадлежит к общему семейству цитокиновых рецепторов гамма-цепи (γ c). В дополнительном варианте осуществления γ c-цитокин выбран из IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-12, IL-15, IL-21 или их смеси.

Используемый цитокин (*например*, интерлейкин) может иметь человеческое или животное происхождение, предпочтительно человеческое происхождение. Он может представлять собой белок дикого типа или любой биологически активный фрагмент или вариант, то есть способный связываться со своим рецептором. Такое связывание может включать в себя активацию $\gamma\delta$ Т-клеток в условиях способа согласно изобретению. Более предпочтительно, цитокины могут находиться в растворимой форме, быть слитыми или в комплексе с другой молекулой, такой как, например, пептид, полипептид или биологически активный белок. Предпочтительно, используют рекомбинантный цитокин человека. Более предпочтительно, диапазон концентраций интерлейкина может варьироваться между 1-10000 Ед/мл, даже более предпочтительно между 100-1000 Ед/мл.

В дополнительном варианте осуществления цитокин представляет собой хемокин. Следует также понимать, что хемокин будет отличаться и будет выбран в зависимости от образца, используемого для получения $\gamma\delta$ Т-клеток.

В одном варианте осуществления способ включает культивирование популяции клеток в присутствии IL-2, IL-9 и/или IL-15. В дополнительном варианте осуществления способ включает культивирование популяции клеток в присутствии IL-2. В дополнительном варианте осуществления способ включает культивирование популяции клеток в присутствии IL-2 и/или IL-15 (*т. е.* IL 2, IL-15 или их комбинации). В альтернативном варианте осуществления способ включает культивирование популяции клеток в присутствии IL-9 и/или IL-15 (*т. е.* IL 9, IL-15 или их комбинации). В одном варианте осуществления способ включает культивирование популяции клеток в присутствии IL-2, IL-9 и/или IL-15, а также дополнительного фактора роста (например, IL-21). В других вариантах осуществления способ включает культивирование популяции клеток в среде, не содержащей факторов роста, кроме IL-2 и/или IL-15. В альтернативных вариантах осуществления способ включает культивирование популяции клеток в среде, не содержащей факторов роста, кроме IL-9 и/или IL-15. В дополнительном варианте осуществления способ включает культивирование популяции клеток в среде, которая состоит из базальной среды, дополненной IL-2, IL-9 и/или IL-15. В дополнительном варианте осуществления способ включает культивирование популяции клеток в среде, которая состоит из базальной среды, дополненной IL-2 и/или IL-15.

В одном варианте осуществления способ включает культивирование популяции

клеток в присутствии IL-15 и фактора, выбранного из группы, состоящей из IL-2, IL-4, IL-21, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-12, IL-18, IL-33, IGF-1, IL-1 β , IFN- γ , лизата тромбоцитов человека (human platelet lysate - HPL) и фактора-1, полученного из стромальных клеток (SDF-1).

Размножение $\gamma\delta$ Т-клеток может включать в себя культивирование образца в присутствии по меньшей мере одного дополнительного митогена Т-клеток. Термин «митоген Т-клеток» (который также может называться «агонистом $\gamma\delta$ TCR») означает любой агент, который может стимулировать Т-клетки посредством передачи сигналов TCR, включая, помимо прочего, растительные лектины, такие как фитогемагглютинин (PHA) и конканавалин А (ConA), и лектины нерастительного происхождения. В одном варианте осуществления митоген Т-клеток представляет собой моноклональное антитело (mAb) к CD3. Другие митогены включают в себя форбол-12-миристат-13-ацетат (TPA) и его родственные соединения, такие как мезереин, или бактериальные соединения (*например*, стафилококковый энтеротоксин А (SEA) и стрептококковый белок А). Митоген Т-клеток может быть растворимым или иммобилизованным, и в способе размножения можно применять более одного митогена Т-клеток.

В контексте настоящего документа ссылки на «размноженную» или «размноженную популяцию $\gamma\delta$ Т-клеток» включают в себя популяции клеток, которые являются больше или содержат большее количество клеток, чем неразмноженная популяция. Такие популяции могут быть многочисленными, малочисленными или могут быть смешанной популяцией с увеличением доли или определенного типа клеток в популяции. Следует понимать, что термин «способ размножения» относится к процессам, которые приводят к размножению или увеличению популяции. Таким образом, увеличенная или размноженная популяция может быть больше по количеству или содержать большее количество клеток по сравнению с популяцией, в которой не был выполнен этап размножения или до какого-либо этапа размножения. Кроме того, следует понимать, что любые количества, указанные в настоящем документе для обозначения размножения (*например*, кратное увеличение или кратное размножение), иллюстрируют увеличение количества или размера популяции клеток или количества клеток и указывают на степень увеличения.

В одном варианте осуществления способ включает культивирование популяции клеток в течение по меньшей мере 5 дней (*например*, по меньшей мере 6 дней, по меньшей мере 7 дней, по меньшей мере 8 дней, по меньшей мере 9 дней, по меньшей мере 10 дней, по меньшей мере 11 дней, по меньшей мере 12 дней, по меньшей мере 13 дней, по меньшей мере 14 дней, по меньшей мере 18 дней, по меньшей мере 21 дня, по меньшей мере 28 дней или дольше, *например*, от 5 дней до 40 дней, от 7 дней до 35 дней, от 14 дней до 28 дней, от 14 дней до 21 дня или около 14 дней). В дополнительном варианте осуществления способ включает культивирование популяции клеток в течение по меньшей мере 7 дней, например, по меньшей мере 11 дней или по меньшей мере 14 дней.

В дополнительном варианте осуществления способ включает культивирование

популяции клеток в течение определенного периода времени (*например*, по меньшей мере 5 дней, по меньшей мере 6 дней, по меньшей мере 7 дней, по меньшей мере 8 дней, по меньшей мере 9 дней, по меньшей мере 10 дней, по меньшей мере 11 дней, по меньшей мере 12 дней, по меньшей мере 13 дней, по меньшей мере 14 дней, по меньшей мере 18 дней, по меньшей мере 21 дня, по меньшей мере 28 дней или дольше, *например*, от 5 дней до 40 дней, от 7 дней до 35 дней, от 14 дней до 28 дней, от 14 дней до 21 дня или около 14 дней) в количестве, эффективном для получения размноженной популяции $\gamma\delta$ Т-клеток.

В одном варианте осуществления популяцию клеток культивируют в течение периода времени от 5 до 60 дней, например, по меньшей мере от 7 до 45 дней, от 7 до 21 дня, от 7 до 18 дней или от 7 до 14 дней. Если способ включает период выделения и культивирования (*например*, от 1 до 40 дней, например, от 14 до 21 дня), этапы выделения и размножения в некоторых вариантах осуществления могут длиться от 21 до 39 дней.

Способ может включать обычное добавление антитела к V γ 4 или его фрагмента и/или фактора роста в ходе культивирования. Например, антитело к V γ 4 или его фрагмент и/или фактор роста могут добавлять каждые 2-5 дней, более предпочтительно каждые 3-4 дня. В одном варианте осуществления антитело к V γ 4 или его фрагмент и/или фактор роста добавляют через 7 дней культивирования и каждые 2-3 дня впоследствии.

Способы размножения обеспечивают размноженную популяцию $\gamma\delta$ Т-клеток, которая является более многочисленной, чем эталонная популяция. В некоторых вариантах осуществления размноженная популяция $\gamma\delta$ Т-клеток (*например*, V γ 4 Т-клеток) является более многочисленной, чем выделенная популяция $\gamma\delta$ Т-клеток до этапа размножения (*например*, по меньшей мере в 2 раза, по меньшей мере в 5 раз, по меньшей мере в 10 раз, по меньшей мере в 25 раз, по меньшей мере в 50 раз, по меньшей мере в 60 раз, по меньшей мере в 70 раз, по меньшей мере в 80 раз, по меньшей мере в 90 раз, по меньшей мере в 100 раз, по меньшей мере в 200 раз, по меньшей мере в 300 раз, по меньшей мере в 400 раз, по меньшей мере в 500 раз, по меньшей мере в 600 раз, по меньшей мере в 1000 раз или более по сравнению с выделенной популяцией $\gamma\delta$ Т-клеток до этапа размножения). В одном варианте осуществления размноженная популяция $\gamma\delta$ Т-клеток (*например*, V γ 4 Т-клеток) является более многочисленной, чем популяция, культивируемая в течение такого же периода времени в отсутствие антитела или его фрагмента. В одном варианте осуществления размноженная популяция $\gamma\delta$ Т-клеток (*например*, V γ 4 Т-клеток) является более многочисленной, чем популяция, культивируемая в течение такого же периода времени в присутствии изотипического контроля, такого как IgG1 человека.

Способы размножения обеспечивают размноженную популяцию V γ 4 Т-клеток, которая имеет более высокий процент V γ 4 Т-клеток, чем эталонная популяция. В некоторых вариантах осуществления размноженная популяция V γ 4 Т-клеток содержит более чем около 50% V γ 4 Т-клеток, например, более чем около 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% или 95% V γ 4 Т-клеток. В дополнительном варианте осуществления размноженная популяция V γ 4 Т-клеток содержит более чем

около 60% V γ 4 Т-клеток, например, более чем около 70% V γ 4 Т-клеток.

Доступны многочисленные базальные культуральные среды, подходящие для применения при пролиферации $\gamma\delta$ Т-клеток, в частности, среда, такая как AIM-V, среда Iscoves и RPMI-1640 (Life Technologies), EXVIVO-10, EXVIVO-15 или EXVIVO-20 (Lonza), в присутствии сыворотки или плазмы. Среда может быть дополнена другими факторами среды, как определено в данном документе, такими как сыворотка, белки сыворотки и селективные агенты, такие как антибиотики. Например, в некоторых вариантах осуществления среда RPMI-1640 содержит 2 мМ глутамина, 10% FBS, 10 мМ HEPES, pH 7,2, 1% пенициллин-стрептомицин, пируват натрия (1 мМ; Life Technologies), заменимые аминокислоты (*например*, 100 мкМ Gly, Ala, Asn, Asp, Glu, Pro и Ser; 1X MEM заменимых аминокислот (Life Technologies)) и/или 10 мкл/л β -меркаптоэтанола. В некоторых вариантах осуществления среда содержит RPMI-1640, дополненную 5% человеческой сывороткой АВ, пируватом натрия (1 мМ; Life Technologies) и пенициллином/стрептомицином. В альтернативном варианте осуществления среда AIM-V может быть дополнена заменителем иммунной сыворотки CTS и амфотерицином В. В определенных вариантах осуществления среда может быть дополнительно дополнена IL-2, IL-4, IL-9 и/или IL 15, как описано в настоящем документе. Обычно клетки культивируют при 37°C во влажной атмосфере, содержащей 5% CO₂, в подходящей культуральной среде во время выделения и/или размножения.

Также может осуществляться добавление других факторов в размножаемую культуру $\gamma\delta$ Т-клеток. В одном варианте осуществления для размножения используют такие факторы, которые избирательно способствуют размножению $\gamma\delta$ Т-клеток. Например, размножение может дополнительно включать добавление в размножаемую культуру экзогенных цитокинов, таких как интерлейкины. Такое размножение может включать культивирование $\gamma\delta$ Т-клеток в присутствии IL-2 и IL-15. Альтернативно, размножение может включать культивирование $\gamma\delta$ Т-клеток в присутствии IL-9 и IL-15. Следует понимать, что любой этап размножения выполняют в течение времени, достаточного для получения размноженной популяции $\gamma\delta$ Т-клеток.

Способы размножения $\gamma\delta$ Т-клеток могут включать время удвоения популяции продолжительностью менее чем 5 дней (*например*, менее чем 4,5 дня, менее чем 4,0 дня, менее чем 3,9 дня, менее чем 3,8 дня, менее чем 3,7 дня, менее чем 3,6 дня, менее чем 3,5 дня, менее чем 3,4 дня, менее чем 3,3 дня, менее чем 3,2 дня, менее чем 3,1 дня, менее чем 3,0 дня, менее чем 2,9 дня, менее чем 2,8 дня, менее чем 2,7 дня, менее чем 2,6 дня, менее чем 2,5 дня, менее чем 2,4 дня, менее чем 2,3 дня, менее чем 2,2 дня, менее чем 2,1 дня, менее чем 2,0 дня, менее чем 46 часов, менее чем 42 часа, менее чем 38 часов, менее чем 35 часов, менее чем 32 часа).

Способы выделения $\gamma\delta$ Т-клеток

Как описано в настоящем документе, антитела (или их фрагменты) могут применяться к $\gamma\delta$ Т-клеткам в культуре, *т. е.* $\gamma\delta$ Т-клеткам, которые были получены из образца. В одном варианте осуществления популяцию клеток выделяют из образца перед

введением антитела к V γ 4 или его фрагмента. Таким образом, предложен способ модуляции (в частности, размножения) V γ 4 Т-клеток, включающий введение антитела к V γ 4 или его фрагмента, определенных в настоящем документе, в популяцию $\gamma\delta$ Т-клеток (*например*, популяцию клеток, содержащую V γ 4 Т-клетки), выделенных из образца.

Ссылки в настоящем документе на «выделение» или «выделенные» клетки, в частности $\gamma\delta$ Т-клетки, относятся к способам или процессам, при которых клетки удаляют, отделяют, очищают, обогащают или иным образом извлекают из ткани или пула клеток. Следует понимать, что такие ссылки включают в себя термины «отделенный», «удаленный», «очищенный», «обогащенный» и т. п. Выделение $\gamma\delta$ Т-клеток включает выделение или отделение клеток от интактного образца негематопоэтической ткани или от стромальных клеток негематопоэтической ткани (*например*, фибробластов или эпителиальных клеток). Такое выделение может альтернативно или дополнительно включать выделение или отделение $\gamma\delta$ Т-клеток от других гематопоэтических клеток (*например*, $\alpha\beta$ Т-клеток или других лимфоцитов). Выделение может осуществляться в течение определенного периода времени, например, начиная с момента, когда эксплантат ткани или биопсию помещают в среду выделения, и заканчивая моментом, когда клетки собирают из культуры, например, путем центрифугирования или других способов для переноса выделенной популяции клеток в культуру размножения, или используют для других целей, или же исходный эксплантат ткани или биопсию удаляют из культуры. Этап выделения может длиться в течение по меньшей мере от около 3 дней до около 45 дней. В одном варианте осуществления этап выделения длится в течение от по меньшей мере около 10 дней до по меньшей мере 28 дней. В дополнительном варианте осуществления этап выделения длится в течение от по меньшей мере 14 дней до по меньшей мере 21 дня. Этап выделения, таким образом, может длиться в течение по меньшей мере 3 дней, 4 дней, 5 дней, 6 дней, 7 дней, 8 дней, 9 дней, 10 дней, 11 дней, 12 дней, 13 дней, 14 дней, 15 дней, 16 дней, 17 дней, 18 дней, 19 дней, 20 дней, 21 дня, 22 дней, 23 дней, 24 дней, 25 дней, 26 дней, 27 дней, 28 дней, 29 дней, 30 дней, 31 дня, 32 дней, около 35 дней, около 40 дней или около 45 дней. Следует понимать, что несмотря на то что пролиферация клеток может быть незначительной в течение этого этапа выделения, она не обязательно будет полностью отсутствовать. Действительно, специалисту в данной области техники будет понятно, что выделенные клетки могут также начать делиться для создания множества таких клеток внутри сосуда выделения, содержащего образец.

Таким образом, следует понимать, что ссылки в настоящем документе на «выделенные $\gamma\delta$ Т-клетки», «популяцию выделенных $\gamma\delta$ Т-клеток» или «выделенную популяцию $\gamma\delta$ Т-клеток» относятся к $\gamma\delta$ клеткам, которые были выделены, отделены, удалены, очищены или обогащены в образце, таком как исходный образец негематопоэтической ткани, так что клетки не находятся в значительном контакте с клетками, содержащимися в интактном образце (негематопоэтической ткани). Следует понимать, что ссылки в настоящем документе на «выделенные V γ 4 Т-клетки», «популяцию выделенных V γ 4 Т-клеток», «выделенную популяцию V γ 4 Т-клеток»,

«отделенные V γ 4 Т-клетки», «популяцию отделенных V γ 4 Т-клеток» или «отделенную популяцию V γ 4 Т-клеток» относятся к V γ 4 Т-клеткам, которые были выделены, отделены, удалены, очищены или обогащены в образце, таком как исходный образец негематопоэтической ткани, так что клетки не находятся в значительном контакте с клетками, содержащимися в интактном образце (негематопоэтической ткани).

Присущие негематопоэтическим тканям лимфоциты можно собирать и отделять от стромальных клеток, таких как кожные фибробласты, *например*, путем жесткого пипетирования. Собранные лимфоциты можно дополнительно промывать через 40 мкм нейлоновую сетку, чтобы удержать агрегаты фибробластов, которые могли высвободиться в ходе процесса. Лимфоциты также могут быть выделены с помощью сортировки флюоресцентно- или магнитно-активированных клеток, используя, например, антитела CD45.

Выделение $\gamma\delta$ Т-клеток может включать культивирование образца в присутствии по меньшей мере одного цитокина. Например, способ может включать культивирование образца в присутствии по меньшей мере агента, такого как хемокин. Будет также понятно, что хемокины будут выбраны в зависимости от $\gamma\delta$ Т-клеток, подлежащих выделению. Более того, хемокины будут отличаться и будут выбраны в зависимости от образца, используемого для выделения $\gamma\delta$ Т-клеток.

Выделение $\gamma\delta$ Т-клеток может включать дополнительное культивирование образца в присутствии по меньшей мере одного цитокина. Указанный цитокин может отличаться от цитокина, используемого в исходной культуре.

Способы выделения могут включать культивирование образца. Ссылки в настоящем документе на «культивирование» включают в себя добавление образца, включая выделенные, отделенные, удаленные, очищенные или обогащенные клетки в образце, в среду, содержащую факторы роста и/или основные питательные вещества, необходимые и/или предпочтительные для клеток и/или образца. Будет понятно, что такие условия культивирования можно адаптировать под клетки или популяцию клеток, подлежащие выделению из образца, или можно адаптировать под клетки или популяцию клеток, подлежащие выделению из образца и размножению.

В определенных вариантах осуществления культивирование образца длится в течение времени, достаточного для выделения $\gamma\delta$ Т-клеток из образца. В определенных вариантах осуществления продолжительность культивирования составляет по меньшей мере 14 дней. В определенных вариантах осуществления продолжительность культивирования составляет менее 45 дней, например, менее 30 дней, например, менее 25 дней. В дополнительном варианте осуществления продолжительность культивирования составляет от 14 дней до 35 дней, например, от 14 дней до 21 дня. В еще одном варианте осуществления продолжительность культивирования составляет около 21 дня.

В конкретных вариантах осуществления $\gamma\delta$ Т-клетки собирают из культуры после культивирования образца. Сбор $\gamma\delta$ Т-клеток может включать физический сбор $\gamma\delta$ Т-клеток из культуры, выделение $\gamma\delta$ Т-клеток из других лимфоцитов (*например*, $\alpha\beta$ Т-клеток и/или

НК-клеток) или выделение и/или отделение $\gamma\delta$ Т-клеток от других клеток, присутствующих в образце, *например*, стромальных клеток, таких как фибробласты. В одном варианте осуществления $\gamma\delta$ Т-клетки собирают механическими способами (*например*, пипетированием). В дополнительном варианте осуществления $\gamma\delta$ Т-клетки собирают с помощью магнитной сепарации и/или мечения. В еще одном дополнительном варианте осуществления $\gamma\delta$ Т-клетки собирают с помощью способов проточной цитометрии, таких как FACS. Таким образом, в определенных вариантах осуществления $\gamma\delta$ Т-клетки собирают посредством специфического мечения $\gamma\delta$ Т-клеток. Следует понимать, что такой сбор $\gamma\delta$ Т-клеток может включать физическое удаление из культуры образца, перенос в отдельный сосуд для культивирования или в отдельные или другие условия культивирования.

Следует понимать, что такой сбор $\gamma\delta$ Т-клеток выполняют по истечению периода времени, достаточного для получения выделенной популяции $\gamma\delta$ Т-клеток из образца. В определенных вариантах осуществления $\gamma\delta$ Т-клетки собирают через по меньшей мере одну неделю, по меньшей мере 10 дней, по меньшей мере 11 дней, по меньшей мере 12 дней, по меньшей мере 13 дней или по меньшей мере 14 дней культивирования образца. Предпочтительно, $\gamma\delta$ Т-клетки собирают через 40 дней или менее, *например*, через 38 дней или менее, 36 дней или менее, 34 дня или менее, 32 дня или менее, 30 дней или менее, 28 дней или менее, 26 дней или менее или 24 дня или менее. В одном варианте осуществления $\gamma\delta$ Т-клетки собирают через по меньшей мере 14 дней культивирования образца. В дополнительном варианте осуществления $\gamma\delta$ Т-клетки собирают через 14-21 день культивирования образца.

В одном варианте осуществления образец культивируют в среде, по существу не содержащей сыворотки (*например*, в среде, не содержащей сыворотки, или в среде, содержащей заменитель сыворотки (SR)). Таким образом, в одном варианте осуществления образец культивируют в среде, не содержащей сыворотки. Такая среда, не содержащая сыворотки, может также включать в себя среду, содержащую заменитель сыворотки, при этом заменитель сыворотки основан на химически определенных компонентах, чтобы избежать применения сыворотки человеческого или животного происхождения. В одном варианте осуществления среда не содержит продуктов животного происхождения. В альтернативном варианте осуществления образец культивируют в среде, содержащей сыворотку (*например*, человеческую сыворотку АВ или фетальную бычью сыворотку (FBS)).

Культуральная среда может дополнительно включать в себя другие ингредиенты, которые могут способствовать росту и размножению $\gamma\delta$ Т-клеток. Примеры других ингредиентов, которые могут быть добавлены, включают в себя, помимо прочего, плазму или сыворотку, очищенные белки, такие как альбумин, источник липидов, такой как липопротеины низкой плотности (ЛПНП), витамины, аминокислоты, стероиды и любые другие добавки, поддерживающие или стимулирующие рост и/или выживание клеток.

Антитела или их фрагменты

В настоящем документе предложены антитела или их фрагменты, которые специфически связываются с вариабельной гамма-цепью 4 подтипа ($V\gamma 4$) $\gamma\delta$ Т-клеточного рецептора (TCR). В частности, антитело или его фрагмент не связываются (или перекрестно реагируют) с вариабельной гамма-цепью 2 подтипа ($V\gamma 2$) $\gamma\delta$ TCR. Следует понимать, что это относится к цепи $V\gamma 4$ и $V\gamma 2$ одного и того же вида. Предпочтительно, вид представляет собой *Homo sapiens* (человек), и, таким образом, антитело или его фрагмент могут специфически связываться с человеческой вариабельной гамма-цепью 4 подтипа ($V\gamma 4$) $\gamma\delta$ Т-клеточного рецептора (TCR), а не с человеческой вариабельной гамма-цепью 2 подтипа ($V\gamma 2$) $\gamma\delta$ TCR. Например, цепь $V\gamma 4$ человека может иметь последовательность в соответствии с аминокислотами 1-99 из SEQ ID NO. 1, а цепь $V\gamma 2$ человека может иметь последовательность в соответствии с SEQ ID NO. 335. У других видов антитело или его фрагмент специфически связываются с видоспецифическим ортологом человеческой вариабельной гамма-цепи 4 подтипа ($V\gamma 4$) $\gamma\delta$ Т-клеточного рецептора (TCR), а не с видоспецифическим ортологом человеческой вариабельной гамма-цепи 2 подтипа ($V\gamma 2$) $\gamma\delta$ TCR. Таким образом, антитело или его фрагмент могут специфически связываться с человеческой вариабельной гамма-цепью 4 подтипа ($V\gamma 4$) $\gamma\delta$ Т-клеточного рецептора (TCR), имеющей последовательность, соответствующую аминокислотам 1-99 из SEQ ID NO. 1, или с ее ортологом, не принадлежащим человеку, а не с человеческой вариабельной гамма-цепью 2 подтипа ($V\gamma 2$) $\gamma\delta$ TCR, имеющей последовательность, соответствующую SEQ ID NO. 335, или с ее ортологом, не принадлежащим человеку. Ортолог в этом контексте может означать последовательность гамма-цепи с наивысшим сходством последовательностей с эталонной последовательностью, или предпочтительно последовательность, которая обладает такой же функцией (например, взаимодействие с ортологичными распознаваемыми лигандами *in vivo*). Например, у мыши белок, обозначаемый согласно номенклатуре Хайлига и Тонегавы как $V\gamma 7$, функционально наиболее тесно связан с $V\gamma 4$ человека (Barros et al. (2016) Cell, 167:203-218.e17).

Это открытие является очень важным. У людей, например, цепи $V\gamma 4$ и $V\gamma 2$ имеют 91% идентичности последовательности (они отличаются только девятью аминокислотами). Таким образом, это усложнило получение антител, которые связываются с $V\gamma 4$ (человека), а не с $V\gamma 2$ (человека), и не считалось возможным получение таких антител.

В отношении антитела или его фрагмента, которые специфически связываются с цепью $V\gamma 4$ $\gamma\delta$ TCR, это обычно означает, что связывание антитела или его фрагмента с цепью $V\gamma 4$ статистически значительно повышается по сравнению с антителом отрицательного контроля и/или антигеном отрицательного контроля (например, как измерено посредством связывания в анализе ИФА, необязательно анализе ИФА DELFIA или ППР). Уровень, обнаруженный по отношению к антителу отрицательного контроля и/или антигену отрицательного контроля, может считаться фоновым уровнем для используемого анализа, представляя «шум» в системе анализа, как будет хорошо понятно специалисту в данной

области техники. В конкретных вариантах осуществления уровни сигнала выше предварительно определенного порогового значения относительно фонового уровня могут считаться такими, которые указывают на обнаружение связывания (например, приблизительно в 1, 2, 3, 4, 5 или более раз выше фонового уровня). Например, в анализе ИФА DELFIA уровень сигнала в 5 или более раз выше фонового уровня может считаться таким, который указывает на связывание антитела с антигеном. Специалист в данной области техники может легко определить подходящее пороговое значение, исходя из используемой системы анализа. И наоборот, в отношении антитела или его фрагмента, которые специфически не связываются (или перекрестно не реагируют) с цепью $V\gamma 2$ $\gamma\delta$ TCR, это обычно означает, что связывание антитела или его фрагмента с цепью $V\gamma 2$ статистически значимо не повышается по сравнению с антителом отрицательного контроля и/или антигеном отрицательного контроля (например, как измерено посредством связывания в анализе ИФА, необязательно анализе ИФА DELFIA или ППР). Это продемонстрировано, например, на **Фиг. 2А** и обсуждается в **примере 4**. В соответствии со всеми аспектами и вариантами осуществления изобретения, описанными в настоящем документе, это свойство также может быть выражено в виде кратного изменения разницы обнаруженных уровней связывания (например, как измерено посредством связывания в анализе ИФА, необязательно анализе ИФА DELFIA или ППР) антитела или его фрагмента с цепью $V\gamma 4$ по сравнению с антителом или его фрагментом с цепью $V\gamma 2$. Например, антитело или его фрагмент могут демонстрировать по меньшей мере приблизительно 50-кратное, 60-кратное, 70-кратное, 80-кратное, 90-кратное, 100-кратное, 150-кратное, 200-кратное, 300-кратное, 400-кратное, 500-кратное, 600-кратное, 700-кратное, 800-кратное, 900-кратное, 1000-кратное, 2000-кратное, 3000-кратное, 4000-кратное, 5000-кратное, 6000-кратное, 7000-кратное, 8000-кратное, 9000-кратное, 10000-кратное, 15000-кратное, 25000-кратное, 50000-кратное, 75000-кратное, 95000-кратное или более повышение связывания с цепью $V\gamma 4$ по сравнению со связыванием с цепью $V\gamma 2$. Это продемонстрировано, например, на **Фиг. 2В** и обсуждается в **примере 4**. Однако такие кратные повышения считаются консервативными, так как для их подсчета предполагается, что все сигналы $V\gamma 2$ выше контролей не являются фоновым шумом. Однако, и как обсуждалось ранее, специалист в данной области техники может вместо этого исключить низкий сигнал выше фона в таких анализах ИФА DELFIA как шум в анализе (например, приблизительно в 1, 2, 3, 4, 5 или более раз выше фонового уровня) и, таким образом, считать сигнал ниже этих пороговых значений как неспецифическое фоновое связывание.

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент представляют собой scFv, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, вариабельный домен (*например*, VH или VL), диатело, минитело или моноклональное антитело. В конкретном варианте осуществления антитело или его фрагмент представляют собой scFv. В другом конкретном варианте осуществления антитело представляет собой моноклональное антитело.

Описанные в настоящем документе антитела могут относиться к любому классу, *например*, IgG, IgA, IgM, IgE, IgD или их изотипам, и могут содержать легкую цепь каппа

или лямбда. В одном варианте осуществления антитело представляет собой антитело IgG, например, по меньшей мере один из изоформ IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В одном варианте осуществления антитело представляет собой IgG1. В дополнительном варианте осуществления антитело может быть в таком формате, как, например, формат IgG, который был модифицирован для придания желаемых свойств, таких как обеспечение мутации Fc с целью снижения эффекторной функции, увеличения периода полужизни, изменения АЗКЦ или улучшения стабильности шарнира. Такие модификации хорошо известны в данной области техники, а иллюстративные варианты осуществления описаны в настоящем документе. Например, антитело или его фрагмент могут содержать константный домен IgG1, содержащий аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 332 или 333.

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент являются человеческими. Таким образом, антитело или его фрагмент могут быть получены из последовательности иммуноглобулина (Ig) человека. CDR, каркасная и/или константная область антитела (или его фрагмента) могут быть получены из последовательности Ig человека, в частности, последовательности IgG человека. CDR, каркасная и/или константная область могут быть по существу идентичными для последовательности Ig человека, в частности, последовательности IgG человека. Преимущество использования человеческих антител заключается в том, что они обладают низкой или нулевой иммуногенностью у людей.

Антитело или его фрагмент также могут быть химерными, например, химера антитела мыши/человека.

В качестве альтернативы, антитело или его фрагмент получают от отличных от человека видов, таких как мышь. Такие антитела нечеловеческого происхождения могут быть модифицированы для повышения их сходства с вариантами антител, естественным образом вырабатываемых у людей, таким образом, антитело или его фрагмент могут быть частично или полностью гуманизированными. Таким образом, в одном варианте осуществления антитело или его фрагмент являются гуманизированными.

Антитела, нацеленные на эпитопы

В настоящем документе предложены антитела (или их фрагменты), которые связываются с эпитопом цепи V γ 4 $\gamma\delta$ TCR. Связывание эпитопа на цепи V γ 4 необязательно может оказывать эффект на активность $\gamma\delta$ TCR, такую как активация или ингибирование. Антитела (или их фрагменты) могут иметь блокирующий эффект, предотвращая связывание или взаимодействие с другим антителом или молекулой. Антитела являются специфичными для цепи V γ 4 $\gamma\delta$ TCR и не связываются с эпитопами других антигенов, таких как цепь V γ 2 $\gamma\delta$ TCR или цепь V γ 8 $\gamma\delta$ TCR, как описано в настоящем документе.

В одном варианте осуществления эпитоп может представлять собой активирующий эпитоп $\gamma\delta$ Т-клетки. «Активирующий» эпитоп может включать в себя, например, модуляцию связанной с TCR функции, такой как снижение уровня TCR, дегрануляция

клетки, цитотоксичность, пролиферация, мобилизация, повышенная выживаемость или устойчивость к истощению, внутриклеточная передача сигналов, секреция цитокина или фактора роста, фенотипическое изменение или изменение экспрессии генов. Например, связывание активирующего эпитопа может стимулировать экспансию (*m. e.* пролиферацию) популяции $\gamma\delta$ Т-клеток, предпочтительно популяции $V\gamma 4^+$ Т-клеток. Соответственно, эти антитела могут использовать для модуляции активации $\gamma\delta$ Т-клеток и тем самым модуляции иммунного ответа. Таким образом, в одном варианте осуществления связывание активирующего эпитопа снижает уровень $\gamma\delta$ TCR. В дополнительном или альтернативном варианте осуществления связывание активирующего эпитопа активирует дегрануляцию $\gamma\delta$ Т-клетки. В еще одном дополнительном или альтернативном варианте осуществления связывание активирующего эпитопа активирует $\gamma\delta$ Т-клетку для уничтожения клеток-мишеней (например, раковых клеток).

В одном варианте осуществления предложены антитела или их фрагменты, которые блокируют $V\gamma 4$ и предотвращают связывание TCR (*например*, посредством стерического затруднения). За счет блокирования $V\gamma 4$ антитело может препятствовать активации и/или передаче сигналов TCR. Эпитоп, таким образом, может представлять собой ингибирующий эпитоп $\gamma\delta$ Т-клетки. «Ингибирующий» эпитоп может включать в себя, например, блокирование функции TCR, тем самым ингибируя активацию TCR.

Эпитоп предпочтительно состоит из по меньшей мере одной внеклеточной, растворимой, гидрофильной, внешней или цитоплазматической части цепи $V\gamma 4$ $\gamma\delta$ TCR.

В конкретном варианте осуществления эпитоп не содержит эпитоп, обнаруживаемый в области, не кодируемой зародышевой линией, цепи $V\gamma 4$ $\gamma\delta$ TCR, в частности, CDR3 цепи $V\gamma 4$. В предпочтительном варианте осуществления эпитоп находится в каркасной области цепи $V\gamma 4$ $\gamma\delta$ TCR, которая может представлять собой гипервариабельную область 4 каркасной области 3. Будет понятно, что такое связывание обеспечивает уникальное распознавание цепи $V\gamma 4$ в целом без ограничения последовательностями TCR, которые сильно различаются цепями $V\gamma 4$ (в частности, CDR3). В связи с этим будет понятно, что любой $\gamma\delta$ TCR, содержащий цепь $V\gamma 4$, может распознаваться с помощью антител или их фрагментов, как определено в настоящем документе, независимо от специфичности $\gamma\delta$ TCR.

Возможно, что $\gamma\delta$ рецептор может связываться с различными модулирующими лигандами независимо и посредством пространственно различных доменов. С учетом такого связывания мультимодальных лигандов недавние исследования Melandri et al. (2018) Nat. Immunol. 19: 1352-1365 показали, что связывание TCR человека с эндогенным лигандом BTNL3 происходит посредством дискретного домена, расположенного на N-конце CDR3 цепи $\gamma 4$. Авторы подчеркивают это, поскольку связывание BTNL3 опосредовано этой специфичной зародышевой областью TCR, расположенная ближе к С-концу соматически рекомбинантная петля CDR3 остается свободной для независимого связывания с другими лигандами. Более того, эта субобласть каркасной области 3 (FR3)

(которая также может называться «гипервариабельной областью 4» (HV4)) отличается от цепи $\gamma 2$ человека четырьмя аминокислотами. Однако у Melandri et al. не было описано никаких специфических антител к V $\gamma 4$, а также не было предложено, как можно получить такие антитела. Действительно, преобладающее мнение заключалось в том, что это невозможно из-за значительной гомологии последовательностей между цепями V $\gamma 4$ и V $\gamma 2$ человека (91% идентичности последовательности).

Антитело, которое связывается в пределах области HV4, может позволить связывание области CDR3 цепи $\gamma 4$ с дополнительным преимуществом в виде обеспечения связывающего вещества, которое является специфичным к $\gamma 4$, а не к $\gamma 2$. Более того, так как HV4 кодируется зародышевой линией, некоторые антитела, нацеленные на эту область, могут распознавать все цепи V $\gamma 4$, тогда как другие антитела, которые распознают V $\gamma 4$, могут являться специфичными в отношении определенных цепей V $\gamma 4$.

В настоящем изобретении предложены антитела и их фрагменты, которые могут специфически связываться с областью HV4 цепи V $\gamma 4$. Таким образом, в одном варианте осуществления антитело или его фрагмент связываются с эпитопом области HV4 цепи V $\gamma 4$. Область HV4 содержит аминокислоты 67-82 из SEQ ID NO: 1. Таким образом, в одном варианте осуществления эпитоп содержит один или более аминокислотных остатков в области аминокислот 67-82 из SEQ ID NO: 1, например, часть цепи V $\gamma 4$, которая не является частью последовательностей CDR1, CDR2 и/или CDR3. При этом антитело или его фрагмент могут модулировать взаимодействие между V $\gamma 4$ + TCR и BTN3/8. В одном варианте осуществления эпитоп не содержит аминокислотных остатков в области аминокислот 96-106 (CDR3) из SEQ ID NO: 1. В одном варианте осуществления эпитоп не содержит аминокислотных остатков в области аминокислот 50-57 (CDR2) из SEQ ID NO: 1. В одном варианте осуществления эпитоп не содержит аминокислотных остатков в области аминокислот 27-32 (CDR1) из SEQ ID NO: 1.

В конкретных вариантах осуществления антитело или его фрагмент могут при связывании с одной или более аминокислотами 67-82 из SEQ ID NO: 1 активировать V $\gamma 4$ + TCR

Аналогично хорошо охарактеризованным $\alpha\beta$ Т-клеткам, $\gamma\delta$ Т-клетки используют определенный набор соматически перегруппированных генов вариабельности (V), разнообразия (D) (только для β и δ), присоединения (J) и константной области (C), хотя $\gamma\delta$ Т-клетки содержат меньше сегментов V, D и J, чем $\alpha\beta$ Т-клетки. В одном варианте осуществления эпитоп, связанный антителами (или их фрагментами), не содержит эпитоп, обнаруживаемый в области J цепи V $\gamma 4$. Антитело или его фрагмент могут, таким образом, связываться только в области V цепи V $\gamma 4$. Таким образом, в одном варианте осуществления эпитоп состоит из эпитопа в области V $\gamma\delta$ TCR (например, аминокислотные остатки 1-99 из SEQ ID NO: 1).

Ссылки на эпитоп сделаны в отношении к последовательности V $\gamma 4$, описанной у Luoma et al. (2013) Immunity 39: 1032-1042 и в записи банка данных белковых структур RCSB: 4MNH, показанной как SEQ ID NO: 1:

SSNLEGRTKSVIRQTGSSAEITCDLAEGSTGYIHWYLNHQEGKAPQRLLYYDSYTS
 SVVLESGISPGKYDTYGSTRKNLRMILRNLIENDSGVYYCATWDEKYYKKLFGSGTTLV
 VTEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVLSWWVNGKEVHSGV
 CTDPQPLKEQPALNDSRYALSSRLRVSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRA
 KPVTQIVSAEAWGRADSRGGLEVLFFQ (SEQ ID NO: 1)

SEQ ID NO: 1 представляет собой растворимый TCR, содержащий область V (также называемую варибельным доменом) и область J. Область V содержит аминокислотные остатки 1-99, область J содержит аминокислотные остатки 102-116, а константная область из TCR β содержит аминокислотные остатки 117-256. В пределах области V CDR1 определяется как аминокислотные остатки 27-32 из SEQ ID NO: 1, CDR2 определяется как аминокислотные остатки 50-57 из SEQ ID NO: 1, а CDR3 определяется как аминокислотные остатки 96-106 из SEQ ID NO: 1.

Авторы изобретения установили, что аминокислоты K76 (т. е. лизин в положении 76) и M80 (т. е. метионин в положении 80) из SEQ ID NO: 1 могут быть особенно важными для связывания с областью HV4 цепи V γ 4 (человека) (**пример 6**). Таким образом, эпитоп может содержать или состоять из K76 и/или M80 из SEQ ID NO: 1.

Авторы изобретения дополнительно установили, что аминокислоты в пределах области аминокислот 71-79 из SEQ ID NO: 1 могут быть особенно важными для связывания с областью HV4 цепи V γ 4 (человека). Таким образом, в дополнительном варианте осуществления эпитоп содержит один или более аминокислотных остатков в области аминокислот 71-79 из SEQ ID NO: 1.

В одном варианте осуществления эпитоп содержит один или более, например, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или более, аминокислотных остатков в описанной области.

В одном варианте осуществления эпитоп содержит один или более (например, 5 или более, например, 10 или более) аминокислотных остатков в области аминокислот 67-82 из SEQ ID NO: 1. В дополнительном варианте осуществления эпитоп содержит один или более (например, 3 или более, например, 5 или более) аминокислотных остатков в области аминокислот 71-79 из SEQ ID NO: 1.

Также следует понимать, что указанное антитело (или его фрагмент) не должно связываться со всеми аминокислотами в пределах указанного диапазона. Такие эпитопы можно назвать линейными эпитопами. Например, антитело, которое связывается с эпитопом, содержащим аминокислотные остатки в области аминокислот 67-82 из SEQ ID NO: 1, может связываться только с одним или более аминокислотными остатками в указанном диапазоне, *например*, аминокислотными остатками на каждом конце диапазона (*т. е.* аминокислотными остатками 67 и 82), необязательно включая аминокислоты в пределах диапазона (*т. е.* аминокислоты 71, 73, 75, 76 и 79).

Например, авторы изобретения обнаружили, что аминокислотные остатки 71, 73, 75, 76 и 79 из SEQ ID NO: 1 могут образовывать эпитоп, с которым связывается антитело к V γ 4 или его фрагмент (**пример 8**). Таким образом, в одном варианте осуществления

эпитоп содержит по меньшей мере один из аминокислотных остатков 71, 73, 75, 76 и 79 из SEQ ID NO: 1. В дополнительных вариантах осуществления эпитоп содержит одну, две, три, четыре или пять (в частности, четыре или пять) аминокислот, выбранных из аминокислотных остатков 71, 73, 75, 76 и 79 из SEQ ID NO: 1.

В дополнительном варианте осуществления эпитоп состоит из одного или более аминокислотных остатков в области аминокислот: 67-82 из SEQ ID NO: 1. В дополнительном варианте осуществления эпитоп состоит из одного или более аминокислотных остатков в области аминокислот: 71-79 из SEQ ID NO: 1.

В дополнительном варианте осуществления эпитоп содержит аминокислотные остатки: 71-79 из SEQ ID NO: 1 или предпочтительно состоит из аминокислотных остатков: 71-79 из SEQ ID NO: 1. В еще одном дополнительном варианте осуществления эпитоп содержит аминокислотные остатки: 71, 73, 75, 76 и 79 из SEQ ID NO: 1 или предпочтительно состоит из аминокислотных остатков: 71, 73, 75, 76 и 79 из SEQ ID NO: 1.

В данной области техники известны различные методы для определения того, какой эпитоп связывается антителом. Иллюстративные методы включают в себя, например, стандартные анализы перекрестного блокирования, анализ методом аланин-сканирующего мутагенеза, анализ пептидных блотов, анализ расщепления пептидов, кристаллографические исследования и анализ ЯМР. Кроме того, можно использовать такие способы, как удаление эпитопа, экстракция эпитопа и химическая модификация антигенов. Другой способ, который можно использовать для идентификации аминокислот в полипептиде, с которым взаимодействует антитело, представляет собой водород-дейтериевый обмен, обнаруживаемый с помощью масс-спектрометрии (как описано в **примере 8**). В общих чертах, способ водород-дейтериевого обмена включает мечение дейтерием представляющего интерес белка с последующим связыванием антитела с меченным дейтерием белком. Затем комплекс белок/антитело переносят в воду, и способные к обмену протоны в аминокислотах, которые защищены комплексом антитела, подвергаются водород-дейтериевому обратному обмену с более низкой скоростью, чем способные к обмену протоны в аминокислотах, которые не являются частью поверхности. В результате этого аминокислоты, которые образуют часть поверхности белка/антитела, могут сохранять дейтерий и тем самым демонстрировать относительно более высокую массу по сравнению с аминокислотами, не включенными в поверхность. После диссоциации антитела целевой белок подвергают протеазному расщеплению и масс-спектрометрическому анализу, тем самым выявляя меченные дейтерием остатки, которые соответствуют конкретным аминокислотам, с которыми взаимодействует антитело.

Кроме того, или в качестве альтернативы, исследования химеризации и мутагенеза антигенов можно использовать для идентификации аминокислот в полипептиде, с которыми взаимодействует антитело (как описано в **примере 6**). В общих чертах, этот способ предполагает создание серии из одного или более химерных антигенов, где аминокислотная последовательность первого эталонного антигена может быть

систематически изменена на основании аминокислотной последовательности второго эталонного антигена, чтобы заменить одну или более аминокислот в первом эталонном антигене соответствующими аминокислотами из второго эталонного антигена. «Соответствующие аминокислоты» в данном контексте означают аминокислоты в эквивалентных положениях в последовательности первого эталонного антигена и второго эталонного антигена при выравнивании последовательностей. Затем измеряют связывание исследуемого антитела с каждым из первого эталонного антигена, второго эталонного антигена и/или серии из одного или более химерных антигенов. Потеря/приобретение связывания с каждым антигеном затем могут быть обусловлены специфическими аминокислотными изменениями, выполненными относительно первой эталонной последовательности и/или второй эталонной последовательности. Уже может быть известно, способно ли антитело связываться с первым эталонным антигеном и/или вторым эталонным антигеном или нет. Например, как описано в **примере 6**, первый эталонный антиген может представлять собой цепь V γ 4 человека, а второй эталонный антиген может представлять собой цепь V γ 2 человека, причем серия химерных антигенов была получена путем замены одной или более аминокислот в последовательности цепи V γ 4 соответствующими одной или более аминокислотами в последовательности цепи V γ 2.

Последовательности антитела

Антитела к V γ 4 или их фрагменты могут быть описаны со ссылкой на их последовательности CDR.

Таким образом, в одном варианте осуществления антитело к V γ 4 или его фрагмент содержат одно или более из:

CDR3, содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 2-47, предпочтительно с SEQ ID NO: 10 и/или 33;

CDR2, содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 48-70 и последовательностями: A1-A23 (на Фиг. 1), предпочтительно с SEQ ID NO: 56 и/или A9; и/или

CDR1, содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 71-116, предпочтительно с SEQ ID NO: 79 и/или 102.

В одном варианте осуществления антитело к V γ 4 или его фрагмент содержат CDR3, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 2-47. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат CDR2, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 48-70 и последовательностями: A1-A23 (на Фиг. 1). В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат CDR1, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 71-116.

В некоторых вариантах осуществления антитело к V γ 4 или его фрагмент могут

содержать одно или более из:

CDR3 тяжелой цепи (HCDR3), содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 2-24, предпочтительно с SEQ ID NO: 10;

CDR2 тяжелой цепи (HCDR2), содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 48-70, предпочтительно с SEQ ID NO: 56; и/или

CDR1 тяжелой цепи (HCDR1), содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 71-93, предпочтительно с SEQ ID NO: 79.

Альтернативно или дополнительно, антитело к V γ 4 или его фрагмент могут содержать одно или более из:

CDR3 легкой цепи (LCDR3), содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 25-47, предпочтительно с SEQ ID NO: 33;

CDR2 легкой цепи (LCDR2), содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из последовательностей: A1-A23 (на Фиг. 1), предпочтительно с SEQ ID NO: A9; и/или

CDR1 легкой цепи (LCDR1), содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 94-116, предпочтительно с SEQ ID NO: 102.

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат CDR3, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, 90%, 95%, 97%, 98% или 99% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 2-47. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат CDR2, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, 90%, 95%, 97%, 98% или 99% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 48-70 и последовательностей: A1-A23 (на Фиг. 1). В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат CDR1, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 85%, 90%, 95%, 97%, 98% или 99% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 71-116.

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат CDR3, состоящую из последовательности, имеющей по меньшей мере 85%, 90%, 95%, 97%, 98% или 99% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 2-47. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат CDR2, состоящую из последовательности, имеющей по меньшей мере 85%, 90%, 95%, 97%, 98% или 99% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 48-70 и последовательностей: A1-A23 (на Фиг. 1). В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат CDR1, состоящую из последовательности, имеющей по меньшей мере 85%, 90%, 95%, 97%, 98% или 99% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO:

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую CDR3, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 2-24, и область VL, содержащую CDR3, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 25-47. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую CDR3, состоящую из последовательности, имеющей по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 2-24, и область VL, содержащую CDR3, состоящую из последовательности, имеющей по меньшей мере 80% идентичности

последовательности с любой из SEQ ID NO: 25-47.

Варианты осуществления, которые относятся в настоящем документе к «по меньшей мере 80%» или «80% или более», следует понимать как такие, которые включают в себя все значения, равные или превышающие 80%, например, 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99% или 100%, идентичности последовательности. В одном варианте осуществления антитело или фрагмент содержат по меньшей мере 85%, например, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с указанной последовательностью.

Вместо процента идентичности последовательности варианты осуществления также могут определяться одним или более аминокислотными изменениями, например, одной или более вставками, заменами и/или делециями. В одном варианте осуществления последовательность может содержать до пяти аминокислотных изменений, например, до трех аминокислотных изменений, в частности до двух аминокислотных изменений. Например, последовательность может содержать до пяти аминокислотных замен, например, до трех аминокислотных замен, в частности до одной или двух аминокислотных замен. Например, CDR3 антитела или его фрагмента может содержать или более предпочтительно состоять из последовательности, имеющей не более 2, более предпочтительно не более 1 замены по сравнению с любой из SEQ ID NO: 2-47.

Предпочтительно, любые остатки CDR1, CDR2 или CDR3, отличающиеся от их соответствующих остатков в SEQ ID NO: 2-116 и последовательностях: A1-A23, представляют собой консервативные замены по отношению к их соответствующим остаткам. Например, любые остатки CDR3, отличающиеся от их соответствующих остатков в SEQ ID NO: 2-47, представляют собой консервативные замены по отношению к их соответствующим остаткам.

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат:

(i) область VH, содержащую CDR3, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 2-24;

(ii) область VH, содержащую CDR2, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 48-70;

(iii) область VH, содержащую CDR1, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 71-93;

(iv) область VL, содержащую CDR3, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 25-47;

(v) область VL, содержащую CDR2, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из последовательностей: A1-A23 (на Фиг. 1); и/или

(vi) область VL, содержащую CDR1, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 94-116.

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат тяжелую

цепь с:

- (i) областью VH, содержащей CDR3, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 2-24;
- (ii) областью VH, содержащей CDR2, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 48-70; и
- (iii) областью VH, содержащей CDR1, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 71-93.

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат легкую цепь с:

- (i) областью VL, содержащей CDR3, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 25-47;
- (ii) областью VL, содержащей CDR2, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из последовательностей: A1-A23 (на Фиг. 1); и
- (iii) областью VL, содержащей CDR1, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 94-116.

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат (или состоят из) область VH, содержащую CDR3, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 2-24, например, SEQ ID NO: 10, 4, 14, 15, 17, 19 или 23. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат (или состоят из) область VH, содержащую CDR2, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 48-70, например, SEQ ID NO: 56, 50, 60, 61, 63, 65 или 69. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат (или состоят из) область VH, содержащую CDR1, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 71-93, например, SEQ ID NO: 79, 73, 83, 84, 86, 88 или 92.

В одном варианте осуществления область VH содержит CDR3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 10, CDR2, содержащую последовательность SEQ ID NO: 56, и CDR1, содержащую последовательность SEQ ID NO: 79. В одном варианте осуществления CDR3 состоит из последовательности SEQ ID NO: 10, CDR2 состоит из последовательности SEQ ID NO: 56, а CDR1 состоит из последовательности SEQ ID NO: 79.

В одном варианте осуществления область VH содержит CDR3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 4, CDR2, содержащую последовательность SEQ ID NO: 50, и CDR1, содержащую последовательность SEQ ID NO: 73. В одном варианте осуществления CDR3 состоит из последовательности SEQ ID NO: 4, CDR2 состоит из последовательности SEQ ID NO: 50, а CDR1 состоит из последовательности SEQ ID NO: 73.

В одном варианте осуществления область VH содержит CDR3, содержащую

последовательность SEQ ID NO: 14, CDR2, содержащую последовательность SEQ ID NO: 60, и CDR1, содержащую последовательность SEQ ID NO: 83. В одном варианте осуществления CDR3 состоит из последовательности SEQ ID NO: 14, CDR2 состоит из последовательности SEQ ID NO: 60, а CDR1 состоит из последовательности SEQ ID NO: 83.

В одном варианте осуществления область VH содержит CDR3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 15, CDR2, содержащую последовательность SEQ ID NO: 61, и CDR1, содержащую последовательность SEQ ID NO: 84. В одном варианте осуществления CDR3 состоит из последовательности SEQ ID NO: 15, CDR2 состоит из последовательности SEQ ID NO: 61, а CDR1 состоит из последовательности SEQ ID NO: 84.

В одном варианте осуществления область VH содержит CDR3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 17, CDR2, содержащую последовательность SEQ ID NO: 63, и CDR1, содержащую последовательность SEQ ID NO: 86. В одном варианте осуществления CDR3 состоит из последовательности SEQ ID NO: 17, CDR2 состоит из последовательности SEQ ID NO: 63, а CDR1 состоит из последовательности SEQ ID NO: 86.

В одном варианте осуществления область VH содержит CDR3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 19, CDR2, содержащую последовательность SEQ ID NO: 65, и CDR1, содержащую последовательность SEQ ID NO: 88. В одном варианте осуществления CDR3 состоит из последовательности SEQ ID NO: 19, CDR2 состоит из последовательности SEQ ID NO: 65, а CDR1 состоит из последовательности SEQ ID NO: 88.

В одном варианте осуществления область VH содержит CDR3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 23, CDR2, содержащую последовательность SEQ ID NO: 69, и CDR1, содержащую последовательность SEQ ID NO: 92. В одном варианте осуществления CDR3 состоит из последовательности SEQ ID NO: 23, CDR2 состоит из последовательности SEQ ID NO: 69, а CDR1 состоит из последовательности SEQ ID NO: 92.

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат (или состоят из) область VL, содержащую CDR3, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 25-47, например, SEQ ID NO: 33, 27, 37, 38, 40, 42 или 46. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат (или состоят из) область VL, содержащую CDR2, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из последовательностей: A1-A23 (на Фиг. 1), например, последовательностей: A9, A3, A13, A14, A16, A18 или A22. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат (или состоят из) область VL, содержащую CDR1, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 94-116, например, SEQ ID NO:

осуществления CDR3 состоит из последовательности SEQ ID NO: 46, CDR2 состоит из последовательности SEQUENCE: A22, а CDR1 состоит из последовательности SEQ ID NO: 115.

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат одну или более последовательностей CDR, как описано на **Фиг. 1**. В дополнительном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат одну или более (например, все) последовательностей CDR клона 1140_P01_G08 [**G4_12**] или клона 1139_P01_A04 [**G4_03**], как описано на **Фиг. 1**.

Таким образом, антитело к V γ 4 или его фрагмент могут содержать одно или более из:

(a) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 79, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 56, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 10, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 125; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 102, LCDR2, имеющую последовательность A9 (на **Фиг. 1**), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 33, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 148;

(b) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 86, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 63, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 17, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 132; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 109, LCDR2, имеющую последовательность A16 (на **Фиг. 1**), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 40, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 155;

(c) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 73, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 50, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 4, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 119; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 96, LCDR2, имеющую последовательность A3 (на **Фиг. 1**), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 27, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 142;

(d) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 83, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 60, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 14, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 129; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 106, LCDR2, имеющую последовательность A13 (на **Фиг. 1**), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 37, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 152;

(e) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 84, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 61, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 15, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 130; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 107, LCDR2, имеющую последовательность A14 (на **Фиг. 1**), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 38, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 153;

(f) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 88, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 65, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 19, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 134; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 111, LCDR2, имеющую последовательность A18 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 42, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 157;

(g) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 92, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 69, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 23, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 138; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 115, LCDR2, имеющую последовательность A22 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 46, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 161;

(h) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 71, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 48, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 2, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 117; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 94, LCDR2, имеющую последовательность A1 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 25, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 140;

(i) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 72, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 49, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 3, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 118; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 95, LCDR2, имеющую последовательность A2 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 26, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 141;

(j) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 74, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 51, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 5, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 120; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 97, LCDR2, имеющую последовательность A4 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 28, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 143;

(k) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 75, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 52, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 6, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 121; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 98, LCDR2, имеющую последовательность A5 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 29, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 144;

(l) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 76, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 53, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 7, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 122; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 99, LCDR2, имеющую

последовательность A6 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 30, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 145;

(m) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 77, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 54, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 8, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 123; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 100, LCDR2, имеющую последовательность A7 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 31, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 146;

(n) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 78, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 55, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 9, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 124; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 101, LCDR2, имеющую последовательность A8 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 32, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 147;

(o) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 80, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 57, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 11, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 126; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 103, LCDR2, имеющую последовательность A10 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 34, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 149;

(p) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 81, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 58, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 12, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 127; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 104, LCDR2, имеющую последовательность A11 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 35, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 150;

(q) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 82, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 59, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 13, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 128; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 105, LCDR2, имеющую последовательность A12 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 36, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 151;

(r) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 85, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 62, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 16, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 131; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 108, LCDR2, имеющую последовательность A15 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 39, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 154;

(s) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 87, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 64, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 18, причем необязательно VH содержит или

состоит из SEQ ID NO: 133; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 110, LCDR2, имеющую последовательность A17 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 41, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 156;

(t) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 89, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 66, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 20, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 135; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 112, LCDR2, имеющую последовательность A19 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 43, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 158;

(u) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 90, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 67, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 21, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 136; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 113, LCDR2, имеющую последовательность A20 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 44, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 159;

(v) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 91, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 68, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 22, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 137; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 114, LCDR2, имеющую последовательность A21 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 45, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 160;

и/или

(w) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 93, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 70, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 24, причем необязательно VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 139; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 116, LCDR2, имеющую последовательность A23 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 47, причем необязательно VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 162.

Предпочтительно каждая область VH и VL, указанная выше, содержит четыре каркасные области (FR1-FR4). В одном варианте осуществления антители или его фрагмент содержат каркасную область (например, FR1, FR2, FR3 и/или FR4), содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с каркасной областью в любой из SEQ ID NO: 117-162. В одном варианте осуществления антители или его фрагмент содержат каркасную область (например, FR1, FR2, FR3 и/или FR4), содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, например, по меньшей мере 95%, 97% или 99% идентичности последовательности с каркасной областью в любой из SEQ ID NO: 117-162. В одном варианте осуществления антители или его фрагмент содержат каркасную область (например, FR1, FR2, FR3 и/или FR4), содержащую последовательность в любой из SEQ

ID NO: 117-162. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат каркасную область (например, FR1, FR2, FR3 и/или FR4), состоящую из последовательности в любой из SEQ ID NO: 117-162.

Антитела, описанные в настоящем документе, могут определяться по переменным последовательностям полноразмерной легкой цепи и/или тяжелой цепи. Таким образом, в одном варианте осуществления антитело к V γ 4 или его фрагмент содержат аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 117-162. В одном варианте осуществления антитело к V γ 4 или его фрагмент состоят из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 117-162.

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 117-139. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VH, состоящую из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 117-139. В дополнительном варианте осуществления область VH содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 125, 119, 129, 130, 132, 134 или 138. В дополнительном варианте осуществления область VH состоит из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 125, 119, 129, 130, 132, 134 или 138.

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VL, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 140-162. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VL, состоящую из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 140-162. В дополнительном варианте осуществления область VL содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 148, 142, 152, 153, 155, 157 или 161. В дополнительном варианте осуществления область VL состоит из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 148, 142, 152, 153, 155, 157 или 161.

В дополнительном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 117-139, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 140-162. В дополнительном

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 125, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 148. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VH, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 125, и область VL, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 148.

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 119, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 142. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VH, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 119, и область VL, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 142.

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129 (1248_P02_D10) [G4_16]. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VH, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 129. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 152 (1248_P02_D10) [G4_16]. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VL, состоящую из

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 134 (1253_P03_H05) [G4_23]. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VH, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 134. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VL, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157 (1253_P03_H05) [G4_23]. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VL, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 157.

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 134, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VH, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 134, и область VL, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 157.

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 138 (1248_P02_C10) [G4_27]. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VH, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 138. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 161 (1248_P02_C10) [G4_27]. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VL, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 161.

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 138, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 161. В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат область VH, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 138, и область VL, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 161.

Для фрагментов, содержащих как область VH, так и область VL, они могут быть связаны ковалентно (*например*, посредством дисульфидных связей или линкера) или нековалентно. Фрагмент антитела, описанный в настоящем документе, может содержать scFv, *т. е.* фрагмент, содержащий область VH и область VL, соединенные с помощью линкера. В одном варианте осуществления области VH и VL соединены с помощью (*например*, синтетического) полипептидного линкера. Полипептидный линкер может содержать линкер $(\text{Gly}_4\text{Ser})_n$, где n =от 1 до 8, *например*, 2, 3, 4, 5 или 7. Полипептидный линкер может содержать линкер $[(\text{Gly}_4\text{Ser})_n(\text{Gly}_3\text{AlaSer})_m]_p$, где n =от 1 до 8, *например*, 2, 3, 4, 5 или 7, m =от 0 до 8, *например*, 0, 1, 2 или 3, а p =от 1 до 8, *например*, 1, 2 или 3. В дополнительном варианте осуществления линкер содержит SEQ ID NO: 186. В дополнительном варианте осуществления линкер состоит из SEQ ID NO: 186.

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 163-185. В дополнительном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 163-185. В еще одном дополнительном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:

171, 165, 175, 176, 178, 180 или 184.

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент состоят из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 163-185. В дополнительном варианте осуществления антитело или его фрагмент состоят из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 163-185. В еще одном дополнительном варианте осуществления антитело или его фрагмент состоят из аминокислотной последовательности из SEQ ID NO: 171, 165, 175, 176, 178, 180 или 184.

Как описано в настоящем документе, антитела могут находиться в любом формате. В предпочтительном варианте осуществления антитело находится в формате IgG1. Таким образом, в одном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 233-255. В дополнительном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 233-255. В еще одном дополнительном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 235, 241, 245, 246 или 254.

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент состоят из аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 233-255. В дополнительном варианте осуществления антитело или его фрагмент состоят из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 233-255. В еще одном дополнительном варианте осуществления антитело или его фрагмент состоят из аминокислотной последовательности из SEQ ID NO: 235, 241, 245, 246 или 254.

В качестве альтернативы, предложено антитело или его фрагмент, которые содержат или состоят из аминокислотной последовательности тяжелой цепи, имеющей по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 284-306, и/или аминокислотную последовательность легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 307-329. Таким образом, предложено антитело или его фрагмент, которые содержат или состоят из аминокислотной последовательности тяжелой цепи согласно любой из SEQ ID NO: 284-306 и/или аминокислотной последовательности легкой цепи согласно любой из SEQ ID NO: 307-329. В конкретном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат или состоят из аминокислотной последовательности тяжелой цепи согласно SEQ ID NO: 292 и аминокислотной последовательности легкой цепи согласно SEQ ID NO: 315 (клон **G4_12**). В дополнительном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат или состоят из аминокислотной последовательности тяжелой цепи согласно SEQ ID NO: 286 и аминокислотной последовательности легкой цепи согласно SEQ ID NO: 309 (клон **G4_3**). В дополнительном варианте осуществления антитело или его фрагмент содержат или состоят из аминокислотной последовательности тяжелой цепи согласно SEQ ID NO:

аминокислотной последовательности легкой цепи согласно SEQ ID NO: 325 (клон **G4_24**);

(п) аминокислотной последовательности тяжелой цепи согласно SEQ ID NO: 303 и аминокислотной последовательности легкой цепи согласно SEQ ID NO: 326 (клон **G4_25**);

(о) аминокислотной последовательности тяжелой цепи согласно SEQ ID NO: 304 и аминокислотной последовательности легкой цепи согласно SEQ ID NO: 327 (клон **G4_26**);

или

(р) аминокислотной последовательности тяжелой цепи согласно SEQ ID NO: 306 и аминокислотной последовательности легкой цепи согласно SEQ ID NO: 329 (клон **G4_28**).

Конкурирующие антитела

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент, которые специфически связываются с цепью V γ 4 $\gamma\delta$ TCR, а не с цепью V γ 2 $\gamma\delta$ TCR, связываются с тем же, или по существу с тем же, эпитопом, что и антитело или его фрагмент, или конкурируют с ними, как определено или приведено в качестве примера в настоящем документе. Можно легко определить, связывается ли антитело с тем же эпитопом, или конкурирует за связывание с тем же эпитопом, что и эталонное антитело к V γ 4, с помощью обычных способов, известных в данной области техники. Например, чтобы определить, связывается ли исследуемое антитело с тем же эпитопом, что и эталонное антитело к V γ 4, описанное в настоящем документе, эталонному антителу позволяют связываться с белком или пептидом V γ 4 в условиях насыщения. Затем оценивается способность исследуемого антитела связываться с цепью V γ 4. Если исследуемое антитело способно связываться с V γ 4 после насыщения связывания с эталонным антителом к V γ 4, можно сделать вывод, что исследуемое антитело связывается с эпитопом, отличным от эпитопа, с которым связывается эталонное антитело к V γ 4. С другой стороны, если исследуемое антитело не способно связываться с цепью V γ 4 после насыщения связывания с эталонным антителом к V γ 4, то исследуемое антитело может связываться с тем же эпитопом, с которым связывается эталонное антитело к V γ 4.

Настоящее изобретение также включает в себя антитела к V γ 4 или их фрагменты, которые конкурируют за связывание с V γ 4 с антителом или его фрагментом, как определено в настоящем документе, или антителом, имеющим последовательности CDR любых иллюстративных антител, описанных в настоящем документе. Например, конкурентные анализы можно проводить с антителами, описанными в настоящем документе, чтобы определить, какие белки, антитела и другие антагонисты конкурируют за связывание с цепью V γ 4 с антителом и/или имеют общий эпитоп. Такие анализы хорошо известны специалистам в данной области техники; они оценивают конкуренцию между антагонистами или лигандами за ограниченное количество сайтов связывания белка, *например*, V γ 4. Антитело (или его фрагмент) иммобилизуют или приводят в нерастворимую форму до или после конкуренции, и образец, связанный с цепью V γ 4, отделяют от несвязанного образца, например, путем декантации (когда антитело было предварительно приведено в нерастворимую форму) или центрифугирования (когда антитело осаждали после конкурирующей реакции). Также конкурентное связывание

может быть определено на основании того, изменяется ли функция при связывании или отсутствии связывания антитела с белком, *например*, ингибирует или стимулирует молекула антитела ферментативную активность, например, метки. ИФА и другие функциональные анализы можно использовать, как известно в данной области техники и описано в настоящем документе.

Два антитела связываются с одним и тем же или перекрывающимся эпитопом, если каждый из них конкурентно ингибирует (блокирует) связывание другого с антигеном-мишенью. То есть 1-, 5-, 10-, 20- или 100-кратный или более избыток одного антитела ингибирует связывание другого по меньшей мере на 50%, но предпочтительно на 75%, 90% или даже 99%, как измерено в анализе конкурентного связывания. Альтернативно, два антитела имеют один и тот же эпитоп, если практически все аминокислотные мутации в антигене-мишени, которые уменьшают или устраняют связывание одного антитела, также уменьшают или устраняют связывание другого.

Затем можно провести дополнительные стандартные эксперименты (*например*, анализ пептидных мутаций и анализ связывания), чтобы подтвердить, действительно ли наблюдаемое отсутствие связывания исследуемого антитела обусловлено связыванием с тем же эпитопом, с которым связывается и эталонное антитело, или причиной отсутствия наблюдаемого связывания является стерическое блокирование (или другое явление). Эксперименты такого рода могут быть выполнены с использованием ИФА, РИА, поверхностного плазмонного резонанса, проточной цитометрии или любого другого количественного или качественного анализа связывания антител, доступного в данной области техники.

Модификации последовательностей антител

Антитела и их фрагменты могут быть модифицированы, используя известные способы. Модификации последовательностей молекул антител, описанных в настоящем документе, могут быть легко включены специалистами в данной области техники. Следующие примеры не являются ограничивающими.

При обнаружении антител и извлечении последовательностей из фаговых библиотек переменные домены желаемых антител могут быть переформатированы в полноразмерный IgG путем субклонирования. Для ускорения процесса переменные домены часто переносят с помощью рестрикционных ферментов. Такие сайты рестрикции могут вводить дополнительные/альтернативные аминокислоты вдали от канонической последовательности (такие канонические последовательности можно найти, например, в международной информационной системе ImMunoGeneTics [IMGT], см. <http://www.imgt.org>). Они могут быть введены в виде модификаций последовательностей легкой цепи каппа или лямбда.

Модификации легкой цепи каппа

Переменные последовательности легкой цепи каппа могут быть клонированы с помощью сайтов рестрикции (*например*, NheI-NotI) в процессе переформатирования в полноразмерный IgG. Более конкретно, на N-конце легкой цепи каппа была введена

дополнительная последовательность Ala-Ser для поддержания клонирования. Предпочтительно, эту дополнительную последовательность AS затем удаляют в ходе дальнейшей разработки, чтобы получить каноническую N-концевую последовательность. Следовательно, в одном варианте осуществления описанные в настоящем документе антитела, содержащие легкую цепь каппа, не содержат последовательность AS на своих N-концах, *т. е.* SEQ ID NO: 140-147 и 156-158 не содержат исходную последовательность AS. Следует понимать, что этот вариант осуществления также применим к другим последовательностям, включенным в настоящий документ, которые содержат эту последовательность.

Могут быть внесены дополнительные аминокислотные изменения для поддержания клонирования. Например, для антител, описанных в настоящем документе, на границе переменного домена и константного домена легкой цепи каппа валин был заменен на аланин для поддержания клонирования при получении полноразмерных последовательностей. Это привело к модификации константного домена каппа. В частности, это приводит к тому, что константный домен начинается с RTAAAPS (от сайта рестрикции NotI). Предпочтительно, эту последовательность можно модифицировать в ходе дальнейшей разработки для получения канонических константных областей легкой цепи каппа, которые начинаются с RTVAAPS. Такие модификации не изменяют функциональные свойства антител. Следовательно, в одном варианте осуществления описанные в настоящем документе антитела, содержащие легкую цепь каппа, содержат константный домен, начинающийся с последовательности RTV. Таким образом, в одном варианте осуществления последовательность RTAAAPS из SEQ ID NO: 233-240, 249-251, 307-314 и 323-325 заменена последовательностью RTVAAPS. В предпочтительном варианте осуществления, содержащем предпочтительный аллотип константного домена легкой цепи каппа, константный домен легкой цепи каппа имеет аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 330 и может быть объединен с любым переменным доменом легкой цепи, описанным в настоящем документе.

Модификации легкой цепи лямбда

Аналогично примеру цепи каппа выше, переменные домены легкой цепи лямбда также могут быть клонированы путем введения сайтов рестрикции (*например*, Nhe1-Not1) в процессе переформатирования в полноразмерный IgG. Более конкретно, на N-конце легкой цепи лямбда может быть введена дополнительная последовательность Ala-Ser для поддержания клонирования. Предпочтительно, эту дополнительную последовательность AS затем удаляют в ходе дальнейшей разработки, чтобы получить каноническую N-концевую последовательность. Следовательно, в одном варианте осуществления описанные в настоящем документе антитела, содержащие легкую цепь лямбда, не содержат последовательность AS на своих N-концах, *т. е.* SEQ ID NO: 148-155 и 159-162 не содержат исходную последовательность AS. Следует понимать, что этот вариант осуществления также применим к другим последовательностям, включенным в настоящий документ, которые содержат эту последовательность.

В качестве другого примера, для антител, описанных в настоящем документе, на границе переменного домена и постоянного домена легкой цепи лямбда последовательность лизина была заменена на последовательность аланина для поддержания клонирования при получении полноразмерных последовательностей. Это привело к модификации постоянного домена лямбда. В частности, это приводит к тому, что постоянный домен начинается с GQPAAAPS (от сайта рестрикции NotI). Предпочтительно, эту последовательность можно модифицировать в ходе дальнейшей разработки для получения канонической постоянной области легкой цепи лямбда, которая начинается с GQPKAAPS. Такие модификации не изменяют функциональные свойства антител. Следовательно, в одном варианте осуществления описанные в настоящем документе антитела, содержащие легкую цепь лямбда, содержат постоянный домен, начинающийся с последовательности GQPK. Таким образом, в одном варианте осуществления последовательность GQPAAAPS из SEQ ID NO: 241-248, 252-255, 315-322 и 326-329 заменена последовательностью GQPKAAPS. В предпочтительном варианте осуществления, содержащем предпочтительный аллотип постоянного домена легкой цепи лямбда, постоянный домен легкой цепи лямбда имеет аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 331 и может быть объединен с любым переменным доменом легкой цепи, описанным в настоящем документе.

Модификации легкой цепи лямбда и каппа

Ввиду приведенного выше описания относительно удаления N-концевых остатков AS из переменных доменов легкой цепи лямбда и/или каппа, описанных в настоящем документе как SEQ ID No: 140-162, антитело к Vγ4 или его фрагмент могут содержать аминокислотную последовательность переменной области легкой цепи (VL) согласно любой из SEQ ID NO: 261-283, которые соответствуют SEQ ID NO: 140-162, в которых отсутствуют N-концевые остатки AS. Таким образом, любая ссылка в данной спецификации на аминокислотную последовательность VL согласно одной или более из SEQ ID NO: 140-162 может быть заменена аминокислотной последовательностью VL согласно SEQ ID NO: 261-283, соответственно, и все такие варианты осуществления описаны в настоящем документе. В качестве иллюстрации, ссылка в настоящем документе на переменный домен легкой цепи согласно SEQ ID NO: 148 (полученный из клона **G4_12**) может быть заменена ссылкой на SEQ ID NO: 269.

Модификации тяжелой цепи

Как правило, последовательности переменной тяжелой цепи человека начинаются либо с основного глутамина (Q), либо с кислого глутамата (E). Однако известно, что обе такие последовательности затем превращаются в кислый аминокислотный остаток пироглутамат (pE). Превращение Q в pE приводит к изменению заряда антитела, тогда как превращение E в pE не изменяет заряд антитела. Следовательно, чтобы избежать переменного изменения заряда со временем, одна возможность заключается в модификации начальной последовательности тяжелой цепи с Q на E в первую очередь. Следовательно, в одном варианте осуществления тяжелая цепь

антитела, описанного в настоящем документе, имеющего остаток Q на N-конце тяжелой цепи, может содержать модификацию Q на E на N-конце. В частности, исходный остаток любой из SEQ ID NO: 118, 120, 124, 126, 132, 133, 135, 137, 138 и/или 139 может быть модифицирован с Q на E. Следует понимать, что этот вариант осуществления также применим к другим последовательностям, включенным в настоящий документ, которые содержат эту последовательность (т. е. любой вариант осуществления, включающий эти последовательности, например, в полноразмерные антитела или их фрагменты). В некоторых вариантах осуществления может быть предпочтительно заменить остаток E на N-конце тяжелой цепи на остаток Q. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления остаток E на N-конце любой из SEQ ID NO: 117, 119, 121-123, 125, 127-131, 134 и/или 136 может быть заменен на остаток Q.

Более того, С-конец константного домена IgG1 заканчивается на PGK. Однако концевой основной лизин (K) затем часто расщепляется во время экспрессии (*например*, в клетках CHO). Это в свою очередь приводит к изменению заряда антитела посредством различной утраты С-концевого остатка лизина. Таким образом, одна возможность заключается в удалении лизина в первую очередь, что приведет к однородной и стабильной С-концевой последовательности тяжелой цепи, заканчивающейся на PG. Следовательно, в одном варианте осуществления с С-конца тяжелой цепи антитела, описанного в настоящем документе, был удален концевой K. В частности, антитело может содержать любую из SEQ ID NO: 233-255 или 284-306, в которой концевой остаток лизина был удален.

Необязательные модификации аллотипа

При обнаружении антител могут использоваться специфические человеческие аллотипы. Необязательно антитела могут быть переключены на другие человеческие аллотипы в ходе разработки. В качестве неограничивающего примера, для цепи каппа существует три человеческих аллотипа, обозначаемых Km1, Km1,2 и Km3, которые определяют три аллели Km (используя нумерацию аллотипов): Km1 коррелирует с валином 153 (IMGT V45.1) и лейцином 191 (IMGT L101); Km1,2 коррелирует с аланином 153 (IMGT A45.1) и лейцином 191 (IMGT L101); а Km3 коррелирует с аланином 153 (IMGT A45.1) и валином 191 (IMGT V101). Необязательно таким образом можно модифицировать последовательность с одного аллотипа на другой с помощью стандартных подходов клонирования. Например, изменение L191V (IMGT L101V) преобразует аллотип Km1,2 в аллотип Km3. Для дальнейшей справки касательно таких аллотипов см. Jefferis and Lefranc (2009) MAb 1(4):332-8, которая включена в настоящий документ посредством ссылки.

Следовательно, в одном варианте осуществления антитело, описанное в настоящем документе, содержит аминокислотные замены, полученные от другого человеческого аллотипа одного и того же гена. В дополнительном варианте осуществления антитело содержит замену L191V (IMGT L101V) в цепи каппа для преобразования с-домена из аллотипа km1,2 в аллотип km3.

В предпочтительном варианте осуществления, содержащем предпочтительный аллотип константного домена легкой цепи каппа, константный домен легкой цепи каппа имеет аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 330 и может быть объединен с любым переменным доменом легкой цепи, описанным в настоящем документе. В альтернативном предпочтительном варианте осуществления, содержащем предпочтительный аллотип константного домена легкой цепи лямбда, константный домен легкой цепи лямбда имеет аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 331 и может быть объединен с любым переменным доменом легкой цепи, описанным в настоящем документе.

Связывание антител

Антитело или его фрагмент могут связываться с цепью V γ 4 $\gamma\delta$ TCR с аффинностью связывания (KD), измеренной с помощью поверхностного плазмонного резонанса, менее чем $3,0 \times 10^{-7}$ М (*т. е.* 300 нМ) или менее чем $1,5 \times 10^{-7}$ М (*т. е.* 150 нМ). В дополнительном варианте осуществления KD составляет $1,3 \times 10^{-7}$ М (*т. е.* 130 нМ) или менее, например, $1,0 \times 10^{-7}$ М (*т. е.* 100 нМ) или менее. В еще одном дополнительном варианте осуществления KD составляет менее чем $6,0 \times 10^{-8}$ М (*т. е.* 60 нМ), например, менее чем $5,0 \times 10^{-8}$ М (*т. е.* 50 нМ), менее чем $4,0 \times 10^{-8}$ М (*т. е.* 40 нМ), менее чем $3,0 \times 10^{-8}$ М (*т. е.* 30 нМ) или менее чем $2,0 \times 10^{-8}$ М (*т. е.* 20 нМ). В дополнительном варианте осуществления KD может составлять $1,0 \times 10^{-8}$ М (*т. е.* 10 нМ) или менее, например, $5,0 \times 10^{-9}$ М (*т. е.* 5 нМ) или менее, $4,0 \times 10^{-9}$ М (*т. е.* 4 нМ) или менее, $3,0 \times 10^{-9}$ М (*т. е.* 3 нМ) или менее, $2,0 \times 10^{-9}$ М (*т. е.* 2 нМ) или менее или $1,0 \times 10^{-9}$ М (*т. е.* 1 нМ) или менее. Например, в одном варианте осуществления (например, человеческое) антитело к V γ 4 связывается с цепью V γ 4 $\gamma\delta$ TCR с аффинностью связывания (KD), измеренной с помощью поверхностного плазмонного резонанса, менее чем $1,5 \times 10^{-7}$ М (*т. е.* 150 нМ).

В одном варианте осуществления антитело или его фрагмент связываются с цепью V γ 4 $\gamma\delta$ TCR с аффинностью связывания (KD), измеренной с помощью поверхностного плазмонного резонанса, менее чем $4,0 \times 10^{-8}$ М (*т. е.* 40 нМ), менее чем $3,0 \times 10^{-8}$ М (*т. е.* 30 нМ) или менее чем $2,0 \times 10^{-8}$ М (*т. е.* 20 нМ).

В одном варианте осуществления аффинность связывания антитела или его фрагмента устанавливают путем нанесения антитела или его фрагмента прямо или опосредовано (*например*, путем захвата антителом против Fc IgG человека) на поверхность сенсора (*например*, аминного чипа высокой емкости или эквивалентный), причем мишень, связанная антителом или его фрагментом (*т. е.* цепь V γ 4 $\gamma\delta$ TCR), протекает над чипом для обнаружения связывания. В альтернативных вариантах осуществления антиген может быть прямо или опосредовано нанесен на поверхность сенсора, над которой затем протекают исследуемое антитело или его фрагмент. Специалист в данной области техники сможет легко определить подходящие условия теста. Например, предпочтительно прибор MASS-2 (который также может называться Sierra SPR-32) можно использовать при 25°C в ФСБ+0,02% подвижный буфер Твин 20 при 30 мкл/мин. В других подходящих вариантах осуществления прибор Reichert 4SPR можно

использовать при комнатной температуре (например, 25°C) в ФСБ+0,05% Твин 20 со скоростью потока 25 мкл/мин.

Функциональная характеристика антител

В настоящем документе описаны анализы, которые могут использоваться для определения функций антител. Например, антитело или его фрагмент, описанные в настоящем документе, можно оценивать путем вовлечения $\gamma\delta$ TCR, *например*, измерения снижения уровня $\gamma\delta$ TCR при связывании с антителом и/или повышения поверхностной экспрессии CD69 при связывании с антителом. Поверхностную экспрессию $\gamma\delta$ TCR или CD69 после применения антитела или его фрагмента (необязательно присутствующих на поверхности клетки) можно измерить, *например*, с помощью проточной цитометрии.

Антитело или его фрагмент, описанные в настоящем документе, также можно оценить путем измерения дегрануляции $\gamma\delta$ Т-клеток. Например, экспрессию CD107a, маркера дегрануляции клеток, можно измерить после применения антитела или его фрагмента (необязательно присутствующих на поверхности клетки) к $\gamma\delta$ Т-клеткам, *например*, с помощью проточной цитометрии. Антитело или его фрагмент, описанные в настоящем документе, также можно оценить путем измерения опосредованной $\gamma\delta$ Т-клетками активности уничтожения (чтобы протестировать, оказывает ли антитело эффект на активность уничтожения $\gamma\delta$ Т-клетки, т. е. способность антитела индуцировать $\gamma\delta$ Т-клетку прямо или опосредовано уничтожать клетки-мишени). Например, клетки-мишени могут инкубировать с $\gamma\delta$ Т-клетками в присутствии антитела или его фрагмента (необязательно присутствующих на поверхности клетки). После инкубации культуру могут окрашивать красителем для оценки жизнеспособности клеток, чтобы отличить живые клетки-мишени от мертвых. Долю мертвых клеток затем можно измерить, *например*, с помощью проточной цитометрии.

Как описано в настоящем документе, антитела или их фрагменты, используемые в анализах, могут присутствовать на поверхности, например, поверхности клетки, такой как клетка, содержащая Fc-рецептор. Например, антитела или их фрагменты могут присутствовать на поверхности клеток ТНР-1, таких как клетки ТІВ-202™ (доступны от Американской коллекции типовых культур (АТСС)). В качестве альтернативы, антитела или их фрагменты можно непосредственно использовать в анализах.

В таких функциональных анализах выход можно измерить путем расчета полумаксимальной концентрации, также называемой «EC50» или «эффективная концентрация при 50 процентах». Термин «IC50» относится к ингибирующей концентрации. EC50 и IC50 можно измерить с помощью способов, известных в данной области техники, таких как способы проточной цитометрии. Во избежание сомнений, значения EC50 в настоящей заявке представлены с помощью антитела, отформатированного до IgG1. Такие значения можно легко преобразовать на основании молекулярной массы формата антитела в эквивалентные значения следующим образом:

$$(\text{мкг/мл}) / (\text{мол. масса в кДа}) = \text{мкМ}$$

Миллилитры могут обозначаться «мл» в настоящем документе.

EC50 при снижении уровня $\gamma\delta$ TCR при связывании с антителом (или фрагментом) может составлять менее чем 0,5 мкг/мл, например, менее чем 0,4 мкг/мл, 0,3 мкг/мл, 0,2 мкг/мл, 0,15 мкг/мл, 0,1 мкг/мл или 0,05 мкг/мл. В частности, указанные значения EC50 имеют место тогда, когда антитело измеряют в формате IgG1. Например, значение EC50 при снижении уровня $\gamma\delta$ TCR можно измерить с помощью проточной цитометрии.

EC50 при дегрануляции $\gamma\delta$ Т-клеток при связывании с антителом (или фрагментом) может составлять менее чем 0,05 мкг/мл, например, менее чем 0,04 мкг/мл, 0,03 мкг/мл, 0,02 мкг/мл, 0,015 мкг/мл, 0,01 мкг/мл или 0,008 мкг/мл. В частности, указанные значения EC50 имеют место тогда, когда антитело измеряют в формате IgG1. Например, значение EC50 при дегрануляции $\gamma\delta$ Т-клеток можно измерить путем обнаружения экспрессии CD107a (*т. е.* маркера дегрануляции клеток) с помощью проточной цитометрии. В одном варианте осуществления экспрессию CD107a измеряют с помощью антитела к CD107a, такого как BV421 к человеческому CD107a (клон H4A3) (BD Biosciences).

EC50 при опосредованном $\gamma\delta$ Т-клетками уничтожении при связывании с антителом (или фрагментом) может составлять менее чем 0,5 мкг/мл, например, менее чем 0,4 мкг/мл, 0,3 мкг/мл, 0,2 мкг/мл, 0,15 мкг/мл, 0,1 мкг/мл или 0,07 мкг/мл. В частности, указанные значения EC50 имеют место тогда, когда антитело измеряют в формате IgG1. Например, значение EC50 при опосредованном $\gamma\delta$ Т-клетками уничтожении можно измерить путем обнаружения доли мертвых клеток (*т. е.* используя краситель для оценки жизнеспособности клеток) с помощью проточной цитометрии после инкубации антитела, $\gamma\delta$ Т-клеток и клеток-мишеней. В одном варианте осуществления гибель клеток-мишеней измеряют с помощью красителя для оценки жизнеспособности клеток Viability Dye eFluor™ 520 (ThermoFisher).

В анализах, описанных в этих аспектах, антитело или его фрагмент могут присутствовать на поверхности клетки, такой как клетка THP-1, например, TIB-202™ (ATCC). Клетки THP-1 необязательно помечены красителем, таким как CellTracker™ Orange CMTMR (ThermoFisher).

Полинуклеотиды и векторы экспрессии

Также предложены полинуклеотиды, кодирующие антитела к V γ 4 или их фрагменты, описанные в настоящем документе. В одном варианте осуществления антитело к V γ 4 или его фрагмент кодируются полинуклеотидом, который содержит или состоит из последовательности, имеющей по меньшей мере 70%, например, по меньшей мере 80%, например, по меньшей мере 90%, например, по меньшей мере 95%, например, по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 187-232. В одном варианте осуществления антитело к V γ 4 или его фрагмент кодируются вектором экспрессии, который содержит область VH из SEQ ID NO: 187-209. В другом варианте осуществления антитело к V γ 4 или его фрагмент кодируются вектором экспрессии, содержащим область VL из SEQ ID NO: 210-232. В дополнительном варианте осуществления антитело к V γ 4 или его фрагмент кодируются полинуклеотидом, который содержит или состоит из SEQ ID NO: 187-232. В дополнительном варианте осуществления

предложена кДНК, содержащая указанный полинуклеотид.

В одном варианте осуществления полинуклеотид содержит или состоит из последовательности, имеющей по меньшей мере 70%, например, по меньшей мере 80%, например, по меньшей мере 90%, например, по меньшей мере 95%, например, по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 195, 189, 199, 200, 202, 204, 208, 218, 212, 222, 223, 225, 227 или 231. В одном варианте осуществления вектор экспрессии содержит область VH из SEQ ID NO: 195, 189, 199, 200, 202, 204 или 208. В другом варианте осуществления вектор экспрессии содержит область VL из SEQ ID NO: 218, 212, 222, 223, 225, 227 или 231. В дополнительном варианте осуществления полинуклеотид содержит или состоит из SEQ ID NO: 195, 189, 199, 200, 202, 204, 208, 218, 212, 222, 223, 225, 227 или 231, в частности, SEQ ID NO: 195 и/или 218; или SEQ ID NO: 189 и/или 212. В дополнительном варианте осуществления предложена кДНК, содержащая указанный полинуклеотид.

В одном варианте осуществления полинуклеотид содержит или состоит из последовательности, имеющей по меньшей мере 70%, например, по меньшей мере 80%, например, по меньшей мере 90%, например, по меньшей мере 95%, например, по меньшей мере 99% идентичности последовательности с любой из частей SEQ ID NO: 187-232, которая кодирует CDR1, CDR2 и/или CDR3 кодируемого переменного домена цепи иммуноглобулина. В одном варианте осуществления полинуклеотид содержит или состоит из последовательности, имеющей по меньшей мере 70%, например, по меньшей мере 80%, например, по меньшей мере 90%, например, по меньшей мере 95%, например, по меньшей мере 99% идентичности последовательности с любой из частей SEQ ID NO: 195, 189, 199, 200, 202, 204, 208, 218, 212, 222, 223, 225, 227 или 231, которая кодирует CDR1, CDR2 и/или CDR3 кодируемого переменного домена цепи иммуноглобулина.

В одном варианте осуществления полинуклеотид содержит или состоит из последовательности, имеющей по меньшей мере 70%, например, по меньшей мере 80%, например, по меньшей мере 90%, например, по меньшей мере 95%, например, по меньшей мере 99% идентичности последовательности с любой из частей SEQ ID NO: 187-232, которая кодирует FR1, FR2, FR3 и/или FR4 кодируемого переменного домена цепи иммуноглобулина. В одном варианте осуществления полинуклеотид содержит или состоит из последовательности, имеющей по меньшей мере 70%, например, по меньшей мере 80%, например, по меньшей мере 90%, например, по меньшей мере 95%, например, по меньшей мере 99% идентичности последовательности с любой из частей SEQ ID NO: 195, 189, 199, 200, 202, 204, 208, 218, 212, 222, 223, 225, 227 или 231, которая кодирует FR1, FR2, FR3 и/или FR4 кодируемого переменного домена цепи иммуноглобулина.

Для экспрессии антител или их фрагментов полинуклеотиды, кодирующие частичную или полноразмерную легкую и тяжелую цепи, как описано в настоящем документе, вставляют в векторы экспрессии таким образом, что гены оперативно связаны с транскрипционными и трансляционными регуляторными последовательностями (которые можно назвать «экспрессионной кассетой», как хорошо известно в данной

области техники). Таким образом, также описан вектор экспрессии, содержащий полинуклеотидную последовательность, определенную в настоящем документе. В одном варианте осуществления вектор экспрессии содержит последовательность VH любой из SEQ ID NO: 187-209, например, любой из SEQ ID NO: 195, 189, 199, 200, 202, 204 или 208. В другом варианте осуществления вектор экспрессии содержит область VL любой из SEQ ID NO: 210-232, например, любой из SEQ ID NO: 218, 212, 222, 223, 225, 227 или 231. Такие векторы экспрессии или экспрессионные кассеты могут использоваться парами, предпочтительно спаривая переменные последовательности тяжелой и легкой цепей в соответствии со спариванием различных аминокислотных последовательностей, обеспечивая антитела, описанные в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления векторы экспрессии содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 70%, например, по меньшей мере 80%, например, по меньшей мере 90%, например, по меньшей мере 95%, например, по меньшей мере 99% идентичности последовательности или 100% идентичности с любой из SEQ ID NO: 187-209 (кодирующей переменную область тяжелой цепи), и дополнительно содержат последовательность, имеющую по меньшей мере 70%, например, по меньшей мере 80%, например, по меньшей мере 90%, например, по меньшей мере 95%, например, по меньшей мере 99% идентичности последовательности или 100% идентичности с любой из SEQ ID NO: 210-232 (кодирующей переменную область легкой цепи). Опять же, последовательности могут быть предложены в специфических парах, как описано в настоящем документе, для кодирования антител, описанных в настоящем документе.

Полинуклеотиды и векторы экспрессии также могут быть описаны в отношении кодируемой аминокислотной последовательности. Таким образом, в одном варианте осуществления полинуклеотид содержит или состоит из последовательности, кодирующей аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1-186, 233-260.

Мутации могут быть внесены в ДНК или кДНК, которые кодируют полипептиды, которые являются молчащими в отношении аминокислотной последовательности полипептида, однако которые обеспечивают предпочтительные кодоны для трансляции в конкретном хозяине. Предпочтительные кодоны для трансляции нуклеиновой кислоты в, *например*, *E. coli* и *S. cerevisiae*, а также у млекопитающего, в частности, человека, являются известными.

Мутации полипептидов могут достигаться, например, путем замен, добавлений или делеций в нуклеиновой кислоте, кодирующей полипептид. Замены, добавления или делеции в нуклеиновой кислоте, кодирующей полипептид, могут быть введены многими способами, включая, например, ПЦР сниженной точности, перетасовку, олигонуклеотид-направленный мутагенез, сборочную ПЦР, ПЦР-мутагенез, мутагенез *in vivo*, кассетный мутагенез, рекурсивный множественный мутагенез, экспоненциальный множественный мутагенез, сайт-специфический мутагенез, повторную сборку генов, синтез искусственных генов, насыщающий мутагенез участка гена (Gene Site Saturation Mutagenesis - GSSM), искусственную перестройку с лигированием (synthetic ligation

reassembly - SLR) или комбинацию этих способов. Модификации, добавления или делеции в нуклеиновой кислоте также могут быть введены способом, включающим рекомбинацию, рекомбинацию возвратной последовательности, мутагенез модифицированной фосфоротиоатом ДНК, мутагенез на урацил-содержащей матрице, мутагенез с применением дуплексной ДНК с гэпом, точечный мутагенез с исправлением ошибок спаривания, мутагенез штамма-хозяина с дефицитом репарации, химический мутагенез, радиогенный мутагенез, делеционный мутагенез, мутагенез на основе рестрикционной селекции, мутагенез на основе рестрикционной очистки, множественный мутагенез, создание мультимеров химерных нуклеиновых кислот и их комбинации.

В частности, можно использовать синтез искусственных генов. Ген, кодирующий полипептид, может быть получен синтетическим путем, например, при помощи твердофазного синтеза ДНК. Целые гены могут быть синтезированы *de novo* без необходимости в предшественнике ДНК-матрицы. Для получения желаемого олигонуклеотида структурные звенья последовательно связывают с растущей олигонуклеотидной цепью в порядке, требуемом последовательностью продукта. По завершении сборки цепи продукт высвобождают из твердой фазы в раствор, снимают защиту и собирают. Продукты могут быть выделены с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для получения желаемых олигонуклеотидов высокой чистоты.

Векторы экспрессии включают в себя, например, плазмиды, ретровирусы, космиды, дрожжевые искусственные хромосомы (YAC) и эписомы, полученные из вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ). Полинуклеотид лигируется в вектор таким образом, что транскрипционные и трансляционные регуляторные последовательности в векторе выполняют свою предусмотренную функцию регуляции транскрипции и трансляции полинуклеотида. Последовательности экспрессии и/или контроля могут включать в себя промоторы, энхансеры, терминаторы транскрипции, стартовый кодон (т. е. ATG), расположенный 5' к кодирующей последовательности, сигналы сплайсинга для интронов и стоп-кодона. Вектор экспрессии и последовательности регуляции экспрессии выбираются так, чтобы быть совместимыми с используемой клеткой-хозяином экспрессии. Таким образом, также описана нуклеотидная последовательность, кодирующая одноцепочечные переменные фрагменты согласно любой из SEQ ID NO: 163-185, содержащей область VH и область VL, соединенные посредством синтетического линкера (кодирующего SEQ ID NO: 186). Следует понимать, что полинуклеотиды или векторы экспрессии, описанные в данном документе, могут содержать область VH, область VL или и ту, и другую (необязательно включая линкер). Таким образом, полинуклеотиды, кодирующие области VH и VL, могут быть вставлены в отдельные векторы, в качестве альтернативных последовательностей, кодирующие обе области, вставляют в один и тот же вектор экспрессии. Полинуклеотид(-ы) вставляют в вектор экспрессии стандартными способами (*например*, лигированием комплементарных сайтов рестрикции на полинуклеотиде и векторе или лигированием тупого конца в случае

отсутствия сайтов рестрикции).

Удобным является вектор, который кодирует функционально полную последовательность СН или СL иммуноглобулина человека, с соответствующими сайтами рестрикции, сконструированными таким образом, чтобы можно было легко вставить и экспрессировать любую последовательность VН или V_L, как описано в настоящем документе. Вектор экспрессии может также кодировать сигнальный пептид, который облегчает секрецию антитела (или его фрагмента) из клетки-хозяина. Полинуклеотид может быть клонирован в вектор так, чтобы сигнальный пептид в рамке был связан с аминоконцом антитела. Сигнальный пептид может представлять собой сигнальный пептид иммуноглобулина или гетерологичный сигнальный пептид (*т. е.* сигнальный пептид из белка, не являющегося иммуноглобулином).

Клетка-хозяин может содержать первый вектор, кодирующий легкую цепь антитела или его фрагмента, и второй вектор, кодирующий тяжелую цепь антитела или его фрагмента. В качестве альтернативы, обе тяжелая и легкая цепи могут кодироваться на одном и том же векторе экспрессии, введенном в клетку-хозяина.

В одном варианте осуществления полинуклеотид или вектор экспрессии кодирует мембранный якорь или трансмембранный домен, слитый с антителом или его фрагментом, причем антитело или его фрагмент присутствуют на внеклеточной поверхности клетки-хозяина.

Для введения полинуклеотидов в клетку-хозяина трансформацию можно проводить любым известным методом. Способы введения гетерологичных полинуклеотидов в клетки млекопитающих хорошо известны в данной области техники и включают в себя опосредованную декстраном трансфекцию, осаждение фосфатом кальция, опосредованную полибренном трансфекцию, слияние протопластов, электропорацию, трансдукцию, инкапсулирование полинуклеотида(-ов) в липосомы, биолистическую инъекцию и прямую микроинъекцию ДНК в ядра. Кроме того, молекулы нуклеиновой кислоты могут быть введены в клетки млекопитающих посредством вирусных векторов.

Линии клеток млекопитающих, доступные в качестве хозяев для экспрессии, хорошо известны в данной области техники и включают в себя многие иммортализованные клеточные линии, доступные из Американской коллекции типовых культур (ATCC). Эти клетки включают в себя, среди прочего, клетки яичника китайского хомячка (CHO), клетки NSO, SP2, клетки HeLa, клетки почки новорожденного хомяка (BHK), клетки почки обезьяны (COS), клетки гепатоцеллюлярной карциномы человека (*например*, Hep G2), клетки A549, клетки 3T3 и ряд других клеточных линий. Клетки-хозяева млекопитающих включают в себя клетки человека, мыши, крысы, собаки, обезьяны, свиньи, козы, крупного рогатого скота, лошади и хомяка. Особенно предпочтительные клеточные линии выбирают путем определения того, какие клеточные линии обладают высокими уровнями экспрессии. Другими клеточными линиями, которые можно использовать, являются клеточные линии насекомых, такие как клетки Sf9, клетки

земноводного, бактериальные клетки, клетки растения и клетки гриба. Антигенсвязывающие фрагменты антител, такие как фрагменты scFv и Fv, могут быть выделены и экспрессированы в *E. Coli* с помощью способов, известных в данной области техники.

Антитела получают путем культивирования клеток-хозяев в течение периода времени, достаточного для обеспечения возможности экспрессии антитела в клетках-хозяевах или более предпочтительно секреции антитела в культуральную среду, в которой выращивают клетки-хозяева. Антитела могут быть выделены из культуральной среды с использованием стандартных методов очистки белка.

Антитела (или фрагменты), описанные в настоящем документе, можно получать и подвергать манипуляции с помощью методов, описанных, например, в Green and Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2012) 4th Edition Cold Spring Harbour Laboratory Press.

Моноклональные антитела могут быть получены с использованием гибридной технологии путем слияния В-клетки, продуцирующей специфические антитела, с клеткой миеломы (В-клеточный рак), выбранной по способности расти в культуре тканей и отсутствию синтеза цепей антител.

Моноклональное антитело, направленное против определенного антигена, можно, например, получить путем:

а) иммортализации лимфоцитов, полученных из периферической крови животного, ранее иммунизированного определенным антигеном, с помощью иммортализованной клетки и предпочтительно клеток миеломы с целью образования гибридомы,

б) культивирования полученных иммортализованных клеток (гибридомы) и выделения клеток, продуцирующих антитела, имеющие желаемую специфичность.

В качестве альтернативы, использование клетки гибридомы не требуется. Антитела, способные связываться с антигенами-мишенями, как описано в настоящем документе, могут быть выделены из подходящей библиотеки антител путем стандартной практики, например, используя технологии фагового дисплея, дрожжевого дисплея, рибосомного дисплея или дисплея на клетках млекопитающих, известные в данной области техники. Соответственно, моноклональные антитела могут быть получены, например, в результате процесса, включающего следующие этапы:

а) клонирование в векторы, особенно в фаги и, в частности, в нитчатые бактериофаги, последовательности ДНК или кДНК, полученные из лимфоцитов, особенно лимфоцитов периферической крови животного (предпочтительно предварительно иммунизированных определенными антигенами),

б) трансформация прокариотических клеток указанными выше векторами в условиях, позволяющих продуцировать антитела,

с) селекция антител путем их отбора по аффинности к антигену,

д) выделение антител, имеющих желаемую специфичность.

Фармацевтические композиции

В соответствии с дополнительным аспектом изобретения предложена композиция, содержащая популяцию V γ 4 Т-клеток, полученную с помощью способа, определенного в настоящем документе. В одном варианте осуществления популяция V γ 4 Т-клеток представляет собой размноженную популяцию V γ 4 Т-клеток. В таких вариантах осуществления композиция может содержать клетки необязательно в комбинации с другими вспомогательными веществами. Также включены композиции, содержащие один или более дополнительных активных агентов (например, активных агентов, пригодных для лечения заболеваний, упомянутых в настоящем документе).

Фармацевтические композиции могут включать в себя V γ 4 Т-клетки, в частности, размноженные V γ 4 Т-клетки, описанные в настоящем документе, в комбинации с одним или более фармацевтически или физиологически приемлемыми носителями, разбавителями или вспомогательными веществами. Такие композиции могут включать в себя буферы, такие как нейтральный забуференный физиологический раствор, фосфатно-солевой буфер и т.п.; углеводороды, такие как глюкоза, манноза, сахароза или декстраны, маннит; белки; полипептиды или аминокислоты, такие как глицин; антиоксиданты; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА или глутатион; адъюванты (*например*, гидроксид алюминия) и консерванты. Растворы для криоконсервации, которые можно применять в фармацевтических композициях по изобретению, включают в себя, например, ДМСО. Композиции могут быть составлены, *например*, для внутривенного введения.

В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция по существу не содержит, *например*, отсутствуют обнаруживаемые уровни контаминанта, *например*, эндотоксина или микоплазмы.

Предпочтительным способом введения является парентеральный (*например*, внутривенный, подкожный, внутрибрюшинный, внутримышечный, интратекальный). В предпочтительном варианте осуществления композицию вводят путем внутривенной инфузии или инъекции. В другом предпочтительном варианте осуществления композицию вводят путем внутримышечной или подкожной инъекции.

В пределах объема изобретения находится применение фармацевтической композиции по изобретению в терапевтических способах для лечения заболеваний, как описано в настоящем документе, в качестве дополнения или в сочетании с другими установленными терапиями, обычно применяемыми для лечения таких заболеваний.

В дополнительном аспекте изобретения популяцию клеток, композицию или фармацевтическую композицию вводят последовательно, одновременно или отдельно с по меньшей мере одним активным агентом.

Способы лечения с помощью популяций клеток

В соответствии с дополнительным аспектом изобретения предложена популяция клеток, полученная способом, определенным в настоящем документе, для применения в качестве лекарственного препарата. В соответствии с дополнительным аспектом изобретения предложена размноженная популяция клеток, определенная в настоящем документе, для применения в качестве лекарственного препарата. Ссылки в настоящем

документе на популяцию клеток «для применения» в качестве лекарственного препарата или при терапии ограничены введением популяции клеток субъекту. Такое применение не включает в себя введение антитела или его фрагмента непосредственно пациенту, т. е. когда указанное антитело применяется в качестве терапевтического средства.

В одном варианте осуществления популяция клеток применяется при лечении рака, инфекционного заболевания или воспалительного заболевания. В дополнительном варианте осуществления популяция клеток применяется при лечении рака.

В одном варианте осуществления популяция клеток, применяемая в качестве лекарственного препарата, содержит более чем 50% V γ 4 Т-клеток, например, более чем 60%, более чем 70%, более чем 80%, более чем 90%, более чем 95% или более чем 99% V γ 4 Т-клеток. В дополнительном варианте осуществления популяция клеток, применяемая в качестве лекарственного препарата, состоит из V γ 4 Т-клеток.

В соответствии с дополнительным аспектом изобретения предложена фармацевтическая композиция, содержащая популяцию клеток, определенную в настоящем документе, для применения в качестве лекарственного препарата. В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция, содержащая популяцию клеток, применяется в терапии, в частности, при лечении рака, инфекционного заболевания или воспалительного заболевания. В дополнительном варианте осуществления фармацевтическая композиция, содержащая популяцию клеток, применяется при лечении рака.

В соответствии с дополнительным аспектом изобретения предложен способ модуляции иммунного ответа у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение терапевтически эффективного количества популяции клеток, как определено в настоящем документе.

В соответствии с дополнительным аспектом изобретения предложен способ лечения рака, инфекционного заболевания или воспалительного заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение терапевтически эффективного количества популяции клеток, как определено в настоящем документе. В качестве альтернативы, вводят терапевтически эффективное количество фармацевтической композиции, содержащей популяцию клеток.

В соответствии с дополнительными аспектами изобретения предложено применение популяции клеток, определенной в настоящем документе, для производства лекарственного препарата, например, для лечения рака, инфекционного заболевания или воспалительного заболевания.

Адоптивная Т-клеточная терапия

Гамма-дельта Т-клетки, полученные способами размножения по изобретению, можно использовать в качестве лекарственного препарата, например, для адоптивной Т-клеточной терапии. Это предполагает перенос $\gamma\delta$ Т-клеток пациенту. Терапия может быть аутологичной, т. е. $\gamma\delta$ Т-клетки могут переносить назад тому же пациенту, от которого они были получены, или же терапия может быть аллогенной, т. е. $\gamma\delta$ Т-клетки от одного

человека могут переносить другому пациенту. В случаях, предполагающих аллогенный перенос, $\gamma\delta$ Т-клетки могут по существу не содержать $\alpha\beta$ Т-клетки. Например, $\alpha\beta$ Т-клетки могут быть удалены из популяции $\gamma\delta$ Т-клеток, *например*, после размножения, используя любой подходящий способ, известный в данной области техники (*например*, отрицательную селекцию, *например*, с использованием магнитных гранул). Способ лечения может включать: обеспечение образца (*например*, образца негематопэтической ткани), полученного от донора; культивирование $\gamma\delta$ Т-клеток, полученных из образца, как описано в настоящем документе, *например*, для получения размноженной популяции; и введение популяции $\gamma\delta$ Т-клеток реципиенту.

Пациент или субъект, подлежащий лечению, предпочтительно является пациентом-человеком с раковым заболеванием (*например*, пациентом-человеком с раковым заболеванием, проходящим лечение солидной опухоли) или инфицированным вирусом пациентом (*например*, инфицированный CMV или ВИЧ пациент). В некоторых случаях пациент имеет солидную опухоль и/или проходит ее лечение. Поскольку V γ 4 Т-клетки обычно присущи негематопэтическим тканям, присущие тканям V γ 4 Т-клетки также более склонны локализоваться и удерживаться в опухолевых массах, чем их системные присущие крови аналоги, и адоптивный перенос этих клеток, вероятно, является более эффективным при нацеливании на солидные опухоли и потенциально на другие иммунопатологии, ассоциированные с негематопэтическими тканями.

Поскольку $\gamma\delta$ Т-клетки не являются МНС-ограниченными, они не распознают хозяина, в которого их переносят, как чужеродного, что означает, что они с меньшей вероятностью будут вызывать болезнь «трансплантат против хозяина». Это означает, что их можно использовать «готовыми» и переносить любому реципиенту, *например*, для аллогенной адоптивной Т-клеточной терапии.

$\gamma\delta$ Т-клетки, полученные способами, описанными в настоящем документе, могут экспрессировать NKG2D и отвечать на лиганд NKG2D (*например*, MICА), который тесно связан со злокачественным новообразованием. Они также могут экспрессировать цитотоксический профиль в отсутствие какой-либо активации и, таким образом, вероятно, являются эффективными при уничтожении опухолевых клеток. Например, $\gamma\delta$ Т-клетки, полученные, как описано в настоящем документе, могут экспрессировать один или более, предпочтительно все из IFN- γ , ФНО- α , ГМ-КСФ, CCL4, IL-13, гранулезина, гранзима А и В и перфорины в отсутствие какой-либо активации. IL-17А может не экспрессироваться.

В некоторых вариантах осуществления способ лечения индивида с опухолью может включать: обеспечение образца указанной опухоли, полученного от донора; культивирование $\gamma\delta$ Т-клеток, полученных из образца, как описано выше; и введение популяции $\gamma\delta$ Т-клеток индивиду с опухолью. В дополнительном варианте осуществления способ лечения индивида с опухолью в негематопэтической ткани может включать: обеспечение образца указанной негематопэтической ткани, полученного от донора; культивирование $\gamma\delta$ Т-клеток, полученных из образца, как описано выше; и введение популяции $\gamma\delta$ Т-клеток индивиду с опухолью.

В некоторых случаях терапевтически эффективное количество $\gamma\delta$ Т-клеток, полученных любым из способов, описанных выше, можно вводить в терапевтически эффективном количестве субъекту (*например*, для лечения рака, *например*, для лечения солидной опухоли). В некоторых случаях терапевтически эффективное количество $\gamma\delta$ Т-клеток (*например*, $V\gamma 4$ Т-клеток) составляет менее 10×10^{12} клеток на дозу (*например*, менее 9×10^{12} клеток на дозу, менее 8×10^{12} клеток на дозу, менее 7×10^{12} клеток на дозу, менее 6×10^{12} клеток на дозу, менее 5×10^{12} клеток на дозу, менее 4×10^{12} клеток на дозу, менее 3×10^{12} клеток на дозу, менее 2×10^{12} клеток на дозу, менее 1×10^{12} клеток на дозу, менее 9×10^{11} клеток на дозу, менее 8×10^{11} клеток на дозу, менее 7×10^{11} клеток на дозу, менее 6×10^{11} клеток на дозу, менее 5×10^{11} клеток на дозу, менее 4×10^{11} клеток на дозу, менее 3×10^{11} клеток на дозу, менее 2×10^{11} клеток на дозу, менее 1×10^{11} клеток на дозу, менее 9×10^{10} клеток на дозу, менее $7,5 \times 10^{10}$ клеток на дозу, менее 5×10^{10} клеток на дозу, менее $2,5 \times 10^{10}$ клеток на дозу, менее 1×10^{10} клеток на дозу, менее $7,5 \times 10^9$ клеток на дозу, менее 5×10^9 клеток на дозу, менее $2,5 \times 10^9$ клеток на дозу, менее 1×10^9 клеток на дозу, менее $7,5 \times 10^8$ клеток на дозу, менее 5×10^8 клеток на дозу, менее $2,5 \times 10^8$ клеток на дозу, менее 1×10^8 клеток на дозу, менее $7,5 \times 10^7$ клеток на дозу, менее 5×10^7 клеток на дозу, менее $2,5 \times 10^7$ клеток на дозу, менее 1×10^7 клеток на дозу, менее $7,5 \times 10^6$ клеток на дозу, менее 5×10^6 клеток на дозу, менее $2,5 \times 10^6$ клеток на дозу, менее 1×10^6 клеток на дозу, менее $7,5 \times 10^5$ клеток на дозу, менее 5×10^5 клеток на дозу, менее $2,5 \times 10^5$ клеток на дозу или менее 1×10^5 клеток на дозу).

В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество $\gamma\delta$ Т-клеток (*например*, $V\gamma 4$ Т-клеток) составляет менее 10×10^{12} клеток в течение курса лечения (*например*, менее 9×10^{12} клеток, менее 8×10^{12} клеток, менее 7×10^{12} клеток, менее 6×10^{12} клеток, менее 5×10^{12} клеток, менее 4×10^{12} клеток, менее 3×10^{12} клеток, менее 2×10^{12} клеток, менее 1×10^{12} клеток, менее 9×10^{11} клеток, менее 8×10^{11} клеток, менее 7×10^{11} клеток, менее 6×10^{11} клеток, менее 5×10^{11} клеток, менее 4×10^{11} клеток, менее 3×10^{11} клеток, менее 2×10^{11} клеток, менее 1×10^{11} клеток, менее 9×10^{10} клеток, менее $7,5 \times 10^{10}$ клеток, менее 5×10^{10} клеток, менее $2,5 \times 10^{10}$ клеток, менее 1×10^{10} клеток, менее $7,5 \times 10^9$ клеток, менее 5×10^9 клеток, менее $2,5 \times 10^9$ клеток, менее 1×10^9 клеток, менее $7,5 \times 10^8$ клеток, менее 5×10^8 клеток, менее $2,5 \times 10^8$ клеток, менее 1×10^8 клеток, менее $7,5 \times 10^7$ клеток, менее 5×10^7 клеток, менее $2,5 \times 10^7$ клеток, менее 1×10^7 клеток, менее $7,5 \times 10^6$ клеток, менее 5×10^6 клеток, менее $2,5 \times 10^6$ клеток, менее 1×10^6 клеток, менее $7,5 \times 10^5$ клеток, менее 5×10^5 клеток, менее $2,5 \times 10^5$ клеток или менее 1×10^5 клеток в течение курса лечения).

В некоторых вариантах осуществления доза $\gamma\delta$ Т-клеток (*например*, $V\gamma 4$ Т-клеток), как описано в настоящем документе, составляет около 1×10^6 , $1,1 \times 10^6$, 2×10^6 , $3,6 \times 10^6$, 5×10^6 , 1×10^7 , $1,8 \times 10^7$, 2×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 2×10^8 или 5×10^8 клеток/кг. В некоторых вариантах осуществления доза $\gamma\delta$ Т-клеток (*например*, $V\gamma 4$ Т-клеток) составляет до около 1×10^6 , $1,1 \times 10^6$, 2×10^6 , $3,6 \times 10^6$, 5×10^6 , 1×10^7 , $1,8 \times 10^7$, 2×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 2×10^8 или 5×10^8 клеток/кг. В некоторых вариантах осуществления доза $\gamma\delta$ Т-клеток (*например*, $V\gamma 4$ Т-

клеток) составляет около $1,1 \times 10^6$ - $1,8 \times 10^7$ клеток/кг. В некоторых вариантах осуществления доза $\gamma\delta$ Т-клеток (*например*, V γ 4 Т-клеток) составляет около 1×10^7 , 2×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 2×10^8 , 5×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 или 5×10^9 клеток. В некоторых вариантах осуществления доза $\gamma\delta$ Т-клеток (*например*, V γ 4 Т-клеток) составляет по меньшей мере около 1×10^7 , 2×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 2×10^8 , 5×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 или 5×10^9 клеток. В некоторых вариантах осуществления доза $\gamma\delta$ Т-клеток (*например*, V γ 4 Т-клеток) составляет до около 1×10^7 , 2×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 2×10^8 , 5×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 или 5×10^9 клеток.

В одном варианте осуществления субъекту вводят от 10^4 до 10^6 $\gamma\delta$ Т-клеток (*например*, V γ 4 Т-клеток) на кг массы тела субъекта. В одном варианте осуществления субъект получает первоначальное введение популяции $\gamma\delta$ Т-клеток (*например*, первоначальное введение от 10^4 до 10^6 $\gamma\delta$ Т-клеток на кг массы тела субъекта, *например*, от 10^4 до 10^5 $\gamma\delta$ Т-клеток на кг массы тела субъекта) и одно или более (*например*, 2, 3, 4 или 5) последующих введений $\gamma\delta$ Т-клеток (*например*, одно или более последующих введений от 10^4 до 10^6 $\gamma\delta$ Т-клеток на кг массы тела субъекта, *например*, от 10^4 до 10^5 $\gamma\delta$ Т-клеток на кг массы тела субъекта). В одном варианте осуществления одно или более последующих введений осуществляют менее чем через 15 дней, *например*, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 дня после предыдущего введения, *например*, менее чем через 4, 3 или 2 дня после предыдущего введения. В одном варианте осуществления субъект получает всего около 10^6 $\gamma\delta$ Т-клеток на кг массы тела субъекта в течение курса из по меньшей мере трех введений популяции $\gamma\delta$ Т-клеток, *например*, субъект получает первоначальную дозу 1×10^5 $\gamma\delta$ Т-клеток, второе введение 3×10^5 $\gamma\delta$ Т-клеток и третье введение 6×10^5 $\gamma\delta$ Т-клеток, и, *например*, каждое введение осуществляют менее чем через 4, 3 или 2 дня после предыдущего введения.

В некоторых вариантах осуществления субъекту можно вводить один или более дополнительных терапевтических агентов. Дополнительный терапевтический агент может быть выбран из группы, состоящей из иммунотерапевтического агента, цитотоксического агента, агента, подавляющего рост, агента лучевой терапии, антиангиогенного агента или комбинации двух или более из них. Дополнительный терапевтический агент можно вводить одновременно, до или после введения $\gamma\delta$ Т-клеток. Дополнительный терапевтический агент может представлять собой иммунотерапевтический агент, который может действовать на мишень в организме субъекта (*например*, на собственную иммунную систему субъекта) и/или на перенесенные $\gamma\delta$ Т-клетки.

Введение композиций можно осуществлять любым удобным способом. Композиции, описанные в настоящем документе, можно вводить пациенту трансартериально, подкожно, внутрикожно, интритопухолево, интранодально, интрамедуллярно, внутримышечно, путем внутривенной инъекции или внутрибрюшинно, *например*, путем внутрикожной или подкожной инъекции. Композиции $\gamma\delta$ Т-клеток могут инъектировать непосредственно в опухоль, лимфатический узел или в область инфекции.

Генная инженерия

$\gamma\delta$ Т-клетки, полученные способом по изобретению, могут также быть генетически

сконструированы для усиления терапевтических свойств, таких как терапия Т-клетками с химерным антигенным рецептором (CAR-T). Это предполагает получение сконструированных Т-клеточных рецепторов (TCR) для перепрограммирования Т-клетки новой специфичностью, *например*, специфичностью моноклонального антитела. Сконструированные TCR могут сделать Т-клетки специфичными в отношении злокачественных клеток и тем самым пригодными для иммунотерапии рака. Например, Т-клетки могут распознавать раковые клетки, экспрессирующие опухолевый антиген, такой как опухолеассоциированный антиген, который не экспрессируется нормальными соматическими клетками из ткани субъекта. Таким образом, CAR-модифицированные Т-клетки можно использовать для адоптивной Т-клеточной терапии, например, пациентов с раковым заболеванием.

Другие применения антител или их фрагментов

В соответствии с дополнительным аспектом изобретения предложено применение антитела к V γ 4 или его фрагмента, как описано в настоящем документе, для изучения распознавания антигена, активации, передачи сигналов или функции $\gamma\delta$ Т-клеток (в частности Т-клеток V γ 4). Как описано в настоящем документе, антитела продемонстрировали активность в анализах, которые можно использовать для исследования функции $\gamma\delta$ Т-клеток. Такие антитела также могут быть пригодны для индуцирования пролиферации $\gamma\delta$ Т-клеток, таким образом, они могут использоваться в способах размножения $\gamma\delta$ Т-клеток (например, Т-клеток V γ 4).

Антитела, которые связываются с цепью V γ 4, могут использоваться для обнаружения $\gamma\delta$ Т-клеток. Например, антитела могут быть мечены обнаруживаемой меткой или репортерной молекулой или использоваться в качестве захватывающего лиганда для избирательного обнаружения и/или выделения Т-клеток V γ 4 в образце. Меченные антитела находят применение во многих способах, известных в данной области техники, например, иммуногистохимии и ИФА.

Обнаруживаемая метка или репортерная молекула могут представлять собой радиоизотоп, такой как ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S или ^{125}I ; флуоресцентный или хемилюминесцентный фрагмент, такой как изотиоцианат флуоресцеина или родамин; или фермент, такой как щелочная фосфатаза, β -галактозидаза, пероксидаза хрена или люцифераза. Флуоресцентные метки, применяемые к антителам по изобретению, можно затем использовать в методах сортировки клеток с активацией флуоресценцией (FACS).

Следует понимать, что все варианты осуществления, описанные в данном документе, могут быть применены ко всем аспектам настоящего изобретения.

ПУНКТЫ

Набор пунктов, определяющих изобретение и его предпочтительные аспекты, является следующим:

1. Способ *ex vivo* модуляции Т-клеток с вариабельной гамма-цепью 4 подтипа (V γ 4), включающий введение антитела или его фрагмента, которые специфически связываются с цепью V γ 4 $\gamma\delta$ Т-клеточного рецептора (TCR), а не с вариабельной гамма-

цепью 2 подтипа (V γ 2) $\gamma\delta$ TCR, в популяцию клеток, содержащую V γ 4 T-клетки.

2. Способ по п. 1, в котором цепь V γ 4 $\gamma\delta$ TCR представляет собой V γ 4 человека, а цепь V γ 2 $\gamma\delta$ TCR представляет собой V γ 2 человека.

3. Способ по п. 1 или 2, в котором антитело или его фрагмент связываются с эпитопом цепи V γ 4 $\gamma\delta$ TCR, содержащим один или более аминокислотных остатков в пределах области аминокислот 67-82 из SEQ ID NO: 1.

4. Способ по любому из пп. 1-3, в котором антитело или его фрагмент связываются с эпитопом цепи V γ 4 $\gamma\delta$ TCR, содержащим один или более аминокислотных остатков в пределах области аминокислот 71-79 из SEQ ID NO: 1.

5. Способ по п. 4, в котором эпитоп содержит по меньшей мере один из аминокислотных остатков 71, 73, 75, 76, 79 из SEQ ID NO: 1.

6. Способ по любому из пп. 1-5, в котором эпитоп состоит из одного или более аминокислотных остатков в пределах области аминокислот 67-82 из SEQ ID NO: 1.

7. Способ по любому из пп. 1-6, в котором эпитоп содержит или состоит из K76 и/или M80 из SEQ ID NO: 1.

8. Способ по любому из пп. 1-7, в котором эпитоп представляет собой активирующий эпитоп $\gamma\delta$ T-клетки.

9. Способ по п. 8, в котором связывание активирующего эпитопа: (i) снижает уровень $\gamma\delta$ TCR; (ii) активирует дегрануляцию $\gamma\delta$ T-клетки; (iii) активирует опосредованное $\gamma\delta$ T-клетками уничтожение и/или (iv) активирует или повышает опосредованную цепью V γ 4 клеточную передачу сигналов.

10. Способ по любому из пп. 1-9, в котором антитело или его фрагмент связываются только с эпитопом в области V цепи V γ 4 $\gamma\delta$ TCR.

11. Способ по любому из пп. 1-10, в котором антитело или его фрагмент не связываются с эпитопом, обнаруживаемом в CDR3 цепи V γ 4 $\gamma\delta$ TCR.

12. Способ *ex vivo* модуляции T-клеток с вариабельной гамма-цепью 4 подтипа (V γ 4), включающий введение антитела к V γ 4 или его фрагмента, которые содержат одно или более из:

CDR3, содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 2-47, предпочтительно с SEQ ID NO: 10 и/или 33;

CDR2, содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 48-70 и последовательностями: A1-A23 (на Фиг. 1), предпочтительно с SEQ ID NO: 56 и/или последовательностью A9; и/или

CDR1, содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 71-116, предпочтительно с SEQ ID NO: 79 и/или 102,

в популяцию клеток, содержащую V γ 4 T-клетки.

13. Способ по п. 12, в котором антитело или его фрагмент содержат область VH,

содержащую CDR3, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 2-24, например, SEQ ID NO: 10, 4, 14, 15, 17, 19 или 23.

14. Способ по п. 12 или п. 13, в котором антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую CDR2, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 48-70, например, SEQ ID NO: 56, 50, 60, 61, 63, 65 или 69.

15. Способ по любому из пп. 12-14, в котором антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую CDR1, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 71-93, например, SEQ ID NO: 79, 73, 83, 84, 86, 88 или 92.

16. Способ по любому из пп. 12-15, в котором антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую CDR3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 10, CDR2, содержащую последовательность SEQ ID NO: 56, и CDR1, содержащую последовательность SEQ ID NO: 79.

17. Способ по любому из пп. 12-15, в котором антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую CDR3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 4, CDR2, содержащую последовательность SEQ ID NO: 50, и CDR1, содержащую последовательность SEQ ID NO: 73.

18. Способ по любому из пп. 12-15, в котором антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую CDR3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 14, CDR2, содержащую последовательность SEQ ID NO: 60, и CDR1, содержащую последовательность SEQ ID NO: 83.

19. Способ по любому из пп. 12-15, в котором антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую CDR3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 15, CDR2, содержащую последовательность SEQ ID NO: 61, и CDR1, содержащую последовательность SEQ ID NO: 84.

20. Способ по любому из пп. 12-15, в котором антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую CDR3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 17, CDR2, содержащую последовательность SEQ ID NO: 63, и CDR1, содержащую последовательность SEQ ID NO: 86.

21. Способ по любому из пп. 12-15, в котором антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую CDR3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 19, CDR2, содержащую последовательность SEQ ID NO: 65, и CDR1, содержащую последовательность SEQ ID NO: 88.

22. Способ по любому из пп. 12-15, в котором антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую CDR3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 23, CDR2, содержащую последовательность SEQ ID NO: 69, и CDR1, содержащую последовательность SEQ ID NO: 92.

23. Способ по любому из пп. 12-22, в котором антитело или его фрагмент содержат

область VL, содержащую CDR3, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 25-47, например, SEQ ID NO: 33, 27, 37, 38, 40, 42 или 46.

24. Способ по любому из пп. 12-23, в котором антитело или его фрагмент содержат область VL, содержащую CDR2, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из последовательностей: A1-A23 (на Фиг. 1), например, последовательностей: A9, A3, A13, A14, A16, A18 или A22.

25. Способ по любому из пп. 12-26, в котором антитело или его фрагмент содержат область VL, содержащую CDR1, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 94-116, например, SEQ ID NO: 102, 96, 106, 107, 109, 111 или 115.

26. Способ по любому из пп. 12-25, в котором антитело или его фрагмент содержат область VL, содержащую CDR3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 33, CDR2, содержащую последовательность SEQUENCE: A9, и CDR1, содержащую последовательность SEQ ID NO: 102.

27. Способ по любому из пп. 12-25, в котором антитело или его фрагмент содержат область VL, содержащую CDR3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 27, CDR2, содержащую последовательность SEQUENCE: A3, и CDR1, содержащую последовательность SEQ ID NO: 96.

28. Способ по любому из пп. 12-25, в котором антитело или его фрагмент содержат область VL, содержащую CDR3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 37, CDR2, содержащую последовательность SEQUENCE: A13, и CDR1, содержащую последовательность SEQ ID NO: 106.

29. Способ по любому из пп. 12-25, в котором антитело или его фрагмент содержат область VL, содержащую CDR3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 38, CDR2, содержащую последовательность SEQUENCE: A14, и CDR1, содержащую последовательность SEQ ID NO: 107.

30. Способ по любому из пп. 12-25, в котором антитело или его фрагмент содержат область VL, содержащую CDR3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 40, CDR2, содержащую последовательность SEQUENCE: A16, и CDR1, содержащую последовательность SEQ ID NO: 109.

31. Способ по любому из пп. 12-25, в котором антитело или его фрагмент содержат область VL, содержащую CDR3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 42, CDR2, содержащую последовательность SEQUENCE: A18, и CDR1, содержащую последовательность SEQ ID NO: 111.

32. Способ по любому из пп. 12-25, в котором антитело или его фрагмент содержат область VL, содержащую CDR3, содержащую последовательность SEQ ID NO: 46, CDR2, содержащую последовательность SEQUENCE: A23, и CDR1, содержащую последовательность SEQ ID NO: 115.

33. Способ *ex vivo* модуляции Т-клеток с вариабельной гамма-цепью 4 подтипа

(V γ 4), включающий введение антитела к V γ 4 или его фрагмента, которые содержат аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 117-162 или 261-283, в популяцию клеток, содержащую V γ 4 Т-клетки.

34. Способ по п. 33, в котором антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 117-139.

35. Способ по п. 34, в котором область VH содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 125, 119, 129, 130, 132, 134 или 138.

36. Способ по любому из пп. 33-35, в котором антитело или его фрагмент содержат область VL, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 140-162 или 261-283.

37. Способ по п. 36, в котором область VL содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из:

(a) SEQ ID NO: 148, 142, 152, 153, 155, 157 или 161; или

(b) SEQ ID NO: 269, 263, 273, 274, 276, 278 или 282.

38. Способ по любому из пп. 33-37, в котором антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 125, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 148 или 269.

39. Способ по любому из пп. 33-37, в котором антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 119, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 142 или 263.

40. Способ по любому из пп. 33-37, в котором антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 152 или 273.

41. Способ по любому из пп. 33-37, в котором антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 130, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 153 или 274.

42. Способ по любому из пп. 33-37, в котором антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 132, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155 или 276.

43. Способ по любому из пп. 33-37, в котором антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 134, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157 или 278.

44. Способ по любому из пп. 33-37, в котором антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 138, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 161 или 282.

45. Способ ex vivo модуляции Т-клеток с вариабельной гамма-цепью 4 подтипа

(V γ 4), включающий введение антитела к V γ 4 или его фрагмента, содержащих одно или более из:

(a) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 79, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 56, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 10, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 125; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 102, LCDR2, имеющую последовательность A9 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 33, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 148 или 269;

(b) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 86, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 63, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 17, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 132; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 109, LCDR2, имеющую последовательность A16 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 40, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 155 или 276;

(c) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 73, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 50, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 4, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 119; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 96, LCDR2, имеющую последовательность A3 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 27, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 142 или 263;

(d) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 83, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 60, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 14, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 129; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 106, LCDR2, имеющую последовательность A13 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 37, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 152 или 273;

(e) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 84, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 61, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 15, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 130; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 107, LCDR2, имеющую последовательность A14 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 38, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 153 или 274;

(f) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 88, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 65, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 19, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 134; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 111, LCDR2, имеющую последовательность A18 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 42, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 157 или 278;

(g) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 92, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 69, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 23, причем необязательно VH содержит SEQ ID

NO: 138; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 115, LCDR2, имеющую последовательность A22 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 46, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 161 или 282;

(h) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 71, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 48, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 2, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 117; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 94, LCDR2, имеющую последовательность A1 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 25, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 140 или 261;

(i) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 72, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 49, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 3, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 118; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 95, LCDR2, имеющую последовательность A2 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 26, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 141 или 262;

(j) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 74, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 51, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 5, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 120; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 97, LCDR2, имеющую последовательность A4 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 28, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 143 или 264;

(k) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 75, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 52, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 6, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 121; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 98, LCDR2, имеющую последовательность A5 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 29, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 144 или 265;

(l) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 76, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 53, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 7, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 122; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 99, LCDR2, имеющую последовательность A6 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 30, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 145 или 266;

(m) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 77, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 54, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 8, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 123; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 100, LCDR2, имеющую последовательность A7 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 31, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 146 или 267;

(n) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 78, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 55, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 9, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 124; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 101, LCDR2, имеющую последовательность A8 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 32, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 147 или 268;

(o) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 80, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 57, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 11, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 126; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 103, LCDR2, имеющую последовательность A10 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 34, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 149 или 270;

(p) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 81, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 58, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 12, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 127; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 104, LCDR2, имеющую последовательность A11 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 35, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 150 или 271;

(q) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 82, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 59, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 13, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 128; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 105, LCDR2, имеющую последовательность A12 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 36, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 151 или 272;

(r) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 85, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 62, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 16, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 131; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 108, LCDR2, имеющую последовательность A15 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 39, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 154 или 275;

(s) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 87, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 64, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 18, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 133; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 110, LCDR2, имеющую последовательность A17 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 41, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 156 или 277;

(t) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 89, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 66, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 20, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 135; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 112, LCDR2, имеющую

последовательность A19 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 43, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 158 или 279;

(u) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 90, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 67, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 21, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 136; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 113, LCDR2, имеющую последовательность A20 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 44, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 159 или 280;

(v) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 91, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 68, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 22, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 137; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 114, LCDR2, имеющую последовательность A21 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 45, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 160 или 281;

и/или

(w) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 93, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 70, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 24, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 139; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 116, LCDR2, имеющую последовательность A23 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 47, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 162 или 283,

в популяцию клеток, содержащую V γ 4 T-клетки.

46. Способ по любому из пп. 33-45, в которых области VH и VL соединены линкером, таким как полипептидный линкер.

47. Способ по п. 46, в которых линкер имеет формат (Gly4Ser) $_n$, где n =от 1 до 8.

48. Способ по п. 46 или 47, в котором линкер содержит SEQ ID NO: 186.

49. Способ по п. 48, в котором линкер состоит из SEQ ID NO: 186.

50. Способ *ex vivo* модуляции T-клеток с вариабельной гамма-цепью 4 подтипа (V γ 4), включающий введение антитела к V γ 4 или его фрагмента, которые содержат аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 163-185, в популяцию клеток, содержащую V γ 4 T-клетки.

51. Способ по п. 50, в котором антитело или его фрагмент содержат аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 163-185.

52. Способ по п. 50 или п. 51, в котором антитело или его фрагмент содержат SEQ ID NO: 171, 165, 175, 176, 178, 180 или 184.

53. Способ *ex vivo* модуляции T-клеток с вариабельной гамма-цепью 4 подтипа (V γ 4), включающий введение антитела к V γ 4 или его фрагмента, которые содержат аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 233-255, в популяцию клеток, содержащую

V γ 4 Т-клетки.

54. Способ по п. 53, который включает аминокислотную последовательность из любой из SEQ ID NO: 233-255.

55. Способ по п. 53 или п. 54, который включает SEQ ID NO: 235, 241, 245, 246 или 254.

56. Способ *ex vivo* модуляции Т-клеток с вариабельной гамма-цепью 4 подтипа (V γ 4), включающий введение антитела к V γ 4 или его фрагмента, содержащих аминокислотную последовательность тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 284-306, и/или аминокислотную последовательность легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 307-329, в популяцию клеток, содержащую V γ 4 Т-клетки.

57. Способ по п. 56, включающий аминокислотную последовательность тяжелой цепи, содержащую любую из SEQ ID NO: 284-306, и/или аминокислотную последовательность легкой цепи, содержащую любую из SEQ ID NO: 307-329.

58. Способ по любому из пп. 1-11, в котором антитело к V γ 4 или его фрагмент связываются с одним и тем же, или по существу одним и тем же, эпитопом, что и антитело или его фрагмент, или конкурируют с ними по любому из пп. 12-57.

59. Способ по любому из пп. 1-58, в котором антитело или его фрагмент представляют собой scFv, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, вариабельный домен (например, VH или VL), диатело, минитело или полноразмерное антитело.

60. Способ по п. 59, в котором антитело или его фрагмент представляют собой scFv или полноразмерное антитело.

61. Способ по п. 60, в котором антитело или его фрагмент представляют собой полноразмерное антитело, такое как антитело IgG1.

62. Способ по любому из пп. 1-61, в котором антитело или его фрагмент являются человеческими.

63. Способ по любому из пп. 1-62, в котором модуляция включает размножение V γ 4 Т-клеток.

64. Способ по п. 63, причем способ обеспечивает размноженную популяцию V γ 4 Т-клеток, которая содержит более чем около 60% V γ 4 Т-клеток, например, более чем около 70% V γ 4 Т-клеток.

65. Способ по любому из пп. 1-64, причем способ включает культивирование популяции клеток в течение по меньшей мере 5 дней.

66. Способ по любому из пп. 1-65, причем способ включает культивирование популяции клеток в присутствии по меньшей мере одного цитокина.

67. Способ по п. 66, в котором цитокин выбран из: интерлейкина-2 (IL-2), интерлейкина-4 (IL-4), интерлейкина-7 (IL-7), интерлейкина-9 (IL-9), интерлейкина-12 (IL-12), интерлейкина-15 (IL-15), интерлейкина-21 (IL-21) или их смеси.

68. Способ по любому из пп. 1-67, причем способ включает культивирование

популяции клеток в присутствии IL-2 и/или IL-15.

69. Способ по любому из пп. 65-68, в котором популяция клеток не находится в непосредственном контакте со стромальными и/или эпителиальными клетками во время культивирования.

70. Способ по п. 69, в котором популяция клеток не находится в непосредственном контакте с фибробластами во время культивирования.

71. Способ по любому из пп. 65-70, в котором популяция клеток не находится в непосредственном контакте с опухолевыми клетками и/или питающими клетками во время культивирования.

72. Способ по любому из пп. 1-71, причем способ включает культивирование популяции клеток в среде, не содержащей сыворотки.

73. Способ по любому из пп. 1-72, в котором популяцию клеток обогащают Т-клетками перед введением антитела или его фрагмента.

74. Способ по любому из пп. 1-73, в котором популяцию клеток обогащают $\gamma\delta$ Т-клетками перед введением антитела или его фрагмента.

75. Способ по любому из пп. 1-74, в котором популяцию клеток деплетируют относительно $\alpha\beta$ Т-клеток или NK-клеток перед введением антитела или его фрагмента.

76. Способ по любому из пп. 1-75, в котором популяцию клеток получают из гематопозитического образца или его фракции.

77. Способ по п. 76, в котором гематопозитический образец выбран из периферической крови, пуповинной крови, лимфоидной ткани, тимуса, костного мозга, ткани лимфатических узлов, а также их фракций.

78. Способ по п. 76 или п. 77, в котором гематопозитический образец состоит из мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК) или мононуклеарных клеток низкой плотности (LDMC).

79. Способ по любому из пп. 1-75, в котором популяцию клеток получают из образца негематопозитической ткани, такого как образец кожи, толстой кишки, кишечника, молочной железы, легкого, предстательной железы, печени, селезенки, поджелудочной железы, матки, влагалища или других кожных, слизистых или серозных оболочек.

80. Способ по любому из пп. 1-75, в котором популяцию клеток получают из образца раковой ткани.

81. Способ по любому из пп. 1-80, в котором популяцию клеток получают из ткани человека или отличного от человека животного.

82. Способ по любому из пп. 1-81, в котором популяцию клеток выделяют из образца перед введением антитела к V γ 4 или его фрагмента.

83. Популяция V γ 4 Т-клеток, полученная способом *ex vivo* по любому из пп. 1-82.

84. Композиция, содержащая популяцию V γ 4 Т-клеток по п. 83.

85. Фармацевтическая композиция, содержащая популяцию V γ 4 Т-клеток по п. 83, вместе с фармацевтически приемлемым разбавителем или носителем.

86. Фармацевтическая композиция по п. 85, для применения в качестве

лекарственного препарата.

87. Фармацевтическая композиция по п. 86, для применения при лечении рака, инфекционного заболевания или воспалительного заболевания.

88. Способ лечения рака, инфекционного заболевания или воспалительного заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение терапевтически эффективного количества популяции V γ 4 Т-клеток по п. 83, или фармацевтической композиции по п. 85.

Другие признаки и преимущества настоящего изобретения станут очевидны из описания, предложенного в настоящем документе. Однако следует понимать, что описание и конкретные примеры, указывающие на предпочтительные варианты осуществления изобретения, представлены только с целью иллюстрации, поскольку различные изменения и модификации станут очевидными для специалистов в данной области техники. Далее изобретение будет описано с помощью следующих неограничивающих примеров.

ПРИМЕРЫ

ПРИМЕР 1. Материалы и методы

Получение антигена

Дизайн растворимых гетеродимеров у δ TCR, содержащих константные области TCR α и TCR β , используемые в примерах ниже, был получен согласно Xu et al. (2011) PNAS 108: 2414-2419. Домены V γ или V δ были слиты в рамке с константной областью TCR α или TCR β , лишенной трансмембранного домена, а затем с последовательностью лейциновой застежки или Fc-последовательностью и гистиридиновой меткой/линкером.

Конструкцию экспрессии временно трансфицировали в суспензии клеток EXP1 HEK293 млекопитающего (в виде трансфекции отдельно или совместной трансфекции для гетеродимера). Секретируемые рекомбинантные белки выделяли и очищали от супернатанта клеточной культуры с помощью аффинной хроматографии. Чтобы обеспечить хорошее восстановление мономерного антигена, образцы дополнительно очищали с помощью препаративной эксклюзионной хроматографии (ЭХ). Очищенные антигены анализировали в отношении чистоты с помощью ДСН-ПААГ-электрофореза и в отношении состояния агрегации с помощью аналитической ЭХ.

Выбранные scFvs были субклонированы в каркасы IgG1, используя коммерчески доступные плазмиды. Суспензию клеток exp1293F трансфицировали указанными плазмидами для экспрессии антител. Для удобства, если не указано иное, антитела, охарактеризованные в этих примерах, относятся к антителам, отформатированным до IgG1, выбранным из фагового дисплея как scFv. При этом антитела могут находиться в любом формате антител, как обсуждалось ранее.

Очистка антител

Антитела IgG очищали партиями из супернатантов, используя хроматографию с протеином А. Качество очищенных IgG анализировали с помощью ИФА, ДСН-ПААГ-электрофореза и ЭХ-ВЭЖХ.

Связывание антител

Выход при отборе фагового дисплея субклонировали в scFv-вектор экспрессии pSANG10 (Martin et al. (2006) BMC Biotechnol. 6: 46). Растворимые scFv экспрессировали и подвергали скринингу на предмет связывания в усиленном диссоциацией лантанидном флуоресцентном иммуноанализе (DELFIA) на непосредственно иммобилизованных мишенях. Совпадения определяли как сигнал DELFIA выше 3000 флуоресцентных единиц.

Способ связывания DELFIA ИФА также использовали для оценки связывания супернатантов антител или дополнительных очищенных протеином А антител. Вкратце, планшеты MaxiSorp покрывали 3 мкг/мл антигена BSA или рекомбинантного антигена TCR L1 (DV1-GV4), L2 (DV1-GV2), L3 (DV1-GV8) или L4 (DV2-GV4). Планшеты затем промывали ФСБ, блокировали ФСБ/обезжиренным молоком, а затем добавляли исследуемое вещество и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. Впоследствии планшеты промывали с помощью ФСБ-Твин и добавляли Eu-N1 против человеческого IgG DELFIA (**Perkin Elmer # 1244-330**) в течение 1 часа при комнатной температуре перед дополнительным промыванием, добавлением усиливающего раствора DELFIA (**Perkin Elmer #4001-0010**) и считыванием с помощью микропланшетного ридера Pherastar.

D1.3 hIgG1 (описан в England et al. (1999) J. Immunol. 162: 2129-2136) использовали в качестве отрицательного контроля, а REA173 (Miltenyi) и TS8.2 (ThermoFisher, No. TCR1730) использовали в качестве антител сравнения.

Исследования антител с рекомбинантными клетками JRT3-TCR

Рекомбинантные клетки JRT3-TCR, используемые в исследованиях связывания антител, снижения уровня TCR и повышения уровня CD69, были описаны ранее (см. Melandri et al. (2018) Nature Immunology 19(12): 1352-1365, и Willcox et al. (2019) Immunity 51(5): 813-825.e4).

Для исследований связывание антител первичное окрашивание 100 000 нетрансдуцированных контролей JRT3 или клеток JRT3-TCR выполняли в ФСБ+5% ФТС в течение 30 минут при 4°C в стандартном количестве 1,0 мкг/мл, если количество не указано, или в указанном количестве, например, 0,08, 0,4, 2 или 10 мкг/мл, на **Фиг. 6** каждого основного антитела. Затем выполняли вторичное окрашивание с помощью A647 против человеческого IgG (Biolegend). Кроме того, выполняли окрашивание BV421 против CD3ε (Biolegend) или PE-Cy7 IMMU510 против γδTCR (Beckman Coulter), как/где указано. Затем клетки дважды промывали в ФСБ+5% ФТС и выполняли проточный анализ на приборе FACS Canto II 3L.

Для исследований снижения уровня TCR/повышения уровня CD69 96-луночные плоскодонные планшеты сначала предварительно покрывали добавлением в каждую лунку 20 мкг/мл вторичных антител, в частности, антитела против IgG-Fc человека (для человеческих антител D1.3 и Vγ4) или антимышинные антитела IgG (для мышинных антител к CD3ε или пан-TCRgd), а затем инкубировали в течение 2 ч при 37°C. Исследуемые

антитела, как указано, сначала разбавляли до конечных концентраций 0,01, 0,1, 1 и 10 мкг/мл. 50 мкл каждой концентрации затем добавляли в лунку предварительно покрытого планшета перед инкубацией в течение ночи при 4°C. Несвязанное антитело затем дважды промывали ФСБ, прежде чем добавить насыщающий ФСБ+5% ФТС в течение 1 часа при 37°C. 100 000 клеток на лунку затем высевали при скорости вращения 400g. Клетки затем инкубировали в течение 5 часов при 37°C, 5% CO₂, а затем переносили в 96-луночный круглодонный планшет для окрашивания. Окрашивание используемых антител включало BV421 против CD3ε при разведении 1:400 (клон ОКТ-3 Biolegend); PE-Cy7 против γδTCR при разведении 1:200 (клон IMMU510 Beckman Coulter) и A647 против CD69 при разведении 1:200 (клон FN50 Biolegend). Все окрашивание выполняли в ФСБ+5% ФТС в течение 30 минут при 4°C.

Исследования антител с первичными клетками (МКПК)

24-луночные планшеты сначала предварительно покрывали путем добавления в каждую лунку по 20 мкг/мл (250 мкл на лунку) антитела к IgG-Fc человека (Biolegend), а затем инкубировали в течение 2 часов при 37°C. Несвязанное вторичное антитело дважды промывали ФСБ, а изотипический контроль (IgG1 человека, Biolegend) или антитело к Vγ4 (клон G4_12) сначала разводили до конечных концентраций 0,1, 1 и 10 мкг/мл. Затем в лунку предварительно покрытого планшета добавляли по 250 мкл каждой концентрации перед инкубацией в течение ночи при 4°C. Затем несвязанные антитела дважды промывали ФСБ перед добавлением насыщающей 5% ФТС в ФСБ в течение 1 часа при 37°C. Затем в каждую лунку добавляли по 500000 МКПК, ресуспендированных при 10⁶ клеток на мл в полной среде (RPMI, дополненная 5% термоинактивированной АВ-сывороткой человека [PAA laboratories], пируватом натрия [1 mM] и пенициллином/стрептомицином [ThermoFisher]). Затем клетки инкубировали при 37°C, 5% CO₂. Через 24 часа добавляли IL-2 или IL-2+IL-15 (конечные концентрации 100 Е/мл и 10 нг/мл, соответственно), а свежую полную среду, дополненную IL-2 или IL-2+IL-15, добавляли каждые 2-3 дня. В 7 и 14 дни культивирования клетки переносили в 96-луночный круглодонный планшет для окрашивания. Используемое окрашивание антител включало конъюгированное с биотином антитело к TCRVγ2/3/4 (клон 23D12), разведенное до 1 мкг/мл, PE-стрептавидин, разведенный 1:100 (Biolegend); антитело к CD3ε BV421, разведенное 1:400 (клон ОКТ-3, Biolegend); конъюгированное с PE-Cy7 антитело к TCRγδ, разведенное 1:200 (клон IMMU510, Beckman Coulter); конъюгированное с ФИТЦ антитело к Vδ2 (клон B6, Biolegend); и антитело к Vγ4 A647 (клон G4_18), разведенное до 1 пг/мл. Все окрашивание проводили в 5% ФТС в ФСБ в течение 30 минут при 4°C.

Картирование эпитопов на основе МС

Применяли технологию «ультрабыстрой конформации/линейного картирования эпитопов» CovalX. Сначала белковый антиген L1 (DV1-GV4) плюс антитело G4_3 (1139_P01_A04) анализировали в отношении целостности белка и уровня агрегации с помощью MALDI с высокой массой. Чтобы определить связывающий эпитоп комплекса

L1(DV1-GV4)/G4_3 с высоким разрешением, комплексы инкубировали с дейтерированными сшивающими агентами и подвергали мультиферментативному протеолизу, используя трипсин, химотрипсин, Asp-N, эластазу и термолизин. После обогащения сшитыми пептидами образцы анализировали с помощью масс-спектрометрии высокого разрешения (МС nLC-LTQ-Orbitrap), а полученные данные анализировали с помощью программного обеспечения XQuest и Stavroх.

Анализ связывания $\gamma\delta$ Т-клеток

Связывание антител с $\gamma\delta$ Т-клетками можно протестировать путем инкубации фиксированной концентрации очищенных антител с 250000 $\gamma\delta$ Т-клеток. Такую инкубацию можно провести в блокирующих условиях, например, путем добавления фрагментов huFc или Ig, чтобы предотвратить неспецифическое связывание антител посредством Fc-рецептора. Обнаружение может быть выполнено путем добавления вторичного флуоресцентного, конъюгированного с красителем антитела против человеческого IgG1. Для отрицательных контролей клетки могут быть получены а) только с изотипическим антителом (рекомбинантный IgG человека), б) только с флуоресцентным, конъюгированным с красителем антителом против человеческого IgG и в) с комбинацией а) и б). Также может быть приготовлена и проанализирована контрольная лунка с полностью неокрашенными клетками. В качестве положительных контролей очищенное мышинное моноклональное антитело IgG2 против CD3 человека можно использовать в двух разных концентрациях и окрашивать с помощью вторичного флуоресцентного, конъюгированного с красителем антимышиного антитела козы. Анализ может быть принят, если среднее значение интенсивности флуоресценции для положительных контролей более низкой концентрации в канале FITC по меньшей мере в 10 раз превышало самое высокое значение отрицательного контроля.

Анализ ППП

Прибор MASS-2 с аминным чипом высокой емкости (оба от Sierra Sensors, Германия) можно использовать для проведения анализа ППП. 15 нМ IgG можно захватить посредством белка G на аминный чип высокой емкости (100 нМ для TS8.2). Антиген L1 (DV1-GV4) можно пропустить над клеткой при серийном разведении 1:2 от 2000 нМ до 15,625 нМ со следующими параметрами: ассоциация 180 с, диссоциация 600 с, скорость потока 30 мкл/мин, подвижный буфер ФСБ+0,02% Твин 20. Все эксперименты выполняли при комнатной температуре на приборе MASS-2. Подбор в равновесном состоянии можно определить в соответствии со связыванием Ленгмюра 1:1 с помощью программного обеспечения Sierra Analyzer 3.2.

Анализ снижения уровня и дегрануляции $\gamma\delta$ TCR

Клетки-мишени THP-1 (TIB-202™, ATCC), загруженные исследуемыми антителами или не загруженные ими, можно метить с помощью CellTracker™ Orange CMТMR (ThermoFisher, C2927) и инкубировать с $\gamma\delta$ Т-клетками в соотношении 2:1 в присутствии антитела CD107a (BV421 против человеческого CD107a (клон H4A3) BD Biosciences 562623). Через 2 часа инкубации поверхностную экспрессию $\gamma\delta$ TCR (для

измерения снижения уровня TCR) и экспрессию CD107a (для измерения дегрануляции) на $\gamma\delta$ Т-клетках можно оценить с помощью проточной цитометрии.

Анализ уничтожения

Опосредованную гамма-дельта Т-клетками активность уничтожения и эффект исследуемых антител на активность уничтожения $\gamma\delta$ Т-клеток можно оценить с помощью проточной цитометрии. Через 4 часа совместного культивирования *in vitro* в соотношении 20:1 $\gamma\delta$ Т-клетки и клетки ТНР-1, меченные CellTracker™ Orange CMTMR (ThermoFisher, C2927) (загруженные антителами или нет), можно окрашивать с помощью красителя для оценки жизнеспособности клеток Viability Dye eFluor™ 520 (ThermoFisher, 520 65-0867-14), чтобы отличить живые клетки-мишени ТНР-1 от мертвых. В процессе получения образцов клетки-мишени можно гейтировать по положительной пробе на CellTracker™ Orange CMTMR и изучать в отношении клеточной гибели на основании поглощения красителя для оценки жизнеспособности клеток. Двойные положительные по CMTMR и eFluor™ 520 клетки можно распознавать как мертвые клетки-мишени. Активность уничтожения $\gamma\delta$ Т-клеток можно выразить как % мертвых клеток-мишеней.

ПРИМЕР 2. Разработка антигенов

Гамма-дельта ($\gamma\delta$) Т-клетки являются поликлональными с CDR3-поликлональностью. Чтобы избежать ситуаций, когда созданные антитела будут отобраны по отношению к последовательности CDR3 (так как последовательность CDR3 будет отличаться в зависимости от клона TCR), разработка антигенов включала в себя сохранение соответствующей CDR3 в различных форматах. Целью такой разработки было создание антител, распознающих последовательность в пределах варибельного домена, который кодируется зародышевой линией и, таким образом, является одинаковым для всех клонов, тем самым обеспечивая антитела, которые распознают более широкую субпопуляцию $\gamma\delta$ Т-клеток.

Другой важный аспект в процессе получения антигена заключался в разработке антигенов, которые будут пригодны для экспрессии в качестве белка. $\gamma\delta$ TCR представляет собой сложный белок, включающий в себя гетеродимер с межцепочечной и внутрицепочечной дисульфидными связями. Формат лейциновой застёжки (LZ) и формат Fc использовали для создания растворимых TCR-антигенов для применения при отборе фагового дисплея. Оба формата LZ и Fc хорошо экспрессировались и успешно демонстрировали TCR (в частности, гетеродимерные TCR, *например*, V δ 1V γ 4).

Было обнаружено, что последовательность CDR3 из записи в общедоступной базе данных для $\gamma\delta$ TCR хорошо экспрессировалась в качестве белков (запись банка данных белковых структур RCSB: 4MNH). Таким образом, ее выбрали для получения антигена.

Антигены, содержащие варибельную гамма-цепь 4 подтипа, экспрессировались в формате LZ как гетеродимер (*т. е.* в комбинации с другими варибельными дельта-цепями - *например*, DV1-GV4, гетеродимером, состоящим из варибельной дельта-цепи 1 подтипа и варибельной гамма-цепи 4 подтипа [называется «L1»], и DV2-GV4, гетеродимером, состоящим из варибельной дельта-цепи 2 подтипа и варибельной

гамма-цепи 4 подтипа [называется «L4»]) и в формате Fc либо как гетеродимер, либо как гомодимер (*т. е.* в комбинации с другой вариабельной гамма-цепью 4 подтипа - GV4-GV4, гомодимером, состоящим из двух вариабельных гамма-цепей 4 подтипа [называется «Fc4/4»]). Все вариабельные гамма-цепи 4 подтипа антигенов содержали CDR3 4MNH. Другие серии антигенов $\gamma\delta$ TCR с использованием аналогичных форматов, содержащие различные вариабельные гамма-цепи (такие как вариабельная гамма-цепь 2 подтипа и вариабельная гамма-цепь 8 подтипа), были разработаны и использовались для деселекции антител с неспецифическим или нецелевым связыванием (например, DV1-GV2, гетеродимер, состоящий из вариабельной дельта-цепи 1 подтипа и вариабельной гамма-цепи 2 подтипа [называется «L2»], или DV1-GV8, гетеродимер, состоящий из вариабельной дельта-цепи 1 подтипа и вариабельной гамма-цепи 8 подтипа [называется «L3»]). Такие антигены были также разработаны так, чтобы содержать CDR3 4MNH, для обеспечения деселекции антител, которые связываются в области CDR3.

ПРИМЕР 3. Фаговый дисплей

Отбор фагового дисплея осуществляли относительно библиотек scFv человека, используя любой гетеродимерный формат LZ TCR в раундах 1 и 2 с деселекцией гетеродимерного LZ TCR в обоих раундах. Раунд 1 проводили с использованием гомодимерного Fc-слитого TCR с деселекцией IgG1 Fc человека, а затем раунд 2 для гетеродимерного LZ TCR с деселекцией гетеродимерного LZ TCR (см. **Таблицу 1**).

Таблица 1. Обзор отбора фагового дисплея

Мишень	Отбор раунда 1	Деселекция раунда 1	Отбор раунда 2	Деселекция раунда 2
GV4	bt-L1 (DV1-GV4)	L2 (DV1-GV2)	bt-L4 (DV2-GV4)	L2 (DV1-GV2)
GV4	bt-Fc4/4 (GV4-GV4)	Fc	bt-L4 (DV2-GV4)	L2 (DV1-GV2)

bt - биотин.

Отбор проводили в жидкой фазе, используя 100 нМ биотинилированных белков. Деселекцию проводили с использованием 1 мкМ небитинилированных белков.

ПРИМЕР 4. Отбор антител

Совпадения, полученные в примере 3, секвенировали (с помощью стандартных способов, известных в данной области техники). Идентифицировали 130 уникальных клонов, которые продемонстрировали уникальную комбинацию CDR3 VH и VL. Из этих 130 уникальных клонов 129 продемонстрировали уникальную CDR3 VH, а 116 продемонстрировали уникальную CDR3 VL.

Уникальные клоны повторно организовали в виде массива и проанализировали специфичность с помощью ИФА (DELFA). Из отбора идентифицировали панель из 42 уникальных связывающих веществ scFv человека, которые связываются с TRGV4, но не с TRGV2 или TRGV8.

Было включено ранжирование аффинности выбранных связывающих веществ, чтобы способствовать выбору клонов в будущем. Большое количество связывающих веществ

продemonстрировали значения аффинности в наномолярном диапазоне, реагируя с 25-100 нМ биотинилированным антигеном (L1). Небольшое количество связующих веществ продемонстрировали сильную реакцию с 5 нМ антигеном, что указывает на возможные одноразрядные наномолярные значения аффинности. Некоторые связующие вещества продемонстрировали отсутствие реакции с 100 нМ антигеном, что указывает на значения аффинности в микромолярном диапазоне.

Для отбора клонов с целью продолжения превращения IgG цель заключалась в том, чтобы включить как можно больше зародышевых линий и как можно больше различных CDR3. Более того, избегали предрасположенностей последовательностей, таких как гликозилирование, сайты связывания интегрина, сайты связывания CD11c/CD18, непарные цистеины. Кроме того, были включены различные аффинности. Клоны, выбранные для превращения в IgG, показаны на **Фиг. 1**. Результаты связывания ИФА (значения во флуоресцентных единицах) показаны на **Фиг. 2А**. Результаты указывают на то, что все 23 антитела продемонстрировали желаемый специфический профиль гамма-цепи 4 подтипа независимо от партнерской дельта-цепи. Эти же данные также приведены на **Фиг. 2В** и дополнительно демонстрируют кратное увеличение связывания каждого клона с цепью V γ 4 человека по сравнению с цепью V γ 2 человека. Кратное увеличение связывания с цепью V γ 4 человека по сравнению с цепью V γ 2 человека варьировалось от 80-кратного (клон G4_26) до 98387-кратного увеличения (клон G4_18).

Исследования связывания антител также проводились с использованием рекомбинантных клеток Jurkat (JRT3-hu17). Сравнение результатов на основании данных ИФА и данных проточной цитометрии показано на **Фиг. 3А**. Клоны антител, которые были идентифицированы как связывающиеся как с антигеном DV1-GV4 в анализе ИФА Delfia (ось Y), так и с клетками JRT3-hu17 (ось X), были выбраны для дальнейшего изучения.

ПРИМЕР 5. Исследование связывания антител к V γ 4

Изучали способность антител, выбранных в примере 4, окрашивать V γ 4 TCR, несущие разные последовательности CDR3 (hu17 по сравнению с hu20, оба V γ 4V δ 1) или дельта-цепи (hu20 γ /huPB δ , V γ 4V δ 2; LES, V γ 4V δ 5). Результаты показаны на **Фиг. 4А** и указывают на то, что все исследуемые антитела демонстрируют значительно повышенное связывание с одной или более из V γ 4 TCR, используемых в исследовании, по сравнению с изотипическим контролем D1.3. В частности, пять иллюстративных антител (G4_3, G4_12, G4_16, G4_18 и G4_27) связываются со всеми V γ 4 TCR, экспрессируемыми в этом исследовании, и независимо от последовательности CDR3 и партнерской дельта-цепи, демонстрируя заметно усиленные сигналы связывания по сравнению с изотипическим контролем D1.3. В качестве иллюстрации, пример проточных данных для двух антител в данном исследовании приведен на **Фиг. 4В** и демонстрирует разницу между связыванием G4_3 (положительное окрашивание на все V γ 4 TCR) по сравнению со связыванием G4_4 (положительное окрашивание на hu17 и LES, тогда как окрашивание против hu20 [отличные последовательности CDR3 по сравнению с hu17] и hu20g/huPB δ [V γ 4V δ 2]

имеет сниженную интенсивность).

ПРИМЕР 6. Картирование эпитопов с использованием химерных hu17 TCR

hu17 представляет собой V γ 4/V δ 1 TCR, для которой спаренные последовательности CDR3 были клонированы из BTNL3+8-реактивного интраэпителиального лимфоцита толстой кишки человека путем одноклеточной ПЦР (как описано у Melandri et al. (2018) Nat. Immunol. 19: 1352-1365). Были получены различные химерные конструкции hu17 TCR, как обобщено на **Фиг. 5А**. Эти конструкции были получены из hu17 и были все описаны в Melandri et al. (2018) Nat. Immunol. 19: 1352-1365 и Willcox et al. (2019) Immunity 51: 813-825 (обе из которых включены в настоящий документ посредством ссылки).

Связывание антител затем изучали с помощью проточной цитометрии против химерных hu17 TCR, экспрессируемых на клетках JRT3. Сводная таблица реактивности каждого антитела с указанными химерными конструкциями TCR показана на **Фиг. 5В**. Результаты подчеркивают относительную специфичность связывания отдельного антитела с отдельными TCR, экспрессируемыми на клетках JRT3. Было показано, что все антитела G4_3, G4_12, G4_16, G4_18 и G4_27 специфически связываются в области HV4 или около нее, поскольку окрашивания или сниженной интенсивности окрашивания не наблюдалось, когда использовали конструкции hu17 TCR, содержащие последовательности V γ 2 в области HV4.

Пример проточных данных картирования эпитопов для иллюстрации дифференциальных сигналов связывания, наблюдаемых в данном исследовании, показан на **Фиг. 5С**. В этом случае и в качестве примера такого подхода картирования эпитопов показано связывание G4_12 с различными рекомбинантными химерными TCR. Сначала G4_12 демонстрирует сильное связывание с начальной hu17 TCR (крайняя левая панель). Сильное связывание также наблюдается с hu17, когда последовательности CDR1+2 меняются в рамке на эквивалентные CDR V γ 2 (панель по центру слева) или когда hu17 модифицируется HV4 в последовательность V γ 2 DG>YA (панель по центру справа). Однако наблюдается заметное снижение связывания G4_12 при альтернативных аминокислотных заменах V γ 4 на V γ 2 (DGKM>YANL; панель по центру) или KM>NL (крайняя правая панель), соответственно. Следовательно, в этом случае эпитоп, распознаваемый G4_12, расположен в области HV4 (аминокислоты 67-82 из SEQ ID NO. 1 [KYDTYGGSTRKNLRMIL]), и на это значительным образом влияют модификации подчеркнутых остатков К и М на эквивалентные остатки, обнаруживаемые в этом положении в области HV4 V γ 2.

ПРИМЕР 7. Титрование исследуемых антител в анализах окрашивания и функциональных анализах

Результаты титрования исследуемых антител для окрашивания и анализа проточной цитометрией с использованием клеток JRT3-hu17 (концентрации варьируются в диапазоне от 0,08 до 10 мкг/мл, этапы 5-кратного разведения) показаны на **Фиг. 6А**. Нетрансдуцированные клетки JRT3 (без TCR) применяли в качестве отрицательного

контроля. Результаты показывают, что все антитела были способны связываться с клетками JRT3, экспрессирующими V γ 4 TCR.

Затем выполняли функциональные анализы путем изучения оборота TCR и повышения уровня CD69 титрованными антителами по сравнению с оборотом, обеспечиваемым связыванием с CD3 ϵ или антителами к пан-TCR $\gamma\delta$. Результаты показаны для пяти антител на **Фиг. 6B** и **6C**, а результаты для более широкого спектра антител в пределах исходной когорты обобщены в **таблице 2**.

Таблица 2. Снижение уровня TCR и активация выбранных антител

Антитело (мкг/мл)	Снижение уровня V γ 4 TCR	Обеспечиваемая активация (кратное повышение уровня CD69)
G4_3	+	++
G4_4	-	-
G4_7	-	-
G4_10	-	-
G4_12	+++	+++
G4_16	++	++
G4_18	+	+
G4_27	+/-	-

Было показано, все из перечисленных антител в **таблице 2** связываются с цепью V γ 4 $\gamma\delta$ TCR. Однако, как показано в таблице, некоторые из этих антител способны активировать V γ 4 TCR, как измерено с помощью снижения уровня V γ 4 TCR и/или повышенной экспрессии CD69 (указано как «+», «++» или «+++», причем «+» и «++» обозначают самые высокие относительные уровни активации), тогда как другие антитела не продемонстрировали никакой заметной способности активировать V γ 4 TCR (указано как «-»).

ПРИМЕР 8. Картирование эпитопов на основе MS

Чтобы определить эпитоп комплексов антиген/антитело с высоким разрешением, белковые комплексы инкубировали с дейтерированными сшивающими агентами и подвергали мультиферментативному расщеплению. После обогащения сшитыми пептидами образцы анализировали с помощью масс-спектрометрии высокого разрешения (МС nLC-LTQ-Orbitrap), а полученные данные анализировали с помощью программного обеспечения XQuest (версия 2.0) и Stavroх (версия 3.6).

После протеолиза с трипсином, химо tripsином, Asp-N, эластазой и термолизином белкового комплекса L1(DV1-GV4)/1139_P01_A04 с дейтерированным d0d12 анализ МС/МС nLC-orbitrap обнаружил 11 сшитых пептидов между L1(DV1-GV4) и антителом 1139_P01_A04 (G4_3). Результаты картирования эпитопов представлены в **таблице 3**.

Таблица 3. Результаты картирования эпитопов для комплексов антиген/антитело.

ID клона	Картирование эпитопов, нумерация аминокислот в SEQ ID NO: 1
1139_P01_A04 (G4_3)	71, 73, 75, 76, 79

Эти данные картирование эпитопов коррелируют с экспериментами выше, указывая на то, что это антитело связывается в пределах области HV4 цепи $\gamma 4$.

ПРИМЕР 9. Нацеливание антител к $V\gamma 4$ и модуляция первичных $V\gamma 4$ -положительных клеток.

Были проведены дальнейшие исследования с целью продемонстрировать нацеливание антител к $V\gamma 4$ на первичные $V\gamma 4^+$ клетки, полученные из кожи, крови и кишечника, включая клетки, полученные из образцов здоровых и больных пациентов.

Связывание с первичными $V\gamma 4^+$ клетками, полученными из кожи

Сначала антитела к $V\gamma 4$ были протестированы на предмет связывания с первичными $V\gamma 4^+$ Т-клетками, размноженными из кожи двух отдельных доноров. Образцы кожи были получены путем удаления подкожного жира и с помощью 3-мм иглы для биопсии кожи, используемой для взятия нескольких образцов. Образцы кожи помещали на сетки углеродной матрицы и помещали в лунку G-REX6 (Wilson Wolf). Каждую лунку заполняли полной изоляционной средой, содержащей среду AIM-V (Gibco, Life Technologies), замену иммунной сыворотки CTS (Life Technologies), IL-2 и IL-15. В течение первых 7 дней культивирования использовали полную изоляционную среду, содержащую амфотерицин В (Life Technologies) («+AMP»). Среду меняли каждые 7 дней, аккуратно отсасывая верхнюю среду и заменяя ее второй полной изоляционной средой (без AMP), стараясь не потревожить клетки на дне планшета или биореактора. Спустя три недели культивирования полученный выход клеток затем пассировали в сосуды со свежей культурой ткани и свежей средой (например, средой AIM-V или средой TexMAX (Milenyi)) плюс рекомбинантный IL-2, IL-4, IL-15 и IL-21 до сбора. $\alpha\beta$ Т-клетки, также присутствующие в культуре, затем удаляли с помощью наборов для истощения $\alpha\beta$ Т-клеток и соответствующих протоколов, таких как предоставленные Miltenyi. Для дальнейшей справки см. WO2020/095059.

После выделения $\gamma\delta$ Т-клетки сначала окрашивали красителем для оценки жизнеспособности клеток в присутствии Fc-блока в течение 20 минут при 4°C. $\gamma\delta$ Т-клетки затем инкубировали с фиксированными концентрациями иллюстративных антител к $V\gamma 4$ (0,046-100 мкг/мл) или изотипическим контролем (антитело IgG1 против респираторно-синцитиального вируса (RSV)) в течение 30 минут при 4°C. Обнаружение осуществляли путем добавления вторичного флуоресцентного, конъюгированного с красителем антитела против человеческого IgG1 (IS11-12E4.23.20). Затем клетки фиксировали и собирали на проточном цитометре MACSQuant16. Клетки гейтировали как отдельные, живые, IgG1 ($V\gamma 4$)⁺. Показанные данные являются медианной интенсивностью флуоресценции вторичного антитела обнаружения, обнаруженного связанным с $V\gamma 4^+$ клетками.

Результаты показаны на **Фиг. 7А**. Эти данные подтверждают, что все исследуемые антитела к V γ 4 были способны связываться с первичными полученными из кожи V γ 4⁺ Т-клетками дозозависимым образом. Для изотипического контроля связывания не наблюдалось.

Связывание с первичными V γ 4⁺ клетками, полученными из мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК)

Вкратце, человеческие МКПК (Lonza, код продукта CC-2702) сначала окрашивали красителем для оценки жизнеспособности клеток в присутствии Fc-блока в течение 20 минут при 4°C. Клетки затем инкубировали с антителами к V γ 4 в концентрации 10 мкг/мл или изотипическим контролем (RSV) в течение 30 минут при 4°C, а затем промывали и окрашивали внеклеточно с помощью антител к V δ 1 (REA173), к V δ 2 (REA771), к $\gamma\delta$ (REA591) и к IgG1 человека (IS11-12E4.23.20) в течение 20 минут при 4°C. Клетки затем фиксировали и собирали на проточном цитометре MACSQuant16. Клетки гейтировали как отдельные, живые, $\gamma\delta^+$ V δ 2⁻ IgG1 (V γ 4)⁺.

Результаты проиллюстрированы на **Фиг. 7В**. Показанные данные представляют собой % V γ 4⁺ клеток среди $\gamma\delta^+$ V δ 2⁻ клеток, обнаруженных с помощью каждого отдельного антитела, связанного с конъюгированным вторичным антителом против человеческого IgG1. Эти данные подчеркивают способность по существу всех антител к V γ 4 связываться с первичными, полученными из крови V γ 4⁺ Т-клетками. Самые сильные сигналы были обнаружены с помощью антитела G4_23, G4_3, G4_12, G4_18 или G4_20.

Связывание с первичными V γ 4⁺ клетками из кишечных интраэпителиальных лимфоцитов (ИЭЛ), полученных от пациентов с колоректальным раком (КРР)

Для этого исследования биопсию опухоли КРР человека поставляли в свежем виде и обрабатывали при получении. Биопсию разрезали на кусочки размером ~2 мм² и получали инфильтрирующие опухоль лимфоциты (tumour-infiltrating lymphocytes - TIL) путем адаптации способа, первоначально описанного Kupper and Clarke (Clarke et al., 2006, J. Invest. Dermatol. 126, 1059-1070). В частности, до четырех биопсий размером 2 мм² помещали на матрицы Cellfoam размером 9 мм x 9 мм x 1,5 мм и по одной матрице помещали в лунку 24-луночного планшета. Биопсии затем культивировали в 2 мл среды Дульбекко в модификации Искова (IMDM), дополненной 4% плазмой человека, β -меркаптоэтанолом (50 мкМ), пенициллином (100 Ед/мл), стрептомицином (100 мкг/мл), гентамицином (20 мкг/мл), метронидазолом (1 мкг/мл), амфотерицином В (2,5 мкг/мл), NEPES (10 мМ), пируватом натрия (1 мМ), раствором незаменимых аминокислот MEM (1X) и IL-15 (20 нг/мл, Miltenyi Biotec). 1 мл среды аспирировали каждые 3 дня и заменяли 1 мл полной среды, содержащей 2х концентрированный IL-15. TIL собирали через 10 дней, пропускали через 70 мкм нейлоновое клеточное сито, центрифугировали со скоростью 300 x g в течение 5 минут и ресуспендировали в полной среде для фенотипирования. TIL сначала окрашивали красителем для оценки жизнеспособности клеток в присутствии Fc-блока в течение 20 минут при 4°C. Клетки затем инкубировали с антителами к V γ 4 в концентрации 10 мкг/мл или изотипическим контролем (RSV) в

течение 30 минут при 4°C, а затем промывали и окрашивали внеклеточно с помощью антител к V δ 1 (REA173), к $\gamma\delta$ (REA591) и к IgG1 человека (IS11-12E4.23.20) в течение 20 минут при 4°C. Клетки затем фиксировали и собирали на проточном цитометре MACSQuant16. Клетки гейтировали как отдельные, живые, $\gamma\delta^+$, IgG1 $^+$ (V γ 4) $^+$.

Результаты проиллюстрированы на **Фиг. 7C**. Показанные данные представляют собой графики FACS, иллюстрирующие связывание антител к V γ 4 G4_3, G4_12 и G4_18 с первичными кишечными V γ 4 $^+$ клетками, обнаруженное с помощью конъюгированного вторичного антитела против человеческого IgG1. Данные демонстрируют способность антител по изобретению связываться с V γ 4 $^+$ клетками, полученными из ткани опухоли KPP.

Обнаружение и снижение уровня TCR кишечных $\gamma\delta$ Т-клеток человека, обеспечиваемые антителом к V γ 4

Провели дальнейшее исследование для изучения модуляции кишечных $\gamma\delta$ Т-клеток человека, обеспечиваемой антителом к V γ 4. Для этого исследования биопсии нормальной прилегающей ткани (normal adjacent tissue - NAT), полученные от пациентов с KPP, поставляли в свежем виде и обрабатывали при получении, чтобы получить суспензию из одиночных клеток. В частности, ткань разрезали на кусочки размером ~2 мм 2 и до 1 г ткани помещали в пробирку Miltenyi С вместе с 4,7 мл RPMI с ферментами из набора для диссоциации опухоли Miltenyi's Tumour Dissociation Kit в концентрациях, рекомендованных производителем, за исключением фермента R, который использовали в 0,2X концентрации для предотвращения расщепления соответствующих молекул клеточной поверхности. С-пробирки помещали в прибор gentleMACSTM Octo Dissociator с нагревательными блоками. Выбирали программу 37C_h_TDK_1 для диссоциации мягких опухолей. Через 1 час продукт расщепления фильтровали через 70 мкМ фильтр и добавляли полную IMDM, содержащую 4% плазму человека, для гашения ферментативной активности. Клетки затем дважды промывали и ресуспендировали в полной IMDM для подсчета. В этот момент клетки высевали для стимуляции антителами к V γ 4 или использовали для фенотипирования.

В одной серии экспериментов определяли фенотип V γ 4 $^+$ $\gamma\delta$ Т-клеток в кишечнике перед стимуляцией антителами к V γ 4. Вкратце, клетки окрашивали красителем для оценки жизнеспособности клеток в присутствии Fc-блока в течение 20 минут при 4°C. Клетки затем инкубировали с клоном G4_18 в концентрации 10 мкг/мл в течение 30 минут при 4°C, а затем промывали и окрашивали внеклеточно с помощью антител к V δ 1 (REA173), к $\gamma\delta$ (REA591), к CD69 (REA824), к CD103 (Ber-Act8) и к IgG1 человека (IS11-12E4.23.20) в течение 20 минут при 4°C. Клетки затем фиксировали и собирали на проточном цитометре MACSQuant16. Как показано на **Фиг. 7D**, 1,4% живых, отдельных клеток были V δ 1 $^+$. Из них 44,2% были спарены с V γ 4, и все они демонстрировали маркеры пребывания в ткани кишечника (CD69 $^+$ CD103 $^+$), как и ожидалось для $\gamma\delta$ Т-клеток из кишечника. Эти результаты подтверждают, что антитела, описанные в настоящем документе, в данном примере антитело G4_18, могут быть использованы для

специфического обнаружения V γ 4⁺ $\gamma\delta$ Т-клеток, выделенных из ткани кишечника человека.

Следующая серия экспериментов измеряла влияние стимуляции клеток антителом к V γ 4. 2×10^6 клеток высевали в каждую лунку 48-луночного планшета и стимулировали антителами G4_12, G4_18 или антителами изотипического контроля IgG1 RSV в присутствии IL-15 в концентрации 2 нг/мл. Интраэпителиальные лимфоциты (ИЭЛ), выделенные с помощью ферментативного расщепления, анализировали проточной цитометрией через 24 часа после стимуляции mAb. После 24-часовой стимуляции клетки окрашивали красителем для оценки жизнеспособности клеток в присутствии Fc-блока в течение 20 минут при 4°C. Клетки затем окрашивали внеклеточно в отношении $\gamma\delta$ TCR (REA591), фиксировали и собирали на проточном цитометре MACSQuant16. Живые, отдельные клетки гейтировали как $\gamma\delta$ TCR⁺. На **Фиг. 7Е** показано обеспечиваемое снижение уровня $\gamma\delta$ TCR после 24-часовой стимуляции клонами G4_12 или G4_18 по сравнению с изотипическим контролем RSV, сопровождающееся репрезентативными графиками FACS. Оба антитела к V γ 4 G4_12 и G4_18 индуцировали снижение уровня $\gamma\delta$ TCR по сравнению с изотипическим контролем RSV, причем самое сильное снижение уровня наблюдалось для G4_12.

ПРИМЕР 10 Дальнейшие исследования, измеряющие аффинность связывания (KD) с V γ 4 человека, как измерено с помощью поверхностного плазмонного резонанса (ППР) для иллюстративных антител к V γ 4 по изобретению.

В дополнение к исследованиям связывания ППР, описанным в **примере 4** (способ, описанный в **примере 1**) по отношению к связующим веществам scFv, были проведены дополнительные исследования для измерения аффинности связывания выбранных иллюстративных клонов с цепью V γ 4 человека, где клоны экспрессировались как полноразмерные моноклональные антитела IgG1.

Вкратце, аффинность связывания антител с мишенью (т. е. человеческой цепью V γ 4 $\gamma\delta$ TCR) устанавливали с помощью анализа ППР, используя прибор Reichert 4SPR (Reichert Technologies). Антиген (L1 (DV1-GV4)) связывали с карбоксиметилдекстрановым чипом (Reichert Technologies) в концентрации 10 мкг/мл, что привело к повышению относительно исходного уровня приблизительно на 750 мкРМЕд, соответственно. Антитело пропускали над клеткой при серийном разведении 1:2 от 500 нМ до 31,25 нМ со следующими параметрами: ассоциация 180 с, диссоциация 300 с, скорость потока 25 мкл/мин, подвижный буфер ФСБ+0,05% Твин 20. Все эксперименты проводили при комнатной температуре, при этом образцы хранили при 4°C, прежде чем пропустить их над чипом. Подбор в равновесном состоянии определяли в соответствии со связыванием Ленгмюра 1:1 с помощью программного обеспечения TraceDrawer (Reichert Technologies).

Результаты показаны в **таблице 4** и представляют собой среднее 2 экспериментов на каждое антитело (за исключением указанных случаев).

Таблица 4. Аффинность связывания иллюстративных антител с V γ 4 человека

Клон антитела	Эксперимент 1: KD (нМ)	Эксперимент 2: KD (нМ)	Среднее KD (нМ)
G4_3	3,69	2,03	2,86
G4_12	17,8	20,2	19
G4_18	НО	19,9	19,9
G4_20	43	62,1	52,55
G4_23	109	178	143,5
G4_27	261	НО	261

*НО - не определено

Был определен диапазон значений аффинности связывания, как и ожидалось, позволяя тем самым выбрать конкретное антитело для конкретных обстоятельств в зависимости от требуемой аффинности связывания. В частности, значения аффинности связывания варьировались от приблизительно 260 нМ до 2,8 нМ, как показано. Это соответствовало исследованиям scFv, описанным в **примере 4**.

ПРИМЕР 11. Применение V γ 4-специфических антител для увеличения числа первичных человеческих V γ 4 Т-клеток

Антитело, демонстрирующее наибольшую стимулирующую активность в отношении клеток JRT3-hu17 (клон G4_12, Фиг. 5B, C) дополнительно исследовали в отношении его способности стимулировать первичные V γ 4⁺ Т-клетки. Увеличение процентного содержания V γ 4 Т-клеток в культурах МКПК после стимуляции в связанном с планшетом виде G4_12 в сравнении с изотипическим контролем анализировали методом проточной цитометрии, используя панель антител, включая A647-конъюгированное антитело к V γ 4, клон G4_18, что показано на Фиг. 8. В 7 и 14 дни доля V γ 4-положительных клеток в присутствии антитела G4_12 была больше в культурах, в которых присутствовал изотипический контроль.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

SEQ ID NO:	Описание	Последовательность
1	Цепь V γ 4 из записи банка данных белковых структур RCSB: 4MNH	SSNLEGRTKSVIRQTGSSAEITCDLAEGSTGYIHWY LHQEGKAPQRLLYYDSYTSSVVLESGISPGKYDTY GSTRKNLRMILRNLIENDSGVYYCATWDEKYYKK LFGSGTTLVVTEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQ KATLVCLATGFYPDHVELSWVNGKEVHSGVCTD PQPLKEQPALNDSRYALSSRLRVSATFWQNPRNHF RCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGR ADSRGGLEVLFFQ
2-24	Последовательности	См. Фиг 1.

	CDR3 тяжелой цепи	
25-47	Последовательности CDR3 легкой цепи	См. Фиг 1.
48-70	Последовательности CDR2 тяжелой цепи	См. Фиг 1.
A1-A23	Последовательности CDR2 легкой цепи	См. Фиг 1.
71-93	Последовательности CDR1 тяжелой цепи	См. Фиг 1.
94-116	Последовательности CDR1 легкой цепи	См. Фиг 1.
117	Вариабельная последовательность G4_1 полноразмерной тяжелой цепи TRGV4	EVQLLESGGGVVQPGRPLRLSCAASGFTFSSYSMN WVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGHWFYFD LWGRGTLVTVSS
118	Вариабельная последовательность G4_2 полноразмерной тяжелой цепи TRGV4	QMQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYPFTDYYIH WVQQAPGKGLEWMGLVDPEDGQSRSAERFQGRV TITADTSTDYAYMELSSLRSEDYAVYYCATFPVAGF YGMDEVWGQGTLLVTVSS
119	Вариабельная последовательность G4_3 полноразмерной тяжелой цепи TRGV4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMN WVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGWLYD YWGQGTLLVTVSS
120	Вариабельная последовательность G4_4 полноразмерной тяжелой цепи TRGV4	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMS WVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMSSLRVEDTAVYYCAKSSVGW WSFDYWGQGTMTVTVSS
121	Вариабельная последовательность G4_5 полноразмерной тяжелой цепи TRGV4	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYGIS WVRQAPGQGLEWMGWIGAYNGNTNYAQKLQGR VTMSTDYTDSTAYMELRSPRSDDTAVYYCARGGT GGDHVFAYWGQGTTLVTVSS
122	Вариабельная последовательность G4_6 полноразмерной	EVQLVESGGGLVQPGGPLRLSCAASGFTFSSYAMN WVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKADYGV

	тяжелой цепи TRGV4	VYYFDYWGGQGTMTVTVSS
123	Вариабельная последовательность G4_7 полноразмерной тяжелой цепи TRGV4	EVQLVESGGGWVQSGGSLRPSCAASGFTFSHYWM SWVRQAPGKGGLEWVANIKQDGSIIYYADSVKGRFT ISRDNAKNSVYLQMNSLRAEDTAVYYCARIGYSSS SFDYWGRGTLTVTVSS
124	Вариабельная последовательность G4_10 полноразмерной тяжелой цепи TRGV4	QVQLVESGGGVVQPGRPLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGKGGLEWVSAISGGGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGA VDF WRNGMDVWGRGTLTVTVSS
125	Вариабельная последовательность G4_12 полноразмерной тяжелой цепи TRGV4	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMS WVRQAPGKGGLEWVSVIYSGGSTYYADSVKGRFTIS RHNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVANGDFL DYWGRGTLTVTVSS
126	Вариабельная последовательность G4_13 полноразмерной тяжелой цепи TRGV4	QVQLVESGA EVKKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMN WVRQAPGKGGLEWVSSISGTSSYIYYADSVKGRFTIS RDN AKNSLYLQMSSLRAEDTAVYYCARGGLGMV DPWGQGTLTVTVSS
127	Вариабельная последовательность G4_14 полноразмерной тяжелой цепи TRGV4	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFTSYWIS WVRQMPGKGGLEWMGRIDPSDSYTNYSFPGHVTI SADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAADTAHGM DVWGRGTLTVTVSS
128	Вариабельная последовательность G4_15 полноразмерной тяжелой цепи TRGV4	EVQLVQSEAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRHYM HWVRQAPGQGLEWMGLINPSGSSTVYAQKFQGRV TLTRDTSTSTDYME LSSLRSED TAVYYCARDNSHL DQVWWFDPWGQGTLTVTVSS
129	Вариабельная последовательность G4_16 полноразмерной	EVQLLES GA EVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGIS WVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYA QKLQGR VTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYG DFYGM DVWGQGTLTVTVSS

	тяжелой цепи TRGV4	
130	Вариабельная последовательность G4_18 полноразмерной тяжелой цепи TRGV4	EVQLVESGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYM HWVRQAPGQGLEWMGRINPNSGGTNYAQKFQGR VTMTRDASISTAYMELSRRLRSDDTAVYYCARDL SSLDYWGRGTLVTVSS
131	Вариабельная последовательность G4_19 полноразмерной тяжелой цепи TRGV4	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTLTSYYM HWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRV TMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARER GYSYGDGMDVWGQGTITVTVSS
132	Вариабельная последовательность G4_20 полноразмерной тяжелой цепи TRGV4	QVQLVESGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFSSYAIS WVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTI TVDKSTRTAYMELSSLRSKDTAVYYCARGNSRSD AFDIWGQGTMTVTVSS
133	Вариабельная последовательность G4_22 полноразмерной тяжелой цепи TRGV4	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMS WVRQAPGKGLEWVSTVSGSGGTITYYADSVKGRFT ISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSTAV TDWFDPWGRGTLVTVSS
134	Вариабельная последовательность G4_23 полноразмерной тяжелой цепи TRGV4	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMH WVRQAPGKGLEWVAWIWYDGSNKYYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGEVA ALYYFDYWGGGTLVTVSS
135	Вариабельная последовательность G4_24 полноразмерной тяжелой цепи TRGV4	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGASVSSNSVA WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSRWYNDYALSVKS RIIINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARDWSS TRSFIDYWGRGTLVTVSS
136	Вариабельная последовательность G4_25	EVQLVESGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAIS WVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSLRDGYN

	полноразмерной тяжелой цепи TRGV4	YIGSLGYWGQGTTLVTVSS
137	Вариабельная последовательность G4_26 полноразмерной тяжелой цепи TRGV4	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAIS WVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTI TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSRGSWF PLGYWGQGTTLVTVSS
138	Вариабельная последовательность G4_27 полноразмерной тяжелой цепи TRGV4	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKSSGYSFTSYWIG WVRQMPGKGLEWMGHIYPGDS DTRYSPSFQGGQVT FSADESISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARHGAYG DYPDTFDIWGQGTTLVTVSS
139	Вариабельная последовательность G4_28 полноразмерной тяжелой цепи TRGV4	QVQLVESGGGLVQP GGSRLSCAASGFTFDDYAM HWVRQAPGKGLEWVSGISAGGGSTNYAGSVKGRF TVSRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKSYVD TAMRYYYYYMDVWGQGTMTVTVSS
140	Вариабельная последовательность G4_1 полноразмерной легкой цепи TRGV4	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCQASQDISNYLN WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPVTFGPGTKVEI K
141	Вариабельная последовательность G4_2 полноразмерной легкой цепи TRGV4	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCQASQDISNYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISGLQPEDFATYYCLEDYNYLWTFGQGTKL EIK
142	Вариабельная последовательность G4_3 полноразмерной легкой цепи TRGV4	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCQASQDISNYLN WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYFCQQSYSTPQTFGQGTKVDI K
143	Вариабельная последовательность G4_4 полноразмерной легкой цепи TRGV4	ASDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLSSN NNNYLAWYQQRPGQPPKLLFYWASTRESGVPDRF SGSGSGTSFTLTITSLQAEDVAVYYCQQYYSTPLTF GGGTKLEIK
144	Вариабельная	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLN

	последовательность G4_5 полноразмерной легкой цепи TRGV4	WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGGTKVEI K
145	Вариабельная последовательность G4_6 полноразмерной легкой цепи TRGV4	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSISTYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGGTKVEI K
146	Вариабельная последовательность G4_7 полноразмерной легкой цепи TRGV4	ASDIVMTQSPLSLPVTTPGEPASISCRSSQSLLHSNRF NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGLQTPYTFGQ GTKVDIK
147	Вариабельная последовательность G4_10 полноразмерной легкой цепи TRGV4	ASDIVMTQPPLSLPVTLGHPASISCKSSQSLEYSDGN TYLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSNRDSGAPDRFSGS GSGTDFTLEISRVEAEDVGVYYCMQGLWPPTFGQ GTKVDIK
148	Вариабельная последовательность G4_12 полноразмерной легкой цепи TRGV4	ASQSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNF VSWYQQHPGKAPKLMIYEVNRPSPGVDPDRFSGSKS GNTASLTISGLQAEDEADYYCSSHASPRVFGTGTK VTVL
149	Вариабельная последовательность G4_13 полноразмерной легкой цепи TRGV4	ASNFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIASNYV QWYQQRPGSSPSTVIYEDNQRPSPGVDPDRFSGSIDSS SNSASLTISGLRTEDEADYYCQSYDSSIYVVFGGGT KLTVL
150	Вариабельная последовательность G4_14 полноразмерной легкой цепи TRGV4	ASNFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSRSGSIAGNYV HWYQQRPGRAPTTVIYRDKERPSGVDPDRISGSIDSS SNSASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSTHVVFGGG TKLTVL
151	Вариабельная последовательность G4_15	ASQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNY VSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKS GNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYGSVFGTGTK

	полноразмерной легкой цепи TRGV4	LTVL
152	Вариабельная последовательность G4_16 полноразмерной легкой цепи TRGV4	ASQSVLTQPPSASGSPGQSVTFSCGTGTSSDIGAFNSV SWYQQHPGKAPKLLIYEITKRPSGVDPDRFSGSKSGN TASLTISVLQAEDEADYYCTSYAGSNTLIFGGGTKV TVL
153	Вариабельная последовательность G4_18 полноразмерной легкой цепи TRGV4	ASSYELTQPPSVTESPGQTARITCSGDALAKQYAY WYQQKPGQAPVLVIYRDSERPSEIPERFSGSSSGTT VTLTISGVQAEDEADYYCQSADSSGTYTVFGGGK LTVL
154	Вариабельная последовательность G4_19 полноразмерной легкой цепи TRGV4	ASNFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIASNYV QWYQQRPGSPITLIYDDDQRPSGVPHRFSGSIDTSS NPASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSNHVVFGGGT KLTVL
155	Вариабельная последовательность G4_20 полноразмерной легкой цепи TRGV4	ASSYELTHPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKFVSW YHQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTA TLTISGTRAMDEADYYCQAWDSSTVVFGGGTKLT VL
156	Вариабельная последовательность G4_22 полноразмерной легкой цепи TRGV4	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDISNYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSVSGSGT DFTLTISNLQPEDFATYYCQQSYSIPWTFGQGTKVE IK
157	Вариабельная последовательность G4_23 полноразмерной легкой цепи TRGV4	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISNSLA WYQQKPGKAPKLLIYAASRLSGVPSRFSGSGSGT DYTLTISSLQPEDFATYYCQQYYSTPRTFGGGTKLE IK
158	Вариабельная последовательность	ASDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSN NKNYLAWYQQKPGQPPKLLISWASTRESGVDPDRFS

	G4_24 полноразмерной легкой цепи TRGV4	GSGSGTDFTLTINSLQSEDVAIYYCQQYYSTPPTFG QGTKLEIK
159	Вариабельная последовательность G4_25 полноразмерной легкой цепи TRGV4	ASQSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNY VSWYQQHPGKAPKLMIYEVSNRPSGVSNRFSGSKS GNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYSGSVFGTGTK LTVL
160	Вариабельная последовательность G4_26 полноразмерной легкой цепи TRGV4	ASQSGLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNLV SWYQQHPGKAPKLMIYEVSKRPSGVSNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYCSSFGSGSIFGTGKLT VL
161	Вариабельная последовательность G4_27 полноразмерной легкой цепи TRGV4	ASSYELTQDPAVSVALGQTVSITCQGDSLRFYAN WYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGN TASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHLVFGGGT QLTVL
162	Вариабельная последовательность G4_28 полноразмерной легкой цепи TRGV4	ASSYELTQDPAVSVALGQTVTITCQGDSLRFNYAS WYRQKPGQTPVLVVYGKNNRPSGIPDRFSVSASGN TASLTITGAQAEDEGDYYCNSRDSSGVVFGGGTKV TVL
163	Последовательность G4_1 scFv	EVQLLES GGGV VQPGRPLRLSCAASGFTFSSYSMN WVRQAPGKGLEWVSSISSSSYIYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGHWFYFD LWGRGTLTVSSGGGGSGGGGSGGGASDIQMTQS PSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQSYSTPVTFGPGTKVEIKRTAAASA HHHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK
164	Последовательность G4_2 scFv	QMQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYPFTDYIYH WVQQAPGKGLEWMGLVDPEDGQSRSAERFQGRV TITADTSTD TAYMELSSLRSEDTAVYYCATFPVAGF YGM DVWGQGT LTVSSGGGGSGGGGSGGGASDI

		QMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISGLQPEDFATYYCLEDYNYLWTFGQGTKLEIKRT AAASAHHHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK
165	Последовательность G4_3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMN WVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGWLYD YWGQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGGGASDIQMTQS PSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGK APKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYFCQQSYSTPQTFGQGTKVDIKRTAAASA HHHHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDDK
166	Последовательность G4_4 scFv	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMS WVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMSSLRVEDTAVYYCAKSSVGW WSFDYWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGASDI VMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLSSSSNNNN YLAWYQQRPGQPPKLLFYWASTRESGVPDRFSGS GSGTSFTLTITSLQAEDVAVYYCQQYYSTPLTFGGG TKLEIKRTAAASAHHHHHHKLDYKDHDGDYKDH DIDYKDDDDDK
167	Последовательность G4_5 scFv	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYGIS WVRQAPGQGLEWMGWIGAYNGNTNYAQKLQGR VTMSTDTSTSTAYMELRSPRSDDTAVYYCARGGT GGDHVFAYWGQGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGA SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNW YQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIK RTAAASAHHHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYKD DDDK
168	Последовательность G4_6 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGPLRLSCAASGFTFSSYAMN WVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKADYGV VYYFDYWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGASD

		IQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISTYLNWYQ QKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSPQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGKVEIKRT AAASAHHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK
169	Последовательность G4_7 scFv	EVQLVESGGGWVQSGGSLRPSCAASGFTFSHYWM SWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSIIYYADSVKGRFT ISRDNAKNSVYLQMNSLRAEDTAVYYCARIGYSSS SFDYWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGASDIVM TQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLHSNRFNYLDW YLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDF TLKISRVEAEDVGVYYCMQGLQTPYTFGQGKVDI KRTAAASAHHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYK DDDDK
170	Последовательность G4_10 scFv	QVQLVESGGGVVQGRPLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGA VDF WRNGMDVWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGAS DIVMTQPPLSLPVTLGHPASISCKSSQSLEYSDGNT YLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSNRDSGAPDRFSGSG SGTDFTLEISRVEAEDVGVYYCMQGTLPPTFGQG TKVDIKRTAAASAHHHHHKLDYKDHDGDYKDH DIDYKDDDDK
171	Последовательность G4_12 scFv	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMS WVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSTYYADSVKGRFTIS RHNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVANGDFL DYWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGASQSVLTQ PASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNFVSWYQQHP GKAPKLMIEVTNRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTIS GLQAEDEADYYCSSHASPRVFGTGKVTVLRTAA ASAHHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK
172	Последовательность G4_13 scFv	QVQLVESGAEVKKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMN WVRQAPGKGLEWVSSISGTSSYIYYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMSSLRAEDTAVYYCARGGLGMV DPWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGASNFMLTQ

		PHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIASNYVQWYQQRPG SSPSTVIYEDNQRPSGVPDRFSGSIDSSSNSASLTISG LRTEDEADYYCQSYDSSIYVVFSGGKLTVLRTAA ASAHHHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK
173	Последовательность G4_14 scFv	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFTSYWIS WVRQMPGKGLEWMGRIDPSDSYTNYSFPGHVTI SADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAADTAHGM DVWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGASNFMLT QPHSVSESPGKTVTISCTRSRSGSIAGNYVHWYQQRP GRAPTTVIYRDKERPSGVPDRISGSIDSSSNSASLTIS GLKTEDEADYYCQSYDSSTHVVFSGGKLTVLRT AAASAHHHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYKDDD DK
174	Последовательность G4_15 scFv	EVQLVQSEAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRHYM HWVRQAPGQGLEWMGLINPSGSSTVYAQKFQGRV TLTRDTSTSTDYMESSLRSEDVAVYYCARDNSHL DQVWWFDPWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGA SQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYV SWYQQHPGKAPKLMYDVSNRPSGVSNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYCSSYSGSVFGTGKLT VLRTAAASAHHHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDY KDDDDK
175	Последовательность G4_16 scFv	EVQLLESGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGIS WVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGR VTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYG DFYGM DVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGAS QSVLTQPPSASGSPGQSVTFCTGTSSDIGAFNSVS WYQQHPGKAPKLLIYEITKRPSGVPDRFSGSKSGNT ASLTISVLQAEDEADYYCTSYAGSNTLIFGGGKVT VLRTAAASAHHHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDY KDDDDK
176	Последовательность G4_18 scFv	EVQLVESGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYM HWVRQAPGQGLEWMGRINPNSGGTNYAQKFQGR VTMTRDASISTAYMELSRSLRSDDTAVYYCARDLDL SSLDYWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGASSYE

		LTQPPSVTESPGQTARITCSGDALAKQYAYWYQQK PGQAPVLVIYRDSERPSEIPERFSGSSSGTTVTLTISG VQAEDEADYYCQSADSSGTYTVFGGGKLTVLRT AAASAHHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK
177	Последовательность G4_19 scFv	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTLTSYYM HWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRV TMTRDTSTSTVYMESSLRSEDNAVYYCARERGYS YGDGMDVWGQGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGAS NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIASNYVQW YQQRPGSPITLIYDDDDQRPSGVPHRFSGSIDTSSNP ASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSNHVVFGGGTKL TVLRTAAASAHHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK
178	Последовательность G4_20 scFv	QVQLVESGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFSSYAIS WVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTI TVDKSTRTAYMESSLRSKDTAVYYCARGNSRSD AFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGASSYEL THPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKFVSWYHQKP GQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISG TRAMDEADYYCQAWDSSTVTVFGGGTKLTVLRTA AASAHHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK
179	Последовательность G4_22 scFv	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMS WVRQAPGKGLEWVSTVSGSGGTITYYADSVKGRFT ISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDNAVYYCAKDSTAV TDWFDPWGRGTLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGASDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQ QKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSVSGSGTDFTL TISNLPEDFATYYCQSQSYIPWTFGQGTKVEIKRT AAASAHHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK
180	Последовательность G4_23 scFv	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMH WVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKNYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDNAVYYCARGEVA

		ALYYFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGAS DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISNSLAWY QQKPGKAPKLLLYAASRLESGVPSRFSGSGSGTDY TLTISSLQPEDFATYYCQQYYSTPRTFGGGGTKLEIK RTAAASAHHHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYKD DDDK
181	Последовательность G4_24 scFv	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGASVSSNSVA WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSRWYNDYALSVKS RIIINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARDWSS TRSFYDWGRGTLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGASDI VMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKN YLAWYQQKPGQPPKLLISWASTRESGVPDRFSGSG SGTDFTLTINSLQSEDAIYYCQQYYSTPPTFGQGT KLEIKRTAAASAHHHHHHKLDYKDHDGDYKDHD DYKDDDDK
182	Последовательность G4_25 scFv	EVQLVESGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAIS WVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSLRDGYN YIGSLGYWGQGLTVTVTVSSGGGGSGGGGSGGGASQ SALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVS WYQQHPGKAPKLMIYEVSNRPSGVSNRFSGSKSGN TASLTISGLQAEDEADYYCSSYSGSVFGTGTKLTV LRTAAASAHHHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYK DDDDK
183	Последовательность G4_26 scFv	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAIS WVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTI TADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCASSRSGWGF PLGYWGQGLTVTVTVSSGGGGSGGGGSGGGASQSGL TQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNLVSQYQQ HPGKAPKLMIYEVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLT ISGLQAEDEADYYCSSFGSGSIFGTGKLTVLRTAA ASAHHHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK
184	Последовательность G4_27 scFv	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKSSGYSFTSYWIG WVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQGGQVT FSADESISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARHGAYG

		DYPDTFDIWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGAS SYELTQDPAVSVALGQTVSITCQGDSLRFYANWY QQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTAS LTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHLVFGGGTQLT VLRATAASAHHHHHHKLDYKDHDGDYKDHDIDY KDDDDK
185	Последовательность G4_28 scFv	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYAM HWVRQAPGKGLEWVSGISAGGGSTNYAGSVKGRF TVSRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKSYVD TAMRYYYYYMDVWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGG SGGGASSYELTQDPAVSVALGQTVTITCQGDSLRLN YYASWYRQKPGQTPVLVVGKNNRPSGIPDRFSVS ASGNTASLTITGAQAEDEGDYYCNSRDSSGVVFGG GTKVTVLRATAASAHHHHHHKLDYKDHDGDYKD HDIDYKDDDDK
186	Линкер	GGGGSGGGGSGGG
187	Нуклеотидная последовательность VH G4_1	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCGTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATAGCAT GAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT GGAGTGGGTCTCATCCATTAGTAGTAGTAGTAGT TACATATACTACGCAGACTCAGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGA CACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGGACACTGG TACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCTGGTCA CCGTCTCGAGT
188	Нуклеотидная последовательность VH G4_2	CAGATGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTG AAGAAGCCTGGGGCTACAGTGAAAATCTCCTGC AAGGTTTCTGGATACCCTTTCACCGACTACTATA TCCACTGGGTGCAACAGGCCCTGGAAAAGGGC TTGAGTGGATGGGACTTGTTGATCCTGAGGATGG GCAAAGTAGATCCGCGGAGAGGTTCCAGGGCAG AGTCACCATAACCGCGGACACGTCTACAGACAC AGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGA

		GGACACGGCCGTGTATTACTGTGCAACATTCCCA GTGGCTGGATTCTACGGTATGGACGTCTGGGGCC AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT
189	Нуклеотидная последовательность VH G4_3	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGGGGAGGCTTG GTCCAGCCGGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATAGCAT GAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT GGAGTGGGTCTCATCCATTAGTAGTAGTAGTAGT TACATATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGT TCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCT GTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGA CACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGAGGGTG GCTATATGACTACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTC ACCGTCTCGAGT
190	Нуклеотидная последовательность VH G4_4	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCAT GAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT GGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGT AGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGG TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAAAACACCC TGTATCTGCAAATGAGCAGCCTGAGAGTCGAAG ACACGGCCGTATATTATTGTGCGAAATCGTCGGT GGGCTGGTGGTCTTTTGACTACTGGGGCCAAGGG ACAATGGTCACCGTCTCGAGT
191	Нуклеотидная последовательность VH G4_5	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTG AAGAAGCCTGGGTCCCTCGGTGAAGGTCTCCTGCA AGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTACGGTAT CAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCT TGAGTGGATGGGATGGATCGGCGCTTACAATGGT AACACAACTATGCACAGAAGCTCCAGGGCAGA GTCACCATGAGCACAGACACATCCACGAGCACA GCCTACATGGAGCTGAGGAGCCCGAGATCTGAC GACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCGGG ACGGGGGGTGACCACGTCTTTGCCTACTGGGGGC

		AAGGGACCACGGTCACCGTCTCGAGT
192	Нуклеотидная последовательность VH G4_6	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGGGGGCCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCAT GAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT GGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGT AGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGG TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGC TGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGCCGACTA CGGGGTGGTCTACTACTTTGACTACTGGGGCCAA GGGACAATGGTCACCGTCTCGAGT
193	Нуклеотидная последовательность VH G4_7	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTGG GTCCAGTCTGGGGGGTCCCTGAGACCCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTTAGTCACTATTGGAT GAGTTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT GGAGTGGGTGGCCAACATAAAGCAAGATGGAAG TATCATATACTATGCAGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAAGTCA GTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAG GACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAATTGGGT ATAGCAGCTCGTCTTTTGGACTACTGGGGCCGTGG CACCTGGTCACCGTCTCGAGT
194	Нуклеотидная последовательность VH G4_10	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGCCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATGCTAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT GGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGT AGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGG TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGC TGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGATGGGG CCGTGGATTTTTGGCGAAACGGTATGGACGTCTG GGGCCGTGGCACCCCTGGTCACCGTCTCGAGT
195	Нуклеотидная	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGAGGAGGCTTG

	последовательность VH G4_12	GTCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGGTTCACCGTCAGTAGCAACTACAT GAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT GGAGTGGGTCTCAGTTATTTATAGCGGTGGTAGC ACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTC ACCATCTCCCGACACAATTCCAAGAACACGCTGT ATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACA CGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGTAGCGAACG GTGACTTTCTTGACTACTGGGGCCGTGGCACCCCT GGTCACCGTCTCGAGT
196	Нуклеотидная последовательность VH G4_13	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGCTGAGGTG AAGAAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATAGCAT GAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT GGAGTGGGTCTCATCCATTAGTGGTACTAGTAGT TACATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGAT TCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCACT GTATCTGCAAATGAGCAGCCTGAGAGCCGAGGA CACGGCTGTTTATTACTGTGCGAGAGGAGGGCTC GGGATGGTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCCTG GTCACCGTCTCGAGT
197	Нуклеотидная последовательность VH G4_14	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAGCAGAGGTG AAAAAGCCCGGGGAGTCTCTGAGGATCTCCTGTA AGGGTTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGAT CAGCTGGGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAGGCCT GGAGTGGATGGGGAGGATTGATCCTAGTGACTCT TATACCAACTACAGCCCGTCCTTCCCAGGCCACG TCACCATCTCAGCTGACAAGTCCATCAGCACTGC CTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGA CACCGCCATGTATTACTGTGCGGCGGATACAGCT CACGGTATGGACGTCTGGGGCCGTGGCACCCCTG GTCACCGTCTCGAGT
198	Нуклеотидная последовательность VH G4_15	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGAGGCTGAGGTG AAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCA AGGCCTCTGGATACACCTTCACCAGGCATTATAT

		GCACTGGGTGCGACAGGCCCCCGGACAAGGGCT TGAGTGGATGGGACTAATCAACCCTAGTGGTAGT AGCACAGTCTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGA GTCACCTTGACCAGGGACACGTCCACGAGCACA GACTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAG GACACGGCCGTCTATTATTGTGCGAGAGATAATA GTCACCTCGACCAGGTTTGGTGGTTCGACCCCTG GGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCGAGT
199	Нуклеотидная последовательность VH G4_16	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGAGCTGAGGTG AAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGC AAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTA TCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGC TTGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACAATGG TAACACAAACTATGCACAGAAGCTCCAGGGCAG AGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCAC AGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGA CGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGACTAC GGTGACTTCTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAG GAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT
200	Нуклеотидная последовательность VH G4_18	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGCTGAGGTG AAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGC AAGGCTTCTGGATACACCTTCACCGGCTACTATA TGCACTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGC TTGAGTGGATGGGACGGATCAACCCTAACAGTG GTGGCACA AACTATGCACAGAAGTTTCAGGGCA GGGTCACCATGACCAGGGACGCGTCCATCAGCA CAGCCTACATGGAGCTGAGCAGGCTGAGATCTG ACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCT TGATCTATCCTCCCTTGACTACTGGGGCCGTGGC ACCCTGGTCACCGTCTCGAGT
201	Нуклеотидная последовательность VH G4_19	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTG AAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCA AGGCATCTGGATACACCCTCACCAGCTACTATAT GCACTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCT TGAGTGGATGGGAATAATCAACCCTAGTGGTGGT

		AGCACAAGCTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGA GTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACA GTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAG GACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAGCGT GGATACAGCTATGGTGACGGTATGGACGTCTGG GGGCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCGAGT
202	Нуклеотидная последовательность VH G4_20	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGCTGAGGTG AAGAAGCCTGGGGCCTCGGTGAAGGTCTCCTGC AAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAGCTATGCTA TCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGC TTGAGTGGATGGGAGGGATCATCCCTATCTTTGG TACAGCAAACCTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAG AGTCACGATTACCGTGGACAAATCCACGCGCAC AGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTAA GGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGGGGGAA TAGCAGAAGTGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAA GGGACAATGGTCACCGTCTCGAGT
203	Нуклеотидная последовательность VH G4_22	CAGGTGCAGTTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTTAGCACCTATGCCAT GAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCT GGAGTGGGTCTCAACTGTTAGTGGTAGTGGTGGT ACCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGG TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGC TGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAAG ACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGATTCAAC GGCGGTGACTGACTGGTTCGACCCCTGGGGCCGT GGCACCTGGTCACCGTCTCGAGT
204	Нуклеотидная последовательность VH G4_23	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCGTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATGGCAT GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCT GGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAG TAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCG ATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACG

		CTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAG GACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGGGGAA GTGGCTGCCTTGTACTACTTTGACTACTGGGGCC AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT
205	Нуклеотидная последовательность VH G4_24	CAGGTACAGCTGCAGCAGTCAGGTCCAGGACTG GTGAAGCCCTCGCAGACCCTCTCACTCACCTGTG CCATCTCCGGGGCCAGTGTCTCTAGCAACAGTGT TGCTTGGAAGTGGATCAGGCAGTCCCCATCGAGA GGCCTTGAGTGGCTGGGGAGGACATACTACAGG TCCAGGTGGTATAATGATTATGCATTATCTGTGA AAAGTCGAATAATCATCAACCCAGACACATCCA AGAACCAGTTCTCCCTGCAGCTGAACTCTGTGAC CCCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCAAGA GATTGGAGCAGCACCCGATCCTTTGACTACTGGG GCCGTGGCACCCCTGGTCACCGTCTCGAGT
206	Нуклеотидная последовательность VH G4_25	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGCTGAGGTG AAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTCTCCTGCA AGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAGCTATGCTAT CAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCT TGAGTGGATGGGAGGGATCATCCCTATCTTTGGT ACAGCAAACACTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGA GTCACGATTACCGCGGACAAATCCACGAGCACA GCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAG GACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGATCTCTTA GAGATGGCTACAATTACATCGGAAGTTTAGGCTA CTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCGAGT
207	Нуклеотидная последовательность VH G4_26	CAGGTCCAGCTTGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGA AGAAGCCTGGATCCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAA GGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAGCTATGCTATC AGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTT GAGTGGATGGGAGGGATCATCCCTATCTTTGGTA CAGCAAACACTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAG TCACGATTACCGCGGACGAATCCACGAGCACAG CTTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAG ACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGCTCCCGGGG

		CAGTGGCTGGTTTCCTTTGGGTTACTGGGGCCAA GGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT
208	Нуклеотидная последовательность VH G4_27	CAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGAGCAGAGGTG AAAAAGCCCGGGGAGTCTCTGAAGATCTCCTGTA AGAGTTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGAT CGGCTGGGTGCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCT GGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGGTGACTCT GATACCAGATACAGCCCGTCCTTCCAAGGCCAG GTCACCTTCTCAGCCGACGAGTCCATCAGTACCG CCTACCTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGG ACACCGCCATGTATTACTGTGCGAGACATGGCGC CTACGGTGACTACCCGGATACTTTTGATATCTGG GGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCGAGT
209	Нуклеотидная последовательность VH G4_28	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTG GTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTG CAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGGCT GGAGTGGGTCTCAGGTATTAGTGCTGGTGGTGGT AGCACAAACTACGCAGGCTCCGTGAAGGGCCGG TTCACCGTCTCCAGGGACACGTCCAAGAACACAC TTTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGG ACACGGCCGTGTATTACTGTGTGAAGTCCTACGT GGATACAGCTATGCGCTACTACTACTACTACATG GACGTCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTC TCGAGT
210	Нуклеотидная последовательность VL G4_1	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGT CTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG CCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAACTATTTAAAT TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTACGATGCATCCAATTTGGAAACAG GGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGAAGTGGATCTGG GACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAA CCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGA GTTACAGTACCCCCGTCACTTTCGGCCCTGGGAC CAAGGTGGAAATCAAA

211	Нуклеотидная последовательность VL G4_2	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGT CTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG CCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAACTATTTAAAT TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTG GGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGG GACAGATTTCACTCTCACCATCAGCGGCCTGCAG CCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCTAGAAG ATTACAACCTACCTGTGGACGTTTCGGCCAAGGGAC CAAGCTGGAGATCAAA
212	Нуклеотидная последовательность VL G4_3	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGT CTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG CCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAACTATTTAAAT TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTACGATGCATCCAATTTGGAAACAG GGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGAAGTGGGTCTGG GACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAA CCTGAAGATTTTGCAACTTACTTCTGTCAACAGA GTTACAGTACCCCCCAGACGTTTCGGCCAAGGGA CCAAAGTGGATATCAAA
213	Нуклеотидная последовательность VL G4_4	GATATTGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGG CTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTG CAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTGTCCAGCTCCAAC AATAACAACCTACTTAGCTTGGTACCAACAGAGAC CAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCTTTTACTGGGC ATCTACCCGGGAATCGGGGGTCCCTGACCGATTC AGTGGCAGCGGGTCTGGAACATCTTTCACTCTCA CCATCACCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCGG TTTATTACTGTCAGCAATATTATTCCACTCCTCTC ACTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
214	Нуклеотидная последовательность VL G4_5	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGT CTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG CCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAAT TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTG

		GGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGG GACAGATTTCACTCTCACTATCAGCAGCCTGCAG CCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGA GTTACAGTACCCCCTACACTTTTGGCCAGGGGAC CAAGGTGGAAATCAAA
215	Нуклеотидная последовательность VL G4_6	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGT CTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG CCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCACCTATTTAAAT TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAGAGTG GGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGG GACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCCGCAA CCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGA GTTACAGTACCCCGTACACTTTTGGCCAGGGGAC CAAGGTGGAAATCAAA
216	Нуклеотидная последовательность VL G4_7	GATATTGTGATGACGCAGTCTCCACTCTCCCTGC CCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTG CAGGTCCAGTCAGAGCCTCCTGCATAGTAATAGA TTCAACTATTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAG GGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTC TAATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTTCAGT GGCAGTGGATCTGGCACAGATTTTACACTGAAAA TCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTT ATTACTGCATGCAAGGTCTACAACTCCGTACAC TTTTGGCCAGGGGACCAAAGTGGATATCAAA
217	Нуклеотидная последовательность VL G4_10	GATATTGTGATGACGCAGCCTCCACTCTCCCTGC CCGTCACCCCTTGGACATCCGGCCTCCATCTCCTG CAAGTCTAGTCAAAGCCTCGAATATAGTGATGGA AACACCTACTTGAATTGGTTTCAGCAGAGGCCAG GCCAATCTCCAAGGCGCCTCATTTATAAGGTTTC TAACCGGGACTCTGGGGCCCCCGACAGATTCAG CGGGAGTGGGTCAGGCACTGATTTCACTGGA AATCAGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGAGT TTATTACTGTATGCAAGGTACACTCTGGCCTCCC ACGTTTCGGCCAAGGGACCAAAGTGGATATCAAA

218	Нуклеотидная последовательность VL G4_12	CAGTCTGTGCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTG GGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTCCTGCAC TGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATAACTTT GTCTCCTGGTACCAACAACACCCAGGCAAAGCC CCCAAACATCATGATTTATGAGGTCATAATCGGC CCTCAGGGGTCCCTGATCGGTTCTCTGGCTCCAA GTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCTCTGGG CTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCA GCTCACATGCAAGCCCCAGGGTCTTCGGAACTGG GACCAAGGTCACCGTCCTA
219	Нуклеотидная последовательность VL G4_13	AATTTTATGCTGACTCAGCCCCACTCTGTGTCTGG AGTCTCCGGGGAAGACGGTAACCATCTCCTGCAC CCGCAGCAGTGGCAGCATTGCCAGCAACTATGT GCAGTGGTACCAGCAGCGCCCGGGCAGTTCCCC CAGCACTGTGATCTATGAGGATAACCAAAGACC CTCAGGGGTCCCTGATCGGTTCTCTGGCTCCATC GACAGCTCCTCCAACTCTGCCTCCCTCACCATCT CTGGACTGAGGACTGAGGACGAGGCTGACTACT ACTGTCAGTCTTATGATAGCAGCATTTATGTGGT ATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA
220	Нуклеотидная последовательность VL G4_14	AATTTTATGCTGACTCAGCCCCACTCTGTGTCTGG AGTCTCCGGGGAAGACGGTAACCATATCCTGCA CCCGCAGCCGTGGCAGCATTGCCGGCAACTATGT GCACTGGTACCAGCAGCGCCAGGGCGTGCCCC CACCACCTGTGATCTATCGGGATAAGGAAAGACC CTCTGGGGTCCCTGATCGAATCTCTGGCTCCATC GACAGCTCCTCCAACTCTGCCTCCCTCACCATCT CTGGACTGAAGACTGAGGACGAGGCTGATTACT ATTGTCAGTCTTATGATAGCAGCACCCATGTGGT ATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA
221	Нуклеотидная последовательность VL G4_15	CAGTCTGCGCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTG GGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTCCTGCAC TGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATAACTAT GTCTCCTGGTACCAACAACACCCAGGCAAAGCC CCCAAACATCATGATTTATGACGTCAGTAATCGGC

		CCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAA GTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCTCTGGG CTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCA GCTCGTATGGAAGCGGCAGCGTCTTCGGAAGTGG GACCAAGCTGACCGTCCTA
222	Нуклеотидная последовательность VL G4_16	CAGTCTGTGCTGACTCAGCCTCCCTCCGCGTCCG GGTCTCCTGGACAGTCAGTCACCTTCTCCTGCAC TGGAACCAGCAGTGACATTGGTGCTTTTAACTCT GTCTCTTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAAGCCC CCAAACTCCTAATTTATGAGATCACTAAGCGGCC CTCAGGGGTCCCTGATCGCTTCTCTGGCTCCAAG TCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCTCTGTGC TCCAGGCTGAAGATGAGGCTGATTATTACTGCAC CTCATATGCAGGCAGCAACACTTTGATCTTCGGC GGAGGGACCAAGGTCACCGTCCTA
223	Нуклеотидная последовательность VL G4_18	TCCTATGAGCTGACACAGCCACCCTCGGTGACAG AGTCCCCAGGACAGACGGCCAGGATCACCTGCT CTGGAGATGCATTGGCAAAGCAATATGCTTATTG GTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCCTGTGTT GGTGATATATAGAGACAGTGAGAGGCCTTCAGA GATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAGCTCAGGG ACAACAGTCACGTTGACCATCAGTGGAGTCCAG GCAGAAGACGAGGCTGACTATTACTGTCAATCA GCAGACAGCAGTGGTACTTATACAGTATTTGGCG GAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA
224	Нуклеотидная последовательность VL G4_19	AATTTTATGCTGACTCAGCCCCACTCTGTGTCTGG AGTCTCCGGGGAAGACGGTCACCATCTCCTGCAC CCGCAGCAGTGGCAGCATTGCCAGCAACTATGT ACAGTGGTACCAGCAGCGCCCGGGCAGTCCCCC CATCACTTTGATATATGATGATGACCAAAGACCC TCTGGGGTCCCTCATCGGTTCTCTGGCTCCATCG ACACCTCATCCAACCCTGCCTCCCTACCATCTC TGGACTGAAGACTGAGGACGAGGCTGACTACTA CTGTCAGTCTTATGATAGCAGCAATCATGTGGTA TTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA

225	Нуклеотидная последовательность VL G4_20	TCCTATGAGCTGACTCATCCACCCTCAGTGTCCG TGTCCTCCAGGACAGACAGCCAGCATCACCTGCTC TGGAGATAAATTGGGGGATAAGTTTGTTCCTGG TATCACCAAAAGCCAGGCCAGTCCCCTGTGCTGG TCATCTATCAAGATAGCAAGCGGCCCTCAGGGAT CCCTGAGCGCTTCTCAGGCTCCAATTCTGGGAAC ACAGCCACTCTGACCATCAGCGGGACCCGGGCT ATGGATGAGGCTGACTATTACTGTCAGGCGTGGG ACAGCAGCACTGTGGTATTCGGCGGAGGGACCA AGCTGACCGTCCTA
226	Нуклеотидная последовательность VL G4_22	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGT CTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG CCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAACTATTTAAAT TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTCTGCAAAGTG GGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGTCAGTGGATCTGG GACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAACCTGCAG CCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGA GTTACAGTATCCCGTGGACGTTTCGGCCAAGGGAC CAAGGTGGAGATCAAA
227	Нуклеотидная последовательность VL G4_23	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGT CTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG CCGGGCGAGTCAGGGCATTAGCAATTCTTTAGCC TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGCTCTATGCTGCGTCCAGATTGGAAAGTG GGGTCCCATCCAGGTTTAGTGGCAGTGGATCTGG GACGGATTACACCCTCACCATCAGCAGCCTGCAG CCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGT ATTATAGTACCCCTCGCACTTTCGGCGGAGGGAC CAAGCTGGAGATCAAA
228	Нуклеотидная последовательность VL G4_24	GATATTGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGG CTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTG CAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAGCTCCAAC AATAAGAACTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAA CCAGGACAGCCTCCTAAGTTGTTGATTTCTGGG

		CTTCTACCCGGGAATCTGGGGTCCCTGACCGATT CAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTC ACCATCAACAGCCTACAGTCTGAAGATGTGGCA ATTTATTACTGTCAGCAATATTATTCTACCCCTCC GACGTTCGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAA A
229	Нуклеотидная последовательность VL G4_25	CAGTCTGCGCTGACTCAGCCTCGCTCAGTGTCCG GGTCTCCTGGACAGTCAGTCACCATCTCCTGCAC TGGAACCAGCAGTGATGTTGGTGGTTATAACTAT GTCTCCTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAAGCC CCCAAACATCATGATTTATGAGGTCAGTAATCGGC CCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAA GTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCTCTGGG CTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCA GCTCGTATGGAAGCGGCAGCGTCTTCGGAAGTGG GACCAAGCTGACCGTCCTA
230	Нуклеотидная последовательность VL G4_26	CAGTCTGGGCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTG GGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTCCTGCAC TGGAACCAGCAGTGATGTTGGGAGTTATAACCTT GTCTCCTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAAGCC CCCAAACATCATGATTTATGAGGTCAGTAAGCGGC CCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAA GTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCTCTGGG CTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCA GCTCGTTTGGAAGCGGCAGCATCTTCGGAAGTGG GACCAAGCTGACCGTCCTA
231	Нуклеотидная последовательность VL G4_27	TCCTATGAGCTGACTCAGGACCCAGCTGTGTCTG TGGCCCTGGGACAGACAGTCAGTATCACATGCC AAGGAGACAGCCTCAGAACTTTTATGCAAAC GGTACCAGCAAAAGCCAGGACAGGCCCTGTAC TTGTCATCTATGGTAAAAACAACCGGCCCTCAGG GATCCCAGACCGATTCTCTGGCTCCAGCTCAGGA AACACAGCTTCCTTGACCATCACTGGGGCTCAGG CGGAAGATGAGGCTGACTATTACTGTAACCTCCCG GGACAGCAGTGGTAACCATCTGGTATTCGGCGG

		AGGGACCCAGCTCACCGTCCTA
232	Нуклеотидная последовательность VL G4_28	TCCTATGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCTG TGGCCTTGGGACAGACAGTCACGATCACATGCC AAGGAGACAGCCTCAGAACTATTATGCAAGCT GGTACCGGCAGAAGCCAGGACAGACCCCTGTAC TTGTCGTCTATGGTAAAAACAACCGGCCCTCAGG GATCCCAGACCGATTCTCTGTCTCCGCCTCAGGT AACACAGCTTCCTTGACCATCACTGGGGCTCAGG CGGAAGATGAGGGTGACTATTACTGTA ACTCCCG GGACAGCAGTGGTGTGGTTTTTCGGCGGAGGGAC CAAGGTCACCGTCCTA
233	Последовательность антитела IgG1 G4_1	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDISNYLN WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPVTFGPGTKVEI KRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GECEVQLLES GGGVVPGRPLRLSCAASGFTFSSYS MNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GHWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
234	Последовательность антитела IgG1 G4_2	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDISNYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISGLQPEDFATYYCLEDYNLYLWTFGQGTKL EIKRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL

		SSTLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGECQMQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYPFT DYYIHWVQQAPGKGLEWMGLVDPEDGQSRSAERF QGRVTITADTSTD TAYMELSSLRSED TAVYYCATF PVAGFYGMDVWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
235	Последовательность антитела IgG1 G4_3	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLN WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYFCQQSYSTPQTFGQGTKVDI KRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLN NFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GECEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYS MNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGWL YDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
236	Последовательность антитела IgG1 G4_4	ASDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLSSSN NNNYLAWYQQRPQGPPKLLFYWASTRESGVPDRF

		SGGSGSTSFTLTITSLQAEDVAVYYCQQYYSTPLTF GGGTKLEIKRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGECQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMSSLRVEDTAVY YCAKSSVGWWSFDYWGQGTMTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSL SLSPGK
237	Последовательность антитела IgG1 G4_5	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEI KRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTL SKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGECEVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSY GISWVRQAPGQGLEWMGWIGAYNGNTNYAQKLQ GRVTMSTDTSTSTAYMELRSPRSDDTAVYYCARG GTGGDHVFAYWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA

		VEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
238	Последовательность антитела IgG1 G4_6	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISTYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSPQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGGTKVEI KRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL STLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GECEVQLVESGGGLVQP GGPLRLSCAASGFTFSSY AMNWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKA DYG VVYYFDYW GQGTMVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K
239	Последовательность антитела IgG1 G4_7	ASDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLSNR NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGLQTPYTFGQ GTKVDIKRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK STYSLSTLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGECEVQLVESGGGWVQSGGSLRPSCAASGF TFSHYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSIIYYA DSVKGRFTISRDN AKNSVYLQMNSLRAEDTAVYY CARIGYSSSSFDYWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL

		GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK
240	Последовательность антитела IgG1 G4_10	ASDIVMTQPPLSLPVTLGHPASISCKSSQSLEYSDGN TYLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSNRDSGAPDRFSGS GSGTDFTLISRVEAEDVGVYYCMQGTLPPTFGQ GTKVDIKRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYLSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGECQVQLVESGGGVVQPGRPLRLSCAASGF TFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKDGAVDFWRNGMDVWGRGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
241	Последовательность антитела IgG1 G4_12	ASQSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNF VSWYQQHHPGKAPKLMIEVTNRPSGV PDRFSGSKS GNTASLTISGLQAEDEADYYCSSHASPRVFGTGTK VTVLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISD FYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVA PTECSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSS NYMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSTYYADSVK

		GRFTISRHNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARV ANGDFLDYWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
242	Последовательность антитела IgG1 G4_13	ASNFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIASNYV QWYQQRPGSSPSTVIYEDNQRPSPGVPDRFSGSIDSS SNSASLTISGLRTEDEADYYCQSYDSSIYVVFGGGT KLTVLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTV APTECSQVQLVESGAIEVKKPGGSLRLSCAASGFTFS SYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISGTSSYIYYADSVK GRFTISRDNANKNSLYLQMSSLRAEDTAVYYCARGG LGMVDPWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
243	Последовательность антитела IgG1 G4_14	ASNFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSRGSIAAGNYV HWYQQRPGRAPTTVIYRDKERPSGVPDRISGSIDSS SNSASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSTHVVFGGG TKLTVLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLI SDFYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSN

		KYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKT VAPTECSEVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSF TSYWISWVRQMPGKGLEWMGRIDPSDSYTNYSFSF PGHVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAAD TAHGMDVWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
244	Последовательность антитела IgG1 G4_15	ASQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNY VSWYQQHHPGKAPKLMIDVSNRPSGVSNRFGSGKS GNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYSGSGSVFGTGTK LTVLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISD FYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVA PTECSEVQLVQSEAENVKKPGASVKVSKKASGYTFT RHYMHWVRQAPGQGLEWMGLINPSGSSTVYAQK FQGRVTLTRDTSTSTDYMESSLRSEDTAVYYCAR DNSHLDQVWWFDPWGQGTLLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK
245	Последовательность	ASQSVLTQPPSASGSPGQSVTFSCGTGTSSDIGAFNSV

	антитела IgG1 G4_16	SWYQQHPGKAPKLLIYEITKRPSGVPDRFSGSKSGN TASLTISVLQAEDEADYYCTSYAGSNTLIFGGGTKV TVLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDF YPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAP TECSEVQLLESgaeVKKPGASVKVSCKASGYTFTS YGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKL QGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR DYGDFYGMdVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K
246	Последовательность антитела IgG1 G4_18	ASSYELTQPPSVTESPGQTARITCSGDALAKQYAY WYQQKPGQAPVLVIYRDSERPSEIPERFSGSSSGTT VTLTISGVQAEDEADYYCQSADSSGYTYTVFGGGTK LTVLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISD FYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAP PTECSEVQLVESgaeVKKPGASVKVSCKASGYTFT GYYMHWVRQAPGQGLEWMGRINPNSGGTNYAQK FQGRVTMTRDASISTAYMELSRSLRSDDTAVYYCAR DLDLSSLDYWGRGTLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR

		EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
247	Последовательность антитела IgG1 G4_19	ASNFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIASNYV QWYQQRPGSPITLIYDDDQRPSGVPHRFSGSIDTSS NPASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSNHVVFGGGT KLTVLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTV APTECSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTL TSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQK FQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYYCAR ERGYSYGDGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK
248	Последовательность антитела IgG1 G4_20	ASSYELTHPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKFVSW YHQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTA TLTISGTRAMDEADYYCQAWDSSTVVFGGGTCLT VLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY PGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAA SSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECSQVQLVESGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFSSY AISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGR VTITVDKSTRTAYMELSSLRSKDTAVYYCARGNSR SDAFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPS

		NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
249	Последовательность антитела IgG1 G4_22	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSVSGSGT DFTLTISNLQPEDFATYYCQQSYSIPWTFGQGTKVE IKRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GECQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTY AMSWVRQAPGKGLEWVSTVSGSGGTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDS TAVTDWFDPWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
250	Последовательность антитела IgG1 G4_23	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNSLA WYQQKPGKAPKLLLYAASRLSGVPSRFSGSGSGT DYTLTISSLQPEDFATYYCQQYYSTPRTFGGGTKLE IKRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GECEVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKNYADSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR

		GEVAALYYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K
251	Последовательность антитела IgG1 G4_24	ASDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSN NKNYLAWYQQKPGQPPKLLISWASTRESGVDPDRFS GSGSGTDFTLTINSLQSEDAIYYCQQYYSTPPTFG QGTKLEIKRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPRKAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGECQVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISG ASVSSNSVAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSRWY NDYALSVKSRIINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAV YYCARDWSSTRSFDYWGRGTLTVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
252	Последовательность антитела IgG1 G4_25	ASQSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNY VSWYQQHPGKAPKLMIEVSNRPSGVSNRFSGSKS GNTASLTISGLQAEDADYYCSSYSGSVFGTGTK LTVLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISD

		FYPGA V T V A W K A D S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S E V Q L V E S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F S S Y A I S W V R Q A P G Q G L E W M G G I I P I F G T A N Y A Q K F Q G R V T I T A D K S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R S L R D G Y N Y I G S L G Y W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K K V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K
253	Последовательность антитела IgG1 G4_26	A S Q S G L T Q P A S V S G S P G Q S I T I S C T G T S S D V G S Y N L V S W Y Q Q H P G K A P K L M I Y E V S K R P S G V S N R F S G S K S G N T A S L T I S G L Q A E D E A D Y Y C S S F G S G S I F G T G T K L T V L G Q P A A A P S V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y P G A V T V A W K A D S S P V K A G V E T T T P S K Q S N N K Y A A S S Y L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G G T F S S Y A I S W V R Q A P G Q G L E W M G G I I P I F G T A N Y A Q K F Q G R V T I T A D E S T S T A Y M E L S S L R S E D T A V Y Y C A S S R G S G W F P L G Y W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K K V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K

254	Последовательность антитела IgG1 G4_27	ASSYELTQDPAVSVALGQTVSITCQGDSLRFYAN WYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGN TASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHLVFGGGT QLTVLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTV APTECSQVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKSSGYSFT SYWIGWVRQMPGKGLEWMGHIYPGSDSTRYSPSF QGQVTFSADESISTAYLQWSSLKASDTAMYICAR HGAYGDYPDTFDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK
255	Последовательность антитела IgG1 G4_28	ASSYELTQDPAVSVALGQTVTITCQGDSLRYNYYAS WYRQKPGQTPVLVVYVGKNNRPSGIPDRFSVSASGN TASLTITGAQAEDEGDYYCNSRDSSGVVFGGGTKV TVLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDF YPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAP TECSQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDD YAMHWVRQAPGKGLEWVSGISAGGGSTNYAGSV KGRFTVSRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVK SYVDTAMRYYYYYYMDVWGQGTMTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST

		YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
256	Последовательность антигена TRAC TRGV4(4MNH)	SSNLEGRTKSVIRQTGSSAEITCDLAEGSTGYIHWY LHQEGKAPQRLLYYDSYTSSVVLESGISPGKYDTY GSTRKNLRMILRNLIENDSGVYYCATWDEKYYKK LFGSGTTLVVTEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQ KATLVCLATGFYPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTD PQPLKEQPALNDSRYALSSRLRVSATFWQNPRNHF RCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGR ADCTTAPSAQLEKELQALEKENAQLE
257	Последовательность гетеродимерного антигена в виде лейциновой застёжки V γ 4 - (4MNH)GV4TRBC	SSNLEGRTKSVIRQTGSSAEITCDLAEGSTGYIHWY LHQEGKAPQRLLYYDSYTSSVVLESGISPGKYDTY GSTRKNLRMILRNLIENDSGVYYCATWDEKYYKK LFGSGTTLVVTEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQ KATLVCLATGFYPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTD PQPLKEQPALNDSRYALSSRLRVSATFWQNPRNHF RCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGR ADCTTAPSAQLEKELQALEKENAQLEWELQALEKE LAQ
258	Последовательность гетеродимерного антигена Fc V γ 4 - TRGV4(4MNH)	SSNLEGRTKSVIRQTGSSAEITCDLAEGSTGYIHWY LHQEGKAPQRLLYYDSYTSSVVLESGISPGKYDTY GSTRKNLRMILRNLIENDSGVYYCATWDEKYYKK LFGSGTTLVVTEDAAADKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVSHEALHSHHTQKSLSLSPGK
259	Последовательность гетеродимерного антигена в виде	SSNLEGRTKSVIRQTGSSAEITCDLAEGSNGYIHWY LHQEGKAPQRLQYYDSYNSKVVLESGVSPGKYTT YASTRNNLRLILRNLIENDSGVYYCATWDEKYYKK

	лейциновой застежки V γ 2 - (4MNH)GV2TRBC	LFGSGTTLVVTEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQ KATLVCLATGFYPDHVELSWVNGKEVHSGVSTD PQPLKEQPALNDSRYALSSRLRVSATFWQNPRNHF RCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGR ADCTTAPSAQLEKELQALEKENAQLWELQALEKE LAQ
260	Последовательность гетеродимерного антигена Fc V γ 2 - TRGV2(4MNH)	SSNLEGRTKSVIRQTGSSAEITCDLAEGSNGYIHWY LHQEGKAPQRLQYYDSYNSKVVLESVSPGKYYT YASTRNNLRLILRNLIENDSGVYYCATWDEKYYKK LFGSGTTLVVTEDAADKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVSHEALHSHHTQKSLSLSPGK
261	Вариабельная последовательность G4_1 полноразмерной легкой цепи TRGV4 - без N-концевых AS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWY QQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPVTFGPGTKVEIK
262	Вариабельная последовательность G4_2 полноразмерной легкой цепи TRGV4 - без N-концевых AS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWY QQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISGLQPEDFATYYCLEDYNYLWTFGQGGTKLEIK
263	Вариабельная последовательность G4_3 полноразмерной легкой цепи TRGV4 - без N-концевых AS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWY QQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYFCQQSYSTPQTFGQGGTKVDIK
264	Вариабельная последовательность G4_4 полноразмерной легкой цепи TRGV4 -	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLSSSNNN NYLAWYQQRPGQPPKLLFYWASTRESGVPRDFSG SGSGTSFTLTITSLQAEDVAVYYCQQYYSTPLTFGG GTKLEIK

	без N-концевых AS	
265	Вариабельная последовательность G4_5 полноразмерной легкой цепи TRGV4 - без N-концевых AS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSISSYLNWY QQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIK
266	Вариабельная последовательность G4_6 полноразмерной легкой цепи TRGV4 - без N-концевых AS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSISTYLNWY QQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIK
267	Вариабельная последовательность G4_7 полноразмерной легкой цепи TRGV4 - без N-концевых AS	DIVMTQSPLSLPVTTPGEPASISCRSSQSLLHSNRFNY LDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGLQTPYTFGQGT KVDIK
268	Вариабельная последовательность G4_10 полноразмерной легкой цепи TRGV4 - без N-концевых AS	DIVMTQPPLSLPVTLGHPASISCKSSQSLEYSDGNT YLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSNRDSGAPDRFSGSG SGTDFTLEISRVEAEDVGVYYCMQGLWPPTFGQG TKVDIK
269	Вариабельная последовательность G4_12 полноразмерной легкой цепи TRGV4 - без N-концевых AS	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNFVS WYQQHPGKAPKLMIEVTNRPSGVPDRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYCSSHASPRVFGTGTKV TVL
270	Вариабельная последовательность G4_13 полноразмерной легкой цепи TRGV4 - без N-концевых AS	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIASNYVQW YQQRPGSSPSTVIYEDNQRPSGVPDRFSGSIDSSNS ASLTISGLRTEDEADYYCQSYDSSIYVVFGGGKLT VL

271	Вариабельная последовательность G4_14 полноразмерной легкой цепи TRGV4 - без N-концевых AS	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSRSGSIAGNYVHW YQQRPGRAPTTVIYRDKERPSGVPDRISGSIDSSSNS ASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSSTHVVFGGGTKL TVL
272	Вариабельная последовательность G4_15 полноразмерной легкой цепи TRGV4 - без N-концевых AS	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVS WYQQHPGKAPKLMYDVSNRPSGVSNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYCSSLGSGSVFGTGTGKLT VL
273	Вариабельная последовательность G4_16 полноразмерной легкой цепи TRGV4 - без N-концевых AS	QSVLTQPPSASGSPGQSVTFSTGTSSDIGAFNSVS WYQQHPGKAPKLLIYEITKRPSGVPDRFSGSKSGNT ASLTISVLQAEDEADYYCTSYAGSNTLIFGGGTKVT VL
274	Вариабельная последовательность G4_18 полноразмерной легкой цепи TRGV4 - без N-концевых AS	SYELTQPPSVTESPGQTARITCSGDALAKQYAYWY QQKPGQAPVLVIYRDSERPSEIPERFSGSSSGTTVTL TISGVQAEDEADYYCQSADSSGTYTVFGGGTKLTV L
275	Вариабельная последовательность G4_19 полноразмерной легкой цепи TRGV4 - без N-концевых AS	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIASNYVQW YQQRPGSPITLIYDDDQRPSGVPHRFSGSIDTSSNP ASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSNHVVFGGGTKL TVL
276	Вариабельная последовательность G4_20 полноразмерной легкой цепи TRGV4 -	SYELTHPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKFVSWYH QKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATL TISGTRAMDEADYYCQAWDSSTVVFGGGTKLTVL

	без N-концевых AS	
277	Вариабельная последовательность G4_22 полноразмерной легкой цепи TRGV4 - без N-концевых AS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDISNYLNWY QQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSVSGSGTDFT LTISNLQPEDFATYYCQQSYSIPWTFGQGTKVEIK
278	Вариабельная последовательность G4_23 полноразмерной легкой цепи TRGV4 - без N-концевых AS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISNSLAWY QQKPGKAPKLLLYAASRLQSGVPSRFSVSGSGSGTDY TLTISSLQPEDFATYYCQQYYSTPRTFGGGTKLEIK
279	Вариабельная последовательность G4_24 полноразмерной легкой цепи TRGV4 - без N-концевых AS	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNK NYLAWYQQKPGQPPKLLISWASTRESGVPDRFSGS GSGTDFTLTINSLQSEDVAIYYCQQYYSTPPTFGQG TKLEIK
280	Вариабельная последовательность G4_25 полноразмерной легкой цепи TRGV4 - без N-концевых AS	QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVS WYQQHPGKAPKLMIYEVSNRPSGVSNRFSGSKSGN TASLTISGLQAEDEADYYCSSLGSGSVFGTGTKLTV L
281	Вариабельная последовательность G4_26 полноразмерной легкой цепи TRGV4 - без N-концевых AS	QSGLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNLVS WYQQHPGKAPKLMIYEVSKRPSGVSNRFSGSKSGN TASLTISGLQAEDEADYYCSSFGSGSIFGTGTKLTV L
282	Вариабельная последовательность G4_27 полноразмерной	SYELTQDPAVSVALGQTVSITCQGDSLRFYANWY QQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTAS LTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHLVFGGGTQLT VL

	легкой цепи TRGV4 - без N-концевых AS	
283	Вариабельная последовательность G4_28 полноразмерной легкой цепи TRGV4 - без N-концевых AS	SYELTQDPAVSVALGQTVTITCQGDSLRNYYASWY RQKPGQTPVLVVYGKNNRPSGIPDRFSVSASGNTA SLTITGAQAEDEGDYYCNSRDSSGVVFEGGGTKVTV L
284	Последовательность тяжелой цепи антитела IgG1 G4_1	EVQLLESGGGVVQPGRPLRLSCAASGFTFSSYSMN WVRQAPGKGLEWVSSISSSSSSIYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGHWFYFD LWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
285	Последовательность тяжелой цепи антитела IgG1 G4_2	QMQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYPFTDYYIH WVQQAPGKGLEWMGLVDPEDGQSRSAERFQGRV TITADTSTDATAYMELSSLRSEDTAVYYCATFPVAGF YGMDVWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
286	Последовательность	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMN

	тяжелой цепи антитела IgG1 G4_3	WVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGWLYD YWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
287	Последовательность тяжелой цепи антитела IgG1 G4_4	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMS WVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMSSLRVEDTAVYYCAKSSVGW WSFDYWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
288	Последовательность тяжелой цепи антитела IgG1 G4_5	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYGIS WVRQAPGQGLEWMGWIGAYNGNTNYAQKLQGR VTMSTDTSTSTAYMELRSRSDDTAVYYCARGGT GGDHVFAYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR

		EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
289	Последовательность тяжелой цепи антитела IgG1 G4_6	EVQLVESGGGLVQPGGPLRLSCAASGFTFSSYAMN WVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKADYGV VYYFDYWGGQTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
290	Последовательность тяжелой цепи антитела IgG1 G4_7	EVQLVESGGGWVQSGGSLRPSCAASGFTFSHYWM SWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSIIYYADSVKGRFT ISRDNKNSVYLQMNSLRAEDTAVYYCARIGYSSS SFDYWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
291	Последовательность тяжелой цепи антитела IgG1 G4_10	QVQLVESGGGVVQPGRPLRLSCAASGFTFSSYAMH WVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGA VDF WRNGMDVWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH

		KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
292	Последовательность тяжелой цепи антитела IgG1 G4_12	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMS WVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSTYYADSVKGRFTIS RHNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVANGDFL DYWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
293	Последовательность тяжелой цепи антитела IgG1 G4_13	QVQLVESGAEVKKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMN WVRQAPGKGLEWVSSISGTSSYIYYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMSSLRAEDTAVYYCARGGLGMV DPWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
294	Последовательность тяжелой цепи	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFTSYWIS WVRQMPGKGLEWMGRIDPSDSYTNYSFPGHVTI

	антитела IgG1 G4_14	SADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAADTAHGM DVWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
295	Последовательность тяжелой цепи антитела IgG1 G4_15	EVQLVQSEAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRHYM HWVRQAPGQGLEWMGLINPSGSSTVYAQKFQGRV TLTRDTSTSTDYMESSLRSEDTAVYYCARDNSHL DQVWWFDPWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
296	Последовательность тяжелой цепи антитела IgG1 G4_16	EVQLLESGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGIS WVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGR VTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYG DFYGM DVWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

		WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
297	Последовательность тяжелой цепи антитела IgG1 G4_18	EVQLVESGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYM HWVRQAPGQGLEWMGRINPNSGGTNYAQKFQGR VTMTRDASISTAYMELSRRLSDDTAVYYCARDLDL SSLDYWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
298	Последовательность тяжелой цепи антитела IgG1 G4_19	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTLTSYYM HWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRV TMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARERGY YGDGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
299	Последовательность тяжелой цепи антитела IgG1 G4_20	QVQLVESGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFSSYAIS WVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTI TVDKSTRTAYMELSSLRSKDTAVYYCARGNSRSD AFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP

		KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
300	Последовательность тяжелой цепи антитела IgG1 G4_22	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMS WVRQAPGKGLEWVSTVSGSGGTTYADSVKGRFT ISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSTAV TDWFDPWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
301	Последовательность тяжелой цепи антитела IgG1 G4_23	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMH WVRQAPGKGLEWVAWIWYDGSNKYYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGEVA ALYYFDYWGGQTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
302	Последовательность тяжелой цепи антитела IgG1 G4_24	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGASVSSNSVA WNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSRWYNDYALSVKS RIIINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARDWSS

		TRSFDYWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
303	Последовательность тяжелой цепи антитела IgG1 G4_25	EVQLVESGAIEVKKPGSSVKVCKASGGTFSSYAIS WVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSLRDGYN YIGSLGYWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
304	Последовательность тяжелой цепи антитела IgG1 G4_26	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSSYAIS WVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTI TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSRGSWGF PLGYWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ

		GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
305	Последовательность тяжелой цепи антитела IgG1 G4_27	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKSSGYSFTSYWIG WVRQMPGKGLEWMGIYPGDS DTRYSPSFQGGQVT FSADESISTAYLQWSSLKASDTAMY YCARHGAYG DYPDTFDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
306	Последовательность тяжелой цепи антитела IgG1 G4_28	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYAM HWVRQAPGKGLEWVSGISAGGGSTNYAGSVKGRF TVSRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKSYVD TAMRYYYYYMDVWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK
307	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_1	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLN WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPVTFGPGTKVEI KRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEEKHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC

308	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_2	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDISNYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISGLQPEDFATYYCLEDYNYLWTFGQGTKL EIKRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYSL SSTLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC
309	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_3	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDISNYLN WYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYFCQQSYSTPQTFGQGTKVDI KRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYSL STLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
310	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_4	ASDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLSSN NNNYLAWYQQRPGQPPLLFYWASTRESGVPDRF SGSGSGTSFTLTITSLQAEDVAVYYCQQYYSTPLTF GGGTKLEIKRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDYSTYSLSTLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
311	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_5	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEI KRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYSL STLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
312	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_6	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQSISTYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEI KRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYSL STLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC

313	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_7	ASDIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNR NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGLQTPYTFGQ GTKVDIKRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYSLSSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
314	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_10	ASDIVMTQPPLSLPVTLGHPASISCKSSQSLEYSDGN TYLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSNRDSGAPDRFSGS GSGTDFTLEISRVEAEDVGVYYCMQGLWPPTFGQ GTKVDIKRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYSLSSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
315	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_12	ASQSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNF VSWYQQHPGKAPKLMIEVTNRPSGVPDRFSGSKS GNTASLTISGLQAEDEADYYCSSHASPRVFGTGTK VTVLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISD FYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVA PTECS
316	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_13	ASNFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIASNYV QWYQQRPGSSPSTVIYEDNQRPSGVPDRFSGSIDSS SNSASLTISGLRTEDEADYYCQSYDSSIYVVFGGGT KLTVLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTV APTECS
317	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_14	ASNFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSRGSIAAGNYV HWYQQRPGRAPTTVIYRDKERPSGVPDRISGSIDSS SNSASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSTHVVFGGG TKLTVLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLI SDFYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSN KYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKT VAPTECS

318	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_15	ASQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNY VSWYQQHPGKAPKLMYDVSNRPSGVSNRFSGSKS GNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYSGSVFGTGTK LTVLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISD FYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSN NKY AASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVA PTECS
319	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_16	ASQSVLTQPPSASGSPGQSVTFSCGTGTSSDIGAFNSV SWYQQHPGKAPKLLIYEITKRPSGV PDRFSGSKSGN TASLTISVLQAEDEADYYCTSYAGSNTLIFGGGTKV TVLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDF YPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSN NKYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVA P TECS
320	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_18	ASSYELTQPPSVTESPGQTARITCSGDALAKQYAY WYQQKPGQAPVLVIYRDSERPSEIPERFSGSSSGTT VTLTISGVQAEDEADYYCQSADSSGTYTVFGGGTK LTVLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISD FYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSN NKY AASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVA PTECS
321	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_19	ASNFM LTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIASNYV QWYQQRPGSP PITLIYDDDQRPSGVPHRFSGSIDTSS NPASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSNHVVFGGGT KLTVLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSN NK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKT V APTECS
322	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_20	ASSYELTHPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKFVSW YHQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGNTA TLTISGTRAMDEADYYCQAWDSSTVVFGGGTKLT VLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY PGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSN NKYAA SSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVA P ECS

323	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_22	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQDISNYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSVSGSGT DFTLTISNLQPEDFATYYCQQSYSIPWTFGQGTKVE IKRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
324	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_23	ASDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGINSLSA WYQQKPGKAPKLLLYAASRLSGVPSRFSGSGSGT DYTLTISSLQPEDFATYYCQQYYSTPRTFGGGTKLE IKRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC
325	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_24	ASDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSN NKNYLAWYQQKPGQPPKLLISWASTRESGVPRFS GSGSGTDFTLTINSLQSEDAIYYCQQYYSTPPTFG QGTKLEIKRTAAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
326	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_25	ASQSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNY VSWYQQHPGKAPKLMIYEVSNRPSGVSNRFSGSKS GNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYSGSVFGTGTK LTVLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISD FYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVA PTECS
327	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_26	ASQSGLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNLV SWYQQHPGKAPKLMIYEVSKRPSGVSNRFSGSKSG NTASLTISGLQAEDEADYYCSSFGSGSIFGTGTKLT VLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY PGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYAA SSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVA PTECS

328	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_27	ASSYELTQDPAVSVALGQTVSITCQGDSLRFNFIYAN WYQQKPGQAPVLIYVGKNNRPSGIPDRFSGSSSGN TASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNHLVFGGGT QLTVLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTV APTECS
329	Последовательность легкой цепи антитела IgG1 G4_28	ASSYELTQDPAVSVALGQTVTITCQGDSLRFNFIYAS WYRQKPGQTPVLVYVGKNNRPSGIPDRFVSASGN TASLTITGAQAEDEGDYYCNSRDSSGVVFGGGTKV TVLGQPAAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDF YPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYA ASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAP TECS
330	Последовательность константной области легкой цепи каппа человека (предпочтительный аллотип)	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
331	Последовательность константной области легкой цепи лямбда человека (IGLC2)	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPG AVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTEC S
332	Константный домен IgG1 человека	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL DSDGSSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
333	Константный домен	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP

	IgG1 человека с заменой LAGA	VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
334	TRGV4 человека	SSNLEGRTKSVIRQTGSSAEITCDLAEGSTGYIHWY LHQEGKAPQRLLYYDSYTSSVVLESGLSPGKYDTY GSTRKNLRMILRNLIENDSGVYYCATWD
335	TRGV2 человека	SSNLEGRTKSVIRQTGSSAEITCDLAEGSNGYIHWY LHQEGKAPQRLQYYDSYNSKVVLESGLVSPGKYTY YASTRNNLRILRNLIENDSGVYYCATWD
336	TRGV8 человека	SSNLEGRTKSVTRPTGSSAVITCDLPVENAVYTHW YLHQEGKAPQRLLYYDSYNSRVVLESGLISREKYHT YASTGKSLKFILENLIERDSGVYYCATWD
337	TRDV1 человека	AQKVTQAQSSVSMVRKAVTLNCLYETSWWSYYI FWYKQLPSKEMIFLIRQGSDEQNAKSGRYSVNFKK AAKSVALTISALQLEDSAKYFCALGE
338	TRDV2 человека	AIELVPEHQTVPVSIGVPATLRCSMKGEAIGNYYIN WYRKTQGNTITFIYREKDIYGPFGKDNFQGDIDIAK NLAVLKILAPSERDEGSYYCACDT

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ *ex vivo* модуляции Т-клеток с вариабельной гамма-цепью 4 подтипа (V γ 4), включающий введение антитела или его фрагмента, которые специфически связываются с цепью V γ 4 $\gamma\delta$ Т-клеточного рецептора (TCR), а не с вариабельной гамма-цепью 2 подтипа (V γ 2) $\gamma\delta$ TCR, в популяцию клеток, содержащую V γ 4 Т-клетки.

2. Способ по п. 1, в котором цепь V γ 4 $\gamma\delta$ TCR представляет собой V γ 4 человека, а цепь V γ 2 $\gamma\delta$ TCR представляет собой V γ 2 человека.

3. Способ по п. 1 или 2, в котором антитело или его фрагмент связываются с эпитопом цепи V γ 4 $\gamma\delta$ TCR, содержащим один или более аминокислотных остатков в пределах области аминокислот 67-82 из SEQ ID NO: 1.

4. Способ по п. 3, в котором эпитоп содержит по меньшей мере один из аминокислотных остатков 71, 73, 75, 76, 79 из SEQ ID NO: 1.

5. Способ по любому из пп. 1-4, в котором эпитоп содержит или состоит из K76 и/или M80 из SEQ ID NO: 1.

6. Способ по любому из пп. 1-5, в котором эпитоп представляет собой активирующий эпитоп $\gamma\delta$ Т-клетки.

7. Способ по п. 6, в котором связывание активирующего эпитопа: (i) снижает уровень $\gamma\delta$ TCR; (ii) активирует дегрануляцию $\gamma\delta$ Т-клетки; (iii) активирует опосредованное $\gamma\delta$ Т-клетками уничтожение и/или (iv) активирует или повышает опосредованную цепью V γ 4 клеточную передачу сигналов.

8. Способ *ex vivo* модуляции Т-клеток с вариабельной гамма-цепью 4 подтипа (V γ 4), включающий введение антитела к V γ 4 или его фрагмента, которые содержат одно или более из:

CDR3, содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 2-47, предпочтительно с SEQ ID NO: 10 и/или 33;

CDR2, содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 48-70 и последовательностями: A1-A23 (на Фиг. 1), предпочтительно с SEQ ID NO: 56 и/или последовательностью A9; и/или

CDR1, содержащей последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 71-116, предпочтительно с SEQ ID NO: 79 и/или 102,

в популяцию клеток, содержащую V γ 4 Т-клетки.

9. Способ по п. 8, в котором антитело или его фрагмент содержат область VH, содержащую CDR3, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 2-24, например, SEQ ID NO: 10, 4, 14, 15, 17, 19 или 23.

10. Способ по п. 8 или п. 9, в котором антитело или его фрагмент содержат область VL, содержащую CDR3, содержащую последовательность, имеющую по меньшей мере

80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 25-47, например, SEQ ID NO: 33, 27, 37, 38, 40, 42 или 46.

11. Способ *ex vivo* модуляции Т-клеток с вариабельной гамма-цепью 4 подтипа (V γ 4), включающий введение антитела к V γ 4 или его фрагмента, которые содержат аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 117-162 или 261-283, в популяцию клеток, содержащую V γ 4 Т-клетки.

12. Способ *ex vivo* модуляции Т-клеток с вариабельной гамма-цепью 4 подтипа (V γ 4), включающий введение антитела к V γ 4 или его фрагмента, содержащих одно или более из:

(a) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 79, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 56, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 10, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 125; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 102, LCDR2, имеющую последовательность A9 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 33, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 148 или 269;

(b) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 86, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 63, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 17, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 132; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 109, LCDR2, имеющую последовательность A16 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 40, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 155 или 276;

(c) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 73, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 50, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 4, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 119; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 96, LCDR2, имеющую последовательность A3 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 27, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 142 или 263;

(d) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 83, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 60, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 14, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 129; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 106, LCDR2, имеющую последовательность A13 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 37, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 152 или 273;

(e) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 84, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 61, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 15, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 130; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 107, LCDR2, имеющую последовательность A14 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 38, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 153 или 274;

(f) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 88, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 65, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 19, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 134; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 111, LCDR2, имеющую последовательность A18 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 42, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 157 или 278;

(g) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 92, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 69, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 23, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 138; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 115, LCDR2, имеющую последовательность A22 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 46, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 161 или 282;

(h) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 71, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 48, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 2, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 117; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 94, LCDR2, имеющую последовательность A1 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 25, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 140 или 261;

(i) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 72, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 49, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 3, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 118; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 95, LCDR2, имеющую последовательность A2 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 26, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 141 или 262;

(j) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 74, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 51, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 5, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 120; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 97, LCDR2, имеющую последовательность A4 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 28, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 143 или 264;

(k) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 75, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 52, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 6, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 121; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 98, LCDR2, имеющую последовательность A5 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 29, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 144 или 265;

(l) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 76, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 53, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 7, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 122; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 99, LCDR2, имеющую

последовательность A6 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 30, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 145 или 266;

(m) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 77, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 54, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 8, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 123; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 100, LCDR2, имеющую последовательность A7 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 31, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 146 или 267;

(n) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 78, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 55, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 9, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 124; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 101, LCDR2, имеющую последовательность A8 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 32, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 147 или 268;

(o) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 80, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 57, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 11, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 126; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 103, LCDR2, имеющую последовательность A10 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 34, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 149 или 270;

(p) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 81, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 58, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 12, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 127; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 104, LCDR2, имеющую последовательность A11 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 35, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 150 или 271;

(q) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 82, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 59, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 13, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 128; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 105, LCDR2, имеющую последовательность A12 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 36, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 151 или 272;

(r) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 85, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 62, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 16, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 131; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 108, LCDR2, имеющую последовательность A15 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 39, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 154 или 275;

(s) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 87, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 64, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 18, причем необязательно VH содержит SEQ ID

NO: 133; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 110, LCDR2, имеющую последовательность A17 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 41, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 156 или 277;

(t) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 89, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 66, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 20, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 135; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 112, LCDR2, имеющую последовательность A19 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 43, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 158 или 279;

(u) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 90, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 67, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 21, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 136; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 113, LCDR2, имеющую последовательность A20 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 44, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 159 или 280;

(v) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 91, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 68, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 22, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 137; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 114, LCDR2, имеющую последовательность A21 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 45, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 160 или 281;

и/или

(w) VH, содержащей HCDR1, имеющую SEQ ID NO: 93, HCDR2, имеющую SEQ ID NO: 70, и HCDR3, имеющую SEQ ID NO: 24, причем необязательно VH содержит SEQ ID NO: 139; и

VL, содержащей LCDR1, имеющую SEQ ID NO: 116, LCDR2, имеющую последовательность A23 (на Фиг. 1), и LCDR3, имеющую SEQ ID NO: 47, причем необязательно VL содержит SEQ ID NO: 162 или 283,

в популяцию клеток, содержащую V γ 4 Т-клетки.

13. Способ *ex vivo* модуляции Т-клеток с вариабельной гамма-цепью 4 подтипа (V γ 4), включающий введение антитела к V γ 4 или его фрагмента, которые содержат аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 163-185, в популяцию клеток, содержащую V γ 4 Т-клетки.

14. Способ *ex vivo* модуляции Т-клеток с вариабельной гамма-цепью 4 подтипа (V γ 4), включающий введение антитела к V γ 4, которое содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 233-255, в популяцию клеток, содержащую V γ 4 Т-клетки.

15. Способ *ex vivo* модуляции Т-клеток с вариабельной гамма-цепью 4 подтипа

(V γ 4), включающий введение антитела к V γ 4 или его фрагмента, содержащих аминокислотную последовательность тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 284-306, и/или аминокислотную последовательность легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 307-329, в популяцию клеток, содержащую V γ 4 Т-клетки.

16. Способ по любому из пп. 1-15, в котором антитело к V γ 4 или его фрагмент представляют собой:

- (i) scFv или полноразмерное антитело; и/или
- (ii) человеческое антитело или его фрагмент.

17. Способ по любому из пп. 1-16, в котором модуляция включает размножение V γ 4 Т-клеток.

18. Способ по п. 17, причем способ обеспечивает размноженную популяцию V γ 4 Т-клеток, которая содержит более чем около 60% V γ 4 Т-клеток, например, более чем около 70% V γ 4 Т-клеток.

19. Способ по любому из пп. 1-18, причем способ включает культивирование популяции клеток в течение по меньшей мере 5 дней.

20. Способ по любому из пп. 1-19, причем способ включает культивирование популяции клеток в присутствии IL-2 и/или IL-15.

21. Способ по любому из пп. 1-20, в котором популяцию клеток получают из гематопозитического образца или его фракции.

22. Способ по п. 21, в котором гематопозитический образец состоит из моноклеарных клеток периферической крови (МКПК) или моноклеарных клеток низкой плотности (LDMC).

23. Способ по любому из пп. 1-20, в котором популяцию клеток получают из образца негематопозитической ткани, такого как образец кожи, толстой кишки, кишечника, молочной железы, легкого, предстательной железы, печени, селезенки, поджелудочной железы, матки, влагалища или других кожных, слизистых или серозных оболочек.

24. Способ по любому из пп. 1-23, в котором популяцию клеток получают из ткани человека или отличного от человека животного.

25. Популяция V γ 4 Т-клеток, полученная способом *ex vivo* по любому из пп. 1-24.

26. Композиция, содержащая популяцию V γ 4 Т-клеток по п. 25.

27. Фармацевтическая композиция, содержащая популяцию V γ 4 Т-клеток по п. 25, вместе с фармацевтически приемлемым разбавителем или носителем.

28. Фармацевтическая композиция по п. 27, для применения в качестве лекарственного препарата.

29. Фармацевтическая композиция по п. 27, для применения при лечении рака, инфекционного заболевания или воспалительного заболевания.

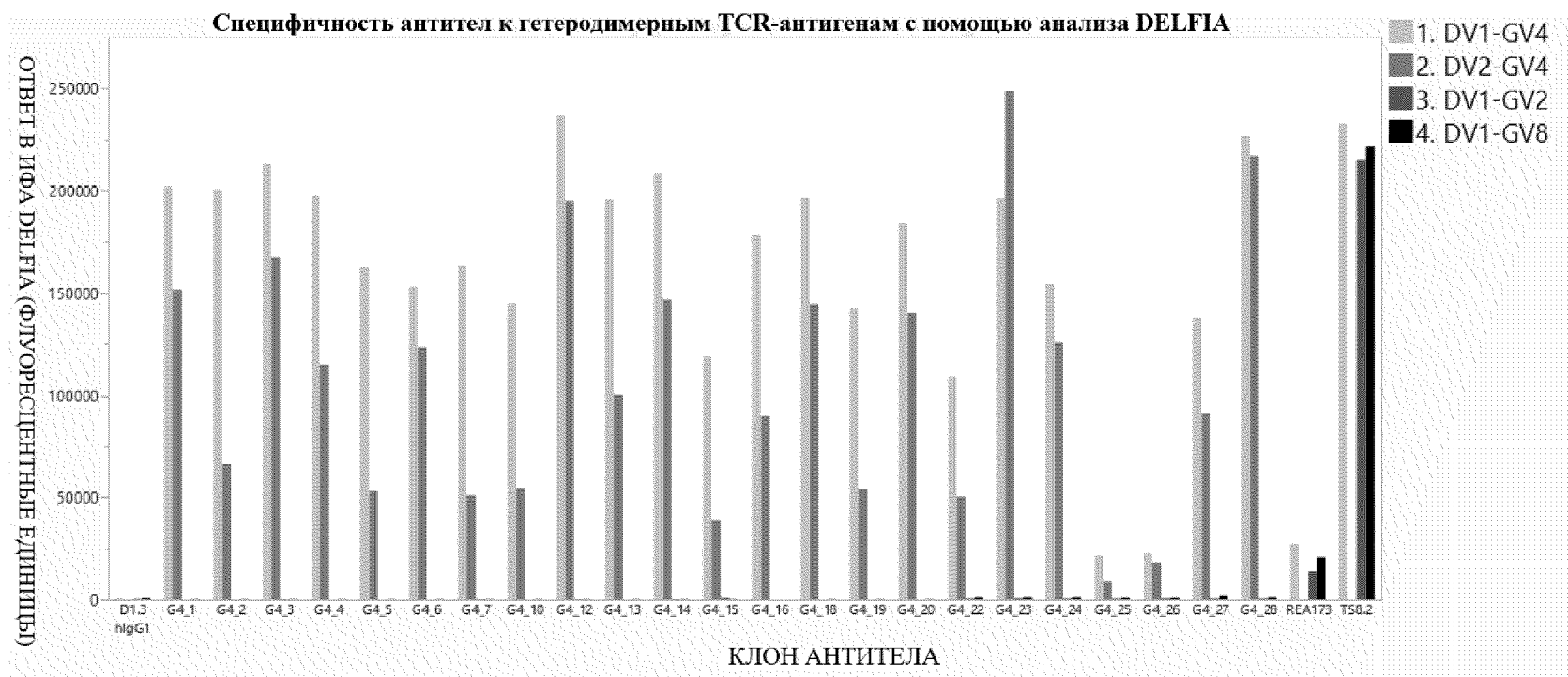
30. Способ лечения рака, инфекционного заболевания или воспалительного заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение терапевтически

эффективного количества популяции $V\gamma 4$ Т-клеток по п. 25, или фармацевтической композиции по п. 27.

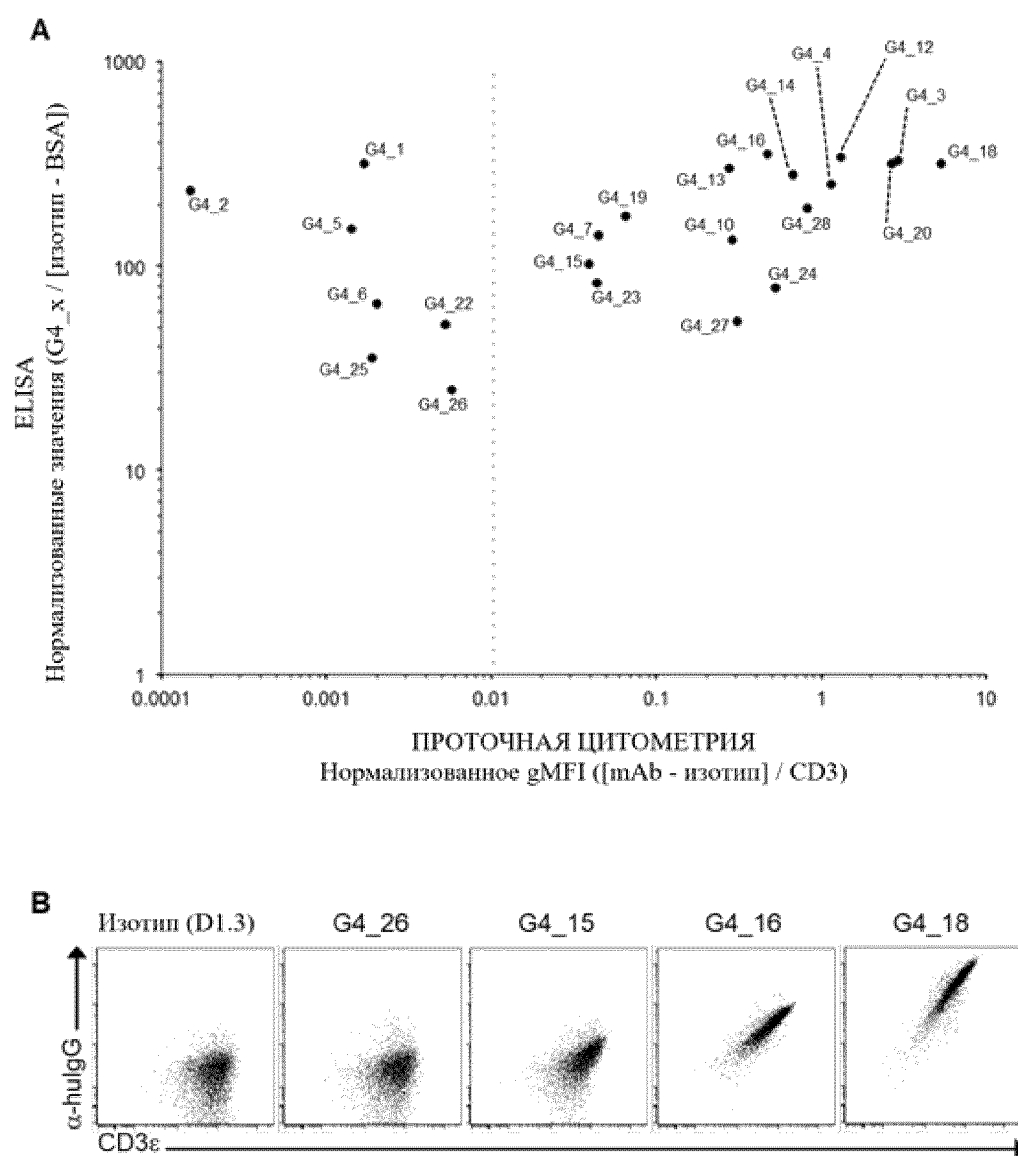
По доверенности

ID клона	Alias	CDR1 тяжелой цепи	SEQ ID NO.	CDR2 тяжелой цепи	SEQ ID NO.	CDR3 тяжелой цепи	SEQ ID NO.	CDR1 легкой цепи	SEQ ID NO.	CDR2 легкой цепи	SEQ	CDR3 легкой цепи	SEQ ID NO.
1138_P01_F06	G4_1	GFTFSSYS	71	ISSSSSYI	48	GHWYFDL	2	QDISNY	94	DAS	A1	QQSYSTPVT	25
1139_P01_B03	G4_2	GYPFTDYY	72	VDPEDGQS	49	FPVAGFYGM DV	3	QDISNY	95	AAS	A2	LEDYNYLWT	26
1139_P01_A04	G4_3	GFTFSSYS	73	ISSSSSYI	50	GGWLYDY	4	QDISNY	96	DAS	A3	QQSYSTPQT	27
1247_P01_E02	G4_4	GFTFSSYA	74	ISGSGGST	51	SSVGWWSFDY	5	QSVLSSNNNNY	97	WAS	A4	QYYSTPLT	28
1247_P02_H01	G4_5	GYFTSYG	75	IGAYNGNT	52	GGTGGDHVFAY	6	QSISSY	98	AAS	A5	QQSYSTPYT	29
1247_P02_A03	G4_6	GFTFSSYA	76	ISGSGGST	53	ADYGVVYFDY	7	QSISTY	99	AAS	A6	QQSYSTPYT	30
1247_P02_A04	G4_7	GFTFSHYW	77	IKQDGSII	54	IGYSSSSFDY	8	QSLHNSRNFY	100	LGS	A7	MQGLQTPYT	31
1253_P02_H04	G4_10	GFTFSSYA	78	ISGSGGST	55	DGAVDFWRNGMDV	9	QSLEYS DGNTY	101	KVS	A8	MQGTLWPPT	32
1140_P01_G08	G4_12	GFTVSSNY	79	IYSGGST	56	VANGDFLDY	10	SSDVGGYNF	102	EVT	A9	SSHASPRV	33
1248_P01_B01	G4_13	GFTFSSYS	80	ISGTSSYI	57	GGLGMVDP	11	SGSIASNY	103	EDN	A10	QSYDSSIYV	34
1248_P01_C01	G4_14	GYSFTSYW	81	IDPSDSYT	58	DTAHGMDV	12	RGSIAGNY	104	RDK	A11	QSYDSS THV	35
1248_P02_D06	G4_15	GYTFTRHY	82	INPSGSST	59	DNSHLDQVWWFDP	13	SSDVGGYNY	105	DVS	A12	SSYGSGSV	36
1248_P02_D10	G4_16	GYFTSYG	83	ISAYNGNT	60	DYGDFYGM DV	14	SSDIGAFNS	106	EIT	A13	TSYAGSNTLI	37
1254_P01_H04	G4_18	GYFTGY	84	INPNSGGT	61	DLDLSSLDY	15	ALAKQY	107	RDS	A14	QSADSSGTYTV	38
1254_P01_G06	G4_19	GYTLTSYY	85	INPSGGST	62	ERGYSYGDGMDV	16	SGSIASNY	108	DDD	A15	QSYDSSNHV	39
1254_P02_G02	G4_20	GGTFSSYA	86	IIPFGTA	63	GNSRSDAFDI	17	KLGDKF	109	QDS	A16	QAWDSSTV	40
1247_P02_B10	G4_22	GFTFSTYA	87	VSGSGGTT	64	DSTAVTDW FDP	18	QDISNY	110	AAS	A17	QQSYSIPWT	41
1253_P03_H05	G4_23	GFTFSSYG	88	IWYDGSNK	65	GEVAALYFDY	19	QGISNS	111	AAS	A18	QYYSTPRT	42
1247_P01_B04	G4_24	GASVSSNSVA	89	TYRSRWYN	66	DWSSTRSFDY	20	QSVLYSSNNKNY	112	WAS	A19	QYYSTPPT	43
1248_P02_E05	G4_25	GGTFSSYA	90	IIPFGTA	67	SLRDGYNIGSLGY	21	SSDVGGYNY	113	EVS	A20	SSYGSGSV	44
1248_P02_C01	G4_26	GGTFSSYA	91	IIPFGTA	68	SRGSGWFLGY	22	SSDVGSYNL	114	EVS	A21	SSFGSGSI	45
1248_P02_C10	G4_27	GYSFTSYW	92	IYPGDSDT	69	HGAYGDYPTFDI	23	SLRNFY	115	GKN	A22	NSRDSSGNHLV	46
1248_P02_F12	G4_28	GFTFDDYA	93	ISAGGGST	70	SYVDTAMRYYYYYMDV	24	SLRNY	116	GKN	A23	NSRDSSGV	47

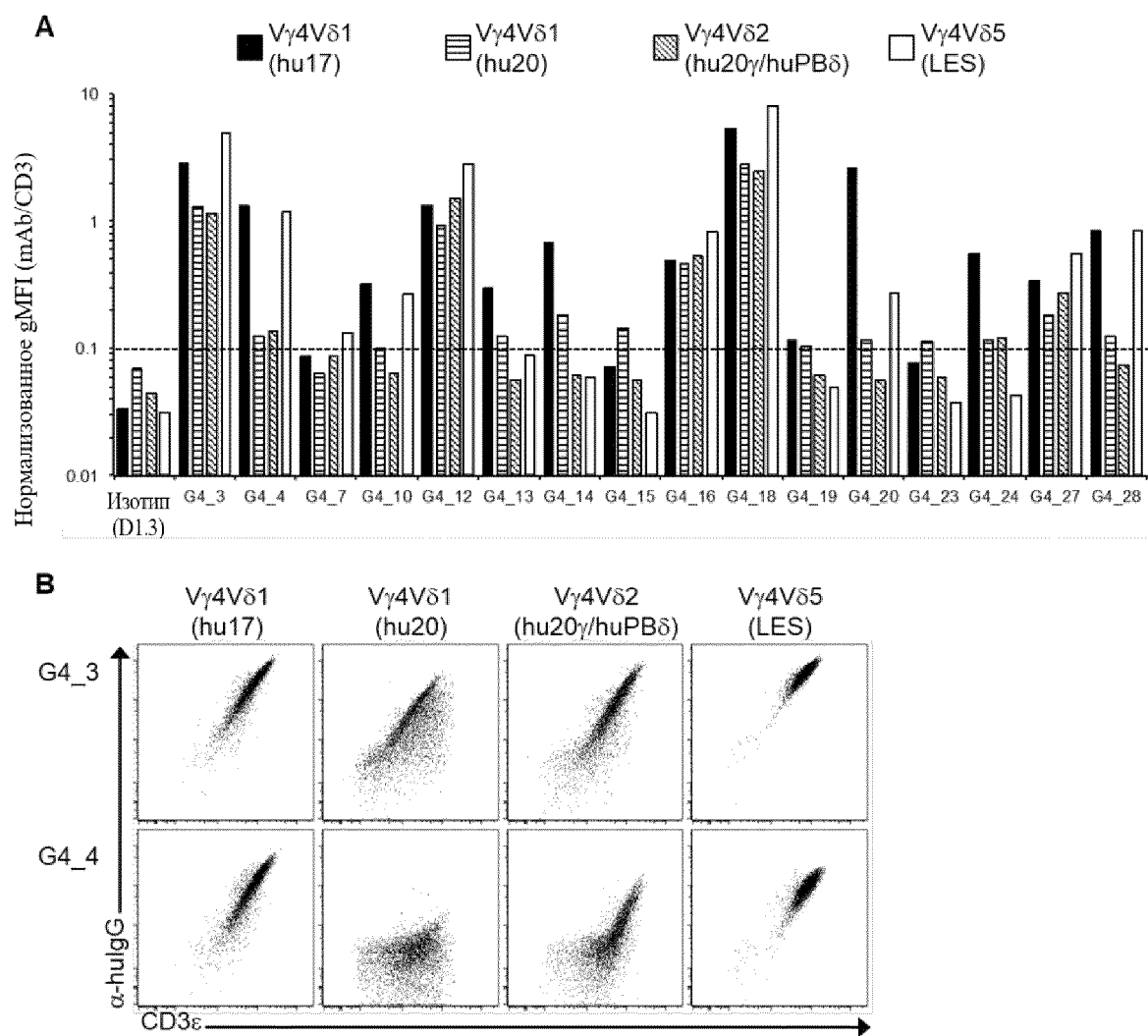
ФИГ. 2А



Alias	ID клона	Антиген					Специфичность DV1-GV4 по отношению к DV1-GV2 (кратное улучшение после вычитания фона D1.3)	Специфичность DV1-GV4 по отношению к DV1-GV2 (% кратного улучшения после вычитания фона)
		BSA	L1 (DV1-GV4)	L2 (DV1-GV2)	L3 (DV1-GV8)	L4 (DV2-GV4)		
G4_1	1138_P01_F06	78	202446	100	244	151594	5622	562167
G4_2	1139_P01_B03	56	200571	86	270	66611	9114	911386
G4_3	1139_P01_A04	88	213198	216	239	167686	1402	140202
G4_4	1247_P01_E02	121	197877	90	190	115097	7607	760715
G4_5	1247_P02_H01	86	162563	93	173	53057	5602	560248
G4_6	1247_P02_A03	122	153210	112	256	123562	3190	318998
G4_7	1247_P02_A04	164	163326	168	238	51157	1570	156957
G4_10	1253_P02_H04	57	145186	109	187	54803	3224	322433
G4_12	1140_P01_G08	80	236812	229	252	195126	1435	143467
G4_13	1248_P01_B01	78	196024	94	270	100595	6531	653110
G4_14	1248_P01_C01	135	208474	199	229	146754	1544	154358
G4_15	1248_P02_D06	63	119133	844	156	38839	153	15262
G4_16	1248_P02_D10	69	178442	84	118	89921	8918	891755
G4_18	1254_P01_H04	67	196864	66	185	144733	98387	9838650
G4_19	1254_P01_G06	55	142432	73	192	54072	15816	1581567
G4_20	1254_P02_G02	132	184142	147	239	140291	2218	221778
D1.3 (анализ 1)	Антитело против лизоцима курицы (D1.3)	66	91	64	120	83	NA	NA
G4_22	1247_P02_B10	47	109257	567	980	50342	670	67017
G4_23	1253_P03_H05	53	196478	616	1029	248899	928	92791
G4_24	1247_P01_B04	53	154317	534	960	125859	1191	119091
G4_25	1248_P02_E05	40	21670	486	885	8811	259	25901
G4_26	1248_P02_C01	51	22796	680	870	18504	80	8039
G4_27	1248_P02_C10	40	138240	579	1686	91330	791	79052
G4_28	1248_P02_F12	65	227097	576	984	217278	1324	132402
D1.3 (анализ 2)	Антитело против лизоцима курицы (D1.3)	51	690	405	717	43	NA	NA



ФИГ. 3



ФИГ. 4

A

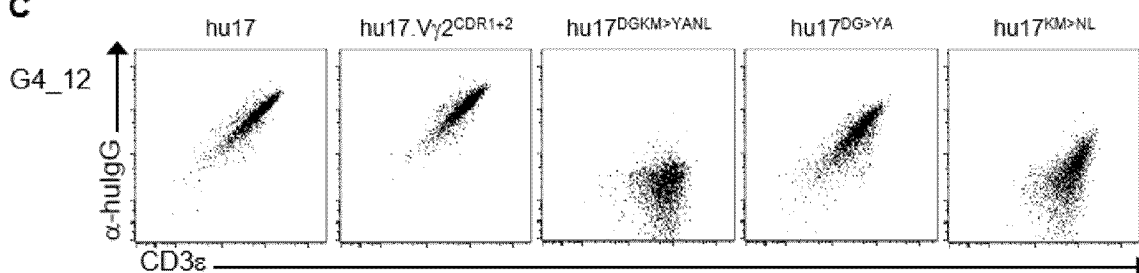
	CDR1	CDR2	HV4	CDR3
hu17	VIRQTGSSAEITCDLAEGSTGYIHWYLNHOGEGKAPQRLLYYDSYTSVWLESGISPGKYDTYGSTRNLRMIILRNLIENDSGVYYCATWDG...			
hu17.V/2 ^{CDR1}	VIRQTGSSAEITCDLAEGS	GYIHWYLNHOGEGKAPQRLLYYDSYTSVWLESGISPGKYDTYGSTRNLRMIILRNLIENDSGVYYCATWDG...		
hu17.V/2 ^{CDR2}	VIRQTGSSAEITCDLAEGSTGYIHWYLNHOGEGKAPQRLLYYDSY	S	VWLESGISPGKYDTYGSTRNLRMIILRNLIENDSGVYYCATWDG...	
hu17.V/2 ^{CDR1+2}	VIRQTGSSAEITCDLAEGS	GYIHWYLNHOGEGKAPQRLLYYDSY	S	VWLESGISPGKYDTYGSTRNLRMIILRNLIENDSGVYYCATWDG...
hu17 ^{CDR1+2}	VIRQTGSSAEITCDLAEGSTGYIHWYLNHOGEGKAPQRLLYYDSYTSVWLESGISPGKYDTYGSTRNLRMIILRNLIENDSGVYYCATWDG...			
hu17 ^{CDR1+2}	VIRQTGSSAEITCDLAEGSTGYIHWYLNHOGEGKAPQRLLYYDSYTSVWLESGISPGKYDTYGSTRNLRMIILRNLIENDSGVYYCATWDG...			
hu17 ^{CDR1+2}	VIRQTGSSAEITCDLAEGSTGYIHWYLNHOGEGKAPQRLLYYDSYTSVWLESGISPGKYDTYGSTRNLRMIILRNLIENDSGVYYCATWDG...			
hu17.V/2	VIRQTGSSAEITCDLAEGS	GYIHWYLNHOGEGKAPQRLLYYDSY	S	VWLESGISPGKYDTYGSTRNLRMIILRNLIENDSGVYYCATWDG...
hu17.V/2 ^{CDR1}	VIRQTGSSAEITCDLAEGS	GYIHWYLNHOGEGKAPQRLLYYDSY	S	VWLESGISPGKYDTYGSTRNLRMIILRNLIENDSGVYYCATWDG...
hu17.V/3	VIRQTGSSAEITCDLAEGSTGYIHWYLNHOGEGKAPQRLLYYDSYTSVWLESGISPGKYDTYGSTRNLRMIILRNLIENDSGVYYCATWDG...			
hu17.V/3-V/4 ^{CDR1}	VIRQTGSSAEITCDLAEGSTGYIHWYLNHOGEGKAPQRLLYYDSYTSVWLESGISPGKYDTYGSTRNLRMIILRNLIENDSGVYYCATWDG...			
hu17.V/3-V/4 ^{CDR1+2}	VIRQTGSSAEITCDLAEGSTGYIHWYLNHOGEGKAPQRLLYYDSYTSVWLESGISPGKYDTYGSTRNLRMIILRNLIENDSGVYYCATWDG...			

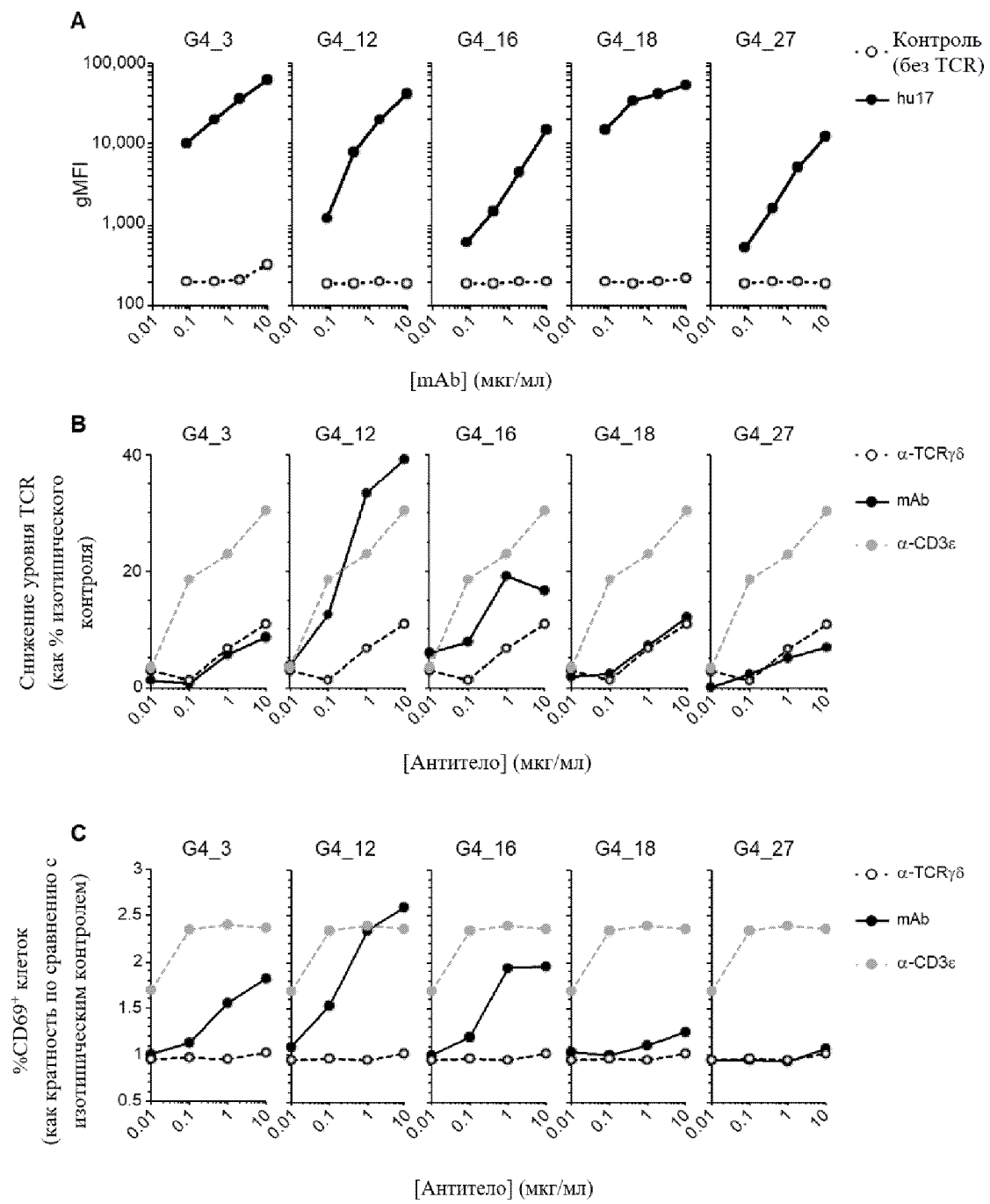
ФИГ. 5

B

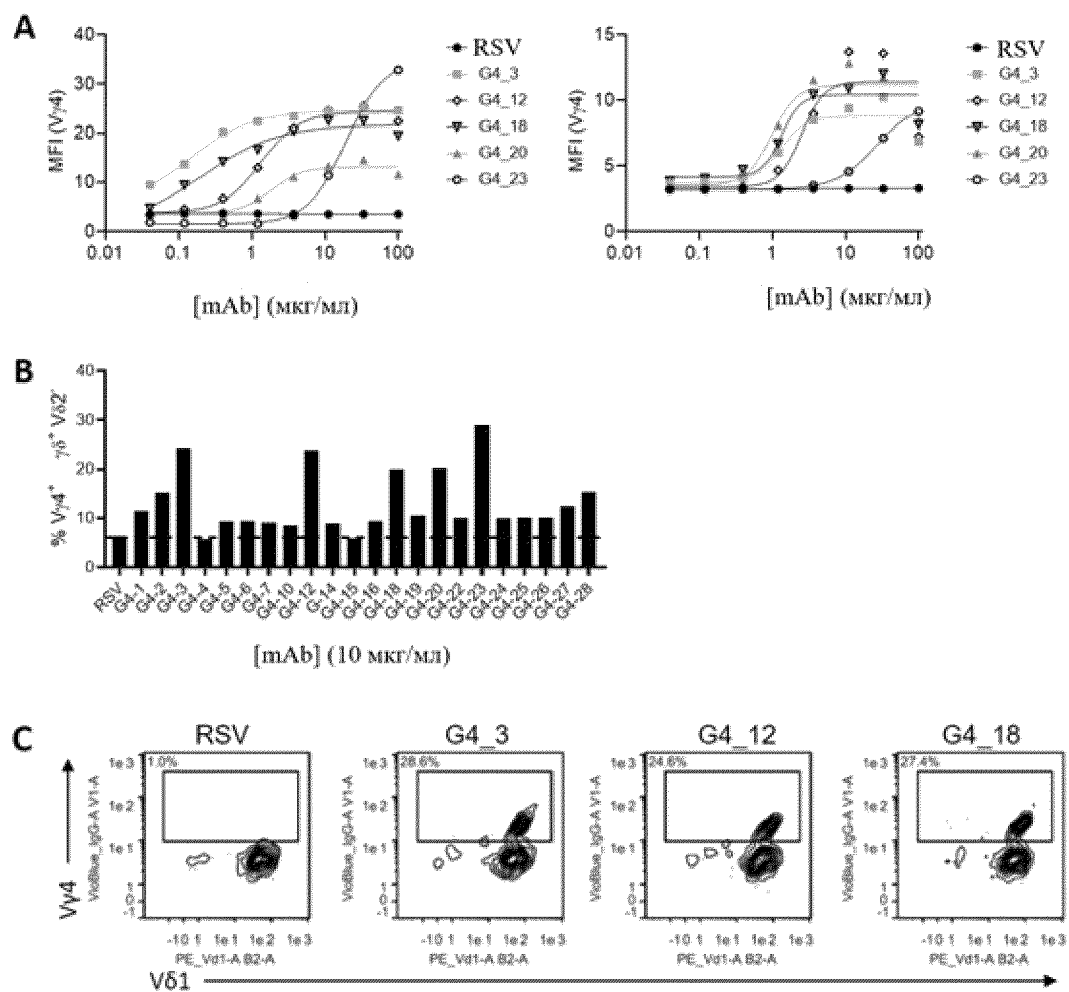
	G4_3	G4_12	G4_16	G4_18	G4_27
hu17					
hu17.V γ 2 ^{CDR1}					
hu17.V γ 2 ^{CDR2}					
hu17.V γ 2 ^{CDR1+2}					
hu17 ^{DG KM>YA NL}					
hu17 ^{DG>YA}					
hu17 ^{KM>NL}					
hu17.V γ 2					
hu17.V γ 2 ^{YA>DG}					
hu17.V γ 3					
hu17.V γ 3-V γ 4 ^{HV4}					
hu17.V γ 3-V γ 4 ^{CDR2-HV4}					

Эквивалентное окрашивание с hu17
 Более слабое окрашивание по сравнению с hu17 (gMFI снижено <50%)
 Без окрашивания

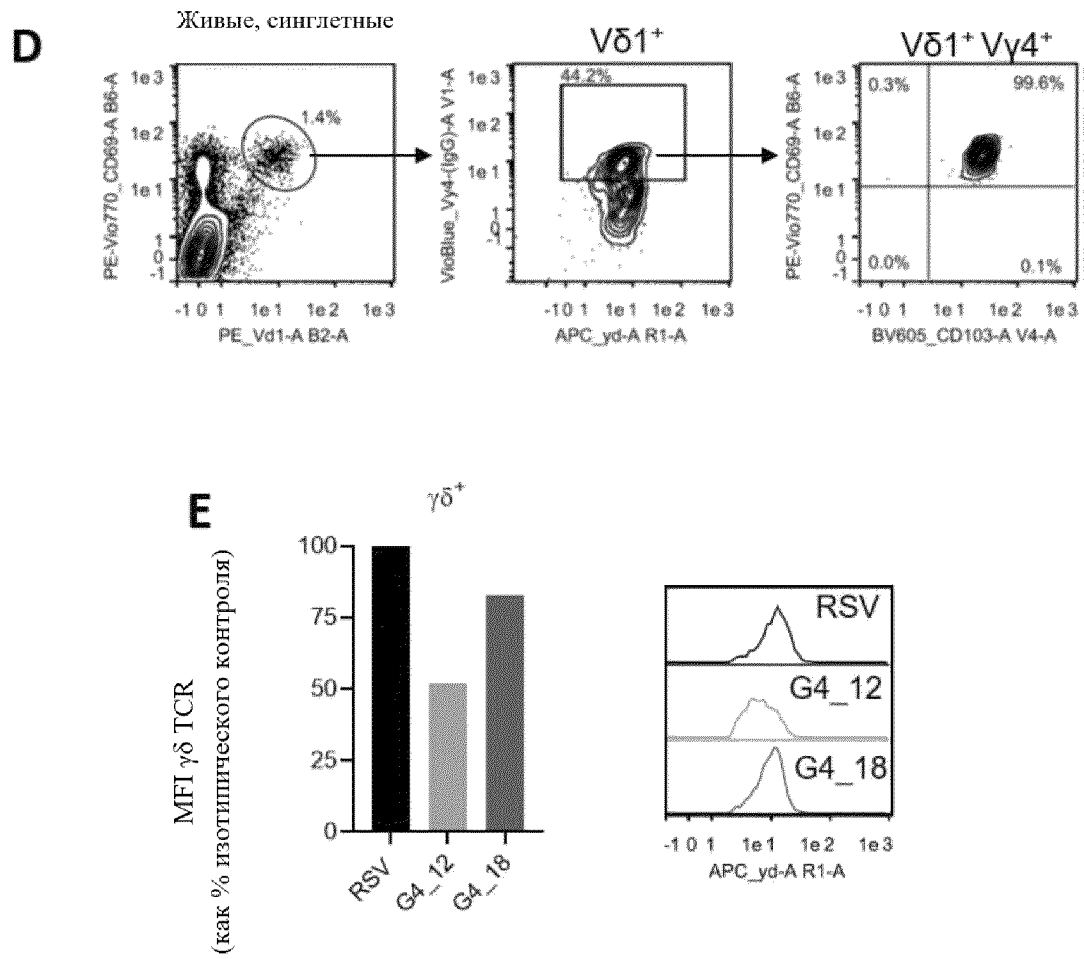
C**ФИГ. 5 (продолж.)**



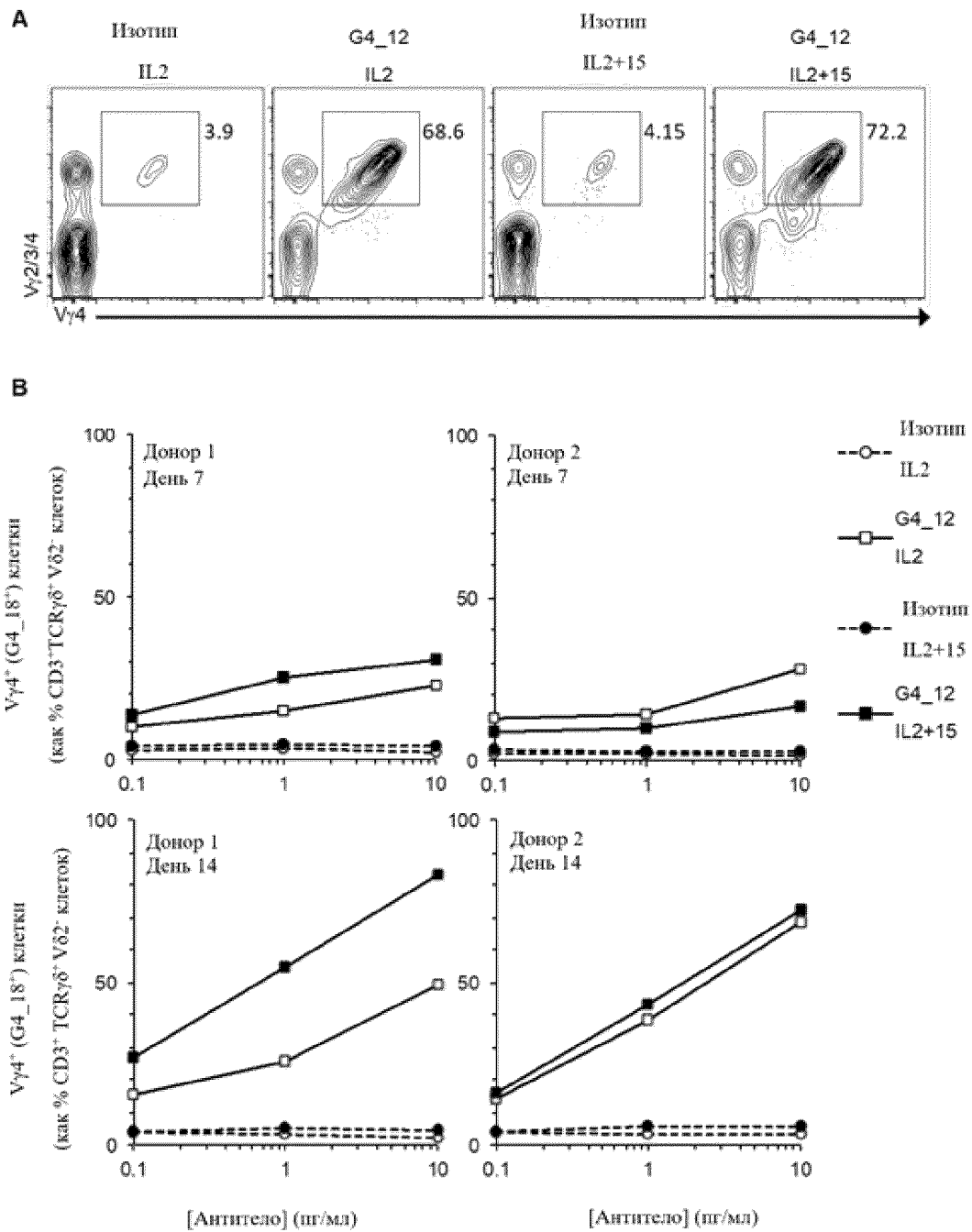
ФИГ. 6



ФИГ. 7



ФИГ. 7 (продолж.)



Фиг. 8