

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202391227 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.08.11

(51) Int. Cl. *A61K 38/20* (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.10.22

(54) СЛИЯНИЯ С АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИМИ МОЛЕКУЛАМИ CD8 ДЛЯ МОДУЛЯЦИИ ФУНКЦИИ ИММУННЫХ КЛЕТОК

(31) 63/105,162; 63/121,663; 63/190,669

(72) Изобретатель:

(32) 2020.10.23; 2020.12.04; 2021.05.19

Йеунг Йик Энди, Джуретич Ивана,

(33) US

Бессетт Пол, Чэнь Вэй, Чин Шерман

(86) PCT/US2021/056312

Майкл, Мойнихан Келли Дэа,

(87) WO 2022/087458 2022.04.28

Нгуйен Генри К., Най Айрин, Паппас

(71) Заявитель:

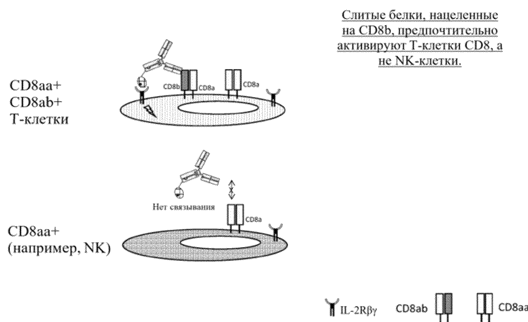
Дэниэл К., Парк Терренс (US)

ЭШЕР БАЙОТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.
(US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к антигенсвязывающим анти-CD8 молекулам и слитым полипептидам, содержащим антигенсвязывающие молекулы CD8, для селективного модулирования функции CD8+ Т-клеток по сравнению с другими иммунными клетками. Кроме того, настоящее изобретение также относится к полинуклеотидам, кодирующим раскрытые антигенсвязывающие молекулы и слитые полипептиды, а также к векторам и клеткам-хозяевам, содержащим такие полинуклеотиды. Настоящее изобретение также относится к способам получения антигенсвязывающих молекул и слитых полипептидов, к фармацевтическим композициям, содержащим их, и к их применениям.



202391227 A1

A1 202391227

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-577948EA/085

СЛИЯНИЯ С АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИМИ МОЛЕКУЛАМИ CD8 ДЛЯ МОДУЛЯЦИИ ФУНКЦИИ ИММУННЫХ КЛЕТОК

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[1] По этой заявке испрашивается приоритет временной заявки на патент США № 63/105162, поданной 23 октября 2020 г.; 63/121663, поданной 4 декабря 2020 г.; и 63/190669, поданной 19 мая 2021 г.; каждая из которых полностью включен в настоящее описание посредством ссылки.

ПОДАЧА ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В ТЕКСТОВОМ ФАЙЛЕ ASCII

[2] Содержание поданного в текстовом файле ASCII полностью включено в настоящее описание посредством ссылки: машиночитаемая форма (CRF) перечня последовательностей (имя файла: 182842000440SEQLIST.TXT, дата записи: 21 октября, 2021 г., размер: 557283 байт).

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[3] В настоящем изобретении раскрыты антигенсвязывающие молекулы CD8 и слитые полипептиды, содержащие антигенсвязывающие молекулы CD8, для селективного модулирования функции CD8⁺ Т-клеток по сравнению с другими иммунными клетками. Кроме того, настоящее раскрытие также относится к полинуклеотидам, кодирующим раскрытые антигенсвязывающие молекулы и слитые полипептиды, а также векторы и клетки-хозяева, содержащие такие полинуклеотиды. Настоящее раскрытие также относится к способам получения антигенсвязывающих молекул и слитых полипептидов, фармацевтическим композициям, содержащим их, и их применениям.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[4] CD8⁺ Т-клетки, экспрессирующие альфа-бета-Т-клеточные рецепторы, представляют собой большое подмножество Т-клеток, ограниченных классом I по главной гистосовместимости (МНС), которые опосредуют адаптивный иммунитет к различным патогенам и онкологическим заболеваниям. Кроме того, они также могут быть патогенными и вызывать заболевания при определенных аутоиммунных и воспалительных состояниях. Модулирование функции CD8⁺ Т-клеток либо путем активации их функции в контексте инфекции и рака, либо путем ингибирования их функции в контексте определенных аутоиммунных заболеваний может иметь терапевтические преимущества.

[5] Активация и дифференцировка CD8⁺ Т-клеток в значительной степени контролируется растворимыми иммуномодулирующими белками, такими как цитокины. Биологическая активность цитокинов опосредована связыванием с соответствующими цитокиновыми рецепторами на поверхности клетки, как правило, с очень высокой аффинностью, что приводит к их способности сильно стимулировать передачу сигнала ниже своих рецепторов, запуская различные клеточные процессы, которые регулируют фенотип и функцию иммунных клеток. Цитокины обычно обладают плеiotропными эффектами, вызывая множественные последующие клеточные события, такие как

активация, пролиферация, выживание, апоптоз и секреция других иммуномодулирующих белков. Кроме того, поскольку их рецепторы экспрессируются на множестве субпопуляций иммунных клеток, цитокины действуют не только на CD8⁺ Т-клетки, но также и на другие иммунные и неиммунные клетки, экспрессирующие их рецепторы.

[6] Например, интерлейкин-2 (IL-2) представляет собой цитокин, который регулирует многие подмножества лимфоцитов, включая альфа-бета CD4⁺ и CD8 Т⁺ клетки, а также различные врожденные и врожденные лимфоциты, такие как NK-клетки, NK-Т-клетки, гамма-дельта-Т-клетки (Т $\gamma\delta$) и врожденные лимфоидные клетки (клетки ILC1, ILC2 и ILC3).

[7] IL-2 может передавать сигнал путем связывания с промежуточным средством к рецепторному комплексу, состоящему из субъединиц IL-2R β и IL-2R γ (IL-2R $\beta\gamma$, рецептор с промежуточным средством), оба из которых необходимы и достаточны для запуска нижестоящей передачи сигналов в иммунных клетках. Кроме того, IL-2 с высокой аффинностью связывается с рецепторным комплексом, состоящим из субъединиц IL-2R α , IL-2R β и IL-2R γ (IL-2R $\alpha\beta\gamma$, высокоаффинный рецептор) (Stauber et al, Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Feb 21;103(8):2788-93). Экспрессия IL-2R α ограничена CD4⁺ Treg-клетками, активированными Т-лимфоцитами и клетками ILC2 и ILC3, что делает эти субпопуляции наиболее чувствительными к передаче сигналов IL-2. Субъединицы IL-2R β и IL-2R γ являются общими с другим родственным цитокином, IL-15, а субъединица IL-2R γ является общей для других общих цитокинов гамма-цепи (IL-4, IL-7, IL-9 и IL-21). Большинство врожденных и врожденно-подобных лимфоцитов, включая NK-клетки, NK-Т-клетки, Т $\gamma\delta$ -клетки и клетки ILC1, ILC2 и ILC3, экспрессируют высокие уровни IL-2R β (ImmGen consortium; Heng TS et al, Immunological Genome Project Consortium. Nat Immunol. 2008 Oct;9(10):1091-4), что также делает их чувствительными как к цитокинам IL-2, так и к цитокинам IL-15.

[8] Связывание IL-2 с его рецептором индуцирует фосфорилирование связанных с рецептором янус-киназ, JAK3 и JAK1, которые способствуют фосфорилированию транскрипционного фактора STAT5 (pSTAT5), который регулирует транскрипцию многих генов в лимфоцитах. Передача сигналов IL-2 в лимфоцитах способствует выживанию клеток, пролиферации и усилению эффекторной функции, включая секрецию провоспалительных цитокинов и цитотоксическую функцию, а в некоторых случаях - индуцированную активацией гибель клеток (рассмотрено в Ross & Cantrell, Annu Rev Immunol. 2018 Apr 26;36:411-433).

[9] CD8⁺ Т-клетки экспрессируют CD8, который представляет собой трансмембранный гликопротеин типа I, обнаруживаемый на клеточной поверхности в виде гомодимера CD8 альфа (CD8 α , CD8a) и гетеродимера CD8 альфа-CD8 бета (CD8 β , CD8b). Димеры CD8 взаимодействуют с молекулами МНС класса I на клетках-мишенях, и это взаимодействие поддерживает тесное взаимодействие TCR с МНС во время активации CD8⁺ Т-клеток. Цитоплазматический хвост CD8 α содержит сайты связывания для киназы Т-клеток (Lck), которая инициирует передачу сигнала вниз от TCR во время активации Т-

клеток, в то время как роль CD8 β , как полагают, заключается в увеличении avidности связывания CD8 с MHC класса I и влияние на специфичность взаимодействия CD8/MHC/TCR (Bosselut et al, Immunity. 2000 Apr;12(4):409-18). TCR альфа-бета-экспрессирующие CD8⁺ Т-клетки обычно экспрессируют как димеры CD8ab, так и CD8aa, однако высокие уровни CD8aa, но не димеров CD8ab, могут быть обнаружены на некоторых врожденных лимфоцитах, таких как NK-клетки, ассоциированные со слизистой оболочкой инвариантные Т-клетки (MAIT) и гамма-дельта Т-клетки.

[10] Соответственно, существует потребность в антителах, которые избирательно связываются с гетеродимерами CD8ab по сравнению с гомодимерами CD8aa. Эти антитела можно использовать, например, для нацеливания определенных иммуномодулирующих полипептидов, таких как IL-2, на CD8ab⁺ Т-клетки и ограничения их активности в отношении CD8⁻ иммунных клеток и CD8aa⁺ иммунных клеток, таких как NK-клетки.

[11] Все ссылки, цитируемые в настоящем описании, включая патентные заявки, патентные публикации и номера доступа UniProtKB/Swiss-Prot, полностью включены в настоящее описание в качестве ссылки, как если бы каждая отдельная ссылка была конкретно и отдельно указана как включенная в качестве ссылки.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[12] В настоящем изобретении описаны, среди прочего, антитела человека или гуманизированные антитела, антигенсвязывающие фрагменты и слитые белки, которые связывают CD8b человека. В некоторых вариантах осуществления антитела человека или гуманизированные антитела, антигенсвязывающие фрагменты и слитые белки связывают CD8b человека или гетеродимер CD8ab человека преимущественно по сравнению со связыванием с гомодимером CD8aa человека. В некоторых вариантах осуществления антитела человека или гуманизированные антитела, антигенсвязывающие фрагменты и слитые белки связывают CD8b, CD8ab или оба.

[13] Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к антителам человека или гуманизированным антителам, или их антигенсвязывающим фрагментам. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент специфически связывает CD8b человека и/или CD8ab человека с по меньшей мере в 10 раз большей аффинностью, чем его связывание с CD8a человека и/или CD8aa человека. В некоторых вариантах осуществления указанное антитело или его фрагмент специфически связывается с внеклеточным(и) доменом(ами) CD8b человека и/или CD8ab человека по меньшей мере в 10 раз более высокой аффинностью, чем его связывание с внеклеточным доменом(ами) CD8a человека и/или CD8aa человека. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент связываются с клеткой, экспрессирующей на своей поверхности гетеродимер CD8ab человека, с EC50 менее 1000 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент связываются с CD8⁺ Т-клетками человека. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент специфически связывает CD8b человека и/или CD8ab человека с по меньшей мере в 10 раз более высокой аффинностью, чем его связывание с CD8a человека и/или CD8aa человека, экспрессированными на поверхности

естественной клетки-киллера (NK). В некоторых вариантах осуществления указанное антитело или его фрагмент специфически связывается с клеткой, экспрессирующей CD8b человека и/или CD8ab человека, на своей поверхности (*например*, с Т-клеткой) с по меньшей мере в 10 раз большей аффинностью, чем его связывание с клеткой, экспрессирующей CD8a человека и/или CD8aa человека на своей поверхности (*например*, NK-клетка).

[14] В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:13, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:14, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:15; и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:51, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:52, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:15; и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:62, и при этом домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:63. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:19, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:20, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21; и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:22, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:23, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:24. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:53, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:52, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21; и при этом домен VL содержит CDR-

аминокислотную последовательность SEQ ID NO:179; и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:180, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:181, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:182. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:185, и при этом домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:186.

[15] В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2AIS , причем X_1 представляет собой S, K, G, N, R, D, T или G, и причем X_2 представляет собой Y, L, H или F (SEQ ID NO:259), CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность $X_1X_2X_3PX_4X_5X_6X_7X_8X_9YX_{10}QKFX_{11}G$, причем X_1 представляет собой G или H, X_2 представляет собой I или F, X_3 представляет собой I, N или M, X_4 представляет собой G, N, H, S, R, I или A, X_5 представляет собой A, N, H, S, T, F или Y, X_6 представляет собой A, D или G, X_7 представляет собой T, E, K, V, Q или A, X_8 представляет собой A или T, X_9 представляет собой N или K, X_{10} представляет собой A или N, и X_{11} представляет собой Q или T (SEQ ID NO:260), и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность $X_1X_2X_3GX_4X_5LFX_6X_7$, причем X_1 представляет собой D или A, X_2 представляет собой A, G, E, R, Y, K, N, Q, L или F, X_3 представляет собой A, L, P или Y, X_4 представляет собой I или L, X_5 представляет собой R, A, Q или S, X_6 представляет собой A или D, и X_7 представляет собой D, E, A или S (SEQ ID NO:261); и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность $X_1X_2SX_3X_4IX_5GX_6LN$, причем X_1 представляет собой R или G, X_2 представляет собой A или T, X_3 представляет собой Q или E, X_4 представляет собой E, N, T, S, A, K, D, G, R или Q, X_5 представляет собой Y или S, и X_6 представляет собой A или V (SEQ ID NO:262), CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность $GX_1X_2X_3LX_4X_5$, причем X_1 представляет собой A или S, X_2 представляет собой T, S, E, Q или D, X_3 представляет собой N, R, A, E или H, X_4 представляет собой Q или A, и X_5 представляет собой S или D (SEQ ID NO:263), и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность $QX_1X_2X_3X_4X_5PWT$, причем X_1 представляет собой S, N, D, Q, A или E, X_2 представляет собой T, I или S, X_3 представляет собой Y, L или F, X_4 представляет собой D, G, T, E, Q, A или Y, и X_5 представляет собой A, T, R, S, K или Y (SEQ ID NO:264). В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:225, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:226, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:227; и при этом домен VL содержит CDR-

L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:228. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:245, и при этом домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:246. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:225, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:232, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233; и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:234, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:235, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:236. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:251, и при этом домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:252. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:251; и домен VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:252. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:225, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:232, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233; и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:228. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:253, и при этом домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:254. В некоторых вариантах осуществления домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCSCKASGGTFS (SEQ ID NO:274), FW-2, содержащий последовательность WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID

NO:275), FW-3, содержащий последовательность RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:276), и/или FW-4, содержащий последовательность WGQGLVTVSS (SEQ ID NO:277). В некоторых вариантах осуществления домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность DIQMTQSPSSLSASVGRVTITC (SEQ ID NO:289), FW-2, содержащий последовательность WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:290), FW-3, содержащий последовательность GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:291), и/или FW-4, содержащий последовательность FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:292).

[16] В некоторых вариантах осуществления антители или его фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность $GX_1X_2FX_3X_4X_5$, причем X_1 представляет собой G, Y, S или A, X_2 представляет собой T, S, G, R, N или H, X_3 представляет собой S, T, R, H, Y, G или P, X_4 представляет собой S, K, G, N, R, D, T или G, и X_5 представляет собой Y, L, H или F (SEQ ID NO:265), CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность $X_1PX_2X_3X_4X_5$, причем X_1 представляет собой I, N или M, X_2 представляет собой G, N, H, S, R, I или A, X_3 представляет собой A, N, H, S, T, F или Y, X_4 представляет собой A, D или G, и X_5 представляет собой T, E, K, V, Q или A (SEQ ID NO:266), и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность $X_1X_2X_3GX_4X_5LFX_6X_7$, причем X_1 представляет собой D или A, X_2 представляет собой A, G, E, R, Y, K, N, Q, L или F, X_3 представляет собой A, L, P или Y, X_4 представляет собой I или L, X_5 представляет собой R, A, Q или S, X_6 представляет собой A или D, и X_7 представляет собой D, E, A или S (SEQ ID NO:267); и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность $X_1X_2SX_3X_4IX_5GX_6LN$, причем X_1 представляет собой R или G, X_2 представляет собой A или T, X_3 представляет собой Q или E, X_4 представляет собой E, N, T, S, A, K, D, G, R или Q, X_5 представляет собой Y или S, и X_6 представляет собой A или V (SEQ ID NO:262), CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность $GX_1X_2X_3LX_4X_5$, причем X_1 представляет собой A или S, X_2 представляет собой T, S, E, Q или D, X_3 представляет собой N, R, A, E или H, X_4 представляет собой Q или A, и X_5 представляет собой S или D (SEQ ID NO:263), и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность $QX_1X_2X_3X_4X_5PWT$, причем X_1 представляет собой S, N, D, Q, A или E, X_2 представляет собой T, I или S, X_3 представляет собой Y, L или F, X_4 представляет собой D, G, T, E, Q, A или Y, и X_5 представляет собой A, T, R, S, K или Y (SEQ ID NO:264). В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:238, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:239, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233; и домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:228. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по

меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:245; и при этом домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:246.

В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:238, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:243, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233; и домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:234, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:235, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:236.

В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:251; и при этом домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:252.

В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:251; и домен VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:252.

В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:238, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:243, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233; и домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:228.

В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:253; и при этом домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:254.

В некоторых вариантах осуществления домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKAS (SEQ ID NO:278), FW-2, содержащий последовательность AISWVRQAPGQGLEWMGGI (SEQ ID NO:279), FW-3, содержащий последовательность ANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:280), и/или FW-4, содержащий последовательность WGQGTLLVTVSS (SEQ ID NO:277).

В некоторых вариантах осуществления домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:289), FW-2, содержащий последовательность WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:290), FW-3, содержащий последовательность GVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID

NO:291), и/или FW-4, содержащий последовательность FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:292).

[17] В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность X_1YX_2MS , причем X_1 представляет собой S, D, E, A или Q и X_2 представляет собой A, G или T (SEQ ID NO:268), CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность $DIX_1X_2X_3GX_4X_5TX_6YADSVKG$, причем X_1 представляет собой T, N, S, Q, E, H, R или A, X_2 представляет собой Y, W, F или H, X_3 представляет собой A, S, Q, E или T, X_4 представляет собой G или E, X_5 представляет собой S или I, и X_6 представляет собой A или G (SEQ ID NO:269), и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность $X_1X_2X_3YX_4WX_5X_6AX_7DX_8$, причем X_1 представляет собой S или A, X_2 представляет собой N, H, A, D, L, Q, Y или R, X_3 представляет собой A, N, S или G, X_4 представляет собой A, V, R, E или S, X_5 представляет собой D или S, X_6 представляет собой D, N, Q, E, S, T или L, X_7 представляет собой L, F или M, и X_8 представляет собой I, Y или V (SEQ ID NO:270) и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RASQSVSSNLA (SEQ ID NO:40), CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность GASSRAT (SEQ ID NO:41), и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQYGSSPPVT (SEQ ID NO:42). В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:229, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:230, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:231; и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:247, и при этом домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:248. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:249, и при этом домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:250. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:249, и при этом домен VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:250. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи

(VH) и вариабельный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:229, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:237, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:231; и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:255, и при этом домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:256. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:257, и при этом домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:258. В некоторых вариантах осуществления домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (SEQ ID NO:281), FW-2, содержащий последовательность WVRQAPGKGLEWVS (SEQ ID NO:282), FW-3, содержащий последовательность RFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:283), и/или FW-4, содержащий последовательность WGQGTMTVSS (SEQ ID NO:284) или WGQGTMLTVSS (SEQ ID NO:285). В некоторых вариантах осуществления домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность EIVLTQSPGTLSPGERATLSC (SEQ ID NO:293), FW-2, содержащий последовательность WYQQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:294), FW-3, содержащий последовательность GIPDRFSGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:295), и/или FW-4, содержащий последовательность FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:296).

[18] В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент содержат вариабельный домен тяжелой цепи (VH) и вариабельный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность $GFTFX_1X_2Y$, причем X_1 представляет собой S, D, E, Q, S или A и X_2 представляет собой S, D, E, A или Q (SEQ ID NO:271), CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность $X_1X_2X_3GX_4X_5$, причем X_1 представляет собой T, N, S, Q, E, H, R или A, X_2 представляет собой Y, W, F или H, X_3 представляет собой A, S, Q, E или T, X_4 представляет собой G или E, и X_5 представляет собой S или I (SEQ ID NO:272), и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность $X_1X_2X_3YX_4WX_5X_6AX_7DX_8$, причем X_1 представляет собой S или A, X_2 представляет собой N, H, A, D, L, Q, Y или R, X_3 представляет собой A, N, S или G, X_4 представляет собой A, V, R, E или S, X_5 представляет

собой D или S, X₆ представляет собой D, N, Q, E, S, T или L, X₇ представляет собой L, F или M, и X₈ представляет собой I, Y или V (SEQ ID NO:273); и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RASQSVSSNLA (SEQ ID NO:40), CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность GASSRAT (SEQ ID NO:41), и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQYGSSPPVT (SEQ ID NO:42). В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:240, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:241, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:242; и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:247; и при этом домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:248. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:249; и при этом домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:250. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:249, и при этом домен VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:250. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:240, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:244, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:242; и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:255; и при этом домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:256. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:257; и при этом

домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:258. В некоторых вариантах осуществления домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:286), FW-2, содержащий последовательность AMSWVRQAPGKGLEWVSDI (SEQ ID NO:287), FW-3, содержащий последовательность TAYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:288), и/или FW-4, содержащий последовательность WGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:284) или WGQGTMLTVTVSS (SEQ ID NO:285). В некоторых вариантах осуществления домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность EIVLTQSPGTLSPGERATLSC (SEQ ID NO:293), FW-2, содержащий последовательность WYQQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:294), FW-3, содержащий последовательность GIPDRFSGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:295), и FW-4, содержащий последовательность FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:296).

[19] В некоторых вариантах осуществления в соответствии с любым из вариантов осуществления, описанных в настоящем описании, антитело представляет собой мультиспецифическое антитело (*например*, биспецифическое антитело).

[20] Кроме того, изобретение относится к слитым белкам, содержащим первый фрагмент, содержащий антитело или фрагмент любого из вышеперечисленных вариантов осуществления, и вторую часть, содержащую цитокин, хемокин или фактор роста. В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент слит со вторым фрагментом напрямую или через линкер. В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент содержит антитело человека или гуманизованное антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или его фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL), при этом: домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:13, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:14, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:15; и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18; домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:19, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:20, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21; и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:22, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:23, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:24; домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:25, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:26, и CDR-H3, содержащую

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:229, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:230, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:231; и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RASQSVSSNLA (SEQ ID NO:40), CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность GASSRAT (SEQ ID NO:41), и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQYGSSPPVT (SEQ ID NO:42); домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:225, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:232, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233; и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:234, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:235, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:236; домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:225, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:232, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233; и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:228; или домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:229, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:237, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:231, и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RASQSVSSNLA (SEQ ID NO:40), CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность GASSRAT (SEQ ID NO:41), и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQYGSSPPVT (SEQ ID NO:42). В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент содержит антитело человека или гуманизированное антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или его фрагмент содержат переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL), при этом: домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:51, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:52, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:15, и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18; домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:53, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:52, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21, и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:22, CDR-L2,

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233, и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:228; домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:240, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:241, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:242, и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42; домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:238, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:243, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233, и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:234, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:235, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:236; домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:238, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:243, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233, и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:228; или домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:240, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:244, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:242, и при этом домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42.

[21] В некоторых вариантах осуществления в соответствии с любым из вариантов осуществления, описанных в настоящем описании (*например*, слитый белок по настоящему изобретению), второй фрагмент индуцирует активацию CD8⁺ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления слитый белок индуцирует активацию клеток, экспрессирующих гетеродимер CD8ab человека, с по меньшей мере в 10 раз большей эффективностью, чем активация клеток, экспрессирующих гомодимер CD8aa человека. В некоторых вариантах осуществления слитый белок индуцирует активацию CD8⁺ Т-клеток по меньшей мере в 10 раз более эффективно, чем активация NK-клеток. В некоторых вариантах осуществления активность активации измеряют по EC50, оцениваемой по пролиферации клеток. В некоторых вариантах осуществления осуществления первый фрагмент содержит два полипептида тяжелой цепи антитела, имеющие структуру согласно формуле [I], от N-конца до C-конца:

VH-CH1-шарнир-CH2-CH3 [I]

и два полипептида легкой цепи антитела, имеющие структуру согласно формуле [II], от N-конца к C-концу:

VL-CL [II]

причем VH представляет собой переменный домен тяжелой цепи (VH) антитела, при этом CH1 представляет собой домен CH1 антитела, при этом шарнир представляет собой шарнирный домен антитела, при этом CH2-CH3 представляет собой домен Fc антитела, при этом VL представляет собой переменный домен легкой цепи антитела (VL), и при этом CL представляет собой константный домен легкой цепи антитела; и при этом N-конец второго фрагмента слит с C-концом одного из двух доменов CH3 (*например*, посредством линкера по настоящему изобретению). В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент содержит полипептид тяжелой цепи первого антитела, имеющий структуру согласно формуле [I], от N-конца до C-конца:

VH-CH1-шарнир-CH2-CH3 [I],

полипептид легкой цепи антитела, содержащий структуру согласно формуле [II], от N-конца к C-концу:

VL-CL [II],

и второй полипептид тяжелой цепи антитела, имеющий структуру согласно формуле [III], от N-конца к C-концу:

шарнир-CH2-CH3 [III],

причем VH представляет собой переменный домен тяжелой цепи (VH) антитела, при этом CH1 представляет собой домен CH1 антитела, при этом шарнир представляет собой шарнирный домен антитела, при этом CH2-CH3 представляет собой домен Fc антитела, при этом VL представляет собой переменный домен легкой цепи антитела (VL), и при этом CL представляет собой константный домен легкой цепи антитела; и при этом N-конец второго фрагмента слит с C-концом домена CH3 полипептида тяжелой цепи второго антитела (*например*, посредством линкера по настоящему изобретению). В некоторых вариантах осуществления N-конец второго фрагмента слит с C-концом домена CH3 полипептида тяжелой цепи первого антитела (*например*, посредством линкера по настоящему изобретению). В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент содержит полипептид тяжелой цепи первого антитела, имеющий структуру согласно формуле [I], от N-конца к C-концу:

VH-CH1-шарнир-CH2-CH3 [I],

полипептид легкой цепи антитела, содержащий структуру согласно формуле [II], от N-конца к C-концу:

VL-CL [II],

и второй полипептид тяжелой цепи антитела, имеющий структуру согласно формуле [III], от N-конца к C-концу:

шарнир-CH2-CH3 [III],

причем VH представляет собой переменный домен тяжелой цепи (VH) антитела,

причем CH1 представляет собой домен CH1 антитела, при этом шарнир представляет собой шарнирный домен антитела, при этом CH2-CH3 представляет собой домен Fc антитела, при этом VL представляет собой переменный домен легкой цепи антитела (VL), и при этом CL представляет собой константный домен легкой цепи антитела; и при этом С-конец второго фрагмента слит с N-концом шарнирного домена полипептида тяжелой цепи второго антитела (*например*, посредством линкера по настоящему изобретению). В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент содержит один или два полипептида тяжелой цепи антитела и один или два полипептида легкой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент содержит одноцепочечное антитело или одноцепочечный переменный фрагмент (scFv). В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент содержит антитело VH. В некоторых вариантах осуществления в соответствии с любым из вариантов осуществления, описанных в настоящем описании (*например*, слитые белки, описанные выше), VH и VL образуют сайт связывания антигена (*например*, который специфически связывает CD8b и/или CD8ab). В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент содержит полипептид тяжелой цепи первого антитела, имеющий структуру согласно формуле [I], от N-конца до С-конца:

VH-CH1-шарнир-CH2-CH3 [I],

полипептид легкой цепи антитела, содержащий структуру согласно формуле [II], от N-конца к С-концу:

VL-CL [II],

и второй полипептид тяжелой цепи антитела, имеющий структуру согласно формуле [III], от N-конца к С-концу:

шарнир-CH2-CH3 [III],

причем VH представляет собой домен VH, при этом CH1 представляет собой домен CH1 антитела, при этом шарнир представляет собой шарнирный домен антитела, при этом CH2-CH3 представляет собой домен Fc антитела, при этом VL представляет собой домен VL, и при этом CL представляет собой константный домен легкой цепи антитела; и причем N-конец второго фрагмента слит с С-концом домена CH3 полипептида тяжелой цепи первого антитела. В некоторых вариантах осуществления домен VH полипептидов тяжелой цепи обоих антител включает CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:13, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:14, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:15, и при этом домен VL полипептидов легкой цепи обоих антител содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18; домен VH полипептидов тяжелой цепи обоих антител включает CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:19, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:20, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21, и при этом домен VL полипептидов легкой цепи обоих антител содержит CDR-L1, содержащую

последовательность SEQ ID NO:250; домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:255, и причем домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:256; или домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:257, и причем домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:258. В некоторых вариантах осуществления один или оба полипептида тяжелой цепи антитела содержат следующие аминокислотные замены: L234A, L235A и G237A, нумерация в соответствии с EU-индексом. В некоторых вариантах осуществления первый из полипептидов тяжелой цепи антитела содержит аминокислотные замены Y349C и T366W, и второй из полипептидов тяжелой цепи антитела содержит аминокислотные замены S354C, T366S, L368A и Y407V, нумерация в соответствии с EU-индексом.

[22] В некоторых вариантах осуществления в соответствии с любым из вариантов осуществления, описанных в настоящем описании, второй фрагмент содержит полипептид IL-2. В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 представляет собой мутантный полипептид IL-2, содержащий одну или более мутаций по сравнению с полипептидом IL-2 человека, содержащим последовательность APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHQLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:81). В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 обладает аффинностью связывания с IL-2R α , которая снижена на 50% или более по сравнению с аффинностью связывания полипептида IL-2 дикого типа, содержащего последовательность SEQ ID: 81 для IL-2R α . В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 обладает аффинностью связывания с IL-2R β , которая снижена на 50% или более по сравнению с аффинностью связывания полипептида IL-2 дикого типа, содержащего последовательность SEQ ID: 81 для IL-2R β ; и/или мутантный полипептид IL-2 обладает аффинностью связывания с IL-2R γ , которая снижена на 50% или более по сравнению с аффинностью связывания полипептида IL-2 дикого типа, содержащего последовательность SEQ ID: 81 для IL-2R γ . В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 содержит последовательность SEQ ID NO:81 с одной, двумя, тремя, четырьмя или пятью аминокислотными заменами относительно SEQ ID NO:81, и причем одна, две, три, четыре или пять замен включают замену(ы) в положениях SEQ ID NO:81, выбранных из группы, состоящей из: Q11, H16, L18, L19, D20, Q22, R38, F42, K43, Y45, E62, P65, E68, V69, L72, D84, S87, N88, V91, I92, T123, Q126, S127, I129 и S130. В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 содержит

последовательность SEQ ID NO:81 с одним из следующих наборов аминокислотных замен (относительно последовательности SEQ ID NO:81): R38E и F42A; R38D и F42A; F42A и E62Q; R38A и F42K; R38E, F42A и N88S; R38E, F42A и N88A; R38E, F42A и N88G; R38E, F42A и N88R; R38E, F42A и N88T; R38E, F42A и N88D; R38E, F42A и V91E; R38E, F42A и D84H; R38E, F42A и D84K; R38E, F42A и D84R; H16D, R38E и F42A; H16E, R38E и F42A; R38E, F42A и Q126S; R38D, F42A и N88S; R38D, F42A и N88A; R38D, F42A и N88G; R38D, F42A и N88R; R38D, F42A и N88T; R38D, F42A и N88D; R38D, F42A и V91E; R38D, F42A и D84H; R38D, F42A и D84K; R38D, F42A и D84R; H16D, R38D и F42A; H16E, R38D и F42A; R38D, F42A и Q126S; R38A, F42K и N88S; R38A, F42K и N88A; R38A, F42K и N88G; R38A, F42K и N88R; R38A, F42K и N88T; R38A, F42K и N88D; R38A, F42K и V91E; R38A, F42K и D84H; R38A, F42K и D84K; R38A, F42K и D84R; H16D, R38A и F42K; H16E, R38A и F42K; R38A, F42K и Q126S; F42A, E62Q и N88S; F42A, E62Q и N88A; F42A, E62Q и N88G; F42A, E62Q и N88R; F42A, E62Q и N88T; F42A, E62Q и N88D; F42A, E62Q и V91E; F42A, E62Q и D84H; F42A, E62Q и D84K; F42A, E62Q и D84R; H16D, F42A и E62Q; H16E, F42A и E62Q; F42A, E62Q и Q126S. В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 содержит последовательность SEQ ID NO:81 с дополнительной аминокислотной заменой относительно SEQ ID NO:81 в положении C125. В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 содержит последовательность SEQ ID NO:81 с одним из следующих наборов аминокислотных замен (относительно последовательности SEQ ID NO:81): R38E, F42A и C125A; R38D, F42A и C125A; F42A, E62Q и C125A; R38A, F42K и C125A; R38E, F42A, N88S и C125A; R38E, F42A, N88A и C125A; R38E, F42A, N88G и C125A; R38E, F42A, N88R и C125A; R38E, F42A, N88T и C125A; R38E, F42A, N88D и C125A; R38E, F42A, V91E и C125A; R38E, F42A, D84H и C125A; R38E, F42A, D84K и C125A; R38E, F42A, D84R и C125A; H16D, R38E, F42A и C125A; H16E, R38E, F42A и C125A; R38E, F42A, C125A и Q126S; R38D, F42A, N88S и C125A; R38D, F42A, N88A и C125A; R38D, F42A, N88G и C125A; R38D, F42A, N88R и C125A; R38D, F42A, N88T и C125A; R38D, F42A, N88D и C125A; R38D, F42A, V91E и C125A; R38D, F42A, D84H и C125A; R38D, F42A, D84K и C125A; R38D, F42A, D84R и C125A; H16D, R38D, F42A и C125A; H16E, R38D, F42A и C125A; R38D, F42A, C125A и Q126S; R38A, F42K, N88S и C125A; R38A, F42K, N88G и C125A; R38A, F42K, N88R и C125A; R38A, F42K, N88T и C125A; R38A, F42K, N88D и C125A; R38A, F42K, N88A и C125A; R38A, F42K, V91E и C125A; R38A, F42K, D84H и C125A; R38A, F42K, D84K и C125A; R38A, F42K, D84R и C125A; H16D, R38A, F42K и C125A; H16E, R38A, F42K и C125A; R38A, F42K, C125A и Q126S; F42A, E62Q, N88S и C125A; F42A, E62Q, N88A и C125A; F42A, E62Q, N88G и C125A; F42A, E62Q, N88R и C125A; F42A, E62Q, N88T и C125A; F42A, E62Q, N88D и C125A; F42A, E62Q, V91E и C125A; F42A, E62Q и D84H и C125A; F42A, E62Q и D84K и C125A; F42A, E62Q и D84R и C125A; H16D, F42A и E62Q и C125A; H16E, F42A, E62Q и C125A; F42A, E62Q, C125A и Q126S; F42A, N88S и C125A; F42A, N88A и C125A; F42A, N88G и C125A; F42A, N88R и C125A; F42A, N88T и C125A; F42A, N88D и C125A; F42A, V91E и C125A; F42A, D84H и C125A; F42A, D84K и C125A; F42A, D84R и C125A; H16D,

F42A и C125A; H16E, F42A и C125A; и F42A, C125A и Q126S. В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 содержит последовательность APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMMLTAKFYMPKKATELKHLLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISAINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:80). В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 содержит последовательность APTSSSTKKTQLQLEELLDDLQMILNGINNYKNPKLTEMMLTAKFYMPKKATELKHLLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:297). В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 85-155 и 190-216. В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 80, 85-155, 190-216, 297 и 354-383. В некоторых вариантах осуществления второй фрагмент содержит полипептид, который индуцирует передачу сигнала через IL2R $\beta\gamma$. В некоторых вариантах осуществления второй фрагмент содержит полипептид IL-21.

[23] В некоторых вариантах осуществления в соответствии с любым из вариантов осуществления, описанных в настоящем описании (*например*, слитый белок по настоящему изобретению), один или оба домена Fc антитела содержат домены Fc IgG1 человека со следующими аминокислотными заменами: L234A, L235A, G237A и K322A, нумерация в соответствии с EU-индексом. В некоторых вариантах осуществления один или оба домена антитела Fc не имеют C-концевого лизина. В некоторых вариантах осуществления один или оба домена антитела Fc содержат Fc-домены IgG1 человека со следующими аминокислотными заменами: L234A, L235A и G237A, нумерация в соответствии с индексом EU. В некоторых вариантах осуществления один или оба домена антитела Fc не имеют C-концевого лизина. В некоторых вариантах осуществления первый из двух доменов Fc содержит домен Fc IgG1 человека с аминокислотными заменами Y349C и T366W, и второй из двух доменов Fc содержит домен Fc IgG1 человека с аминокислотными заменами S354C, T366S, L368A и Y407V, нумерация в соответствии с EU-индексом. В некоторых вариантах осуществления один или оба домена антитела Fc не имеют C-концевого лизина. В некоторых вариантах осуществления (*например*, слитый белок по настоящему изобретению), линкер содержит последовательность (GGGS) x G n (SEQ ID NO:74), (GGGGS) x G n (SEQ ID NO:75) или (GGGGGS) x G n (SEQ ID NO:76), S(GGGS) x G n (SEQ ID NO:386), S(GGGGS) x G n (SEQ ID NO:387) или S(GGGGGS) x G n (SEQ ID NO:388), причем X=1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12, и причем n=0, 1, 2 или 3. В некоторых вариантах осуществления линкер содержит последовательность GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:79) или SGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:389). В некоторых вариантах осуществления (*например*, в слитом белке по настоящему изобретению), линкер связывает первый фрагмент по настоящему изобретению (*например*, антитело человека или гуманизованное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывает CD8b и/или CD8ab) и второй фрагмент по настоящему

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:325. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит одну или две легкие цепи одну или две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:326, тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:327 и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:329. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит одну или две легкие цепи одну или две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:330, тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:331 и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:333. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит одну или две легкие цепи одну или две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:334, тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:335 и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:337. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит одну или две легкие цепи одну или две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:338, тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:339 и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:341. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит одну или две легкие цепи одну или две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:342, тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:343 и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:345. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит одну или две легкие цепи одну или две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:346, тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:347 и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:349. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит одну или две легкие цепи одну или две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:350, тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:351 и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:353. В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит один или два антигенсвязывающих сайта, каждый антигенсвязывающий сайт, содержащий домен VL из одной из легких цепей и домен VL из одной из тяжелых цепей (*например*, слитый белок содержит два антигенсвязывающих сайта: один содержит домен VL из одной из двух легких цепей и домен VH из одной из тяжелых цепей, и другой, содержащий домен VL из другой легкой цепи и домен VH из другой тяжелой цепи).

[25] В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит один или два полипептида, содержащих аминокислотную последовательность SEQ ID NO:156, полипептид, содержащий аминокислотную

NO:346, полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:347 и полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:348. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит один или два полипептида, содержащих аминокислотную последовательность SEQ ID NO:346, полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:347 и полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:349. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит один или два полипептида, содержащих аминокислотную последовательность SEQ ID NO:350, полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:351 и полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:352. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит один или два полипептида, содержащих аминокислотную последовательность SEQ ID NO:350, полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:351 и полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:353.

[26] Кроме того, изобретение относится к слитым белкам, содержащим первый фрагмент, который связывается с CD8b человека и второй фрагмент, содержащий полипептид IL2, причем слитый белок состоит из четырех полипептидных цепей, причем: (1) первая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:334, вторая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:335, третья полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:336 и четвертая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:334; (2) первая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:334, вторая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:335, третья полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:337 и четвертая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:334; (3) первая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:338, вторая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:339, третья полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:340 и четвертая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:338; или (4) первая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:338, вторая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:339, третья полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:341 и четвертая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:338.

[27] Кроме того, изобретение относится к полинуклеотидам (*например*, выделенным полинуклеотидам), кодирующим антитело или слитый белок в соответствии с любым из вышеуказанных вариантов осуществления. Кроме того, изобретение относится к векторам (*например*, векторам экспрессии), содержащим полинуклеотид(ы) в соответствии с любым из вышеуказанных вариантов осуществления. Кроме того, изобретение относится к

клеткам-хозяевам (*например*, выделенным клеткам-хозяевам или клеточным линиям), содержащим полинуклеотид(ы) или вектор(ы) согласно любому из вышеуказанных вариантов осуществления. Кроме того, изобретение относится к способам получения антитела или слитого белка, включающим культивирование клетки-хозяина в соответствии с любым из вышеприведенных вариантов осуществления в условиях, подходящих для продукции антитела или слитого белка. В некоторых вариантах осуществления способы дополнительно включают выделение антитела или слитого белка из клетки-хозяина.

[28] Кроме того, изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим антитело или слитый белок в соответствии с любым из вышеуказанных вариантов осуществления и фармацевтически приемлемый носитель.

[29] Кроме того, изобретение относится к применению антитела, слитого белка или композиции в соответствии с любым из приведенных выше вариантов осуществления в качестве лекарственного средства. Кроме того, изобретение относится к применению антитела, слитого белка или композиции в соответствии с любым из приведенных выше вариантов осуществления в способе лечения рака или инфекции (*например*, хронической инфекции). Кроме того, изобретение относится к применению антитела, слитого белка или композиции в соответствии с любым из приведенных выше вариантов осуществления для получения лекарственного средства для лечения рака или инфекции (*например*, хронической инфекции). Кроме того, изобретение относится к способам лечения рака, включающим введение индивидууму, страдающему раком, эффективного количества антитела, слитого белка или композиции в соответствии с любым из вышеприведенных вариантов осуществления. В некоторых вариантах осуществления способы дополнительно включают введение индивидууму Т-клеточной терапии, противораковой вакцины, химиотерапевтического агента или ингибитора иммунных контрольных точек (ICI). Кроме того, изобретение относится к способам лечения инфекции (*например*, хронической инфекции), включающим введение индивидууму с инфекцией эффективного количества антитела, слитого белка или композиции в соответствии с любым из вышеуказанных вариантов осуществления. Кроме того, изобретение относится к способам размножения Т-клеток (*например*, *ex vivo*), включающим приведение в контакт одной или более Т-клеток (*например*, лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль) *ex vivo* (*например*, *ex vivo*) с эффективным количеством антитела, слитого белка или композиции согласно любому из вышеперечисленных вариантов осуществления.

[30] Следует понимать, что одно, некоторые или все свойства различных вариантов осуществления, описанных в настоящем описании, могут быть объединены для формирования других вариантов осуществления настоящего изобретения. Эти и другие аспекты настоящего изобретения станут очевидны специалисту в данной области техники. Эти и другие варианты осуществления настоящего изобретения дополнительно описаны в подробном описании, которое следует ниже.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[31] На Фиг. 1А-1С изображены три типа антител к CD8ab, которые могут быть

идентифицированы в соответствии с их предпочтительностью связывания с CD8a, CD8b и гетеродимером CD8ab. Антитела, связывающие эпитопы CD8a, показаны на **Фиг. 1А**, антитела, связывающие эпитопы, охватывающие как CD8a, так и CD8b, показаны на **Фиг. 1В**, и антитела, связывающиеся с эпитопами CD8b, показаны на **Фиг. 1С**. Также показано предпочтение связывания гетеродимера CD8a, CD8b и CD8ab для каждого типа антител.

[32] На **Фиг. 2А-2С** показаны результаты анализа ИФА, использованного для различения трех типов антител к CD8ab, изображенных на **Фиг. 1А-1С**. Измеряли связывание с рекомбинантным CD8a (закрашенный квадрат), CD8b (закрашенный треугольник), гетеродимером CD8ab (закрашенный круг) и нерелевантным антигеном, овальбумином (незаштрихованные треугольники). Ранее были описаны антитела хhCD8a1 (клон ОКТ8) и хhCD8a2 (клон SK1).

[33] На **Фиг. 3А-3С** изображены предпочтения связывания с различными типами CD8⁺ иммунных клеток тремя типами анти-CD8ab-антител, изображенных на **Фиг. 2А-2С**. Антитела с эпитопами CD8a, изображенные на **Фиг. 1А** связываются как с CD8ab⁺ Т-клетками, так и с CD8aa⁺ НК-клетками, как показано на **Фиг. 3А**. Антитела с эпитопами, которые охватывают как CD8a, так и CD8b, изображенные на **Фиг. 1В** предпочтительно связываются с CD8ab⁺ Т-клетками, а не с CD8aa⁺ НК-клетками, как показано на **Фиг. 3В**. Антитела с эпитопами CD8b, изображенные на **Фиг. 1С** предпочтительно связываются с CD8ab⁺ Т-клетками, а не с CD8aa⁺ НК-клетками, как показано на **Фиг. 3С**.

[34] На **Фиг. 4 и 5** представлены результаты анализа с помощью проточной цитометрии для обнаружения связывания антител к CD8ab с МКПК человека и различения трех типов антител к CD8ab, изображенных на **Фиг. 1А-1С**. Связывание антител к CD8ab с Т-клетками (**Фиг. 4**) и НК-клетки (**Фиг. 5**) в hPBMC обнаруживали путем окрашивания антителом к Fc человека, конъюгированным с APC. Анти-hFc использовали для измерения связывания антител к CD8, содержащих hFc. Средняя интенсивность флуоресценции (MFI) окрашивания анти-hFc используется для обозначения связывания. Связывание анти-hFc определяли в клетках CD3⁺CD8a⁺CD8b⁺ (CD8⁺ Т-клетки) и клетках CD3⁺CD56⁺CD8a⁺ (CD8⁺ НК-клетки).

[35] На **Фиг. 6** представлены результаты анализа методом проточной цитометрии, измеряющего связывание антител к CD8ab, связывающих эпитопы CD8b, от хhCD8v1 до хhCD8v5, с Т-клетками CD8⁺. Также было включено отрицательное контрольное антитело, связывающее антиген НА.

[36] На **Фиг. 7** представлены четыре различных формата (форматы А, В, С и D) слитых белков, содержащих антитела к CD8ab по настоящему изобретению, в соответствии с некоторыми вариантами осуществления.

[37] На **Фиг. 8А-8С** показаны слитые белки, содержащие три типа антител к CD8ab, изображенных на **Фиг. 1А-1С** и **Фиг. 3А-3С**, и IL-2Rbg-связывающий полипептид. Показана преимущественная активация CD8ab⁺ Т-клеток по сравнению с CD8aa⁺ НК-клетками.

[38] На **Фиг. 9** показаны результаты анализа для определения селективности слитых

белков, содержащих антитела к CD8ab и IL-2Rbg-связывающий полипептид, IL2m1. Экспрессию маркера пролиферации Ki-67 в CD8+ Т-клетках и NK-клетках от донора hPBMC измеряли с помощью проточной цитометрии после пяти дней совместного культивирования со следующими слитыми белками: Ctrl Ab-IL2v, содержащий контрольное антитело и ранее опубликованный вариант IL-2 (Klein et al., Oncoimmunol. 2017; 6(3); e1277306) (верхняя панель); xhCD8a1-IL-2m1, содержащий антитело к CD8, xhCD8a1, нацеленное на эпитоп CD8a, и мутантный полипептид IL-2 по настоящему изобретению, IL2m1 (нижняя левая панель); и xhCD8v1-IL2m1, содержащий антитело к CD8ab по настоящему изобретению, xhCD8v1 и IL2m1 (нижняя правая панель). xhCD8a1-IL-2m1 имел формат С, тогда как Ctrl Ab-IL2v и xhCD8v1-IL2m1 имели формат А. Экспрессию Ki-67 измеряли в CD8+ Т-клетках (закрашенные кружки) и NK-клетках (закрашенные квадраты). NK-клетки были определены как CD3-CD56+. Экспрессию CD8 измеряли путем окрашивания антителом к CD8 SK1.

[39] **На Фиг. 10А-10С** показана экспрессия маркера пролиферации Ki-67 после пятидневного совместного культивирования hPBMC от трех разных доноров с указанными слитыми белками. Все слитые белки содержали мутантный полипептид IL-2, антитела IL2m1 и CD8ab по настоящему изобретению, от xhCD8v1 до xhCD8v7, и имели формат А. Экспрессию Ki-67 измеряли в CD8+ Т-клетках (сплошные линии) и NK-клетках (пунктирные линии).

[40] **На Фиг. 11А-11D** показаны результаты анализа фосфо-STAT5 с hPBMC от одного донора, культивируемого с указанными гибридными белками, все в формате С. Процент клеток, экспрессирующих pSTAT5, представлен в следующих подмножествах hPBMC: CD8+ Т-клетки (**Фиг. 11А**), NK-клетки (**Фиг. 11В**), клетки Treg (**Фиг. 11С**) и CD4+Foxp3-Т-клетки (**Фиг. 11D**). NK-клетки были идентифицированы как CD3-перфорин+. Клетки Treg были идентифицированы как CD4+Foxp3+CD25+.

[41] **На Фиг. 12** показана экспрессия маркера пролиферации Ki-67 после пятидневного совместного культивирования hPBMC от одного донора с указанными слитыми белками. Все слитые белки содержали антитело к CD8ab по настоящему изобретению, xhCD8v1, и различные мутантные полипептиды IL-2 по настоящему изобретению, от IL2m1 до IL2m5, и имели формат А. Экспрессию Ki-67 измеряли в CD8+ Т-клетках (левая панель) и NK-клетки (правая панель).

[42] **На Фиг. 13А и Фиг. 13В** показаны результаты анализа фосфо-STAT5 с hPBMC от одного донора, культивируемого с указанными слитыми белками. Процент клеток, экспрессирующих pSTAT5, был представлен в следующих подмножествах hPBMC: CD8+ Т-клетки и NK-клетки. **На Фиг. 13А** все слитые белки содержали антитело к CD8ab по настоящему изобретению, xhCD8v1, и различные мутантные полипептиды IL-2 по настоящему изобретению, IL2m1, IL2m2 и IL2m6-IL2m10, и имели формат А. **На Фиг. 13В**, слитые белки содержали антитела к CD8ab по настоящему изобретению, xhCD8v11 и xhCD8v12, и различные мутантные полипептиды IL-2 по настоящему изобретению, IL2m11, IL2m12 и IL2m13, и имели формат А. NK-клетки были идентифицированы как

CD3-перфорин+.

[43] **На Фиг. 14А** показана экспрессия маркера пролиферации Ki-67 после пятидневного совместного культивирования hPBMC от одного донора с хhCD8v1-IL2m1 (левая панель) и хhCD8v6-IL2m1 (правая панель). Были испытаны три разных формата слитых белков, как показано на **Фиг. 7**: формат А, формат В и формат С, как указано. Сплошные линии изображают экспрессию Ki-67 в CD8+ Т-клетках, а пунктирные линии представляют экспрессию Ki-67 в НК-клетках. Формат А приводил к значительному увеличению активности CD8+ Т-клеток по сравнению с НК-клетками для обоих протестированных антител к CD8ab, что позволяет предположить, что этот формат является предпочтительным для слитых белков, содержащих антитела к CD8ab, нацеленные на эпитопы между CD8a и CD8b (**Фиг. 8В**) или эпитопы CD8b (**Фиг. 8С**). На **Фиг. 14В** показано связывание (левая панель) и индукция Ki67 (правая панель) в CD8+ Т-клетках от одного донора с помощью хhCD8v6-IL2m1. Четыре различных формата слитых белков, как показано на **Фиг. 7** были испытаны: формат А, формат В, формат С и формат D, как указано. В то время как формат А примерно в 5 раз сильнее, чем другие форматы в связывании клеток, формат А в 20-40 раз более эффективен, чем другие форматы, в индукции Ki-67. На **Фиг. 14С** показаны результаты девяти слитых молекул в формате А и D, оцененные в отношении связывания с CD8+ Т-клетками и индукции Ki67 в CD8+ Т-клетках. Примеры кривых связывания и ki-67 для хhCD8v12-IL2m4 показаны на левой панели. Для данной пары связывающего и мутеина соотношение EC50 формата D и формата А показано для связывания и Ki67 на правой панели. Для всех протестированных молекул формат А продемонстрировал сдвиг эффективности по сравнению с форматом D примерно в 10 раз в отношении связывания EC50. Однако при оценке активации следующего нижестоящего маркера пролиферации Ki67 формат А демонстрирует примерно 1000-кратное увеличение активности по сравнению с форматом D в индукции Ki-67.

[44] **На Фиг. 15** показана экспрессия маркера пролиферации Ki-67 после пятидневного совместного культивирования hPBMC с хhCD8v8-IL2m1, слитым белком формата А, содержащим мутантный полипептид IL-2, IL2m1, и антитело к CD8ab по настоящему изобретению, хhCD8v8. Экспрессию Ki-67 измеряли в CD8+ Т-клетках (квадраты) и НК-клетках (треугольники).

[45] **На Фиг. 16А** показана экспрессия Ki-67 в инфильтрирующих опухоль лимфоцитах (ТИЛ), гейтированных на CD8+ Т-клетках (левая панель) и НК-клетках (правая панель). ТИЛ инкубировали с rhIL-2 или указанными слитыми белками (формат А) в течение пяти дней перед анализом. На **Фиг. 16В** показано количество CD8+ Т-клеток, НК-клеток и CD4+ Т-клеток на лунку в каждом из указанных условий.

[46] **На Фиг. 17А-17Е** показана экспрессия маркера пролиферации Ki-67 после пятидневного совместного культивирования hPBMC со слитыми белками формата А, содержащими мутантный полипептид IL-2 (IL2m1 или IL2m4) и антитело CD8ab по настоящему изобретению. Тестировали антитела к CD8ab хhCD8v9-14. Экспрессию Ki-67 измеряли в CD8+ Т-клетках (квадраты) и НК-клетках (треугольники).

[47] **На Фиг. 18А** показано количество аминокислотных обязательств (*например*, предполагаемое N-связанное гликозилирование, дезаминирование или сайты кислотного расщепления) и несоответствия аминокислот по сравнению с зародышевой линией человека указанных анти-CD8ab антител.

[48] **На Фиг. 18В** показаны выравнивания, иллюстрирующие, как CDR (курсив) из хhCD8v1 VH (вверху) и VK (внизу) были пересажены на каркасы зародышевой линии человека VH1-69 и VK1-39 соответственно. Последовательности домена VH (вверху) соответствуют SEQ ID NO: 58, 384 и 60 соответственно (сверху вниз). последовательности домена VL (внизу) соответствуют SEQ ID NO: 59, 385 и 61 соответственно (сверху вниз). Подчеркнутые остатки изображают каркасные остатки зародышевой линии человека.

[49] **На Фиг. 18С и 18D** показано выравнивание VH (**Фиг. 18С**) и VL (**Фиг. 18D**) доменов указанных анти-CD8ab антител по настоящему изобретению. Последовательности домена VH (**Фиг. 18С**) соответствуют SEQ ID NO: 60, 62, 64, 66, 68, 245, 251 и 253 соответственно (сверху вниз). Последовательности домена VL (**Фиг. 18D**) соответствуют SEQ ID NO: 61, 63, 65, 67, 69, 246, 252 и 254 соответственно (сверху вниз).

[50] **На Фиг. 19** показаны результаты анализа ИФА, использованного для идентификации гликозилирования исходного хhCD8v6 (черная сплошная линия с черными квадратами), которое удаляется при обработке гликозидазами (черная пунктирная линия с черными квадратами). На хhCD8v11 не обнаружено гликозилирования (серые линии со светлыми треугольниками). Фетуин показан в качестве положительного контроля.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Определения

[51] Использование в этом описании и в прилагаемой формуле изобретения форм единственного числа включает ссылку на множественное число, если в контексте явно не указано иное. Таким образом, например, ссылка на «молекулу» необязательно включает комбинацию двух или более таких молекул и тому подобное.

[52] Понятно, что аспекты и варианты осуществления настоящего изобретения включают «содержащие», «состоящие» и «по существу состоящие из» аспектов и вариантов осуществления.

[53] Термин «приблизительно», используемый в данном описании относится к обычному диапазону ошибок для соответствующего значения, хорошо известного специалисту в данной области техники. В настоящем описании применение «приблизительно» по отношению к величине или параметру включает (и описывает) варианты осуществления, которые относятся непосредственно к этой величине или параметру по существу.

[54] «Иммунные клетки», в рамках изобретения, представляют собой клетки иммунной системы, которые реагируют на организмы или другие объекты, которые считаются чужеродными для иммунной системы хозяина. Они защищают хозяина от чужеродных патогенов, организмов и болезней. Иммунные клетки, также называемые лейкоцитами, участвуют как в врожденных, так и в адаптивных и иммунных реакциях для

борьбы с патогенами. Врожденные иммунные ответы возникают сразу после воздействия патогенов без дополнительных процессов прайминга или обучения. Адаптивные иммунные процессы требуют начального прайминга, а затем создают память, что, в свою очередь, приводит к повышенной реактивности при последующих встречах с тем же патогеном. Врожденные иммунные клетки включают, но не ограничиваются ими, моноциты, макрофаги, дендритные клетки, врожденные лимфоидные клетки (ILC), включая естественные клетки-киллеры (NK), нейтрофилы, мегакариоциты, эозинофилы и базофилы. Адаптивные иммунные клетки включают В- и Т-лимфоциты/клетки. Подмножества Т-клеток включают, но не ограничиваются ими, альфа-бета CD4⁺ Т (наивные CD4⁺, CD4⁺ памяти, эффекторные CD4⁺ памяти, эффекторные CD4⁺, регуляторные CD4⁺) и альфа-бета CD8⁺ Т (наивные CD8⁺, CD8⁺ памяти, эффекторные CD8⁺ памяти, эффекторные CD8⁺). Подмножества В-клеток включают, помимо прочего, наивные В-клетки, В-клетки памяти и плазматические клетки. NK-Т-клетки и Т-гамма-дельта (Т $\gamma\delta$) клетки проявляют свойства как врожденных, так и адаптивных лимфоцитов.

[55] «Т-клетки» или «Т-лимфоциты» представляют собой иммунные клетки, которые играют ключевую роль в организации иммунных реакций в норме и при заболевании. Существуют два основных подмножества Т-клеток, обладающих уникальными функциями и свойствами: Т-клетки, которые экспрессируют антиген CD8 (CD8⁺ Т-клетки), являются цитотоксическими или киллерными Т-клетками, которые могут лизировать клетки-мишени с использованием цитотоксических белков, таких как гранзимы и перфорин; и Т-клетки, которые экспрессируют антиген CD4 (CD4⁺ Т-клетки), представляют собой вспомогательные Т-клетки, которые способны регулировать функцию многих других типов иммунных клеток, включая функцию CD8⁺ Т-клеток, В-клеток, макрофагов и т.д. Кроме того, CD4⁺ Т-клетки подразделяются на несколько подмножеств, таких как: Т-регуляторные (Treg) клетки, которые способны подавлять иммунный ответ, и Т-хелперы 1 (Th1), Т-хелперы 2 (Th2) и Т-хелперы 17 (Th17), которые регулируют различные типы иммунных ответов, секретируя иммуномодулирующие белки, такие как цитокины. Т-клетки распознают свои мишени через альфа-бета-рецепторы Т-клеток, которые связываются с уникальными антиген-специфическими мотивами, и этот механизм распознавания обычно необходим для запуска их цитотоксических и цитокин-секретирующих функций. «Врожденные лимфоциты» также могут проявлять свойства CD8⁺ и CD4⁺ Т-клеток, такие как цитотоксическая активность или секреция цитокинов Th1, Th2 и Th17. Некоторые из этих подмножеств врожденных лимфоцитов включают NK-клетки и клетки ILC1, ILC2 и ILC3; и врожденные Т-клетки, такие как Т $\gamma\delta$ -клетки; и NK Т-клетки. Как правило, эти клетки могут быстро реагировать на воспалительные стимулы из инфицированных или поврежденных тканей, такие как иммуномодулирующие цитокины, но, в отличие от альфа-бета-Т-клеток, они могут реагировать без необходимости распознавания антиген-специфических паттернов.

[56] «Цитокин» представляет собой форму иммуномодулирующего полипептида, который опосредует перекрестную связь между иницирующими/первичными клетками и

клетками-мишенями/эффекторными клетками. Он может функционировать как растворимая форма или клеточная поверхность, связанная с связыванием «цитокинового рецептора» на иммунных клетках-мишенях для активации передачи сигналов. «Цитокиновый рецептор», в рамках изобретения, представляет собой полипептид на клеточной поверхности, который активирует внутриклеточную сигнализацию при связывании цитокина на внеклеточной клеточной поверхности. Цитокины включают, но не ограничиваются ими, хемокины, интерфероны, интерлейкины, лимфокины и факторы некроза опухоли. Цитокины продуцируются широким спектром клеток, включая иммунные клетки, эндотелиальные клетки, фибробласты и стромальные клетки. Данный цитокин может продуцироваться более чем одним типом клеток. Цитокины плейотропны; поскольку рецепторы экспрессируются на нескольких субпопуляциях иммунных клеток, один цитокин может активировать сигнальный путь во многих клетках. Однако, в зависимости от типа клеток, сигнальные события для цитокина могут приводить к различным последующим клеточным событиям, таким как активация, пролиферация, выживание, апоптоз, эффекторная функция и секреция других иммуномодулирующих белков.

[57] Термин «аминокислота», в рамках изобретения, относится к встречающимся в природе карбокси- α -аминокислотам, содержащим аланин (трехбуквенный код: ala, однобуквенный код: A), аргинин (arg, R), аспарагин (asn, N), аспарагиновая кислота (asp, D), цистеин (cys, C), глутамин (gln, Q), глутаминовая кислота (glu, E), глицин (gly, G), гистидин (his, H), изолейцин (ile, I), лейцин (leu, L), лизин (lys, K), метионин (met, M), фенилаланин (phe, F), пролин (pro, P), серин (ser, S), треонин (thr, T), триптофан (trp, W), тирозин (tyr, Y) и валин (val, V).

[58] «Полипептид» или «белок», в рамках изобретения, относится к молекуле, в которой мономеры (аминокислоты) линейно связаны друг с другом пептидными связями (также известными как амидные связи). Термин «полипептид» относится к любой цепи из двух или более аминокислот и не относится к конкретной длине продукта. Таким образом, пептиды, дипептиды, трипептиды, олигопептиды, «белок», «аминокислотная цепь» или любой другой термин, используемый для обозначения цепи из двух или более аминокислот, включены в определение «полипептид», а термин «полипептид» может использоваться вместо или взаимозаменяемо с любым из этих терминов. Термин «полипептид» также предназначен для обозначения продуктов полипептида. Полипептид может быть получен из природного биологического источника или получен с помощью рекомбинантной технологии, но не обязательно транслируется из указанной последовательности нуклеиновой кислоты. Его можно получить любым способом, в том числе путем химического синтеза. Полипептиды обычно имеют определенную трехмерную структуру, но они не обязательно имеют такую структуру. Полипептид по настоящему изобретению может иметь размер приблизительно 3 или более, 5 или более, 10 или более, 20 или более, 25 или более, 50 или более, 75 или более, 100 или более, 200 или более, 500 или более, 1000 или более, или 2000, или более аминокислот. Полипептиды с определенной трехмерной структурой называются складчатыми, а полипептиды, которые не обладают определенной

трехмерной структурой, но могут принимать множество различных конформаций, называются развернутыми. Полипептиды могут дополнительно образовывать мультимеры, такие как димеры, тримеры и высшие олигомеры, т.е., состоящие из более чем одной молекулы полипептида. Молекулы полипептидов, образующие такие димеры, тримеры и т.д., могут быть идентичными или не идентичными. Соответствующие структуры более высокого порядка таких мультимеров, следовательно, называются гомо- или гетеродимерами, гомо- или гетеротримерами и т.д. Термины «полипептид» и «белок» также относятся к модифицированным полипептидам/белкам, в которых затрагивается постэкспрессионная модификация, включая, помимо прочего, гликозилирование, ацетилирование, фосфорилирование, амидирование, дериватизацию известными защитными/блокирующими группами, протеолитическое расщепление или модификацию неприродными аминокислотами.

[59] В рамках изобретения под «остатком» подразумевается положение в белке и связанная с ним аминокислотная идентичность. Например, Leu 234 (также называемый Leu234 или L234) представляет собой остаток в положении 234 антитела IgG1 человека.

[60] Под «диким типом» в настоящем описании подразумевается аминокислотная последовательность или нуклеотидная последовательность, которая встречается в природе, включая аллельные вариации. Белок дикого типа имеет аминокислотную последовательность или нуклеотидную последовательность, которая не была намеренно модифицирована.

[61] «Замена» или «мутация» относится к изменению остова полипептида, при котором аминокислота, встречающаяся в природе в последовательности полипептида дикого типа, заменяется другой аминокислотой, не встречающейся в природе в том же положении в указанном полипептиде. Предпочтительно вводят мутацию или мутации для модификации аффинности полипептида к его рецептору, тем самым изменяя его активность таким образом, что она становится отличной от аффинности и активности родственного полипептида дикого типа. Мутации также могут улучшать биофизические свойства полипептида. Аминокислотные мутации могут быть получены с использованием генетических или химических методов, хорошо известных в данной области. Генетические способы могут включать сайт-направленный мутагенез, ПЦР, генный синтез и т.п. Предполагается, что также могут быть полезны способы изменения группы боковой цепи аминокислоты методами, отличными от генной инженерии, такими как химическая модификация.

[62] Термин «CD8», в рамках изобретения, относится к любому нативному CD8 человека. Если иное не указано прямо или в контексте, ссылки на «CD8» относятся к CD8aa и/или CD8ab. Аминокислотная последовательность типового CD8b человека, бета-цепи CD8 человека, описана в UniProt P10966 (CD8B_HUMAN). «CD8a» относится к альфа-цепи CD8 человека (например, как описано в UniProt P01732 (CD8A_HUMAN)). «CD8aa» относится к гомодимеру CD8a. «CD8ab» относится к гетеродимеру CD8a и CD8b. «CD8», «CD8a», «CD8b», «CD8aa» и «CD8ab» охватывают непротессированные формы, а также

зрелые формы, возникающие в результате процессинга в клетке. «CD8», «CD8a», «CD8b», «CD8aa» и «CD8ab» также включают, но не ограничиваются ими, встречающиеся в природе варианты, например аллельные или сплайсированные варианты или варианты.

[63] Термин «интерлейкин-2» или «IL-2», в рамках изобретения, относится к любому нативному IL-2 человека, если не указано иное. «IL-2» включает непроцессированный IL-2, а также «зрелый IL-2», который представляет собой форму IL-2, образующуюся в результате процессинга в клетке. Последовательность «зрелого IL-2» изображена на Фиг. 1А. Одна типовая форма непроцессированного IL-2 человека содержит дополнительный N-концевой аминокислотный сигнальный пептид, присоединенный к зрелому IL-2. «IL-2» также включает, но не ограничивается ими, встречающиеся в природе варианты IL-2, например, аллельные или сплайсированные варианты или варианты. Аминокислотная последовательность типового IL-2 человека описана в UniProt P60568 (IL2_HUMAN).

[64] «Аффинность» или «аффинность связывания» относится к силе суммарного количества нековалентных взаимодействий между одним сайтом связывания молекулы (например, антитела) и ее связывающим партнером (например, антигеном). Если не указано иное, используемый в настоящем описании термин «аффинность связывания» относится к действительной аффинности связывания, которая отражает взаимодействие в соотношении 1:1 между членами связывающей пары (например антителом и антигеном). Аффинность обычно может быть представлена константой диссоциации (K_D), которая представляет собой отношение констант скорости диссоциации и ассоциации (k_{off} и k_{on} соответственно). Таким образом, эквивалентные аффинности могут включать разные константы скорости, пока соотношение констант скоростей остается неизменным. Аффинность можно измерить обычными методами, известными в данной области, такими как твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА), технологии поверхностного плазмонного резонанса (SPR) (например, BIAcore), технологии биослоевой интерферометрии (BLI) (например, Octet) и другие традиционные анализы связывания (Heeley, *Endocr Res* 28, 217-229 (2002)).

[65] «Связывание» или «специфическое связывание», в рамках изобретения, относится к способности полипептида или антигенсвязывающей молекулы избирательно взаимодействовать с рецептором полипептида или антигена-мишени, соответственно, и это специфическое взаимодействие можно отличить от нецелевого или нежелательные или неспецифические взаимодействия. Примеры специфического связывания включают, но не ограничиваются этим, связывание цитокина IL-2 с его специфическими рецепторами (например IL-2R α , IL-2R β и IL-2R γ) и связывание антигенсвязывающей молекулы со специфическим антигеном (например CD8 или PD-1).

[66] «Мутантный полипептид IL-2» относится к полипептиду IL-2, который имеет пониженную аффинность к своему рецептору, причем такая сниженная аффинность приводит к снижению биологической активности мутанта. Снижение аффинности и, следовательно, активности может быть получено путем введения небольшого количества аминокислотных мутаций или замен. Мутантные полипептиды IL-2 также могут иметь

другие модификации пептидного остова, включая, помимо прочего, аминокислотную делецию, пермутацию, циклизацию, дисульфидные связи или посттрансляционные модификации (например, гликозилирование или измененный углевод) полипептида, химические или ферментативные модификации полипептида (например, присоединение ПЭГ к остову полипептида), добавление пептидных меток или меток или слияние с белками или белковыми доменами для создания конечной конструкции с желаемыми характеристиками, такими как пониженная аффинность к IL-2R $\beta\gamma$. Желаемая активность может также включать улучшенные биофизические свойства по сравнению с полипептидом IL-2 дикого типа. Множественные модификации могут быть объединены для достижения желаемой модификации активности, такой как снижение аффинности или улучшение биофизических свойств. В качестве неограничивающего примера аминокислотные последовательности для согласованного гликозилирования N-звена могут быть включены в полипептид, чтобы сделать возможным гликозилирование. Другим неограничивающим примером является то, что лизин может быть включен в полипептид для обеспечения пэгилирования. Предпочтительно в полипептид вводят мутацию или мутации для модификации его активности.

[67] Термины «антитело» и «иммуноглобулин» используются взаимозаменяемо и в настоящем описании используются в самом широком смысле и охватывают различные структуры антител, включая, помимо прочего, моноклональные антитела (например, полноразмерные или интактные моноклональные антитела), поликлональные антитела, полиспецифические антитела (например, биспецифические антитела), фрагменты антител и однодоменные антитела (как более подробно описано в настоящем описании), при условии, что они проявляют желаемую антигенсвязывающую активность.

[68] Антитела (иммуноглобулины) относятся к белку, имеющему структуру, по существу аналогичную структуре нативного антитела. «Нативные антитела» относятся к встречающимся в природе молекулам иммуноглобулина с различной структурой. Например, нативные иммуноглобулины класса IgG представляют собой гетеротетрамерные гликопротеины массой приблизительно 150000 дальтон, состоящие из двух легких цепей и двух тяжелых цепей, связанных дисульфидной связью. От N-конца к C-концу каждая тяжелая цепь имеет переменную область (VH), также называемую переменным доменом тяжелой цепи или переменным доменом тяжелой цепи, за которой следуют три константных домена (CH1, CH2 и CH3), также называемая константной областью тяжелой цепи. Точно так же от N-конца к C-концу каждая легкая цепь имеет переменную область (VL), также называемую переменным доменом легкой цепи или переменным доменом легкой цепи, за которой следует константный домен легкой цепи (CL), также называемый константной областью легкой цепи. Структуры субъединиц и трехмерные конфигурации различных классов иммуноглобулинов хорошо известны и в целом описаны, например, в Abbas et al., 2000, Cellular and Mol, and Kindt et al., Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007). Антитела (иммуноглобулины) относят к разным классам в зависимости от аминокислотных последовательностей константных доменов тяжелой цепи.

Существует пять основных классов антител: α (IgA), δ (IgD), ϵ (IgE), γ (IgG) или μ (IgM), некоторые из которых могут быть дополнительно разделены на подтипы, например, $\gamma 1$ (IgG1), $\gamma 2$ (IgG2), $\gamma 3$ (IgG3), $\gamma 4$ (IgG4), $\alpha 1$ (IgA1) и $\alpha 2$ (IgA2). Легкая цепь иммуноглобулина может быть отнесена к одному из двух типов, называемых каппа (κ) и лямбда (λ), на основании аминокислотной последовательности ее константного домена. Иммуноглобулин по существу состоит из двух молекул Fab и домена Fc, связанных через шарнирную область иммуноглобулина.

[69] «Fc», или «Fc-область», или «Fc-домен», используемые в настоящем описании, относятся к C-концевой области тяжелой цепи антитела, которая содержит по меньшей мере часть константной области. Термин включает Fc-области с нативной последовательностью и варианты Fc-области. Fc может относиться к двум последним доменам иммуноглобулина константной области (например, CH2 и CH3) IgA, IgD и IgG, трем последним доменам иммуноглобулина константной области IgE и IgM и, необязательно, всему или части гибкого шарнирного N-конца к этим доменам. В случае IgA и IgM Fc может содержать J-цепь. Fc-область IgG содержит домен IgG CH2 и домен IgG CH3, а в некоторых случаях включает шарнир. Если не указано иное, нумерация аминокислотных остатков области Fc или константной области соответствует системе нумерации EU, также называемой индексом EU, как описано в Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. 1991. «Шарнирная» область обычно простирается от аминокислотного остатка примерно в положении 216 до аминокислотного остатка примерно в положении 230. Шарнирная область в настоящем описании может быть нативным шарнирным доменом или вариантным шарнирным доменом. «Домен CH2» Fc-области IgG человека обычно простирается от аминокислотного остатка примерно в положении 231 до аминокислотного остатка примерно в положении 340. Домен CH2 в настоящем описании может представлять собой домен CH2 с нативной последовательностью или вариантный домен CH2. «Домен CH3» включает участок остатков, C-концевой по отношению к домену CH2 в области Fc, от аминокислотного остатка примерно в положении 341 до аминокислотного остатка примерно в положении 447 IgG. Область CH3 в настоящем описании может представлять собой домен CH3 с нативной последовательностью или вариант домена CH3 (например, домен CH3 с введенным «выступом» («выступом») в одной его цепи и соответствующей введенной «полостью» («отверстием») в другие их цепи, см. патент США № 5821333 специально включенный в настоящее описание посредством ссылки). Таким образом, определение «Fc-домен» включает обе аминокислоты 231-447 (CH2-CH3) или 216-447 (шарнир-CH2-CH3) или их фрагменты. «Fc-фрагмент» в этом контексте может содержать меньше аминокислот с одного или обоих N- и C-концов, но все же сохраняет способность образовывать димер с другим Fc-доменом или Fc-фрагментом, что может быть обнаружено с использованием стандартных методов, обычно в зависимости от размера (например, неденатурирующая хроматография, эксклюзионная хроматография и т. д.). Домены Fc IgG человека имеют особое применение в настоящем изобретении и

могут представлять собой домен Fc из IgG1, IgG2 или IgG4 человека.

[70] «Вариант домена Fc» или «вариант Fc» или «вариант Fc» содержит аминокислотные модификации (например, замену, добавление и делецию) по сравнению с исходным доменом Fc. Термин также включает встречающиеся в природе аллельные варианты Fc-области иммуноглобулина. Как правило, вариантные Fc-домены имеют по меньшей мере приблизительно 80, 85, 90, 95, 97, 98 или 99 процентов идентичности соответствующему родительскому Fc-домену IgG человека (с использованием алгоритмов идентичности, обсуждаемых ниже, с одним вариантом осуществления, использующим алгоритм BLAST, известным в данной области техники, с использованием параметров по умолчанию). В качестве альтернативы варианты доменов Fc могут иметь от 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 модификаций аминокислот по сравнению с родительским доменом Fc. Например, одна или более аминокислот могут быть удалены с N-конца или C-конца Fc-области иммуноглобулина без существенной потери биологической функции. Кроме того, как обсуждается в настоящем описании, варианты доменов Fc в настоящем описании по-прежнему сохраняют способность образовывать димер с другим доменом Fc, что измеряется с использованием известных методик, описанных в настоящем описании, таких как неденатурирующий гель-электрофорез.

[71] Под «Fc-гамма-рецептором», «Fc γ R» или «Fc гамма R» в рамках изобретения подразумевается любой член семейства белков, который связывает Fc-область антитела IgG и кодируется геном Fc γ R. У людей это семейство включает, без ограничения, Fc γ RI (CD64), включая изоформы Fc γ RIa, Fc γ RIb, и Fc γ RIc; Fc γ RII (CD32), включая изоформы Fc γ RIIa (включая аллотипы H131 и R131), Fc γ RIIb (включая Fc γ RIIb-1 и Fc γ RIIb-2), и Fc γ RIIc; и Fc γ RIII (CD16), включая изоформы Fc γ RIIIa (включая аллотипы V158 и F158) и Fc γ RIIIb (включая аллотипы Fc γ RIIIb-NA1 и Fc γ RIIIb-NA2) (Jefferis et al., 2002, Immunol Lett 82:57-65, полностью включено посредством ссылки), а также любые неизвестные Fc γ R или изоформы или аллотипы Fc γ R человека. Fc γ R может быть из любого организма, включая, но не ограничиваясь этим, людей, мышей, крыс, кроликов и обезьян. Мышиные Fc γ R включают, но не ограничиваются ими, Fc γ RI (CD64), Fc γ RII (CD32), Fc γ RIII (CD16) и Fc γ RIII-2 (CD16-2), а также любые неизвестные мышиные Fc γ R или изоформы или аллотипы Fc γ R.

[72] Под «эффektorной функцией» в рамках изобретения подразумевается биохимическое событие, которое возникает в результате взаимодействия Fc-области антитела с Fc-рецептором или лигандом, которые изменяются в зависимости от изотипа антитела. Эффektorные функции включают, помимо прочего, антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (ADCC), антителозависимый клеточно-опосредованный фагоцитоз (ADCP), комплементзависимую цитотоксичность (CDC), секрецию цитокинов, опосредованное иммунными комплексами поглощение антигена антигенпрезентирующими агентами. клеток, понижающую регуляцию рецепторов клеточной поверхности (например, рецептора В-клеток) и активацию В-клеток.

«Антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность» или «АЗКЦ» соответствуют опосредованной клетками реакции, в которой неспецифические цитотоксические клетки, которые экспрессируют FcR (такими как естественные клетки-киллеры (NK), нейтрофилы и макрофаги), распознают связанное антитело на целевой клетке и, таким образом, приводят к лизису клетки-мишени. АЗКЦ коррелирует со связыванием с FcγRIIIa; повышение связывания с FcγRIIIa приводит к повышению активности АЗКЦ. Для оценки активности АЗКЦ представляющей интерес молекулы может быть проведен анализ АЗКЦ *in vitro*, описанный в патенте США № 5500362 или 5821337. Термин «АЗКФ» или антитело-зависимый клеточно-опосредованный фагоцитоз в рамках изобретения означает клеточно-опосредованную реакцию, в которой неспецифические цитотоксические клетки, которые экспрессируют FcγR, распознают связанное антитело на клетке-мишени и впоследствии вызывают фагоцитоз клетки-мишени.

[73] «Fc-нуль» и «Fc-нуль-вариант» используются взаимозаменяемо и используются в настоящем описании для описания модифицированного Fc, у которого снижены или устранены эффекторные функции. Такой Fc-нуль или Fc-нуль-вариант имеет уменьшенное количество или исчезновение до FcγR и/или рецепторов комплемента. Предпочтительно такой Fc-нуль или Fc-нуль-вариант имеет упраздненные эффекторные функции. Примеры способов модификации включают, но не ограничиваются ими, химическое изменение, замену аминокислотных остатков, вставку и делецию. Типовые положения аминокислот в молекулах Fc, в которые были введены одна или более модификаций для снижения эффекторной функции полученного варианта (нумерация основана на схеме нумерации ЕС) в положении i) IgG1: C220, C226, C229, E233, L234, L235, G237, P238, S239 D265, S267, N297, L328, P331, K322, A327 и P329, ii) IgG2: V234, G237, D265, H268, N297, V309, A330, A331, K322 и iii) IgG4: L235, G237, D265 и E318. Типовые молекулы Fc со сниженной эффекторной функцией включают молекулы, имеющие одну или более из следующих замен: i) IgG1: N297A, N297Q, N297G, D265A/N297A, D265A/N297Q, C220S/C226S/C229S/P238S, S267E/L328F, C226S/C229S/E233P/L234V/L235A, L234F/L235E/P331S, L234A/L235A, L234A/L235A/G237A, L234A/L235A/G237A/K322A, L234A/L235A/G237A/A330S/A331S, L234A/L235A/P329G, E233P/L234V/L235A/G236del/S239K, E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G, E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G и E233P/L234V/L235A/G236del, L234A/L235A/G237deleted; ii) IgG2: A330S/A331S, V234A/G237A, V234A/G237A/D265A, D265A/A330S/A331S, V234A/G237A/D265A/A330S/A331S и H268Q/V309L/A330S/A331S; iii) IgG4: L235A/G237A/E318A, D265A, L235A/G237A/D265A и L235A/G237A/D265A/E318A.

[74] Термин «эпитоп», в рамках изобретения, относится к детерминанте, способной к специфическому связыванию с вариабельной областью молекулы антитела, известной как паратоп. Эпитопы представляют собой группы молекул, таких как аминокислоты или боковые цепи сахаров, и обычно имеют специфические структурные характеристики, а

также специфические характеристики заряда. Один антиген может иметь более одного эпитопа. Эпитоп может содержать аминокислотные остатки, непосредственно участвующие в связывании, и другие аминокислотные остатки, которые не участвуют непосредственно в связывании, такие как аминокислотные остатки, которые эффективно блокируются антигенсвязывающим пептидом (другими словами, аминокислотный остаток находится в зоне действия антигенсвязывающего пептида). Эпитопы могут быть либо конформационными, либо линейными. Обычно эпитоп включает по меньшей мере 3, а более обычно - по меньшей мере 5 или 8-10 аминокислот. Антитела, которые распознают один и тот же эпитоп, можно подтвердить с помощью простого иммуоанализа, показывающего способность одного антитела блокировать связывание другого антитела с целевым антигеном, например, «биннинг».

[75] «Линкер», используемый в настоящем описании, относится к молекуле, которая соединяет две полипептидные цепи. Линкер может быть полипептидным линкером или синтетическим химическим линкером (например, см. описание в *Protein Engineering*, 9(3), 299-305, 1996). Длина и последовательность полипептидных линкеров конкретно не ограничены и могут быть выбраны специалистами в данной области в зависимости. Полипептидный линкер содержит одну или более аминокислот. В некоторых вариантах осуществления полипептидный линкер представляет собой пептид длиной не менее 5 аминокислот, предпочтительно длиной от 5 до 100, более предпочтительно от 10 до 50 аминокислот. В одном варианте осуществления указанный пептидный линкер представляет собой G, S, GS, SG, SGG, GGS и GSG (где G=глицин, а S=серин). В другом варианте осуществления указанный пептидный линкер представляет собой (GGGS) \times Gn (SEQ ID NO:74) или (GGGGS) \times Gn (SEQ ID NO:75) или (GGGGGS) \times Gn (SEQ ID NO:76) или S(GGGS) \times Gn (SEQ ID NO:386) или S(GGGGS) \times Gn (SEQ ID NO:387) или S(GGGGGS) \times Gn (SEQ ID NO:388), где $x=1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11$ или 12 и $n=0, 1, 2$ или 3 . Предпочтительно указанный линкер представляет собой (GGGGS) \times Gn где $x=2,3$ или 4 , и $n=0$ (SEQ ID NO:77); более предпочтительно указанный линкер представляет собой (GGGGS) \times Gn, где $x=3$ и $n=0$ (SEQ ID NO:78). В некоторых вариантах осуществления линкер содержит последовательность GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:79) или SGGGGS GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:389). Синтетические химические линкеры включают сшивающие агенты, которые обычно используются для сшивания пептидов, например, N-гидроксисукцинимид (NHS), дисукцинимидилсуберат (DSS), бис(сукцинимидил)суберат (BS3), дитиобис(сукцинимидилпропионат) (DSP), дитиобис(сукцинимидилпропионат) (DTSSP), этиленгликоль бис(сукцинимидилсукцинат) (EGS), этиленгликоль бис(сульфосукцинимидилсукцинат) (сульфо-EGS), дисукцинимидилартрат (DST), дисульфосукцинимидилартрат (сульфо-DST), бис[2-(сукцинимидоксикарбонилокси)этил]сульфон (BSOCOES) и бис[2-(сукцинимидоксикарбонилокси)этил]сульфон (сульфо-BSOCOES).

[76] Термин «полинуклеотид» относится к выделенной молекуле нуклеиновой кислоты или конструкции, например, информационная РНК (мРНК), РНК вирусного

происхождения или плазмидная ДНК (пДНК), кодирующая полипептиды по настоящему изобретению. Полинуклеотид может содержать обычную фосфодиэфирную связь или нетрадиционную связь (например, амидную связь, такую как обнаруженная в пептидных нуклеиновых кислотах (ПНК)). Термин «молекула нуклеиновой кислоты» относится к любому одному или более сегментам нуклеиновой кислоты, например, фрагменты ДНК или РНК, присутствующие в полинуклеотиде. В некоторых аспектах предусмотрены один или более векторов (в частности, векторов экспрессии), содержащих такие нуклеиновые кислоты. В одном аспекте предложен способ получения полипептида по настоящему изобретению, включающий культивирование клетки-хозяина, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую полипептид, в условиях, подходящих для экспрессии полипептида, и выделение полипептида из клетки-хозяина. «Рекомбинантный» означает, что белки созданы с использованием технологий рекомбинантных нуклеиновых кислот в экзогенных клетках-хозяевах. Рекомбинантно полученные белки, экспрессированные в клетках-хозяевах, считаются выделенными для целей настоящего изобретения, как и нативные или рекомбинантные белки, которые были выделены, фракционированы или частично или в значительной степени очищены любым подходящим способом.

[77] Термин «выделенный», используемый для описания различных полипептидов, описанных в настоящем описании, означает полипептид, который был идентифицирован и отделен и/или извлечен из клетки или клеточной культуры, из которой он был экспрессирован. Обычно, выделенный полипептид очищают с помощью по меньшей мере одного этапа очистки. Нет требуемого уровня чистоты; «очистка» или «очищенный» относится к увеличению концентрации целевого белка относительно концентрации загрязняющих веществ в композиции по сравнению с исходным материалом. Термин «выделенный белок», в рамках изобретения, относится к целевому белку, который по существу свободен от других белков, обладающих другой специфичностью связывания.

[78] Термин «онкологическое заболевание» относится к физиологическому состоянию у млекопитающих, которое обычно характеризуется нерегулируемым и аномальным ростом клеток с возможностью проникновения или распространения на другие части тела. Примеры рака включают, но не ограничиваются ими, карциному, лимфому, бластому, саркому и лейкемию. Более конкретные примеры таких видов рака включают онкологическое заболевание легкого, мелкоклеточное онкологическое заболевание легкого, немелкоклеточное онкологическое заболевание легкого (NSCL), бронхиолоальвиолярно-клеточное онкологическое заболевание легкого, плоскоклеточное онкологическое заболевание, аденокарциному легкого, плоскоклеточное онкологическое заболевание легкого, онкологическое заболевание брюшины, онкологическое заболевание головы и шеи, онкологическое заболевание кости, онкологическое заболевание поджелудочной железы, онкологическое заболевание кожи, онкологическое заболевание головы или шеи, кожная или внутриглазная меланома, онкологическое заболевание щитовидной железы, онкологическое заболевание матки, онкологическое заболевание желудочно-кишечного тракта, онкологическое заболевание яичников, онкологическое

заболевание прямой кишки, онкологическое заболевание анальной области, онкологическое заболевание желудка, онкологическое заболевание желудка, онкологическое заболевание толстой кишки, онкологическое заболевание молочной железы, онкологическое заболевание эндометрия, онкологическое заболевание матки, онкологическое заболевание фаллопиевых труб, онкологическое заболевание шейки матки, онкологическое заболевание влагалища, онкологическое заболевание вульвы, болезнь Ходжкина, онкологическое заболевание пищевода, онкологическое заболевание тонкой кишки, онкологическое заболевание эндокринной системы, онкологическое заболевание щитовидной железы, онкологическое заболевание паращитовидной железы, онкологическое заболевание надпочечников, саркома мягких тканей, онкологическое заболевание уретры, онкологическое заболевание полового члена, онкологическое заболевание предстательной железы, онкологическое заболевание мочевого пузыря, онкологическое заболевание почки или мочеточника, почечно-клеточное онкологическое заболевание, онкологическое заболевание почечной лоханки, мезотелиому, онкологическое заболевание мочевого пузыря, онкологическое заболевание печени, гепатому, гепатоцеллюлярное онкологическое заболевание, онкологическое заболевание шейки матки, онкологическое заболевание слюнных желез, билиарное онкологическое заболевание, новообразования центральной нервной системы (ЦНС), опухоли оси позвоночника, глиому ствола головного мозга, мультиформную глиобластому, астроцитомы, шваномы, эпендимомы, медуллобластомы, менингиомы, плоскоклеточное онкологическое заболевание, аденому гипофиза и саркому Юинга, включая рефрактерные варианты любого из вышеперечисленных видов рака или комбинацию одного, или более из указанных выше видов рака.

Антитела и антигенсвязывающие домены

[79] Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к антителам, фрагментам антител и антигенсвязывающим доменам, которые специфически связываются с CD8b человека и/или CD8ab человека. Любое из анти-CD8-антител по настоящему изобретению (*например*, которое специфически связывает CD8b человека и/или CD8ab человека) может найти применение в слитых белках, способах и применениях, раскрытых в настоящем описании.

[80] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению специфически связывается с CD8b человека и/или CD8ab человека с по меньшей мере в 10 раз, по меньшей мере в 20 раз, по меньшей мере в 30 раз, по меньшей мере в 40 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 или по меньшей мере в 200 раз более высокой аффинностью, чем его связывание с CD8a человека и/или CD8aa человека, *например*, при экспрессии на естественных клетках киллерах (НК) (*например*, НК-клетки человека). В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению специфически связывается с CD8b человека и/или CD8ab человека с по меньшей мере 10 раз более высокой аффинностью, чем его связывание с CD8a

человека и/или CD8 $\alpha\alpha$ человека, *например*, как экспрессируется на естественных клетках-киллерах (NK). В некоторых вариантах осуществления CD8 β человека и/или CD8 $\alpha\beta$ человека экспрессируются на поверхности клетки человека, *например*, Т-клетки человека.

[81] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению специфически связывается с клеткой, экспрессирующей на своей поверхности гетеродимер CD8 $\alpha\beta$ человека (*например*, Т-клеткой человека), с EC₅₀ менее 1000 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению специфически связывается с Т-клетками CD8⁺ человека.

[82] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению представляет собой антитело или фрагмент антитела человека. В некоторых вариантах осуществления антитело или фрагмент антитела человека содержит CDR и каркасные последовательности человеческого происхождения в вариабельном домене, *например*, выделенные из человека или созданные с использованием библиотеки последовательностей антител человека (*например*, последовательностей CDR). В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению представляет собой гуманизированное антитело или фрагмент антитела. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело или фрагмент антитела содержит CDR, полученные не от человека (*например*, от мыши, кролика, козы и т.д.), и каркасные последовательности человеческого происхождения в вариабельном домене. В некоторых вариантах осуществления антитело человека или гуманизированное антитело дополнительно содержит область Fc человека. В некоторых вариантах осуществления Fc-область человека дополнительно содержит одну или более мутаций Fc, *например*, как описано в настоящем описании. Существует пять основных классов интактных антител: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, и некоторые из указанных классов могут быть дополнительно разделены на подклассы (изоотипы), например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA и IgA2. Константные домены тяжелой цепи, которые соответствуют различным классам антител, называются α , δ , ϵ , γ и μ соответственно. Структуры субъединиц и трехмерные конфигурации различных классов иммуноглобулинов хорошо известны.

[83] В данной области техники известно множество определений последовательностей CDR вариабельных доменов антител. Если не указано иное, последовательности CDR описаны в настоящем описании в соответствии с определением Kabat (*см.*, *например*, Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3). Однако другие определения известны и предполагаются для применения. Например, в некоторых вариантах осуществления последовательности CDR могут быть описаны определением Chothia (*см.*, *например*, Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). В зависимости от конкретного используемого определения CDR точные каркасные последовательности также могут варьироваться, но, как известно в данной области техники, первая каркасная последовательность (FW-1) относится к последовательности от N-конца домена VH или VL до начала CDR-H1/-L1, вторая каркасная последовательность (FW-2) относится к

последовательности от конца CDR-H1/-L1 до начала CDR-H2/-L2, третья каркасная последовательность (FW- 3) относится к последовательности от конца CDR-H2/-L2 до начала CDR-H3/-L3, а четвертая каркасная последовательность (FW-4) относится к последовательности от конца CDR-H3/-L3 до С-концевой границы домена VH или VL.

[84] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:1, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:3 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:4, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:5, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:6. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит 1, 2 или 3 CDR тяжелой цепи антитела CDR хhCD8v1 (*например*, как показано в таблицах 1-3) и/или 1, 2 или 3 CDR легкой цепи антитела хhCD8v1 (*например*, как показано в таблицах 1-3). В некоторых вариантах осуществления антитело является гуманизированным. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 из последовательности SEQ ID NO:58, и домен VL, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 из последовательности SEQ ID NO:59.

[85] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:177, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:178, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:179 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:180, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:181, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:182. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит 1, 2 или 3 CDR тяжелой цепи антитела CDR хhCD8v8 (*например*, как показано в таблицах 1-3) и/или 1, 2 или 3 CDR легкой цепи антитела хhCD8v8 (*например*, как показано в таблицах 1-3). В некоторых вариантах осуществления антитело является гуманизированным. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 из последовательности SEQ ID NO:185, и домен VL, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 из последовательности SEQ ID NO:186.

[86] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:13, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:14, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:15 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:62 и/или домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:63. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит 1, 2 или 3 CDR тяжелой цепи антитела хhCD8v2 (*например* как показано в таблицах 1-3) и/или 1, 2 или 3 CDR легкой цепи антитела хhCD8v2 (*например*, как показано в таблицах 1-3). В некоторых вариантах осуществления антитело является гуманизированным. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 из последовательности SEQ ID NO:62 и домен VL, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 из последовательности SEQ ID NO:63.

[87] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:19, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:20, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:22, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:23, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:24. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:64 и/или домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:65. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит 1, 2 или 3 CDR тяжелой цепи антитела хhCD8v3 (*например*, как показано в таблицах 1-3) и/или 1, 2 или 3 CDR легкой цепи антитела хhCD8v3 (*например*, как показано в таблицах 1-3). В некоторых вариантах осуществления антитело является гуманизированным. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 из последовательности SEQ ID NO:64 и домен VL, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 из последовательности SEQ ID NO:65.

[88] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:25, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:26, и CDR-H3, содержащую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO:27 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:28, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:29, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:30. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:66 и/или домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:67. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит 1, 2 или 3 CDR тяжелой цепи антитела хhCD8v4 (*например*, как показано в таблицах 1-3) и/или 1, 2 или 3 CDR легкой цепи антитела хhCD8v4 (*например*, как показано в таблицах 1-3). В некоторых вариантах осуществления антитело является гуманизированным. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 из последовательности SEQ ID NO:66 и домен VL, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 из последовательности SEQ ID NO:67.

[89] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:31, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:32, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:33 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:34, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:35, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:36. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:68 и/или домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:69. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит 1, 2 или 3 CDR тяжелой цепи антитела хhCD8v5 (*например*, как показано в таблицах 1-3) и/или 1, 2 или 3 CDR легкой цепи антитела хhCD8v5 (*например*, как показано в таблицах 1-3). В некоторых вариантах осуществления антитело является гуманизированным. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 из последовательности SEQ ID NO:68 и домен VL, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 из последовательности SEQ ID NO:69.

[90] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO:37, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:38, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:39 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:70 и/или домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:71. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит 1, 2 или 3 CDR тяжелой цепи антитела хhCD8v6 (*например*, как показано в таблицах 1-3) и/или 1, 2 или 3 CDR легкой цепи антитела хhCD8v6 (*например*, как показано в таблицах 1-3). В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело человека. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 из последовательности SEQ ID NO:70 и домен VL, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 из последовательности SEQ ID NO:71.

[91] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:43, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:44, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:45 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:46, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:47, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:48. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:72 и/или домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:73. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит 1, 2 или 3 CDR тяжелой цепи антитела хhCD8v7 (*например*, как показано в таблицах 1-3) и/или 1, 2 или 3 CDR легкой цепи антитела хhCD8v7 (*например*, как показано в таблицах 1-3). В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело человека. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 из последовательности SEQ ID NO:72 и домен VL, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 из последовательности SEQ ID NO:73.

[92] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2AIS , причем X_1 представляет собой S, K, G, N, R, D, T или G, и причем X_2 представляет собой Y, L, H или F (SEQ ID NO:259), CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность $X_1X_2X_3PX_4X_5X_6X_7X_8X_9YX_{10}QKFX_{11}G$, причем X_1 представляет собой G или H, X_2 представляет собой I или F, X_3 представляет собой I, N или M, X_4 представляет собой G, N, H, S, R, I или A, X_5 представляет собой A, N, H, S, T, F или Y, X_6 представляет собой A, D или G, X_7 представляет собой T, E, K, V, Q или A, X_8 представляет собой A или T, X_9 представляет собой N или K, X_{10} представляет собой A или N, и X_{11} представляет собой Q или T (SEQ ID NO:260), и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность $X_1X_2X_3GX_4X_5LFX_6X_7$, причем X_1 представляет собой D или A, X_2 представляет собой A, G, E, R, Y, K, N, Q, L или F, X_3 представляет собой A, L, P или Y, X_4 представляет собой I или L, X_5 представляет собой R, A, Q или S, X_6 представляет собой A или D, и X_7 представляет собой D, E, A или S (SEQ ID NO:261) и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность $X_1X_2SX_3X_4IX_5GX_6LN$, причем X_1 представляет собой R или G, X_2 представляет собой A или T, X_3 представляет собой Q или E, X_4 представляет собой E, N, T, S, A, K, D, G, R или Q, X_5 представляет собой Y или S, и X_6 представляет собой A или V (SEQ ID NO:262), CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность $GX_1X_2X_3LX_4X_5$, причем X_1 представляет собой A или S, X_2 представляет собой T, S, E, Q или D, X_3 представляет собой N, R, A, E или H, X_4 представляет собой Q или A, и X_5 представляет собой S или D (SEQ ID NO:263), и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность $QX_1X_2X_3X_4X_5PWT$, причем X_1 представляет собой S, N, D, Q, A или E, X_2 представляет собой T, I или S, X_3 представляет собой Y, L или F, X_4 представляет собой D, G, T, E, Q, A или Y, и X_5 представляет собой A, T, R, S, K или Y (SEQ ID NO:264). В некоторых вариантах осуществления домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCSKASGGTFS (SEQ ID NO:274), FW-2, содержащий последовательность WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:275), FW-3, содержащий последовательность RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAR (SEQ ID NO:276), и/или FW-4, содержащий последовательность WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:277). В некоторых вариантах осуществления домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC (SEQ ID NO:289), FW-2, содержащий последовательность WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:290), FW-3, содержащий последовательность GVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:291), и/или FW-4, содержащий последовательность FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:292).

[93] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:225, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:226, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:227 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:228. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:245 и/или домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:246. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит 1, 2 или 3 CDR тяжелой цепи антитела хhCD8v9 (*например*, как показано в таблицах 1-3) и/или 1, 2 или 3 CDR легкой цепи антитела хhCD8v9 (*например*, как показано в таблицах 1-3). В некоторых вариантах осуществления антитело является гуманизированным. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 из последовательности SEQ ID NO:245 и домен VL, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 из последовательности SEQ ID NO:246. В некоторых вариантах осуществления домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFS (SEQ ID NO:274), FW-2, содержащий последовательность WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:275), FW-3, содержащий последовательность RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAR (SEQ ID NO:276), и/или FW-4, содержащий последовательность WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:277). В некоторых вариантах осуществления домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC (SEQ ID NO:289), FW-2, содержащий последовательность WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:290), FW-3, содержащий последовательность GVPSRFGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:291), и/или FW-4, содержащий последовательность FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:292).

[94] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:225, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:232, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:234, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:235, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:236. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:251 и/или домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:252. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную

последовательность SEQ ID NO:251; и домен VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:252. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит 1, 2 или 3 CDR тяжелой цепи антитела хhCD8v12 (*например*, как показано в таблицах 1-3) и/или 1, 2 или 3 CDR легкой цепи антитела хhCD8v12 (*например*, как показано в таблицах 1-3). В некоторых вариантах осуществления антитело является гуманизированным. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 из последовательности SEQ ID NO:251 и домен VL, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 из последовательности SEQ ID NO:252. В некоторых вариантах осуществления домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFS (SEQ ID NO:274), FW-2, содержащий последовательность WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:275), FW-3, содержащий последовательность RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:276), и/или FW-4, содержащий последовательность WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:277). В некоторых вариантах осуществления домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:289), FW-2, содержащий последовательность WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:290), FW-3, содержащий последовательность GVPSRFGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:291), и/или FW-4, содержащий последовательность FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:292).

[95] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:225, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:232, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:228. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:253 и/или домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:254. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит 1, 2 или 3 CDR тяжелой цепи антитела хhCD8v13 (*например*, как показано в таблицах 1-3) и/или 1, 2 или 3 CDR легкой цепи антитела хhCD8v13 (*например*, как показано в таблицах 1-3). В некоторых вариантах осуществления антитело является гуманизированным. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 из последовательности SEQ ID NO:253 и домен VL, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3

из последовательности SEQ ID NO:254. В некоторых вариантах осуществления домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFS (SEQ ID NO:274), FW-2, содержащий последовательность WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:275), FW-3, содержащий последовательность RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAR (SEQ ID NO:276), и/или FW-4, содержащий последовательность WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:277). В некоторых вариантах осуществления домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:289), FW-2, содержащий последовательность WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:290), FW-3, содержащий последовательность GVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:291), и/или FW-4, содержащий последовательность FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:292).

[96] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность X_1YX_2MS , причем X_1 представляет собой S, D, E, A или Q и X_2 представляет собой A, G или T (SEQ ID NO:268), CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность $DIX_1X_2X_3GX_4X_5TX_6YADSVKG$, причем X_1 представляет собой T, N, S, Q, E, H, R или A, X_2 представляет собой Y, W, F или H, X_3 представляет собой A, S, Q, E или T, X_4 представляет собой G или E, X_5 представляет собой S или I, и X_6 представляет собой A или G (SEQ ID NO:269), и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность $X_1X_2X_3YX_4WX_5X_6AX_7DX_8$, причем X_1 представляет собой S или A, X_2 представляет собой N, H, A, D, L, Q, Y или R, X_3 представляет собой A, N, S или G, X_4 представляет собой A, V, R, E или S, X_5 представляет собой D или S, X_6 представляет собой D, N, Q, E, S, T или L, X_7 представляет собой L, F или M, и X_8 представляет собой I, Y или V (SEQ ID NO:270) и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RASQSVSSNLA (SEQ ID NO:40), CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность GASSRAT (SEQ ID NO:41), и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQYGSSPPVT (SEQ ID NO:42). В некоторых вариантах осуществления домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (SEQ ID NO:281), FW-2, содержащий последовательность WVRQAPGKGLEWVS (SEQ ID NO:282), FW-3, содержащий последовательность RFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:283), и/или FW-4, содержащий последовательность WGQGMVTVSS (SEQ ID NO:284) или WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:285). В некоторых вариантах осуществления домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность EIVLTQSPGTLSPGERATLSC (SEQ ID NO:293), FW-2, содержащий последовательность WYQQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:294), FW-3, содержащий последовательность GIPDRFGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:295), и/или FW-4, содержащий последовательность FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:296).

[97] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO:229, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:230, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:231 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:247 и/или домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:248. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит 1, 2 или 3 CDR тяжелой цепи антитела хhCD8v10 (*например*, как показано в таблицах 1-3) и/или 1, 2 или 3 CDR легкой цепи антитела хhCD8v10 (*например*, как показано в таблицах 1-3). В некоторых вариантах осуществления антитело является гуманизированным. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 из последовательности SEQ ID NO:247 и домен VL, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 из последовательности SEQ ID NO:248. В некоторых вариантах осуществления домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (SEQ ID NO:281), FW-2, содержащий последовательность WVRQAPGKGLEWVS (SEQ ID NO:282), FW-3, содержащий последовательность RFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:283), и/или FW-4, содержащий последовательность WGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:284) или WGQGTMLTVTVSS (SEQ ID NO:285). В некоторых вариантах осуществления домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность EIVLTQSPGTLSPGERATLSC (SEQ ID NO:293), FW-2, содержащий последовательность WYQQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:294), FW-3, содержащий последовательность GIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:295), и/или FW-4, содержащий последовательность FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:296).

[98] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:229, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:230, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:231 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100%

идентична последовательности SEQ ID NO:249 и/или домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:250. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:249; и домен VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:250. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит 1, 2 или 3 CDR тяжелой цепи антитела хhCD8v11 (*например*, как показано в таблицах 1-3) и/или 1, 2 или 3 CDR легкой цепи антитела хhCD8v11 (*например*, как показано в таблицах 1-3). В некоторых вариантах осуществления антитело является гуманизированным. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 из последовательности SEQ ID NO:249 и домен VL, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 из последовательности SEQ ID NO:250. В некоторых вариантах осуществления домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (SEQ ID NO:281), FW-2, содержащий последовательность WVRQAPGKGLEWVS (SEQ ID NO:282), FW-3, содержащий последовательность RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:283), и/или FW-4, содержащий последовательность WGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:284) или WGQGTMLTVTVSS (SEQ ID NO:285). В некоторых вариантах осуществления домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность EIVLTQSPGTLSPGERATLSC (SEQ ID NO:293), FW-2, содержащий последовательность WYQQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:294), FW-3, содержащий последовательность GIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:295), и/или FW-4, содержащий последовательность FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:296).

[99] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:229, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:237, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:231 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:255 и/или домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:256. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит 1, 2 или 3 CDR тяжелой цепи антитела хhCD8v14 (*например*, как показано в таблицах 1-3) и/или 1, 2 или 3 CDR легкой цепи антитела хhCD8v14 (*например*, как показано

в таблицах 1-3). В некоторых вариантах осуществления антитело является гуманизированным. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 из последовательности SEQ ID NO:255 и домен VL, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 из последовательности SEQ ID NO:256. В некоторых вариантах осуществления домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (SEQ ID NO:281), FW-2, содержащий последовательность WVRQAPGKGLEWVS (SEQ ID NO:282), FW-3, содержащий последовательность RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:283), и/или FW-4, содержащий последовательность WGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:284) или WGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:285). В некоторых вариантах осуществления домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность EIVLTQSPGTLSPGERATLSC (SEQ ID NO:293), FW-2, содержащий последовательность WYQQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:294), FW-3, содержащий последовательность GIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:295), и/или FW-4, содержащий последовательность FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:296).

[100] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:229, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:237, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:231 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:257 и/или домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности SEQ ID NO:258. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит 1, 2 или 3 CDR тяжелой цепи антитела хhCD8v15 (*например*, как показано в таблицах 1-3) и/или 1, 2 или 3 CDR легкой цепи антитела хhCD8v15 (*например*, как показано в таблицах 1-3). В некоторых вариантах осуществления антитело является гуманизированным. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 из последовательности SEQ ID NO:257 и домен VL, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 из последовательности SEQ ID NO:258. В некоторых вариантах осуществления домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (SEQ ID NO:281), FW-2, содержащий последовательность WVRQAPGKGLEWVS (SEQ ID NO:282), FW-3, содержащий

последовательность RFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:283), и/или FW-4, содержащий последовательность WGQGTMTVSS (SEQ ID NO:284) или WGQGTMLTVSS (SEQ ID NO:285). В некоторых вариантах осуществления домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность EIVLTQSPGTLSPGERATLSC (SEQ ID NO:293), FW-2, содержащий последовательность WYQQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:294), FW-3, содержащий последовательность GIPDRFSGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:295), и/или FW-4, содержащий последовательность FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:296).

[101] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:49, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:50, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:3 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:4, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:5, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:6. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:51, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:52, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:15 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:53, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:52, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:22, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:23, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:24. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:49, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:52, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:27 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:28, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:29, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:30. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:54, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:52, и CDR-H3,

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:33 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:34, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:35, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:36. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:55, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:56, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:39 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:55, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:45 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:46, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:47, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:48. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:183, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:184, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:179 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:180, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:181, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:182.

[102] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 настоящего описания содержит VH домен, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность $GX_1X_2FX_3X_4X_5$, причем X_1 представляет собой G, Y, S или A, X_2 представляет собой T, S, G, R, N или H, X_3 представляет собой S, T, R, H, Y, G или P, X_4 представляет собой S, K, G, N, R, D, T или G, и X_5 представляет собой Y, L, H или F (SEQ ID NO:265), CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность $X_1PX_2X_3X_4X_5$, причем X_1 представляет собой I, N или M, X_2 представляет собой G, N, H, S, R, I или A, X_3 представляет собой A, N, H, S, T, F или Y, X_4 представляет собой A, D или G, и X_5 представляет собой T, E, K, V, Q или A (SEQ ID NO:266), и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность $X_1X_2X_3GX_4X_5LFX_6X_7$, причем X_1 представляет собой D или A, X_2 представляет собой A, G, E, R, Y, K, N, Q, L или F, X_3 представляет собой A, L, P или Y, X_4 представляет собой I или L, X_5 представляет собой R, A, Q или S, X_6 представляет собой A или D, и X_7 представляет собой D, E, A или S (SEQ ID NO:267); и VL домен содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность $X_1X_2SX_3X_4IX_5GX_6LN$, причем X_1 представляет собой R или G, X_2 представляет собой A или

T, X₃ представляет собой Q или E, X₄ представляет собой E, N, T, S, A, K, D, G, R или Q, X₅ представляет собой Y или S, и X₆ представляет собой A или V (SEQ ID NO:262), CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность GX₁X₂X₃LX₄X₅, причем X₁ представляет собой A или S, X₂ представляет собой T, S, E, Q или D, X₃ представляет собой N, R, A, E или H, X₄ представляет собой Q или A, и X₅ представляет собой S или D (SEQ ID NO:263), и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QX₁X₂X₃X₄X₅PWT, причем X₁ представляет собой S, N, D, Q, A или E, X₂ представляет собой T, I или S, X₃ представляет собой Y, L или F, X₄ представляет собой D, G, T, E, Q, A или Y, и X₅ представляет собой A, T, R, S, K или Y (SEQ ID NO:264). В некоторых вариантах осуществления домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCSKAS (SEQ ID NO:278), FW-2, содержащий последовательность AISWVRQAPGQGLEWMGGI (SEQ ID NO:279), FW-3, содержащий последовательность ANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:280), и/или FW-4, содержащий последовательность WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:277). В некоторых вариантах осуществления домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:289), FW-2, содержащий последовательность WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:290), FW-3, содержащий последовательность GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:291), и/или FW-4, содержащий последовательность FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:292).

[103] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:238, CDR-H2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:239, и CDR-H3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233, и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:228. В некоторых вариантах осуществления домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCSKAS (SEQ ID NO:278), FW-2, содержащий последовательность AISWVRQAPGQGLEWMGGI (SEQ ID NO:279), FW-3, содержащий последовательность ANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:280), и/или FW-4, содержащий последовательность WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:277). В некоторых вариантах осуществления домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:289), FW-2, содержащий последовательность WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:290), FW-3, содержащий последовательность GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:291), и/или FW-4, содержащий последовательность FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:292).

[104] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:238, CDR-H2, содержащую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO:243, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:234, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:235, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:236. В некоторых вариантах осуществления домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKAS (SEQ ID NO:278), FW-2, содержащий последовательность AISWVRQAPGQGLEWMGGI (SEQ ID NO:279), FW-3, содержащий последовательность ANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:280), и/или FW-4, содержащий последовательность WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:277). В некоторых вариантах осуществления домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:289), FW-2, содержащий последовательность WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:290), FW-3, содержащий последовательность GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:291), и/или FW-4, содержащий последовательность FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:292).

[105] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:238, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:243, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:228. В некоторых вариантах осуществления домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKAS (SEQ ID NO:278), FW-2, содержащий последовательность AISWVRQAPGQGLEWMGGI (SEQ ID NO:279), FW-3, содержащий последовательность ANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:280), и/или FW-4, содержащий последовательность WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:277). В некоторых вариантах осуществления домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:289), FW-2, содержащий последовательность WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:290), FW-3, содержащий последовательность GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:291), и/или FW-4, содержащий последовательность FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:292).

[106] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 настоящего описания содержит VH домен, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность GFTFX₁X₂Y, причем X₁ представляет собой S, D, E, Q, S или A и X₂ представляет собой S, D, E, A или Q (SEQ ID NO:271), CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность X₁X₂X₃GX₄X₅, причем X₁ представляет собой T, N, S, Q, E, H, R или A, X₂ представляет собой Y, W, F или H, X₃ представляет собой A, S, Q, E или T, X₄ представляет собой G или E, и X₅ представляет собой S или I (SEQ ID NO:272), и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность $X_1X_2X_3YX_4WX_5X_6AX_7DX_8$, причем X_1 представляет собой S или A, X_2 представляет собой N, H, A, D, L, Q, Y или R, X_3 представляет собой A, N, S или G, X_4 представляет собой A, V, R, E или S, X_5 представляет собой D или S, X_6 представляет собой D, N, Q, E, S, T или L, X_7 представляет собой L, F или M, и X_8 представляет собой I, Y или V (SEQ ID NO:273); и VL домен содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RASQSVSSNLA (SEQ ID NO:40), CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность GASSRAT (SEQ ID NO:41), и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQYGSSPPVT (SEQ ID NO:42). В некоторых вариантах осуществления домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:286), FW-2, содержащий последовательность AMSWVRQAPGKGLEWVSDI (SEQ ID NO:287), FW-3, содержащий последовательность TAYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:288), и/или FW-4, содержащий последовательность WGQGTMTVSS (SEQ ID NO:284) или WGQGTLTVSS (SEQ ID NO:285). В некоторых вариантах осуществления домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность EIVLTQSPGTLSPGERATLSC (SEQ ID NO:293), FW-2, содержащий последовательность WYQQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:294), FW-3, содержащий последовательность GIPDRFSGSGGTDFTLISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:295), и/или FW-4, содержащий последовательность FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:296).

[107] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:240, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:241, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:242 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:286), FW-2, содержащий последовательность AMSWVRQAPGKGLEWVSDI (SEQ ID NO:287), FW-3, содержащий последовательность TAYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:288), и/или FW-4, содержащий последовательность WGQGTMTVSS (SEQ ID NO:284) или WGQGTLTVSS (SEQ ID NO:285). В некоторых вариантах осуществления домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность EIVLTQSPGTLSPGERATLSC (SEQ ID NO:293), FW-2, содержащий последовательность WYQQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:294), FW-3, содержащий последовательность GIPDRFSGSGGTDFTLISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:295), и/или FW-4, содержащий последовательность FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:296).

[108] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему

изобретению содержит домен VH, содержащий CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:240, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:244, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:242 и домен VL, содержащий CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42. В некоторых вариантах осуществления домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:286), FW-2, содержащий последовательность AMSWVRQAPGKGLEWVSDI (SEQ ID NO:287), FW-3, содержащий последовательность TAYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:288), и/или FW-4, содержащий последовательность WGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:284) или WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:285). В некоторых вариантах осуществления домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащий последовательность EIVLTQSPGTLSPGERATLSC (SEQ ID NO:293), FW-2, содержащий последовательность WYQQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:294), FW-3, содержащий последовательность GIPDRFSGSGGTDFTLISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:295), и/или FW-4, содержащий последовательность FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:296). В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к антителу к CD8, содержащему домен VH, содержащий последовательности CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 одного антитела, перечисленные в Таблице 1, и домен VL, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 последовательности единичного антитела перечисленные в Таблице 1. Например, антитело к CD8 содержит шесть CDR антител xhCD8v1, xhCD8v1.1, xhCD8v2, xhCD8v3, xhCD8v4, xhCD8v5, xhCD8v6, xhCD8v7, xhCD8v8, xhCD8v9, xhCD8v10, xhCD8v11, xhCD8v12, xhCD8v13, xhCD8v14, xhCD8v15, семейства V9 или семейства V11, показанные в Таблице 1. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к антителу к CD8, содержащему домен VH, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 последовательности единичного, перечисленные в Таблице 2, и домен VL, содержащий последовательности CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 единичного антитела, перечисленные в Таблице 2. Например, антитело к CD8 содержит шесть CDR антител xhCD8v1, xhCD8v1.1, xhCD8v2, xhCD8v3, xhCD8v4, xhCD8v5, xhCD8v6, xhCD8v7, xhCD8v8, xhCD8v9, xhCD8v10, xhCD8v11, xhCD8v12, xhCD8v13, xhCD8v14, xhCD8v15, семейства V9 или семейства V11, показанные в Таблице 2. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к слитому белку, содержащему антитело к CD8, содержащему домен VH, содержащий последовательности CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 единичного антитела, перечисленные в Таблице 1, и домен VL, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 единичного антитела перечисленные в Таблице 1. Например, антитело к CD8 слитого белка содержит шесть CDR антител xhCD8v1, xhCD8v1.1, xhCD8v2, xhCD8v3, xhCD8v4, xhCD8v5, xhCD8v6, xhCD8v7, xhCD8v8, xhCD8v9, xhCD8v10, xhCD8v11, xhCD8v12, xhCD8v13, xhCD8v14, xhCD8v15, семейства V9 или семейства V11, показанные в Таблице

1. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к слитому белку, содержащему антитело к CD8, содержащее домен VH, содержащий последовательности CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 единичного антитела, перечисленные в Таблице 2, и домен VL, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 последовательности единичного антитела, перечисленные в Таблице 2. Например, антитело к CD8 слитого белка содержит шесть CDR антител хhCD8v1, хhCD8v1.1, хhCD8v2, хhCD8v3, хhCD8v4, хhCD8v5, хhCD8v6, хhCD8v7, хhCD8v8, хhCD8v9, хhCD8v10, хhCD8v11, хhCD8v12, хhCD8v13, хhCD8v14, хhCD8v15, семейства V9 или семейства V11, показанные в Таблице 2.

2. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к антителу к CD8, содержащему домен VH, содержащий последовательности CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 домена VH, перечисленные в Таблице 3, и домена VL, содержащий последовательности CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 домена VL, перечисленные в Таблице 3 (в некоторых вариантах осуществления, домены VH и VL происходят из одного и того же единственного антитела, указанного в Таблице 3). Например, антитело к CD8 содержит VH и VL антитела хhCD8v1, хhCD8v1.1, хhCD8v2, хhCD8v3, хhCD8v4, хhCD8v5, хhCD8v6, хhCD8v7, хhCD8v8, хhCD8v9, хhCD8v10, хhCD8v11, хhCD8v12, хhCD8v13, хhCD8v14, или хhCD8v15 показанные в Таблице 3. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к слитому белку, содержащему антитело к CD8, содержащее домен VH, содержащий последовательности CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 домена VH, перечисленные в Таблице 3, и домен VL, содержащий последовательности CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 домена VL, перечисленные в Таблице 3 (в некоторых вариантах осуществления домены VH и VL происходят из одного и того же единственного антитела, указанного в Таблице 3). В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к антителу к CD8, содержащему последовательность домена VH и последовательность домена VL для единичного антитела, как указано в Таблице 3. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к слитому белку, содержащему антитело к CD8, содержащее последовательность домена VH и последовательность домена VL для единичного антитела, как указано в Таблице 3. Например, антитело к CD8 слитого белка содержит VH и VL антитела хhCD8v1, хhCD8v1.1, хhCD8v2, хhCD8v3, хhCD8v4, хhCD8v5, хhCD8v6, хhCD8v7, хhCD8v8, хhCD8v9, хhCD8v10, хhCD8v11, хhCD8v12, хhCD8v13, хhCD8v14 или хhCD8v15, показанные в Таблице 3.

Таблица 1. CDR антитела к CD8 (Кабат)

Название	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3	CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3
хhCD8v1	KYTMH (SEQ ID NO:1)	HFNPNN DETKYN QKFTG (SEQ ID NO:2)	DGLGLRL FAD (SEQ ID NO:3)	GASENIY GALN (SEQ ID NO:4)	GATNLA D (SEQ ID NO:5)	QNILDTP WT (SEQ ID NO:6)
хhCD8v1.	KYAIS	HFNPNN	DGLGLRL	RASENIY	GATNLA	QNILDTP

1	(SEQ ID NO:7)	DETKYN QKFQG (SEQ ID NO:8)	FAD (SEQ ID NO:9)	GALN (SEQ ID NO:10)	D (SEQ ID NO:11)	WT (SEQ ID NO:12)
xhCD8v2	NFAIS (SEQ ID NO:13)	GIIPGHA KANYAQ KFQG (SEQ ID NO:14)	DGLGIRL FAD (SEQ ID NO:15)	RASQEIY GALN (SEQ ID NO:16)	GATNLQS (SEQ ID NO:17)	QDIYDAP WT (SEQ ID NO:18)
xhCD8v3	KFAIS (SEQ ID NO:19)	GIIPGHA KANYAQ KFQG (SEQ ID NO:20)	DGLGIRL FAD (SEQ ID NO:21)	RASQEIY GALN (SEQ ID NO:22)	GATNLQS (SEQ ID NO:23)	QDIYDAP WT (SEQ ID NO:24)
xhCD8v4	KY AIS (SEQ ID NO:25)	GIIPGHA KANYAQ KFQG (SEQ ID NO:26)	DGLGIRL FAD (SEQ ID NO:27)	RASQKIY GALN (SEQ ID NO:28)	GATNLQS (SEQ ID NO:29)	QNTYDTP WT (SEQ ID NO:30)
xhCD8v5	GHAIS (SEQ ID NO:31)	GIIPGHA KANYAQ KFQG (SEQ ID NO:32)	DGLGIRL FAD (SEQ ID NO:33)	RASQKIY GALN (SEQ ID NO:34)	GATNLQS (SEQ ID NO:35)	QNTYDTP WT (SEQ ID NO:36)
xhCD8v6	DYGMS (SEQ ID NO:37)	DINWSGE ITAYADS VKG (SEQ ID NO:38)	SNSYRW DDALDI (SEQ ID NO:39)	RASQSVS SNLA (SEQ ID NO:40)	GASSRAT (SEQ ID NO:41)	QQYGSSP PVT (SEQ ID NO:42)
xhCD8v7	DYAMH (SEQ ID NO:43)	VISYDGS NKYYAD SVKG (SEQ ID NO:44)	DRIGWY DYDAFDI (SEQ ID NO:45)	RASHSV GSNLA (SEQ ID NO:46)	DASNRA T (SEQ ID NO:47)	QQRSNW PPT (SEQ ID NO:48)

xhCD8v8	SYWMN (SEQ ID NO:177)	QIYPGDG DTNYNG KFKG (SEQ ID NO:178)	SGAAFSS YYAMDY (SEQ ID NO:179)	RASENIY SNLA (SEQ ID NO:180)	AATNLA D (SEQ ID NO:181)	QHFWGT PWT (SEQ ID NO:182)
xhCD8v9	SYAIS (SEQ ID NO:225)	GIIPGAA TANYAQ KFQG (SEQ ID NO:226)	DAAGIRL FAD (SEQ ID NO:227)	RASQEIY GALN (SEQ ID NO:16)	GATNLQS (SEQ ID NO:17)	QSTYDAP WT (SEQ ID NO:228)
xhCD8v10	SYAMS (SEQ ID NO:229)	DITYAGG STAYADS VKG (SEQ ID NO:230)	SNAYAW DDALDI (SEQ ID NO:231)	RASQSVS SNLA (SEQ ID NO:40)	GASSRAT (SEQ ID NO:41)	QQYGSSP PVT (SEQ ID NO:42)
xhCD8v11	SYAMS (SEQ ID NO:229)	DITYAGG STAYADS VKG (SEQ ID NO:230)	SNAYAW DDALDI (SEQ ID NO:231)	RASQSVS SNLA (SEQ ID NO:40)	GASSRAT (SEQ ID NO:41)	QQYGSSP PVT (SEQ ID NO:42)
xhCD8v12	SYAIS (SEQ ID NO:225)	GIIPGYA TANYAQ KFQG (SEQ ID NO:232)	DAAGIRL FAD (SEQ ID NO:233)	RASQSIY GALN (SEQ ID NO:234)	GASNLQS (SEQ ID NO:235)	QSTYTAP WT (SEQ ID NO:236)
xhCD8v13	SYAIS (SEQ ID NO:225)	GIIPGYA TANYAQ KFQG (SEQ ID NO:232)	DAAGIRL FAD (SEQ ID NO:233)	RASQEIY GALN (SEQ ID NO:16)	GATNLQS (SEQ ID NO:17)	QSTYDAP WT (SEQ ID NO:228)
xhCD8v14	SYAMS (SEQ ID NO:229)	DISYAGG STAYADS VKG (SEQ ID NO:237)	SNAYAW DDALDI (SEQ ID NO:231)	RASQSVS SNLA (SEQ ID NO:40)	GASSRAT (SEQ ID NO:41)	QQYGSSP PVT (SEQ ID NO:42)

xhCD8v15	SYAMS (SEQ ID NO:229)	DISYAGG STAYADS VKG (SEQ ID NO:237)	SNAYAW DDALDI (SEQ ID NO:231)	RASQSVS SNLA (SEQ ID NO:40)	GASSRAT (SEQ ID NO:41)	QQYGSSP PVT (SEQ ID NO:42)
V9 семейство	X ₁ X ₂ AIS X ₁ предста вляет собой S, K, G, N, R, D, T или G X ₂ предста вляет собой Y, L, H или F (SEQ ID NO:259)	X ₁ X ₂ X ₃ PX X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₈ X ₉ YX ₁₀ QK FX ₁₁ G X ₁ предста вляет собой G или H, X ₂ предста вляет собой I или F, X ₃ предста вляет собой I, N или M, X ₄ предста вляет собой G, N, H, S, R, I или A, X ₅ предста вляет собой A, N, H, S, T, F или Y, X ₆ предста вляет собой A, D или G,	X ₁ X ₂ X ₃ GX X ₄ X ₅ LFX ₆ X 7 X ₁ предста вляет собой D или A, X ₂ предста вляет собой A, G, E, R, Y, K, N, Q, L или F, X ₃ предста вляет собой A, L, P или Y, X ₄ предста вляет собой I или L, X ₅ предста вляет собой R, A, Q или S, X ₆ предста вляет собой A или D, X ₇ предста	X ₁ X ₂ SX ₃ X X ₄ IX ₅ GX ₆ L N X ₁ предста вляет собой R или G, X ₂ предста вляет собой A или T, X ₃ предста вляет собой Q или E, X ₄ предста вляет собой E, N, T, S, A, K, D, G, R или Q, X ₅ предста вляет собой Y или S, X ₆ предста вляет собой A или V (SEQ ID	GX ₁ X ₂ X ₃ L X ₄ X ₅ X ₁ предста вляет собой A или S, X ₂ предста вляет собой T, S, E, Q, или D, X ₃ предста вляет собой N, R, A, E или H, X ₄ предста вляет собой Q или A, X ₅ предста вляет собой S или D (SEQ ID NO:263)	QX ₁ X ₂ X ₃ X X ₄ X ₅ PWT X ₁ предста вляет собой S, N, D, Q, A или E, X ₂ предста вляет собой T, I или S, X ₃ предста вляет собой Y, L или F, X ₄ предста вляет собой D, G, T, E, Q, A или Y, X ₅ предста вляет собой A, T, R, S, K или Y (SEQ ID NO:264)

		<p>X₇предста вляет собой T, E, K, V, Q или A, X₈предста вляет собой A или T, X₉предста вляет собой N или K, X₁₀предст авляет собой A или N, X₁₁предст авляет собой Q или T (SEQ ID NO:260)</p>	<p>вляет собой D, E, A или S (SEQ ID NO:261)</p>	NO:262)		
V11 семейство	<p>X₁YX₂MS X₁предста вляет собой S, D, E, A или Q X₂предста вляет собой A, G или T (SEQ ID NO:268)</p>	<p>DIX₁X₂X₃ GX₄X₅TX₆ YADSVK G X₁предста вляет собой T, N, S, Q, E, H, R или A, X₂предста вляет</p>	<p>X₁X₂X₃YX 4WX₅X₆A X₇DX₈ X₁предста вляет собой S или A, X₂предста вляет собой N, H, A, D, L, Q, Y или</p>	<p>RASQSVS SNLA (SEQ ID NO:40)</p>	<p>GASSRAT (SEQ ID NO:41)</p>	<p>QQYGSSP PVT (SEQ ID NO:42)</p>

		собой Y, W, F или H, X ₃ предста вляет собой A, S, Q, E или T, X ₄ предста вляет собой G или E, X ₅ предста вляет собой S или I, X ₆ предста вляет собой A или G (SEQ ID NO:269)	R, X ₃ предста вляет собой A, N, S или G, X ₄ предста вляет собой A, V, R, E, или S, X ₅ предста вляет собой D или S, X ₆ предста вляет собой D, N, Q, E, S, T или L, X ₇ предста вляет собой L, F или M, X ₈ предста вляет собой I, Y или V (SEQ ID NO:270)			
--	--	--	--	--	--	--

Таблица 2. CDR антител к CD8 (Chothia)

Название	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3	CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3
xhCD8v1	GYTFTKY (SEQ ID NO:49)	NPNNDE (SEQ ID NO:50)	DGLGLRL FAD (SEQ ID NO:3)	GASENIY GALN (SEQ ID NO:4)	GATNLA D (SEQ ID NO:5)	QNILDTP WT (SEQ ID NO:6)

xhCD8v1.1	GYTFTKY (SEQ ID NO:49)	NPNNDE (SEQ ID NO:50)	DGLGLRL FAD (SEQ ID NO:9)	RASENIY GALN (SEQ ID NO:10)	GATNLA D (SEQ ID NO:11)	QNILDTP WT (SEQ ID NO:12)
xhCD8v2	GYRFHNF (SEQ ID NO:51)	IPGHAK (SEQ ID NO:52)	DGLGIRL FAD (SEQ ID NO:15)	RASQEIY GALN (SEQ ID NO:16)	GATNLQS (SEQ ID NO:17)	QDIYDAP WT (SEQ ID NO:18)
xhCD8v3	GSRFYKF (SEQ ID NO:53)	IPGHAK (SEQ ID NO:52)	DGLGIRL FAD (SEQ ID NO:21)	RASQEIY GALN (SEQ ID NO:22)	GATNLQS (SEQ ID NO:23)	QDIYDAP WT (SEQ ID NO:24)
xhCD8v4	GYTFTKY (SEQ ID NO:49)	IPGHAK (SEQ ID NO:52)	DGLGIRL FAD (SEQ ID NO:27)	RASQKIY GALN (SEQ ID NO:28)	GATNLQS (SEQ ID NO:29)	QNTYDTP WT (SEQ ID NO:30)
xhCD8v5	GSGFRGH (SEQ ID NO:54)	IPGHAK (SEQ ID NO:52)	DGLGIRL FAD (SEQ ID NO:33)	RASQKIY GALN (SEQ ID NO:34)	GATNLQS (SEQ ID NO:35)	QNTYDTP WT (SEQ ID NO:36)
xhCD8v6	GFTFDDY (SEQ ID NO:55)	NWSGEI (SEQ ID NO:56)	SNSYRW DDALDI (SEQ ID NO:39)	RASQSVS SNLA (SEQ ID NO:40)	GASSRAT (SEQ ID NO:41)	QQYGSSP PVT (SEQ ID NO:42)
xhCD8v7	GFTFDDY (SEQ ID NO:55)	SYDGSN (SEQ ID NO:57)	DRIGWY DYDAFDI (SEQ ID NO:45)	RASHSV GSNLA (SEQ ID NO:46)	DASNRA T (SEQ ID NO:47)	QQRSNW PPT (SEQ ID NO:48)
xhCD8v8	GYAFSSY (SEQ ID NO:183)	YPGDGD (SEQ ID NO:184)	SGAAFSS YYAMDY (SEQ ID NO:179)	RASENIY SNLA (SEQ ID NO:180)	AATNLA D (SEQ ID NO:181)	QHFWGT PWT (SEQ ID NO:182)
xhCD8v9	GGTFSSY (SEQ ID	IPGAAT (SEQ ID	DAAGIRL FAD (SEQ	RASQEIY GALN	GATNLQS (SEQ ID	QSTYDAP WT (SEQ

	NO:238)	NO:239)	ID NO:233)	(SEQ ID NO:16)	NO:17)	ID NO:228)
xhCD8v10	GFTFSSY (SEQ ID NO:240)	TYAGGS (SEQ ID NO:241)	SNAYAW DDALDI (SEQ ID NO:242)	RASQSVS SNLA (SEQ ID NO:40)	GASSRAT (SEQ ID NO:41)	QQYGSSP PVT (SEQ ID NO:42)
xhCD8v11	GFTFSSY (SEQ ID NO:240)	TYAGGS (SEQ ID NO:241)	SNAYAW DDALDI (SEQ ID NO:242)	RASQSVS SNLA (SEQ ID NO:40)	GASSRAT (SEQ ID NO:41)	QQYGSSP PVT (SEQ ID NO:42)
xhCD8v12	GGTFSSY (SEQ ID NO:238)	IPGYAT (SEQ ID NO:243)	DAAGIRL FAD (SEQ ID NO:233)	RASQSIY GALN (SEQ ID NO:234)	GASNLQS (SEQ ID NO:235)	QSTYTAP WT (SEQ ID NO:236)
xhCD8v13	GGTFSSY (SEQ ID NO:238)	IPGYAT (SEQ ID NO:243)	DAAGIRL FAD (SEQ ID NO:233)	RASQEIY GALN (SEQ ID NO:16)	GATNLQS (SEQ ID NO:17)	QSTYDAP WT (SEQ ID NO:228)
xhCD8v14	GFTFSSY (SEQ ID NO:240)	SYAGGS (SEQ ID NO:244)	SNAYAW DDALDI (SEQ ID NO:242)	RASQSVS SNLA (SEQ ID NO:40)	GASSRAT (SEQ ID NO:41)	QQYGSSP PVT (SEQ ID NO:42)
xhCD8v15	GFTFSSY (SEQ ID NO:240)	SYAGGS (SEQ ID NO:244)	SNAYAW DDALDI (SEQ ID NO:242)	RASQSVS SNLA (SEQ ID NO:40)	GASSRAT (SEQ ID NO:41)	QQYGSSP PVT (SEQ ID NO:42)
V9 семейство	$GX_1X_2FX_3$ X_4X_5 X_1 представл яет собой G, Y, S или A, X_2	$X_1PX_2X_3X_4X_5$ X_1 представл яет собой I, N или M, X_2 представл	$X_1X_2X_3GX_4X_5LFX_6X_7$ X_1 предста вляет собой D или A, X_2 предста	$X_1X_2SX_3X_4IX_5GX_6L$ N X_1 предста вляет собой R или G, X_2 предста	$GX_1X_2X_3L$ X_4X_5 X_1 предста вляет собой A или S, X_2 предста вляет	$QX_1X_2X_3X_4X_5PWT$ X_1 предста вляет собой S, N, D, Q, A или E, X_2 предста

	представл яет собой Т, S, G, R, N или H, X ₃ представл яет собой S, T, R, H, Y, G или P, X ₄ представл яет собой S, K, G, N, R, D, T или G, X ₅ представл яет собой Y, L, H или F (SEQ ID NO:265)	яет собой G, N, H, S, R, I или A, X ₃ представл яет собой A, N, H, S, T, F или Y, X ₄ представл яет собой A, D или G, X ₅ представл яет собой T, E, K, V, Q или A (SEQ ID NO:266)	вляет собой A, G, E, R, Y, K, N, Q, L или F, X ₃ предста вляет собой A, L, P или Y, X ₄ предста вляет собой I или L, X ₅ предста вляет собой R, A, Q или S, X ₆ предста вляет собой A или D, X ₇ предста вляет собой D, E, A или S (SEQ ID NO:267)	вляет собой A или T, X ₃ предста вляет собой Q или E, X ₄ предста вляет собой E, N, T, S, A, K, D, G, R или Q, X ₅ предста вляет собой Y или S, X ₆ предста вляет собой A или V (SEQ ID NO:262)	собой T, S, E, Q, или D, X ₃ предста вляет собой N, R, A, E или H, X ₄ предста вляет собой Q или A, X ₅ предста вляет собой S или D (SEQ ID NO:263)	вляет собой T, I или S, X ₃ предста вляет собой Y, L или F, X ₄ предста вляет собой D, G, T, E, Q, A или Y, X ₅ предста вляет собой A, T, R, S, K или Y (SEQ ID NO:264)
V11 семейство	GFTFX ₁ X ₂ Y X ₁ предста вляет собой S, D, E, Q, S или A X ₂ предста	X ₁ X ₂ X ₃ GX X ₄ X ₅ X ₁ предста вляет собой T, N, S, Q, E, H, R или A,	X ₁ X ₂ X ₃ YX X ₄ WX ₅ X ₆ A X ₇ DX ₈ X ₁ предста вляет собой S или A, X ₂ предста	RASQSVS SNLA (SEQ ID NO:40)	GASSRAT (SEQ ID NO:41)	QQYGSSP PVT (SEQ ID NO:42)

	<p>вляет собой S, D, E, A или Q (SEQ ID NO:271)</p>	<p>X₂предста вляет собой Y, W, F или H, X₃ представл яет собой A, S, Q, E или T, X₄ представл яет собой G или E, X₅ представл яет собой S или I (SEQ ID NO:272)</p>	<p>вляет собой N, H, A, D, L, Q, Y или R, X₃предста вляет собой A, N, S или G, X₄предста вляет собой A, V, R, E, или S, X₅предста вляет собой D или S, X₆предста вляет собой D, N, Q, E, S, T или L, X₇предста вляет собой L, F или M, X₈предста вляет собой I, Y или V (SEQ ID NO:273)</p>			
--	---	---	---	--	--	--

Таблица 3. Последовательности переменного домена антитела к CD8

Название	VH	VL
xhCD8v1	QVHLQQSGPELVKPGASVKMSCK TSGYTFTKYTMHWVKQGHEESL EWIGHFNPNNDETKYNQKFTGKA TLTVDKSSTAYMELRSLTSDDS ALYYCARDGLGLRLFADWGQGT LITVSA (SEQ ID NO:58)	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCG ASENIYGALNWFYQRKQKSPQLL IFGATNLADGVSSRFSGSGSDRQY SLKISSLHPDDVATYYCQNILDTP WTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:59)
xhCD8v1.1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSK ASGYTFTKYAISWVRQAPGQGLE WMGHFNPNNDETKYNQKFQGRV TITADESTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARDGLGLRLFADWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO:60)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASENIYGALNWFYQQKPGKAPKLL IYGATNLADGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQNILDTP WTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:61)
xhCD8v2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSK ASGYRFHNF AISWVRQAPGQGLE WMGGIIPGHAKANYA QKFQGRV TITADESTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARDGLGIRLFADWGQGT VTVSS (SEQ ID NO:62)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQEIYGALNWFYQQKPGKAPKLL IYGATNLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQDIYDAP WTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:63)
xhCD8v3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSK ASGSRFYKFAISWVRQAPGQGLE WMGGIIPGHAKANYA QKFQGRV TITADESTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARDGLGIRLFADWGQGT VTVSS (SEQ ID NO:64)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQEIYGALNWFYQQKPGKAPKLL IYGATNLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQDIYDAP WTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:65)
xhCD8v4	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSK ASGYTFTKYAISWVRQAPGQGLE WMGGIIPGHAKANYA QKFQGRV TITADESTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARDGLGIRLFADWGQGT VTVSS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQKIYGALNWFYQQKPGKAPKL LIYGATNLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQNTYDT PWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:67)

	(SEQ ID NO:66)	
xhCD8v5	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCK ASGSGFRGH AISWVRQAPGQGLE WMGGIIPGHAKANYAQKFQGRV TITADESTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARDGLGIRLFADWGQGTL VTVSS (SEQ ID NO:68)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQKIYGALN WYQQKPGKAPKL LIYGATNLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQNTYDT PWTFGGG TKVEIK (SEQ ID NO:69)
xhCD8v6	EVQLVESGGGAVRPGGSLRLS CA ASGFTFDDY GMSWVRQAPGKGL EWVSDINW SGEITAYADSVKGRF TISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDT AVYYCAR S NSYRWDDALDIWGQ GTMVTVSS (SEQ ID NO:70)	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCR ASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRL IYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPP VTFGQGT KVEIK (SEQ ID NO:71)
xhCD8v7	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLS CA ASGFTFDDY AMHWVRQAPGKGL EWVAVISYDGSNKYYADSVKGR FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAK DRIGWYDYDAFDIWG QGTMVTVSS (SEQ ID NO:72)	EIVLTQSPATLSVTPGEGATLSCR ASHSVGSNLAWYQQKPGQAPRL LIYDASN RATGIPARFSGSGSGTD FTLTISSLEPEDLAVYYCQQRSNW PPTFGQG TRLEIK (SEQ ID NO:73)
xhCD8v8	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCK ASGYAFSSY WMNWVKQRPGQGL EWIGQIYPGDGDTNYNGKFKGKA TLTADKSS STAYMQLSSLTSEDSA VYFCARSGA AFSSYAMDYWGQ GTSVTVSS (SEQ ID NO:185)	DIQMTQSPASLSVSVGETVTITCR ASENIYSNLAWYQQKQGKSPQLL VYAATNLADGVPSRFSGSGSGTQ YSLKINSLQSEDFGSYYCQHF WG TPWTFGGG TKLEIK (SEQ ID NO:186)
xhCD8v9	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCK ASGGTFSSY AISWVRQAPGQGLE WMGGIIPGA ATANYAQKFQGRV TITADESTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARDA AGIRLFADWGQGTL VTVSS (SEQ ID NO:245)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQEIYGALN WYQQKPGKAPKLL IYGATNLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQSTYDAP WTFGGG TKVEIK (SEQ ID NO:246)
xhCD8v10	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CA	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCRA

	ASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLE WVSDITYAGGSTAYADSVKGRFT ISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARSNAYAWDDALDIWGQG TMVTVSS (SEQ ID NO:247)	SQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLI YGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPP VTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:248)
xhCD8v11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLE WVSDITYAGGSTAYADSVKGRFT ISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARSNAYAWDDALDIWGQG TLVTVSS (SEQ ID NO:249)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRA SQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLI YGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPP VTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:250)
xhCD8v12	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSK ASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLE WMGGIIPGYATANYAQKFQGRV TITADESTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARDAAGIRLFADWGQGT LTVSS (SEQ ID NO:251)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSIYGALNHWYQQKPGKAPKLL IYGASNLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQSTYTAP WTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:252)
xhCD8v13	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSK ASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLE WMGGIIPGYATANYAQKFQGRV TITADESTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARDAAGIRLFADWGQGT LTVSS (SEQ ID NO:253)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQEIYGALNHWYQQKPGKAPKLL IYGATNLQSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQSTYDAP WTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:254)
xhCD8v14	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLE WVSDISYAGGSTAYADSVKGRFT ISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARSNAYAWDDALDIWGQG TMVTVSS (SEQ ID NO:255)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRA SQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLI YGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPP VTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:256)
xhCD8v15	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLE WVSDISYAGGSTAYADSVKGRFT ISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARSNAYAWDDALDIWGQG TLVTVSS (SEQ ID NO:257)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRA SQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLI YGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPP VTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:258)

Слитые белки

[109] Кроме того, изобретение относится к слитым белкам, содержащим любое из анти-CD8-антител, или антигенсвязывающие домены, или фрагменты антител, раскрытые в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит первый фрагмент, содержащий Антитело человека или гуманизированное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывает CD8b и/или CD8ab (*например*, любое из анти-CD8-антител, описанных *выше*) и второй фрагмент, содержащий цитокин, хемокин или фактор роста. В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент непосредственно слит со вторым фрагментом. В некоторых вариантах осуществления первая часть слита со второй частью через линкер. Типичные и не ограничивающие иллюстрации слитых белков по настоящему изобретению представлены на **Фиг. 7**.

Форматы слитых белков

[110] В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент содержит антитело (*например*, антитело к CD8 по настоящему изобретению). В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент содержит фрагмент антитела (*например*, фрагмент антитела к CD8 по настоящему изобретению). В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент содержит одноцепочечное антитело или одноцепочечный варибельный фрагмент (scFv). В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент содержит антитело V_HH. В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент содержит один или два полипептида тяжелой цепи антитела и один или два полипептида легкой цепи антитела (*например*, антитела к CD8 по настоящему изобретению). В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент содержит 3 CDR тяжелой цепи и/или 3 CDR легкой цепи одного антитела к CD8 по настоящему изобретению, *например*, как показано в Таблицах 1-3. В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент содержит домен(ы) V_H и/или V_L одного антитела к CD8 по настоящему изобретению, *например*, как показано в Таблице 3. В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент дополнительно содержит один или два домена Fc IgG человека. В некоторых вариантах осуществления один или два домена Fc IgG человека представляют собой домены Fc IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления один или два домена Fc IgG человека не имеют С-концевого остатка лизина. В некоторых вариантах осуществления один или два домена Fc IgG человека содержат аминокислотные модификации (такие как замены, делеции, добавления и т.д.). В некоторых вариантах осуществления модификации домена Fc способствуют образованию гетеродимеров (*например*, как показано в Таблице 4). В некоторых вариантах осуществления один или два домена Fc содержат гамма-нулевые мутации Fc.

[111] В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент содержит два полипептида тяжелой цепи антитела, имеющие структуру согласно формуле [I], от N-конца до С-конца:



и два полипептида легкой цепи антитела, имеющие структуру согласно формуле [II], от N-конца к C-концу:

VL-CL [II]

причем VH представляет собой домен VH, причем CH1 представляет собой домен CH1 антитела, причем шарнир представляет собой шарнирный домен антитела, причем CH2-CH3 представляет собой домен Fc антитела, причем VL представляет собой домен VL, и причем CL представляет собой константный домен легкой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления N-конец второго фрагмента слит с C-концом одного из двух доменов CH3 (см., например, формат A на **Фиг. 7**).

[112] В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент содержит полипептид тяжелой цепи первого антитела, имеющий структуру согласно формуле [I], от N-конца до C-конца:

VH-CH1-шарнир-CH2-CH3 [I],

полипептид легкой цепи антитела, содержащий структуру согласно формуле [II], от N-конца к C-концу:

VL-CL [II],

и второй полипептид тяжелой цепи антитела, имеющий структуру согласно формуле [III], от N-конца к C-концу:

шарнир-CH2-CH3 [III],

причем VH представляет собой домен VH, причем CH1 представляет собой домен CH1 антитела, причем шарнир представляет собой шарнирный домен антитела, причем CH2-CH3 представляет собой домен Fc антитела, причем VL представляет собой домен VL, и причем CL представляет собой константный домен легкой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления N-конец второго фрагмента слит с C-концом домена CH3 полипептида тяжелой цепи второго антитела (см., например, формат B на **Фиг. 7**). В некоторых вариантах осуществления N-конец второго фрагмента слит с C-концом домена CH3 полипептида тяжелой цепи первого антитела (см., например, формат D на **Фиг. 7**).

[113] В некоторых вариантах осуществления первый фрагмент содержит полипептид тяжелой цепи первого антитела, имеющий структуру согласно формуле [I], от N-конца до C-конца:

VH-CH1-шарнир-CH2-CH3 [I],

полипептид легкой цепи антитела, содержащий структуру согласно формуле [II], от N-конца к C-концу:

VL-CL [II],

и второй полипептид тяжелой цепи антитела, имеющий структуру согласно формуле [III], от N-конца к C-концу:

шарнир-CH2-CH3 [III],

причем VH представляет собой домен VH, причем CH1 представляет собой домен CH1 антитела, причем шарнир представляет собой шарнирный домен антитела, причем CH2-CH3 представляет собой домен Fc антитела, причем VL представляет собой домен VL,

и причем CL представляет собой константный домен легкой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления С-конец второго фрагмента слит с N-концом шарнирного домена полипептида тяжелой цепи второго антитела (см., например, формат С на **Фиг. 7**).

[114] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD8 по настоящему изобретению представляет собой мультиспецифическое (например, биспецифическое) антитело или фрагмент антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления мультиспецифическое антитело (например, биспецифическое антитело) содержит первый антигенсвязывающий домен, который связывается с CD8 (например, как описано выше), и второй антигенсвязывающий домен, который связывает представляющую интерес мишень. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело может быть получено путем слияния дополнительного сайта связывания либо с тяжелой, либо с легкой цепью иммуноглобулина. Примеры дополнительного сайта связывания включают, но не ограничиваются ими, переменные области, scFv, Fab, VHH и пептид.

[115] В некоторых вариантах осуществления, в некоторых вариантах осуществления рекомбинантные биспецифические антитела, раскрытые в настоящем описании, можно очень приблизительно разделить на две категории, а именно: i) форматы, полученные в результате комбинации только переменных областей, и ii) форматы, сочетающие переменные области с доменами Fc. Представителями первой категории являются тандемные scFv (taFv), диатела (Db), DART, одноцепочечные диатела (scDbs), Fab-Fc, тандемные Fab, Fab с двойной переменной областью и тандемные dAb/VHH. Две переменные области могут быть связаны друг с другом ковалентными связями или нековалентным взаимодействием.

[116] Нековалентное взаимодействие может включать использование модулей гетеродимеризации, таких как лейциновая застежка-молния, методы стыковки и блокировки с использованием регуляторной субъединицы цАМФ-зависимой протеинкиназы (РКА) и якорных доменов якорных белков А-киназы (АКАР) или «выступ-во-впадину» домена СНЗ (патент США № 5731168; патент США № 7695936; Ridgway et al., Prot Eng 9, 617-621 (1996) и Carter, J Immunol Meth 248, 7-15 (2001)) для сопряжения вверх по переменным областям.

[117] В некоторых вариантах осуществления биспецифические антитела генерируются на природной архитектуре иммуноглобулина, содержащей две пары комбинаций тяжелых цепей и легких цепей, причем каждая пара имеет различную специфичность связывания. Гомодимеризация двух тяжелых цепей в IgG опосредована взаимодействием СНЗ. Чтобы способствовать образованию гетеродимеров, в две соответствующие области СНЗ вводят генетические модификации. Такие мутации гетеродимеризации часто включают стерическое отталкивание, взаимодействие управления зарядом или образование межцепочечной дисульфидной связи. Примеры и неограничивающие модификации Fc для стимуляции гетеродимеризации включают следующее:

Таблица 4. Примеры модификаций Fc для стимуляции гетеродимеризации.

Стратегия	CH3 домен 1	CH3 домен 2	Ссылки
выступ-во-впадину 1	T366Y	Y407T	Brinkmann & Kontermann, MAbs. 2017 Feb-Mar; 9(2): 182-212; Atwell et al, J Mol Biol 1997; 270:26-35; Merchant et al, Nat Biotechnol 1998; 16:677-681
выступ-во-впадину 2	T366W	T366S-L368A-Y407V	
выступ-во-впадину 3	S354C, T366W	Y349C, T366S, L368A, Y407V	
выступ-во-впадину 4	Y349C, T366W	S354C, T366S, L368A, Y407V	
HA-TF	S364H, F405A	Y349T, T394F	Moore et al, MAbs 2011; 3:546-557
ZW1	T350V, L351Y, F405A, Y407V	T350V, T366L, K392L, T394W	Von Kreudenstein et al, MAbs 2013; 5:646-54
зарядовые пары CH3 (DD-KK)	K392D, K409D	E356K, D399K	Gunasekaran et al, J Biol Chem 2010; 285:19637-46
шарнир IgG1/зарядовые пары CH3 (EEE-RRR)	IgG1: D221E, P228E, L368E	IgG1: D221R, P228R, K409R	Strop P et al, J Mol Biol 2012; 420:204-19
шарнир IgG2/зарядовые пары CH3 (EEE-RRRR)	IgG2: C223E, P228E, L368E	IgG2: C223R, E225R, P228R, K409R	
EW-RVT	K360E, K409W,	Q347R, D399V, F405T	Choi et al, Mol Cancer Ther 2013; 12:2748-59
EW-RVT _{S-S}	K360E, K409W, Y349C	Q347R, D399V, F405T, S354C	Choi et al, Mol Immunol 2015; 65:377-83
Biclonic	366K (+351K)	351D или E или D 349, 368, 349 или 349+355	Geuijen et al, Journal of Clinical Oncology 2014; 32:suppl:560
DuoBody (L-R) 1	F405L	K409R	Labrijn et al, Nat Protoc 2014; 9:2450-63; Labrijn et al, PNAS
DuoBody (L-R) 2	F405L-R409K	WT (R409)	

			2013; 110(13):5145-50
SEEDbody	Химера IgG/A	Химера IgG/A	Davis et al, Protein Eng Des Sel 2010; 23:195-202
BEAT	остаток из поверхности TCR α	остаток из поверхности TCR β	Moretti et al, BMC Proceedings 2013; 7(Suppl 6):O9
Гетеродимеры со смешанным интерфейсом (MI)	Варианты IgG-CH3	варианты igA/D/M CH3 или варианты IgM CH4	Skegro et al, J Biol Chem. 2017 292(23): 9745-9759.
XmAb	E357Q-S364K	L368D-K370S	Moore et al, Methods. 2019 154:38-50
DEKK Fc	L351D-L368E	L351K-T366K	De Nardis et al., J Biol Chem. 2017; 292(35): 14706-14717.
зарядовая пара	E356K или E357K или D399K	K370E, K409D, K439E	Igawa T, Tsunoda H. WO2006106905. 2006.
ККА-DDW	D356K-D399K-Y407A	K392D-K409D-T366W	Zhou et al, WO2014079000A1
зарядовая пара	L368E-Y407E	E357K-D399K	Labrijn et al, Nat Review Drug Discovery 2019; 18, 585-608
электростатические выступы-во-впадины	S354C-T366W-K409A	Y349C-T366S-L368A-Y407-F405K	Wei et al., Oncotarget. 2017; 8(31): 51037-51049
КА	F405K	K409A	Wei et al., Oncotarget. 2017; 8(31): 51037-51049
PPV-TRP	P395K-P396K-V397K, P395K-P396K-V397C или	T394D-P395D-P396D, T394C-P395D-P396D	Wenjun Zhang US10538595B2

	P395R-P396R- V397R	или T394E- P395E-P396E	
--	-----------------------	---------------------------	--

[118] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело может быть получено путем постпроизводственной сборки из половинных антител, тем самым решая проблемы неправильного спаривания тяжелых и легких цепей. Эти антитела часто содержат модификации, способствующие гетеродимеризации полуантител. Примеры систем включают, но не ограничиваются ими, «выступ-во-впадину», IgG1 (EEE-RRR), IgG2 (EEE-RRRR) (Strop et al. J Mol Biol (2012)) и DuoBody (F405L-K409R), перечисленные в Таблице. 5. В таком случае полуантитела получают индивидуально в отдельной клеточной линии и очищают. Очищенные антитела затем подвергали мягкому восстановлению для получения полуантител, которые затем собирали в биспецифические антитела. Затем гетеродимерные биспецифические антитела очищали из смеси с использованием обычных способов очистки.

[119] В некоторых вариантах осуществления также могут быть использованы стратегии получения биспецифических антител, не основанные на предпочтительном спаривании цепей. Эти стратегии обычно включают в себя введение генетической модификации антитела таким образом, что гетеродимер будет иметь отличные от гомодимеров биохимические или биофизические свойства; таким образом, гетеродимер после сборки или экспрессии может быть селективно очищен от гомодимеров. Одним из примеров было введение H435R/Y436F в домен CH3 IgG1 для устранения связывания Fc со смолой белка A, а затем коэкспрессия варианта H435R/Y436F с Fc дикого типа. Полученные гомодимерные антитела, содержащие две копии H435R/Y436F, не могут связываться с колонкой с белком A, в то время как гетеродимерные антитела, содержащие одну копию мутации H435R/Y436F, будут иметь пониженную аффинность к белку A по сравнению с сильным взаимодействием гомодимерных антител дикого типа (Tustian et al Mabs 2016). Другие примеры включают каппа/лямбда-антитела (Fischer et al., Nature Communication 2015) и введение дифференциальных зарядов (E357Q, S267K или N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D) в соответствующие цепи (US 2018/0142040 A1; (Strop и др. J Mol Biol (2012)).

[120] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело может быть получено путем слияния дополнительного сайта связывания либо с тяжелой, либо с легкой цепью иммуноглобулина. Примеры дополнительного сайта связывания включают, но не ограничиваются ими, вариабельные области, scFv, Fab, VHH и пептид.

Fc-области слитого белка

[121] В некоторых вариантах осуществления антитело или слитый белок по настоящему изобретению содержит Fc-участок. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит одну или более мутаций, которые снижают или устраняют связывание FcγR и/или эффекторную функцию. В некоторых вариантах осуществления Fc-область (например, Fc-область IgG1) содержит замену в одном или более из следующих положений: C220, C226, C229, E233, L234, L235, G237, P238, S239, D265, S267, N297, L328, P331, K322,

A327 и P329. В некоторых вариантах осуществления Fc-область (*например*, Fc-область IgG2) содержит замену в одном или более из следующих положений: V234, G237, D265, H268, N297, V309, A330, A331, K322. В некоторых вариантах осуществления Fc-область (*например*, Fc-область IgG4) содержит замену в одном или более из следующих положений: L235, G237, D265 и E318. В некоторых вариантах осуществления Fc-область (*например*, Fc-область IgG1) содержит одну или более из следующих мутаций или групп мутаций: N297A, N297Q, N297G, D265A/N297A, D265A/N297Q, C220S/C226S/C229S/P238S, S267E/L328F, C226S/C229S/E233P/L234V/L235A, L234F/L235E/P331S, L234A/L235A, L234A/L235A/G237A, L234A/L235A/G237A/K322A, L234A/L235A/G237A/A330S/A331S, L234A/L235A/P329G, E233P/L234V/L235A/G236del/S239K, E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G, E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G и E233P/L234V/L235A/G236del, L234A/L235A/G237A удалены. В некоторых вариантах осуществления Fc-область (*например*, Fc-область IgG2) содержит одну или более из следующих мутаций или групп мутаций: A330S/A331S, V234A/G237A, V234A/G237A/D265A, D265A/A330S/A331S, V234A/G237A/D265A/A330S/A331S и H268Q/V309L/A330S/A331S. В некоторых вариантах осуществления Fc-область (*например*, Fc-область IgG4) содержит одну или более из следующих мутаций или групп мутаций: L235A/G237A/E318A, D265A, L235A/G237A/D265A и L235A/G237A/D265A/E318A. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит одну, две, три или все следующие мутации: L234A, L235A, G237A и K322A, нумерованные согласно EU-индексу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит одну, две или все следующие мутации: L234A, L235A и G237A, нумерация в соответствии с индексом EU.

[122] В некоторых вариантах осуществления указанные первый и второй домены Fc слитого белка содержат одну или более из следующих мутаций Fc для снижения эффекторной функции в соответствии с нумерацией ЕС: L234A, L235A, G237A и K322A. В некоторых вариантах осуществления указанные первый и второй домены Fc слитого белка содержат следующие мутации Fc для снижения эффекторной функции в соответствии с нумерацией ЕС: L234A, L235A и G237A. В некоторых вариантах осуществления указанные первый и второй домены Fc слитого белка содержат следующие мутации Fc для снижения эффекторной функции в соответствии с нумерацией ЕС: L234A, L235A, G237A и K322A. В некоторых вариантах осуществления указанные первый и второй домены Fc слитого белка содержат следующие аминокислотные замены для облегчения образования гетеродимера: Y349C/T366W (выступ) и S354C, T366S, L368A и Y407V (впадина).

[123] В некоторых вариантах осуществления гетеродимерные мутации и/или мутации для модификации связывания гамма-рецептора Fc приводили к снижению стабильности Fc. Поэтому в область Fc были добавлены дополнительные мутации для повышения ее стабильности. Например, в область Fc вводят одну или более пар дисульфидных связей, таких как A287C и L306C, V259C и L306C, R292C и V302C и V323C и I332C. Другим примером является введение S228P в биспецифические антитела на основе

IgG4 для стабилизации дисульфида шарнира. Дополнительный пример включает введение мутаций K338I, A339K и K340S для повышения стабильности Fc и устойчивости к агрегации (Gao et al., 2019, Mol Pharm. 2019; 16:3647).

Слитые белковые цитокины

[124] В некоторых вариантах осуществления второй фрагмент индуцирует активацию CD8⁺ Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления второй фрагмент содержит полипептид, который индуцирует передачу сигнала через IL2R $\beta\gamma$. Например, в некоторых вариантах осуществления второй фрагмент содержит полипептид IL-15 (*например*, полипептид IL-15 человека или его производное) или неолейкин. В некоторых вариантах осуществления второй фрагмент содержит полипептид IL-21 (*например*, полипептид IL-21 человека или его производное).

[125] В некоторых вариантах осуществления второй фрагмент содержит полипептид IL-2 (*например*, полипептид IL-2 человека или его производное).

[126] В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 имеет аффинность связывания с IL-2R α , которая снижена на 50% или более по сравнению с аффинностью связывания полипептида IL-2 дикого типа, содержащего последовательность SEQ ID: 81 для IL-2R α . В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 имеет аффинность связывания с IL-2R β , которая снижена на 50% или более по сравнению с аффинностью связывания полипептида IL-2 дикого типа, содержащего последовательность SEQ ID: 81 для IL-2R β . В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 имеет аффинность связывания с IL-2R γ , которая снижена на 50% или более по сравнению с аффинностью связывания полипептида IL-2 дикого типа, содержащего последовательность SEQ ID: 81 для IL-2R γ . Различия в аффинности связывания полипептида дикого типа и описанного мутантного полипептида с IL-2R α и IL-2R β можно измерить, *например*, с помощью стандартных анализов поверхностного плазмонного резонанса (SPR), которые измеряют аффинность белок-белковых взаимодействий, известных специалистам в данной области техники. Различия в аффинности связывания полипептида дикого типа и описанного мутантного полипептида с IL-2R γ не могут быть надежно измерены с помощью анализов SPR, поскольку аффинность полипептида IL-2 дикого типа к IL-2R γ очень низкая. Вместо этого их сниженную аффинность к IL-2R γ можно найти путем проведения анализа *in vitro*, который измеряет pSTAT5 и сравнивает активность полипептидов IL-2 с заменой IL-2R γ и без нее на клетках, экспрессирующих IL-2R. Типовые последовательности для IL-2R α , IL-2R β и IL-2R γ представлены ниже.

IL-2R α :

MDSYLLMWGLLTFIMVPGCQAELCDDDPPEIPHATFKAMAYKEGTMLNCECKR
 GFRRIKSGSLYMLCTGNSSHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPPEEQKERKTTEMQSP
 MQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFVVGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCK
 MTHGKTRWTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSCLVTTTDFQIQTEMAAT
 METSIFTTEYQVAVAGCVLLISVLLLSGLTWQRRQRKSRRTI (SEQ ID NO:82)

IL-2R β :

MAAPALSWRLPLLILLPLATSWASAAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQDGAL
QDTSCQVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVTLRVLCRE
GVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVVHVETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEART
LSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLPDQTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPPWSQPLAFR
TKPAALGKDTIPWLGHLLVGLSGAFGFILVYLLINCRNTGPWLKKVLKCNTPDPSKFFS
QLSSEHGGDVQKWLSSPFPSSSFSPGGLAPEISPLEVLERDKVTQLLQQDKVPEPASLSS
NHSLTSCFTNQGYFFFHLPDALEIEACQVYFTYDPYSEEDPDEGVAGAPTGSSPQPLQPL
SGEDDAYCTFSPRDDLFLFSPSLLGGPSPSTAPGGSGAGEERMPPSLQERVPRDWDPPQ
LGPPTPGVPDLVDFQPPPELVREAGEEVPDAGPREGVSFPWSRPPGQGEFRALNARLPL
NTDAYLSLQELQGQDPHTLV (SEQ ID NO:83)

IL-2R γ :

MLKPSLPFTSLLFLQLPLLGVGLNTTILTPNGNEDTTADFFLTTMPTDSLVSSTLPL
PEVQCFVFNVEYMNCTWNSSSEPQPTNLTLHYWYKNSDNDKVQKCSHYLFSEEITSGC
QLQKKEIHL YQTFVVQLQDPREPRRQATQMLKLQNLVIPWAPENLTLHKLSQSLELN
WNNRFLNHCLEHLVQYRTDWDHSWTEQSVDYRHKFSLPSVDGQKRYTFRVRSRFNPL
CGSAQHWSEWSPIHWGSNTSKENPFLFALEAVVISVGSMLIISLLCVYFWLERTMPRI
PTLKNLEDLVTEYHGNFSAWSGVSKGLAESLQPDYSERLCLVSEIPPKGGALGEGPGASP
CNQHSPYWAPPCYTLKPET (SEQ ID NO:84)

[127] В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 представляет собой мутантный полипептид IL-2, содержащий одну или более мутаций по сравнению с полипептидом IL-2 человека, содержащим последовательность APTSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:81). В некоторых вариантах осуществления мутантные полипептиды IL-2 по настоящему изобретению имеют одну или более, две или более или три или более аминокислотных замен, снижающих аффинность, по сравнению со зрелым полипептидом IL-2 дикого типа, *например*, имеющие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:81. В некоторых вариантах осуществления один или более, два или более или три или более замещенных остатка выбраны из следующей группы: Q11, H16, L18, L19, D20, D84, S87, Q22, R38, F42, K43, Y45, E62, P65, E68, V69, L72, D84, S87, N88, V91, I92, T123, Q126, S127, I129 и S130. Пониженную аффинность к IL-2R α можно получить путем замены одного или более из следующих остатков в последовательности зрелого полипептида IL-2 дикого типа: R38, F42, K43, Y45, E62, P65, E68, V69 и L72. Пониженную аффинность к IL-2R β можно получить путем замены одного или более из следующих остатков: E15, H16, L19, D20, D84, S87, N88, V91 и I92. Пониженную аффинность к IL-2R γ можно получить путем замены одного или более из следующих остатков в последовательности зрелого полипептида IL-2 дикого типа: Q11, L18, Q22, T123, Q126, S127, I129 и S130.

[128] В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит

аминокислотную замену F42A или F42K относительно аминокислотной последовательности зрелого IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотную замену F42A или F42K и аминокислотную замену R38A, R38D, R38E, E62Q, E68A, E68Q, E68K или E68R относительно аминокислотной последовательности зрелого IL-2 дикого типа. Например, в некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит F42A; R38A и F42A; R38D и F42A; R38E и F42A; F42A и E62Q; F42A и E68A; F42A и E68Q; F42A и E68K; F42A и E68R; или R38A и F42K аминокислотных замен относительно аминокислотной последовательности зрелого IL-2 дикого типа, *например*, как показано в SEQ ID NO:81. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотные замены R38E и F42A по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотные замены R38D и F42A по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотные замены F42A и E62Q по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотные замены R38A и F42K по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотные замены R38D и F42A по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотные замены R38A и F42K по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотные замены F42A и E62Q по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотные замены H16E, H16D, D20N, M23A, M23R, M23K, D84L, D84N, D84V, D84H, D84Y, D84R, D84K, S87K, S87A, N88A, N88D, N88G, N88S, N88T, N88R, N88I, V91A, V91T, V91E, I92A, E95S, E95A, E95R, T123A, T123E, T123K, T123Q, Q126A, Q126S, Q126T, Q126E, S127A, S127E, S127K, или S127Q аминокислотные замены относительно аминокислотной последовательности IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит F42A; R38A и F42A; R38D и F42A; R38E и F42A; F42A и E62Q; F42A и E68A; F42A и E68Q; F42A и E68K; F42A и E68R; или R38A и F42K аминокислотные замены относительно аминокислотной последовательности зрелого IL-2 дикого типа и H16E, H16D, D20N, M23A, M23R, M23K, D84L, D84N, D84V, D84H, D84Y, D84R, D84K, S87K, S87A, N88A, N88D, N88G, N88S, N88T, N88R, N88I, V91A, V91T, V91E, I92A, E95S, E95A, E95R, T123A, T123E, T123K, T123Q, Q126A, Q126S, Q126T, Q126E, S127A, S127E, S127K, или S127Q аминокислотные замены относительно аминокислотной последовательности зрелого IL-2 дикого типа, *например*, как показано в SEQ ID NO:81. Например, в некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотные замены R38E, F42A

и H16E относительно аминокислотной последовательности IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотные замены R38E, F42A и H16D относительно аминокислотной последовательности IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотные замены R38E, F42A и D84K относительно аминокислотной последовательности IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотные замены R38E, F42A и D84R по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотные замены R38E, F42A и N88S по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотные замены R38E, F42A и N88A по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотные замены R38E, F42A и N88G по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотные замены R38E, F42A и N88R по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотные замены R38E, F42A и N88T по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотные замены R38E, F42A и N88D по сравнению с аминокислотной последовательностью IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотные замены R38E, F42A и V91E относительно аминокислотной последовательности IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотные замены R38E, F42A и Q126S относительно аминокислотной последовательности IL-2 дикого типа. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:81 с одним из следующих наборов аминокислотных замен (относительно последовательности SEQ ID NO:81): R38E и F42A; R38D и F42A; F42A и E62Q; R38A и F42K; R38E, F42A и N88S; R38E, F42A и N88A; R38E, F42A и N88G; R38E, F42A и N88R; R38E, F42A и N88T; R38E, F42A и N88D; R38E, F42A и V91E; R38E, F42A и D84H; R38E, F42A и D84K; R38E, F42A и D84R; H16D, R38E и F42A; H16E, R38E и F42A; R38E, F42A и Q126S; R38D, F42A и N88S; R38D, F42A и N88A; R38D, F42A и N88G; R38D, F42A и N88R; R38D, F42A и N88T; R38D, F42A и N88D; R38D, F42A и V91E; R38D, F42A и D84H; R38D, F42A и D84K; R38D, F42A и D84R; H16D, R38D и F42A; H16E, R38D и F42A; R38D, F42A и Q126S; R38A, F42K и N88S; R38A, F42K и N88A; R38A, F42K и N88G; R38A, F42K и N88R; R38A, F42K и N88T; R38A, F42K и N88D; R38A, F42K и V91E; R38A, F42K и D84H; R38A, F42K и D84K; R38A, F42K и D84R; H16D, R38A и F42K; H16E, R38A и F42K; R38A, F42K и Q126S; F42A, E62Q и N88S; F42A, E62Q и N88A; F42A, E62Q и N88G; F42A, E62Q и N88R; F42A, E62Q и N88T; F42A, E62Q и N88D; F42A,

E62Q и V91E; F42A, E62Q и D84H; F42A, E62Q и D84K; F42A, E62Q и D84R; H16D, F42A и E62Q; H16E, F42A и E62Q; F42A, E62Q и Q126S; R38E, F42A и C125A; R38D, F42A и C125A; F42A, E62Q и C125A; R38A, F42K и C125A; R38E, F42A, N88S и C125A; R38E, F42A, N88A и C125A; R38E, F42A, N88G и C125A; R38E, F42A, N88R и C125A; R38E, F42A, N88T и C125A; R38E, F42A, N88D и C125A; R38E, F42A, V91E и C125A; R38E, F42A, D84H и C125A; R38E, F42A, D84K и C125A; R38E, F42A, D84R и C125A; H16D, R38E, F42A и C125A; H16E, R38E, F42A и C125A; R38E, F42A, C125A и Q126S; R38D, F42A, N88S и C125A; R38D, F42A, N88A и C125A; R38D, F42A, N88G и C125A; R38D, F42A, N88R и C125A; R38D, F42A, N88T и C125A; R38D, F42A, N88D и C125A; R38D, F42A, V91E и C125A; R38D, F42A, D84H и C125A; R38D, F42A, D84K и C125A; R38D, F42A, D84R и C125A; H16D, R38D, F42A и C125A; H16E, R38D, F42A и C125A; R38D, F42A, C125A и Q126S; R38A, F42K, N88S и C125A; R38A, F42K, N88A и C125A; R38A, F42K, N88G и C125A; R38A, F42K, N88R и C125A; R38A, F42K, N88T и C125A; R38A, F42K, N88D и C125A; R38A, F42K, V91E и C125A; R38A, F42K, D84H и C125A; R38A, F42K, D84K и C125A; R38A, F42K, D84R и C125A; H16D, R38A, F42K и C125A; H16E, R38A, F42K и C125A; R38A, F42K, C125A и Q126S; F42A, E62Q, N88S и C125A; F42A, E62Q, N88A и C125A; F42A, E62Q, N88G и C125A; F42A, E62Q, N88R и C125A; F42A, E62Q, N88T и C125A; F42A, E62Q, N88D и C125A; F42A, E62Q, V91E и C125A; F42A, E62Q и D84H, и C125A; F42A, E62Q и D84K, и C125A; F42A, E62Q, и D84R, и C125A; H16D, F42A, и E62Q, и C125A; H16E, F42A, E62Q и C125A; F42A, E62Q, C125A и Q126S; F42A, N88S и C125A; F42A, N88A и C125A; F42A, N88G и C125A; F42A, N88R и C125A; F42A, N88T и C125A; F42A, N88D и C125A; F42A, V91E и C125A; F42A, D84H и C125A; F42A, D84K и C125A; F42A, D84R и C125A; H16D, F42A и C125A; H16E, F42A и C125A; и F42A, C125A и Q126S.

В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 содержит последовательность SEQ ID NO:81 с одной, двумя, тремя, четырьмя или пятью аминокислотными заменами относительно SEQ ID NO:81, и причем одна, две, три, четыре или пять замен включают замену(ы) в положениях SEQ ID NO:81, выбранных из группы, состоящей из: Q11, H16, L18, L19, D20, Q22, R38, F42, K43, Y45, E62, P65, E68, V69, L72, D84, S87, N88, V91, I92, T123, Q126, S127, I129 и S130. В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 содержит последовательность SEQ ID NO:81 с одним из следующих наборов аминокислотных замен (относительно последовательности SEQ ID NO:81): R38E и F42A; R38D и F42A; F42A и E62Q; R38A и F42K; R38E, F42A, и N88S; R38E, F42A, и N88A; R38E, F42A, и N88G; R38E, F42A, и N88R; R38E, F42A, и N88T; R38E, F42A, и N88D; R38E, F42A, и V91E; R38E, F42A, и D84H; R38E, F42A, и D84K; R38E, F42A, и D84R; H16D, R38E и F42A; H16E, R38E и F42A; R38E, F42A и Q126S; R38D, F42A и N88S; R38D, F42A и N88A; R38D, F42A и N88G; R38D, F42A и N88R; R38D, F42A и N88T; R38D, F42A и N88D; R38D, F42A и V91E; R38D, F42A, и D84H; R38D, F42A, и D84K; R38D, F42A, и D84R; H16D, R38D и F42A; H16E, R38D и F42A; R38D, F42A и Q126S; R38A, F42K, и N88S; R38A, F42K, и N88A; R38A, F42K, и N88G; R38A, F42K, и N88R; R38A, F42K, и N88T; R38A, F42K, и N88D; R38A, F42K, и V91E; R38A, F42K, и D84H; R38A, F42K, и D84K; R38A, F42K, и

D84R; H16D, R38A, и F42K; H16E, R38A, и F42K; R38A, F42K, и Q126S; F42A, E62Q, и N88S; F42A, E62Q, и N88A; F42A, E62Q, и N88G; F42A, E62Q, и N88R; F42A, E62Q, и N88T; F42A, E62Q, и N88D; F42A, E62Q, и V91E; F42A, E62Q, и D84H; F42A, E62Q, и D84K; и F42A, E62Q, и D84R.

[129] В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 содержит последовательность SEQ ID NO:81 с дополнительной аминокислотной заменой относительно SEQ ID NO:81 в положении C125. В некоторых вариантах осуществления полипептид IL-2 содержит последовательность SEQ ID NO:81 с одним из следующих наборов аминокислотных замен (относительно последовательности SEQ ID NO:81): R38E, F42A, и C125A; R38D, F42A, и C125A; F42A, E62Q, и C125A; R38A, F42K, и C125A; R38E, F42A, N88S, и C125A; R38E, F42A, N88A, и C125A; R38E, F42A, N88G, и C125A; R38E, F42A, N88R, и C125A; R38E, F42A, N88D, и C125A; R38E, F42A, N88T, и C125A; R38E, F42A, V91E, и C125A; R38E, F42A, D84H, и C125A; R38E, F42A, D84K, и C125A; R38E, F42A, D84R, и C125A; H16D, R38E, F42A, и C125A; H16E, R38E, F42A, и C125A; R38E, F42A, C125A и Q126S; R38D, F42A, N88S, и C125A; R38D, F42A, N88A, и C125A; R38D, F42A, N88G, и C125A; R38D, F42A, N88R, и C125A; R38D, F42A, N88T, и C125A; R38D, F42A, N88D, и C125A; R38D, F42A, V91E, и C125A; R38D, F42A, D84H, и C125A; R38D, F42A, D84K, и C125A; R38D, F42A, D84R, и C125A; H16D, R38D, F42A, и C125A; H16E, R38D, F42A, и C125A; R38D, F42A, C125A, и Q126S; R38A, F42K, N88S, и C125A; R38A, F42K, N88G, и C125A; R38A, F42K, N88R, и C125A; R38A, F42K, N88T, и C125A; R38A, F42K, N88D, и C125A; R38A, F42K, N88A, и C125A; R38A, F42K, V91E, и C125A; R38A, F42K, D84H, и C125A; R38A, F42K, D84K, и C125A; R38A, F42K, D84R, и C125A; H16D, R38A, F42K, и C125A; H16E, R38A, F42K, и C125A; R38A, F42K, C125A и Q126S; F42A, E62Q, N88S, и C125A; F42A, E62Q, N88A, и C125A; F42A, E62Q, N88G, и C125A; F42A, E62Q, N88R, и C125A; F42A, E62Q, N88T, и C125A; F42A, E62Q, N88D, и C125A; F42A, E62Q, V91E, и C125A; F42A, E62Q, и D84H, и C125A; F42A, E62Q, и D84K, и C125A; F42A, E62Q, и D84R, и C125A; H16D, F42A, и E62Q, и C125A; H16E, F42A, E62Q, и C125A; F42A, E62Q, C125A и Q126S; F42A, N88S, и C125A; F42A, N88A, и C125A; F42A, N88G, и C125A; F42A, N88R, и C125A; F42A, N88T, и C125A; F42A, N88D, и C125A; F42A, V91E, и C125A; F42A, D84H, и C125A; F42A, D84K, и C125A; F42A, D84R, и C125A; H16D, F42A, и C125A; H16E, F42A, и C125A; и F42A, C125A и Q126S.

[130] В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEM LTAKFYMPKKATELKHLQCL EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISAINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:80). В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEM LTAKFYMPKKATELKHLQCL EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:85). В некоторых вариантах осуществления мутантный

полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:86). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:87). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:88). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISSINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:89). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISAINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:90). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINEIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:91). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRHLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:92). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEDLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:93). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEELLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:94). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCSSIISTLT (SEQ ID NO:95). В некоторых вариантах осуществления мутантный

полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISSINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:96). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISAINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:97). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINEIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:98). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRHLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:99). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEDLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:100). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEELLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:101). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCSSIIISTLT (SEQ ID NO:102). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISSINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:103). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISAINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:104). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINEIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:105). В некоторых вариантах осуществления мутантный

полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRHLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:106). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEDLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:107). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEELLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:108). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCSSIIISTLT (SEQ ID NO:109). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISSINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:110). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISAINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:111). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINEIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:112). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRHLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:113). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEDLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:114). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEELLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:115). В некоторых вариантах осуществления мутантный

полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCSSIISTLT (SEQ ID NO:116). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:117). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:118). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:119). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:120). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISSINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:121). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISAINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:122). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISININEIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:123). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRHLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:124). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEDLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:125). В некоторых вариантах осуществления мутантный

полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEELLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMMLAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:126). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMMLAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFASSIISTLT (SEQ ID NO:127). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISSINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:128). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISAINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:129). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINEIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:130). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRHLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:131). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEDLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:132). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEELLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:133). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFASSIISTLT (SEQ ID NO:134). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISSINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:135). В некоторых вариантах осуществления мутантный

полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISAINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:136). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINEIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:137). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRHLISNINIVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:138). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEDLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINIVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:139). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEELLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINIVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:140). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINIVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFASSIISTLT (SEQ ID NO:141). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISAINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:142). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINEIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:143). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRHLISNINIVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:144). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRHLISNINIVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:145). В некоторых вариантах осуществления мутантный

полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEDLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:146). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEELLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:147). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFASSIISTLT (SEQ ID NO:148). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISSINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:149). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISAINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:150). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINEIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:151). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRHLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:152). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEDLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:153). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEELLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:154). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFASSIISTLT (SEQ ID NO:155). В некоторых вариантах осуществления мутантный

полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMMLAKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISGINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:190). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMMLAKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRKLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:191). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMMLAKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRRLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:192). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLAKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISGINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:193). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLAKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRKLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:194). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLAKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRRLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:195). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISGINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:196). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRKLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:197). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRRLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:198). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLAKFYMPKKATELKHLQCL
EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISGINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:199). В некоторых вариантах осуществления мутантный

полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRKLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:200). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRRLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:201). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISGINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:202). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRKLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:203). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRRLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:204). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISGINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:205). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRKLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:206). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRRLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:207). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISGINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:208). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRKLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:209). В некоторых вариантах осуществления мутантный

полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRRLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:210). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISGINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:211). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRKLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:212). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRRLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:213). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISGINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:214). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRKLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:215). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRRLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:216). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEELLDLQMILNGINNYKNPKLTEMPTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:297). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMPTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISDINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:354). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMPTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISTINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:355). В некоторых вариантах осуществления мутантный

полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISRINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:356). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISRINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:357). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISTINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:358). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISRINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:360). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISRINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:361). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISDINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:362). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISRINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:363). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISDINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:364). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISDINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:365). В некоторых вариантах осуществления мутантный

полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISRINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:366). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISTINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:367). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISDINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:368). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISRINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:369). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISTINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:370). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISDINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:371). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISRINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:372). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISTINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:373). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTDMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISDINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:374). В некоторых вариантах осуществления мутантный
полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISRINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:375). В некоторых вариантах осуществления мутантный

полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISTINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:376). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTAMLTKKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISDINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:377). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISRINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:378). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISDINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:379). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEQLKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISDINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:380). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISRINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:381). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISTINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR
 WITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:382). В некоторых вариантах осуществления мутантный
 полипептид IL-2 содержит аминокислотную последовательность полипептида IL-2,
 указанную в Таблице 7.

Таблица 7. Примеры полипептидных последовательностей IL-2

IL-2 И/Н	Последовательность	SEQ ID NO
m1	APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMILTAKFY MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISAINV	80

	IVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT	
m2	APTSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFY MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISSINV IVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT	121
m3	APTSSTKKTQLQLEDLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFY MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINV IVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT	125
m4	APTSSTKKTQLQLEELLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFY MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINV IVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT	297
m5	APTSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFY MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISGINV IVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT	202
m6	APTSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFY MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINV IVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT	117
m7	APTSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFY MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINE IVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT	123
m8	APTSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFY MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRHLISNINV IVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT	124
m9	APTSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFY MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRKLISNINV IVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT	203
m10	APTSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFY MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRRLISNINV IVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT	204
m11	APTSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFY MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISDINV IVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT	354
m12	APTSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMLTAKFY MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISTINV IVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT	355

m13	APTSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTEMILTAKFY MPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISRINV IVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT	356
-----	--	-----

[131] В некоторых вариантах осуществления мутантные полипептиды IL-2 по настоящему изобретению также содержат другие модификации, включая, но не ограничиваясь ими, мутации и делеции, которые обеспечивают дополнительные преимущества, такие как улучшенные биофизические свойства. Улучшенные биофизические свойства включают, но не ограничиваются ими, улучшенную термостабильность, склонность к агрегации, кислотную обратимость, вязкость и продукцию в клетках млекопитающих, бактерий или дрожжей. Например, остаток C125 может быть заменен нейтральной аминокислотой, такой как серин, аланин, треонин или валин; и N-концевой остаток A1 может быть делетирован, оба из которых описаны в патенте США № 4518584. Мутантные полипептиды IL-2 могут также включать мутацию остатка M104, такую как M104A, как описано в патенте США № 5206344. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид IL-2 по настоящему изобретению содержит аминокислотную замену C125A. В других вариантах осуществления удалены один, два или три N-концевых остатка.

Линкеры слитых белков

[132] В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит линкер. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой химический линкер (например, см. раскрытие в Protein Engineering, 9(3), 299-305, 1996). Синтетические химические линкеры включают сшивающие агенты, которые обычно используются для сшивания пептидов, например, N-гидроксисукцинимид (NHS), дисукцинимидилсуберат (DSS), бис(сукцинимидил)суберат (BS3), дитиобис(сукцинимидилпропионат) (DSP), дитиобис(сукцинимидилпропионат) (DTSSP), этиленгликоль бис(сукцинимидилсукцинат) (EGS), этиленгликоль бис(сульфосукцинимидилсукцинат) (сульфо-EGS), дисукцинимидилтарtrat (DST), дисульфосукцинимидилтарtrat (сульфо-DST), бис[2-(сукцинимидоксикарбонилокси)этил]сульфон (BSOCOES) и бис[2-(сукцинимидоксикарбонилокси)этил]сульфон (сульфо-BSOCOES).

[133] В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой линкер на основе аминокислот или пептидов. В некоторых вариантах осуществления полипептидный линкер представляет собой пептид длиной не менее 5 аминокислот, предпочтительно длиной от 5 до 100, более предпочтительно от 10 до 50 аминокислот. В одном варианте осуществления указанный пептидный линкер представляет собой G, S, GS, SG, SGG, GGS и GSG (где G=глицин, а S=серин). В некоторых вариантах осуществления линкер содержит последовательность (GGGS) \times G $_n$ (SEQ ID NO:74), (GGGS) \times G $_n$ (SEQ ID NO:75), (GGGGGS) \times G $_n$ (SEQ ID NO:76), S(GGGS) \times G $_n$ (SEQ ID NO:386), S(GGGGS) \times G $_n$ (SEQ ID NO:387) или S(GGGGS) \times G $_n$ (SEQ ID NO:388), где $x=1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11$ или 12 ,

где $n=0, 1, 2$ или 3 . В некоторых вариантах осуществления линкер содержит последовательность GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:79) или SGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:389).

Свойства гибридного белка

[134] В некоторых вариантах осуществления слитый белок индуцирует активацию клеток, экспрессирующих гетеродимер CD8ab человека, по меньшей мере в 2 раза, по меньшей мере в 5 раз или по меньшей мере в 10 раз более эффективно, чем активацию клеток, экспрессирующих гомодимер CD8aa человека. В некоторых вариантах осуществления слитый белок индуцирует активацию CD8+ Т-клеток по меньшей мере в 2 раза, по меньшей мере в 5 раз или по меньшей мере в 10 раз более эффективно, чем активацию НК-клеток. В некоторых вариантах осуществления активность активации измеряют по EC50, оцениваемой по пролиферации клеток. Примеры анализов дополнительно описаны *infra*.

[135] Преимущественная активность целевых слитых белков IL-2, содержащих мутантные полипептиды IL-2, в отношении клеток, экспрессирующих антиген, продемонстрирована в анализах, включающих клетки, экспрессирующие и не экспрессирующие антиген, которые также экспрессируют IL-2R $\beta\gamma$ или IL-2R $\alpha\beta\gamma$. Одним из таких анализов является анализ *in vitro*, который измеряет фосфорилирование STAT5 (pSTAT5) и/или экспрессию маркера пролиферации Ki-67 в иммунных клетках человека, таких как периферическая кровь человека и/или инфильтрирующие опухоль иммунные клетки при воздействии IL-2 полипептидов. В одном формате анализа активность целевого слитого белка IL-2 измеряют на антиген-экспрессирующих и неэкспрессирующих клетках, чтобы продемонстрировать селективность в отношении антиген-экспрессирующих клеток. В другом формате анализа активность слитого белка-мишени IL-2, содержащего мутантный полипептид IL-2, на антиген-экспрессирующих клетках сравнивают с активностью слитого белка нецелевого IL-2, содержащего тот же мутантный полипептид IL-2 и контрольное антитело, не распознающее какие-либо антигены на антигенэкспрессирующих клетках, чтобы продемонстрировать степень спасения в передаче сигналов мутантного полипептида IL-2 при слиянии с антигенсвязывающей молекулой.

[136] В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению, содержащий антигенсвязывающие молекулы CD8b, активировать клетки CD8b+ IL-2R β + по сравнению с клетками CD8b- IL-2R β + по меньшей мере в 10 раз, по меньшей мере в 50 раз или по меньшей мере в 100 раз. В некоторых вариантах осуществления указанный слитый белок активировать клетки CD8b+ IL-2R β + более чем в 50, 100 или 200 раз по сравнению со слитой молекулой, содержащей указанный мутантный полипептид IL-2 и контрольное антитело, не связывающееся ни с одним экспрессированным антигеном на указанных клетках. Упомянутую активацию клеток слитым белком IL-2 определяют путем измерения экспрессии pSTAT5 или маркера клеточной пролиферации Ki67 в указанных клетках после обработки указанным слитым белком IL-2.

[137] В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению проявляет одно или более из следующих свойств: связывает CD8 человека и не блокирует взаимодействие CD8 с МНС класса I; и активирует CD8⁺ Т-клетки с по меньшей мере 10-кратной, 25-кратной, 50-кратной, 100-кратной, 250-кратной, 500-кратной или 1000-кратной большей эффективностью, например, по сравнению с активацией НК-клеток. В некоторых вариантах осуществления можно определить, блокирует ли антитело к CD8 или слитый белок по настоящему изобретению взаимодействие CD8 с МНС класса I, например, анализируя статус активации CD8⁺ Т-клеток (например, при стимуляции антигеном) в присутствии или отсутствие анти-CD8-антитела или слитого белка. В некоторых вариантах осуществления активацию CD8⁺ Т-клеток и/или НК-клеток можно измерить, например, путем анализа одного или более маркеров (например, доли обработанных клеток, экспрессирующих один или более маркеров) пролиферации (например, Ki67), IL-2R β/γ нисходящей сигнализации и/или нисходящая сигнализации STAT5.

Примеры слитых белков

[138] В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит один, два или все три полипептида, показанные для одного слитого белка в Таблице 5. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит две легкие цепи, тяжелую цепь, содержащую слитый IL-2 и тяжелую цепь, не содержащую слитый IL-2 для одного слитого белка в Таблице 5. Как известно в данной области техники, С-концевой лизин некоторых видов тяжелых цепей антител может быть отщеплен в некоторой доле молекул. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит две легкие цепи, тяжелую цепь, содержащую слитый IL-2, и тяжелую цепь, не содержащую слитый IL-2, для одного слитого белка в Таблице 5, где тяжелая цепь, не содержащая слитый IL-2, содержит последовательность SEQ ID No: 158, 161, 164, 167, 170, 173, 176, 189, 300, 304, 308, 312, 326, 320, 324, 328, 332, 336, 340, 344, 348 или 352 для соответствующего гибридного белка. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит две легкие цепи, тяжелую цепь, содержащую слитый IL-2, и тяжелую цепь, не содержащую слитый IL-2, для одного слитого белка в Таблице 5, где тяжелая цепь не содержащая слитый IL-2, содержит последовательность SEQ ID No: 217-224, 301, 305, 309, 313, 317, 321, 325, 329, 333, 337, 341, 345, 349 или 353 для соответствующего белок слияния. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к множеству слитых белков по настоящему изобретению (например, в смеси), где каждый слитый белок из множества содержит две легкие цепи, тяжелую цепь, содержащую слитый IL-2, и тяжелую цепь, не содержащую слитый IL-2 для одного слитого белка в Таблице 5, где тяжелая цепь, не содержащая слитый IL-2, содержит последовательность SEQ ID No: 158, 161, 164, 167, 170, 173, 176, 189, 300, 304, 308, 312, 326, 320, 324, 328, 332, 336, 340, 344, 348 или 352 для соответствующего слитого белка, или последовательности SEQ ID No: 217-224, 301, 305, 309, 313, 317, 321, 325, 329, 333, 337, 341,

345, 349 или 353 для соответствующего слитого белка, или множество включает смесь видов, представляющих собой расщепленные (*например*, содержащие последовательность SEQ ID No:158, 161, 164, 167, 170, 173, 176, 189, 300, 304, 308, 312, 326, 320, 324, 328, 332, 336, 340, 344, 348 или 352 для соответствующих слитый белок) и нерасщепленные (*например*, содержащие последовательность SEQ ID Nos: 217-224, 301, 305, 309, 313, 317, 321, 325, 329, 333, 337, 341, 345, 349 или 353 для соответствующего слитого белка).

[139] Например, в некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит одну или две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:156, тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:157 и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:158. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит одну или две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:159, тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:160 и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:161. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит одну или две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:162, тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:163 и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:164. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит одну или две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:165, тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:166 и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:167. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит одну или две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:168, тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:169 и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:170. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит одну или две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:171, тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:172 и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:173. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит одну или две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:174, тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:175 и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:176. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит одну или две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187, тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:188 и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:189. В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению содержит одну или две легкие

последовательность SEQ ID NO:351 и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:352 или 353.

[142] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к слитому белку, содержащему две последовательности тяжелой цепи и две последовательности легкой цепи одного слитого белка, перечисленные в Таблице 5, где одна из последовательностей тяжелой цепи содержит слитый IL2, а другая последовательность тяжелой цепи не содержит слитый IL2 и где две последовательности легкой цепи идентичны. В некоторых вариантах осуществления последовательность тяжелой цепи без слияния с IL2 содержит лизин на С-конце. В некоторых вариантах осуществления слитый белок имеет формат А, показанный на Фиг. 7. Например, в некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит четыре полипептидные цепи, где (1) первая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:334, вторая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:335, третья полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:336, и четвертая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:334; (2) первая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:334, вторая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:335, третья полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:337, и четвертая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:334; (3) первая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:338, вторая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:339, третья полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:340, и четвертая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:338; или (4) первая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:338, вторая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:339, третья полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 341, и четвертая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:338.

Таблица 5. Последовательности слитых белков анти-CD8:IL2

Название	Последовательность легкой цепи	Последовательность тяжелой цепи (со слиянием IL2)	Последовательность тяжелой цепи (без слияния с IL2)	Последовательность тяжелой цепи (без слияния с IL2) плюс лизин на С-конце
xhCD8v1-IL-2m1	DIQMTQSPASLS ASVGETVTITCG ASENIYGALNW	QVHLQQSGPEL VKPGASVKMS CKTSGYTFTKY	QVHLQQSGPEL VKPGASVKMS CKTSGYTFTKY	QVHLQQSGPEL VKPGASVKMS CKTSGYTFTKY

YQRKQGKSPQL	TMHWVKQGH	TMHWVKQGH	TMHWVKQGH
LIFGATNLADGV	EESLEWIGHFN	EESLEWIGHFN	EESLEWIGHFN
SSRFSGSGSDRQ	PNNDETKYNQ	PNNDETKYNQ	PNNDETKYNQ
YSLKISSLHPDD	KFTGKATLTVD	KFTGKATLTVD	KFTGKATLTVD
VATYYCQNILDT	KSSTTAYMELR	KSSTTAYMELR	KSSTTAYMELR
PWTFGGGKLEI	SLTSDDSAALYY	SLTSDDSAALYY	SLTSDDSAALYY
KRTVAAPSVFIF	CARDGLGLRLF	CARDGLGLRLF	CARDGLGLRLF
PPSDEQLKSGTA	ADWGQGTLVT	ADWGQGTLVT	ADWGQGTLVT
SVVCLLNNFYPR	VSSASTKGPSV	VSSASTKGPSV	VSSASTKGPSV
EAKVQWKVDN	FPLAPSSKSTSG	FPLAPSSKSTSG	FPLAPSSKSTSG
ALQSGNSQESVT	GTAALGCLVK	GTAALGCLVK	GTAALGCLVK
EQDSKDSTYSL	DYFPEPVTVSW	DYFPEPVTVSW	DYFPEPVTVSW
STLTLKADYEK	NSGALTSGVHT	NSGALTSGVHT	NSGALTSGVHT
HKVYACEVTHQ	FPAVLQSSGLY	FPAVLQSSGLY	FPAVLQSSGLY
GLSSPVTKSFNR	SLSSVVTVPSSS	SLSSVVTVPSSS	SLSSVVTVPSSS
GEC	LGTQTYICNVN	LGTQTYICNVN	LGTQTYICNVN
(SEQ ID NO:156)	HKPSNTKVDK	HKPSNTKVDK	HKPSNTKVDK
	KVEPKSCDKTH	KVEPKSCDKTH	KVEPKSCDKTH
	TCPPCPAPEAA	TCPPCPAPEAA	TCPPCPAPEAA
	GAPSVFLFPPK	GAPSVFLFPPK	GAPSVFLFPPK
	PKDTLMISRTP	PKDTLMISRTP	PKDTLMISRTP
	EVTCVVVDVS	EVTCVVVDVS	EVTCVVVDVS
	HEDPEVKFNW	HEDPEVKFNW	HEDPEVKFNW
	YVDGVEVHNA	YVDGVEVHNA	YVDGVEVHNA
	KTKPREEQYNS	KTKPREEQYNS	KTKPREEQYNS
	TYRVVSVLTVL	TYRVVSVLTVL	TYRVVSVLTVL
	HQDWLNGKEY	HQDWLNGKEY	HQDWLNGKEY
	KCKVSNKALP	KCKVSNKALP	KCKVSNKALP
	APIEKTISKAKG	APIEKTISKAKG	APIEKTISKAKG
	QPREPQVYTL	QPREPQVCTLP	QPREPQVCTLP
	PCREEMTKNQ	PSREEMTKNQ	PSREEMTKNQ
	VSLSCAVKGFY	VSLWCLVKGF	VSLWCLVKGF
	PSDIAVEWESN	YPSDIAVEWES	YPSDIAVEWES
	GQPENNYKTP	NGQPENNYKT	NGQPENNYKT
	PVLDSGDSFFL	TPPVLDSGDSF	TPPVLDSGDSF

		VSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPGS GGGSGGGGS GGGGSAPTSSS TKKTQLQLEHL LLDLQMILNGI NNYKNPKLTE MLTAKFYMPK KATELKHLQCL EELKPLEEVL NLAQSKNFHLR PRDLISAINVIV LELKGSETTFM CEYADETATIV EFLNRWITFAQ SIISTLT (SEQ ID NO:157)	FLYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:158)	FLYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSPG K (SEQ ID NO:217)
xhCD8v2- IL-2m1	DIQMTQSPSSLS ASVGDRVITICR ASQEIYGALNW YQQKPGKAPKL LIYGATNLQSGV PSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDF ATYYCQDIYDAP WTFGGGTKVEI KRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDN ALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLS STLTLKADYEK	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGYRFHNF AISWVRQAPG QGLEWMGGIIP GHAKANYAQK FQGRVTITADE STSTAYMELSS LRSEDTAVYYC ARDGLGIRLFA DWGQGTLVTV SSASTKGPSVF PLAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVSW NSGALTSGVHT	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGYRFHNF AISWVRQAPG QGLEWMGGIIP GHAKANYAQK FQGRVTITADE STSTAYMELSS LRSEDTAVYYC ARDGLGIRLFA DWGQGTLVTV SSASTKGPSVF PLAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVSW NSGALTSGVHT	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGYRFHNF AISWVRQAPG QGLEWMGGIIP GHAKANYAQK FQGRVTITADE STSTAYMELSS LRSEDTAVYYC ARDGLGIRLFA DWGQGTLVTV SSASTKGPSVF PLAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVSW NSGALTSGVHT

<p>HKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNR GEC (SEQ ID NO:159)</p>	<p>FPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVN HKPSNTKVDK KVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAA GAPSVFLFPPK PKDTLMIS RTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYNS TYRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKAKG QPREPQVYTL P PCREEMTKNQ VSLSCAVKGFY PSDIAVEWESN GQPENNYKTP PVLDS DGSFFL VSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALH NHY TQKSLSLSPGS GGGGSGGGGS GGGGSAPTSSS TKKTQLQLEHL LLDLQMILNGI NNYKNPKLTE MLTAKFYMPK KATELKHLQCL EEELKPLEEVL NLAQSKNFHLR</p>	<p>FPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVN HKPSNTKVDK KVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAA GAPSVFLFPPK PKDTLMIS RTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYNS TYRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKAKG QPREPQVCTLP PSREEMTKNQ VSLWCLVKGF YPSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDS DGSF FLYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALH NH YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:161)</p>	<p>FPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVN HKPSNTKVDK KVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAA GAPSVFLFPPK PKDTLMIS RTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYNS TYRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKAKG QPREPQVCTLP PSREEMTKNQ VSLWCLVKGF YPSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDS DGSF FLYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALH NH K (SEQ ID NO:218)</p>
---	--	--	--

		PRDLISAINVIV LELKGSETTFM CEYADETATIV EFLNRWITFAQ SIISTLT (SEQ ID NO:160)		
xhCD8v3- IL-2m1	DIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCR ASQEIYGALNW YQKPGKAPKL LIYGATNLQSGV PSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDF ATYYCQDIYDAP WTFGGGTKVEI KRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDN ALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEK HKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNR GEC (SEQ ID NO:162)	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGSRFYKF AISWVRQAPG QGLEWMGGIIP GHAKANYAQK FQGRVTITADE STSTAYMELSS LRSEDNAVYYC ARDGLGIRLFA DWGQGTLVTV SSASTKGPSVF PLAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVSW NSGALTSGVHT FPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVN HKPSNTKVDK KVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAA GAPSVFLFPPK PKDTLMIS RTP EVT CVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYNS TYRVVSVLTVL	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGSRFYKF AISWVRQAPG QGLEWMGGIIP GHAKANYAQK FQGRVTITADE STSTAYMELSS LRSEDNAVYYC ARDGLGIRLFA DWGQGTLVTV SSASTKGPSVF PLAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVSW NSGALTSGVHT FPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVN HKPSNTKVDK KVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAA GAPSVFLFPPK PKDTLMIS RTP EVT CVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYNS TYRVVSVLTVL	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGSRFYKF AISWVRQAPG QGLEWMGGIIP GHAKANYAQK FQGRVTITADE STSTAYMELSS LRSEDNAVYYC ARDGLGIRLFA DWGQGTLVTV SSASTKGPSVF PLAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVSW NSGALTSGVHT FPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVN HKPSNTKVDK KVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAA GAPSVFLFPPK PKDTLMIS RTP EVT CVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYNS TYRVVSVLTVL

		HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKAKG QPREPQVYTLF PCREEMTKNQ VSLSCAVKGFY PSDIAVEWESN GQPENNYKTP PVLDSDGFFL VSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPGS GGGGSGGGGS GGGGSAPTSSS TKKTQLQLEHL LLDLQMILNGI NNYKNPKLTE MLTAKFYMPK KATELKHLQCL EEELKPLEEVL NLAQSKNFHLR PRDLISAINVIV LELKGSETTFM CEYADETATIV EFLNRWITFAQ SIISTLT (SEQ ID NO:163)	HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKAKG QPREPQVCTLP PSREEMTKNQ VSLWCLVKGF YPSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGFS FLYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:164)	HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKAKG QPREPQVCTLP PSREEMTKNQ VSLWCLVKGF YPSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGFS FLYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSPG K (SEQ ID NO:219)
xhCD8v4-IL-2m1	DIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCR ASQKIYGALNW YQQKPGKAPKL LIYGATNLQSGV PSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDF	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGYTFTKY AISWVRQAPG QGLEWMGGIIP GHAKANYAQK FQGRVTITADE	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGYTFTKY AISWVRQAPG QGLEWMGGIIP GHAKANYAQK FQGRVTITADE	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGYTFTKY AISWVRQAPG QGLEWMGGIIP GHAKANYAQK FQGRVTITADE

ATYYCQNTYDT	STSTAYMELSS	STSTAYMELSS	STSTAYMELSS
PWTFGGGTKVEI	LRSEDTAVYYC	LRSEDTAVYYC	LRSEDTAVYYC
KRTVAAPSVFIF	ARDGLGIRLFA	ARDGLGIRLFA	ARDGLGIRLFA
PPSDEQLKSGTA	DWGQGTLLVTV	DWGQGTLLVTV	DWGQGTLLVTV
SVVCLLNNFYPR	SSASTKGPSVF	SSASTKGPSVF	SSASTKGPSVF
EAKVQWKVDN	PLAPSSKSTSG	PLAPSSKSTSG	PLAPSSKSTSG
ALQSGNSQESVT	GTAALGCLVK	GTAALGCLVK	GTAALGCLVK
EQDSKDYSTYSL	DYFPEPVTVSW	DYFPEPVTVSW	DYFPEPVTVSW
STLTLKADYEK	NSGALTSGVHT	NSGALTSGVHT	NSGALTSGVHT
HKVYACEVTHQ	FPAVLQSSGLY	FPAVLQSSGLY	FPAVLQSSGLY
GLSSPVTKSFNR	SLSSVVTVPSSS	SLSSVVTVPSSS	SLSSVVTVPSSS
GEC	LGTQTYICNVN	LGTQTYICNVN	LGTQTYICNVN
(SEQ ID NO:165)	HKPSNTKVDK	HKPSNTKVDK	HKPSNTKVDK
	KVEPKSCDKTH	KVEPKSCDKTH	KVEPKSCDKTH
	TCPPCPAPEAA	TCPPCPAPEAA	TCPPCPAPEAA
	GAPSVFLFPPK	GAPSVFLFPPK	GAPSVFLFPPK
	PKDTLMISRTP	PKDTLMISRTP	PKDTLMISRTP
	EVTCVVVDVS	EVTCVVVDVS	EVTCVVVDVS
	HEDPEVKFNW	HEDPEVKFNW	HEDPEVKFNW
	YVDGVEVHNA	YVDGVEVHNA	YVDGVEVHNA
	KTKPREEQYNS	KTKPREEQYNS	KTKPREEQYNS
	TYRVVSVLTVL	TYRVVSVLTVL	TYRVVSVLTVL
	HQDWLNGKEY	HQDWLNGKEY	HQDWLNGKEY
	KCKVSNKALP	KCKVSNKALP	KCKVSNKALP
	APIEKTISKAKG	APIEKTISKAKG	APIEKTISKAKG
	QPREPQVYTL	QPREPQVCTLP	QPREPQVCTLP
	PCREEMTKNQ	PSREEMTKNQ	PSREEMTKNQ
	VSLSCAVKGFY	VSLWCLVKGF	VSLWCLVKGF
	PSDIAVEWESN	YPSDIAVEWES	YPSDIAVEWES
	GQPENNYKTP	NGQPENNYKT	NGQPENNYKT
	PVLDSGDSFLL	TPPVLDSGDSF	TPPVLDSGDSF
	VSKLTVDKSR	FLYSKLTVDKS	FLYSKLTVDKS
	WQQGNVFSCS	RWQQGNVFSC	RWQQGNVFSC
	VMHEALHNYH	SVMHEALHNYH	SVMHEALHNYH
	TQKSLSLSPGS	YTQKSLSLSPG	YTQKSLSLSPG

		GGGGSGGGGS GGGGSAPTSSS TKKTQLQLEHL LLDLQMILNGI NNYKNPKLTE MLTAKFYMPK KATELKHLQCL EEELKPLEEVL NLAQSKNFHLR PRDLISAINVIV LELKGSETTFM CEYADETATIV EFLNRWITFAQ SIISTLT (SEQ ID NO:166)	(SEQ ID NO:167)	K (SEQ ID NO:220)
xhCD8v5-IL-2m1	DIQMTQSPSSLS ASVGDRVITICR ASQKIYGALNW YQQKPGKAPKL LIYGATNLQSGV PSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDF ATYYCQNTYDT PWTFGGGTKVEI KRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTA SIVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDN ALQSGNSQESVT EQDSKDYSTYSL STLTLSKADYEK HKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNR GEC (SEQ ID NO:168)	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGSGFRGH AISWVRQAPG QGLEWMGGIIP GHAKANYAQK FQGRVTITADE STSTAYMELSS LRSEDTAVYYC ARDGLGIRLFA DWGQGTLVTV SSASTKGPSVF PLAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVSW NSGALTSGVHT FPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVN HKPSNTKVDK	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGSGFRGH AISWVRQAPG QGLEWMGGIIP GHAKANYAQK FQGRVTITADE STSTAYMELSS LRSEDTAVYYC ARDGLGIRLFA DWGQGTLVTV SSASTKGPSVF PLAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVSW NSGALTSGVHT FPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVN HKPSNTKVDK	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGSGFRGH AISWVRQAPG QGLEWMGGIIP GHAKANYAQK FQGRVTITADE STSTAYMELSS LRSEDTAVYYC ARDGLGIRLFA DWGQGTLVTV SSASTKGPSVF PLAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVSW NSGALTSGVHT FPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVN HKPSNTKVDK

	KVEPKSCDKTH	KVEPKSCDKTH	KVEPKSCDKTH
	TCPPCPAPEAA	TCPPCPAPEAA	TCPPCPAPEAA
	GAPSVFLFPPK	GAPSVFLFPPK	GAPSVFLFPPK
	PKDTLMIS RTP	PKDTLMIS RTP	PKDTLMIS RTP
	EVTCVVVDVS	EVTCVVVDVS	EVTCVVVDVS
	HEDPEVKFNW	HEDPEVKFNW	HEDPEVKFNW
	YVDGVEVHNA	YVDGVEVHNA	YVDGVEVHNA
	KTKPREEQYNS	KTKPREEQYNS	KTKPREEQYNS
	TYRVVSVLTVL	TYRVVSVLTVL	TYRVVSVLTVL
	HQDWLNGKEY	HQDWLNGKEY	HQDWLNGKEY
	KCKVSNKALP	KCKVSNKALP	KCKVSNKALP
	APIEKTISKAKG	APIEKTISKAKG	APIEKTISKAKG
	QPREPQVY TLP	QPREPQVCTLP	QPREPQVCTLP
	PCREEMTKNQ	PSREEMTKNQ	PSREEMTKNQ
	VSLSCAVKGFY	VSLWCLVKGF	VSLWCLVKGF
	PSDIAVEWESN	YPSDIAVEWES	YPSDIAVEWES
	GQPENNYK TTP	NGQPENNYKT	NGQPENNYKT
	PVLDS DGSF FL	TPPVLDS DGSF	TPPVLDS DGSF
	VSKLTVDKSR	FLYSKLTVDKS	FLYSKLTVDKS
	WQQGNVFSCS	RWQQGNVFSC	RWQQGNVFSC
	VMHEALHNHY	SVMHEALHNH	SVMHEALHNH
	TQKSLSLSPGS	YTQKSLSLSPG	YTQKSLSLSPG
	GGGGSGGGGS	(SEQ ID NO:170)	K
	GGGGSAPTSSS		(SEQ ID NO:221)
	TKKTQLQLEHL		
	LLDLQMILNGI		
	NNYKNPKLTE		
	MLTAKFYMPK		
	KATELKHLQCL		
	EEELKPLEEVL		
	NLAQSKNFHLR		
	PRDLISAINVIV		
	LELKGSETTFM		
	CEYADETATIV		
	EFLNRWITFAQ		

		SIISTLT (SEQ ID NO:169)		
xhCD8v6- IL-2m1	EIVLTQSPATLSV SPGERATLSCRA SQSVSSNLAWY QQKPGQAPRLLI YGASSRATGIPD RFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAV YYCQQYGSSPPV TFGQGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASV VCLLNNFYPREA KVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQ DSKDSTYLSST LTLKADYEKH KVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRG EC (SEQ ID NO:171)	EVQLVESGGG AVRPGGSLRLS CAASGFTFDDY GMSWVRQAPG KGLEWVSDIN WSGEITAYADS VKGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAEDTAVY YCARSNSYRW DDALDIWGQG TMVTVSSASTK GPSVFPLAPSS KSTSGGTAALG CLVKDYFPEPV TVSWNSGALTS GVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCPPCP APEAAGAPSVF LFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQ	EVQLVESGGG AVRPGGSLRLS CAASGFTFDDY GMSWVRQAPG KGLEWVSDIN WSGEITAYADS VKGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAEDTAVY YCARSNSYRW DDALDIWGQG TMVTVSSASTK GPSVFPLAPSS KSTSGGTAALG CLVKDYFPEPV TVSWNSGALTS GVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCPPCP APEAAGAPSVF LFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQ	EVQLVESGGG AVRPGGSLRLS CAASGFTFDDY GMSWVRQAPG KGLEWVSDIN WSGEITAYADS VKGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAEDTAVY YCARSNSYRW DDALDIWGQG TMVTVSSASTK GPSVFPLAPSS KSTSGGTAALG CLVKDYFPEPV TVSWNSGALTS GVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCPPCP APEAAGAPSVF LFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQ

		VYTLPPCREEM TKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS GSFFLVSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEALH NHYTQKSLSLS PGSGGGGSGG GGSGGGGSAPT SSSTKKTQLQL EHLLEDLQMIL NGINNYKNPKL TEMLTAKFYM PKKATELKHLQ CLEEELKPLEE VLNLAQSKNF HLRPRDLISAIN VIVLELKGSET TFMCEYADET ATIVEFLNRWI TFAQSIISTLT (SEQ ID NO:172)	VCTLPPSREEM TKNQVSLWCL VKGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSL SPG (SEQ ID NO:173)	VCTLPPSREEM TKNQVSLWCL VKGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSL SPGK (SEQ ID NO:222)
xhCD8v7-IL-2m1	EIVLTQSPATLSV TPGEGATLSCRA SHSVGSNLAWY QQKPGQAPRLLI YDASNRAATGIPA RFSGSGSGTDFT LTISSLEPEDLAV YYCQQRSNWPP TFGQGTRLEIKR TVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASV	EVQLVESGGGL VQPGRSLRLSC AASGFTFDDYA MHWVRQAPG KGLEWVAVIS YDGSNKYYAD SVKGRFTISR NSKNTLYLQM NSLRAEDTAV YYCAKDRIGW YDYDAFDIWG	EVQLVESGGGL VQPGRSLRLSC AASGFTFDDYA MHWVRQAPG KGLEWVAVIS YDGSNKYYAD SVKGRFTISR NSKNTLYLQM NSLRAEDTAV YYCAKDRIGW YDYDAFDIWG	EVQLVESGGGL VQPGRSLRLSC AASGFTFDDYA MHWVRQAPG KGLEWVAVIS YDGSNKYYAD SVKGRFTISR NSKNTLYLQM NSLRAEDTAV YYCAKDRIGW YDYDAFDIWG

VCLLNNFYPREA KVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQ DSKDSTYSLSST LTLSKADYEKH KVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRG EC (SEQ ID NO:174)	QGTMVTVSSA STKGPSVFPLA PSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLG TQTYICNVNHK PSNTKVDKKV EPKSCDKTHTC PPCPAPEAAGA PSVFLFPPKPK DTLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPAP IEKTISKAKGQP REPQVYTLPPC REEMTKNQVS LSCAVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTPP VLDSGDGSFFLV SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGSG GGGSGGGGSG GGGSAPTSSST KKTQLQLEHLL	QGTMVTVSSA STKGPSVFPLA PSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLG TQTYICNVNHK PSNTKVDKKV EPKSCDKTHTC PPCPAPEAAGA PSVFLFPPKPK DTLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPAP IEKTISKAKGQP REPQVCTLPPS REEMTKNQVS LWCLVKGFYP SDIAVEWESNG QPENNYKTTPP VLDSGDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG (SEQ ID NO:176)	QGTMVTVSSA STKGPSVFPLA PSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLG TQTYICNVNHK PSNTKVDKKV EPKSCDKTHTC PPCPAPEAAGA PSVFLFPPKPK DTLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPAP IEKTISKAKGQP REPQVCTLPPS REEMTKNQVS LWCLVKGFYP SDIAVEWESNG QPENNYKTTPP VLDSGDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO:223)
---	---	--	---

		LDLQMILNGIN NYKNPKLTEM LTAKFYMPKK ATELKHLQCLE EELKPLEEVLN LAQSKNFHLRP RDLISAINVIVL ELKGSETTFMC EYADETATIVE FLNRWITFAQSI ISTLT (SEQ ID NO:175)		
xhCD8v8- IL-2m1	DIQMTQSPASLS VSVGETVTITCR ASENIYSNLAWY QQKQGKSPQLL VYAATNLADGV PSRFSGSGSGTQ YSLKINSLQSED FGSYQCQHFVG TPWTFGGGTKL EIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYF REAKVQWKVD NALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSL SSTLTLKADYE KHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFN RGEC (SEQ ID NO:187)	QVQLQQSGAE LVRPGSSVKIS CKASGYAFSSY WMNWVKQRP GQGLEWIGQIY PGDGDNTNYNG KFKGKATLTA DKSSSTAYMQ LSSLTSEDSAV YFCARSGAAFS SYYAMDYWG QGTSVTVSSAS TKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGT QTYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCDKTHTCP PCPAPEAAGAP	QVQLQQSGAE LVRPGSSVKIS CKASGYAFSSY WMNWVKQRP GQGLEWIGQIY PGDGDNTNYNG KFKGKATLTA DKSSSTAYMQ LSSLTSEDSAV YFCARSGAAFS SYYAMDYWG QGTSVTVSSAS TKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGT QTYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCDKTHTCP PCPAPEAAGAP	QVQLQQSGAE LVRPGSSVKIS CKASGYAFSSY WMNWVKQRP GQGLEWIGQIY PGDGDNTNYNG KFKGKATLTA DKSSSTAYMQ LSSLTSEDSAV YFCARSGAAFS SYYAMDYWG QGTSVTVSSAS TKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGT QTYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCDKTHTCP PCPAPEAAGAP

	SVFLFPPKPKD TLMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVS NKALPAPI EKTISKAKGQP REPQVYTLPPC REEMTKNQVS LSCAVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTPP VLDS DGSFFLV SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGSG GGGSGGGGSG GGGSAPTSSST KKTQLQLEHLL LDLQMILNGIN NYKNPKLTEM LTAKFYMPKK ATELKHLQCLE EELKPLEEVLN LAQSKNFHLRP RDLISAINVIVL ELKGSETTFMC EYADETATIVE FLNRWITFAQSI ISTLT (SEQ ID NO:188)	SVFLFPPKPKD TLMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVS NKALPAPI EKTISKAKGQP REPQVCTLPPS REEMTKNQVS LWCLVKGFYP SDIAVEWESNG QPENNYKTTPP VLDS DGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG (SEQ ID NO:189)	SVFLFPPKPKD TLMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVS NKALPAPI EKTISKAKGQP REPQVCTLPPS REEMTKNQVS LWCLVKGFYP SDIAVEWESNG QPENNYKTTPP VLDS DGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO:224)
--	--	---	--

xhCD8v9- IL-2m1	DIQMTQSPSSLS	QVQLVQSGAE	QVQLVQSGAE	QVQLVQSGAE
	ASVGDRVITICR	VKKPGSSVKVS	VKKPGSSVKVS	VKKPGSSVKVS
	ASQEIYGALNW	CKASGGTFSSY	CKASGGTFSSY	CKASGGTFSSY
	YQQKPGKAPKL	AISWVRQAPG	AISWVRQAPG	AISWVRQAPG
	LIYGATNLQSGV	QGLEWMGGIIP	QGLEWMGGIIP	QGLEWMGGIIP
	PSRFSGSGSGTD	GAATANYAQK	GAATANYAQK	GAATANYAQK
	FTLTISSLQPEDF	FQGRVTITADE	FQGRVTITADE	FQGRVTITADE
	ATYYCQSTYDA	STSTAYMELSS	STSTAYMELSS	STSTAYMELSS
	PWTFGGGTKVEI	LRSEDTAVYYC	LRSEDTAVYYC	LRSEDTAVYYC
	KRTVAAPSVFIF	ARDAAGIRLFA	ARDAAGIRLFA	ARDAAGIRLFA
	PPSDEQLKSGTA	DWGQGTLVTV	DWGQGTLVTV	DWGQGTLVTV
	SVVCLLNNFYPR	SSASTKGPSVF	SSASTKGPSVF	SSASTKGPSVF
	EAKVQWKVDN	PLAPSSKSTSG	PLAPSSKSTSG	PLAPSSKSTSG
	ALQSGNSQESVT	GTAALGCLVK	GTAALGCLVK	GTAALGCLVK
	EQDSKDYSTYSL	DYFPEPVTVSW	DYFPEPVTVSW	DYFPEPVTVSW
	STLTLSKADYEK	NSGALTSGVHT	NSGALTSGVHT	NSGALTSGVHT
	HKVYACEVTHQ	FPAVLQSSGLY	FPAVLQSSGLY	FPAVLQSSGLY
	GLSSPVTKSFNR	SLSSVVTVPSSS	SLSSVVTVPSSS	SLSSVVTVPSSS
	GEC	LGTQTYICNVN	LGTQTYICNVN	LGTQTYICNVN
	(SEQ ID NO:298)	HKPSNTKVDK	HKPSNTKVDK	HKPSNTKVDK
		KVEPKSCDKTH	KVEPKSCDKTH	KVEPKSCDKTH
		TCPPCPAPEAA	TCPPCPAPEAA	TCPPCPAPEAA
		GAPSVFLFPPK	GAPSVFLFPPK	GAPSVFLFPPK
		PKDTLMISRTP	PKDTLMISRTP	PKDTLMISRTP
		EVTCVVVDVS	EVTCVVVDVS	EVTCVVVDVS
		HEDPEVKFNW	HEDPEVKFNW	HEDPEVKFNW
		YVDGVEVHNA	YVDGVEVHNA	YVDGVEVHNA
		KTKPREEQYNS	KTKPREEQYNS	KTKPREEQYNS
		TYRVVSVLTVL	TYRVVSVLTVL	TYRVVSVLTVL
		HQDWLNGKEY	HQDWLNGKEY	HQDWLNGKEY
		KCKVSNKALP	KCKVSNKALP	KCKVSNKALP
	APIEKTISKAKG	APIEKTISKAKG	APIEKTISKAKG	
	QPREPQVYTL	QPREPQVCTLP	QPREPQVCTLP	
	PCREEMTKNQ	PSREEMTKNQ	PSREEMTKNQ	
	VSLSCAVKGFY	VSLWCLVKGF	VSLWCLVKGF	

		PSDIAVEWESN GQPENNYKTP PVLDSGDGSFFL VSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPGS GGGGSGGGGS GGGGSAPTSSS TKKTQLQLEHL LLDLQMILNGI NNYKNPKLTE MLTAKFYMPK KATELKHLQCL EEELKPLEEVL NLAQSKNFHLR PRDLISAINVIV LELKGSETTFM CEYADETATIV EFLNRWITFAQ SIISTLT (SEQ ID NO:299)	YPSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGDGSF FLYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:300)	YPSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGDGSF FLYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSPG K (SEQ ID NO:301)
xhCD8v10 - IL-2m1	EIVLTQSPGTL SPGERATLSCRA SQSVSSNLAWY QQKPGQAPRLLI YGASSRATGIPD RFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAV YYCQQYGSSPPV TFGQGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASV VCLLNNFYPREA KVQWKVDNAL	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYA MSWVRQAPGK GLEWVSDITYA GGSTAYADSV KGRFTISRDN KNSLYLQMNS LRAEDTAVYY CARSNAYAWD DALDIWGQGT MVTVSSASTK GPSVFPLAPSS	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYA MSWVRQAPGK GLEWVSDITYA GGSTAYADSV KGRFTISRDN KNSLYLQMNS LRAEDTAVYY CARSNAYAWD DALDIWGQGT MVTVSSASTK GPSVFPLAPSS	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYA MSWVRQAPGK GLEWVSDITYA GGSTAYADSV KGRFTISRDN KNSLYLQMNS LRAEDTAVYY CARSNAYAWD DALDIWGQGT MVTVSSASTK GPSVFPLAPSS

QSGNSQESVTEQ	KSTSGGTAALG	KSTSGGTAALG	KSTSGGTAALG
DSKDSTYLSST	CLVKDYFPEPV	CLVKDYFPEPV	CLVKDYFPEPV
LTLKADYEKH	TVSWNSGALTS	TVSWNSGALTS	TVSWNSGALTS
KVYACEVTHQG	GVHTFPAVLQS	GVHTFPAVLQS	GVHTFPAVLQS
LSSPVTKSFNRG	SGLYSLSSVVT	SGLYSLSSVVT	SGLYSLSSVVT
EC	VPSSSLGTQTYI	VPSSSLGTQTYI	VPSSSLGTQTYI
(SEQ ID NO:302)	CNVNHNKPSNT	CNVNHNKPSNT	CNVNHNKPSNT
	KVDKKVEPKS	KVDKKVEPKS	KVDKKVEPKS
	CDKTHTCPPCP	CDKTHTCPPCP	CDKTHTCPPCP
	APEAAGAPSVF	APEAAGAPSVF	APEAAGAPSVF
	LFPPKPKDTLM	LFPPKPKDTLM	LFPPKPKDTLM
	ISRTPEVTCVV	ISRTPEVTCVV	ISRTPEVTCVV
	VDVSHEDPEV	VDVSHEDPEV	VDVSHEDPEV
	KFNWYVDGVE	KFNWYVDGVE	KFNWYVDGVE
	VHNAKTKPRE	VHNAKTKPRE	VHNAKTKPRE
	EQYNSTYRVVS	EQYNSTYRVVS	EQYNSTYRVVS
	VLTVLHQDWL	VLTVLHQDWL	VLTVLHQDWL
	NGKEYKCKVS	NGKEYKCKVS	NGKEYKCKVS
	NKALPAPIEKTI	NKALPAPIEKTI	NKALPAPIEKTI
	SKAKGQPREPQ	SKAKGQPREPQ	SKAKGQPREPQ
	VYTLPPCREEM	VCTLPPSREEM	VCTLPPSREEM
	TKNQVSLSCAV	TKNQVSLWCL	TKNQVSLWCL
	KGFYPSDIAVE	VKGFYPSDIAV	VKGFYPSDIAV
	WESNGQPENN	EWESNGQPEN	EWESNGQPEN
	YKTTTPVLDS	NYKTTTPVLDS	NYKTTTPVLDS
	GSFFLVSKLTV	DGSFFLYSKLT	DGSFFLYSKLT
	DKSRWQQGNV	VDKSRWQQGN	VDKSRWQQGN
	FSCSVMHEALH	VFSCSVMHEAL	VFSCSVMHEAL
	NHYTQKSLSL	HNHYTQKSLSL	HNHYTQKSLSL
	PGSGGGGSGG	SPG	SPGK
	GGSGGGGSAPT	(SEQ ID NO:304)	(SEQ ID NO:305)
	SSSTKKTQLQL		
	EHLLEDLQMIL		
	NGINNYKNPKL		
	TEMLTAKFYM		

		PKKATELKHLQ CLEEELKPLEE VLNLAQSKNF HLRPRDLISAIN VIVLELKGSET TFMCEYADET ATIVEFLNRWI TFAQSIISTLT (SEQ ID NO:303)		
xhCD8v11 - IL-2m1	EIVLTQSPGTLISL SPGERATLSCRA SQSVSSNLAWY QKPGQAPRLLI YGASSRATGIPD RFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAV YYCQQYGSSPPV TFGQGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASV VCLLNNFYPREA KVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQ DSKDSTYLSST LTLKADYEKH KVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRG EC (SEQ ID NO:306)	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYA MSWVRQAPGK GLEWVSDITYA GGSTAYADSV KGRFTISRDNA KNSLYLQMNS LRAEDTAVYY CARSNAYAWD DALDIWGQGT LVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCL VKDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCPA PEAAGAPSVFL FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKF	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYA MSWVRQAPGK GLEWVSDITYA GGSTAYADSV KGRFTISRDNA KNSLYLQMNS LRAEDTAVYY CARSNAYAWD DALDIWGQGT LVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCL VKDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCPA PEAAGAPSVFL FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKF	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYA MSWVRQAPGK GLEWVSDITYA GGSTAYADSV KGRFTISRDNA KNSLYLQMNS LRAEDTAVYY CARSNAYAWD DALDIWGQGT LVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCL VKDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCPA PEAAGAPSVFL FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKF

		NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPCREEMT KNQVSLSCAV KGFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEALH NHYTQKSLSLS PGSGGGGSGG GGSGGGGSAPT SSSTKKTQLQL EHLLLDLQMIL NGINNYKNPKL TEMLTAKFYM PKKATELKHLQ CLEEELKPLEE VLNLAQSKNF HLRPRDLISAIN VIVLELKGSET TFMCEYADET ATIVEFLNRWI TFAQSIISTLT (SEQ ID NO:307)	NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTISK AKGQPREPQV CTLPPSREEMT KNQVSLWCLV KGFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEALH NHYTQKSLSLS PG (SEQ ID NO:308)	NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTISK AKGQPREPQV CTLPPSREEMT KNQVSLWCLV KGFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEALH NHYTQKSLSLS PGK (SEQ ID NO:309)
xhCD8v12 - IL-2m1	DIQMTQSPSSLS ASVGDRVITICR ASQSIYGALNW YQQKPGKAPKL	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGGTFSSY AISWVRQAPG	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGGTFSSY AISWVRQAPG	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGGTFSSY AISWVRQAPG

LIYGASNLQSGV	QGLEWMGGIIP	QGLEWMGGIIP	QGLEWMGGIIP
PSRFSGSGSGTD	GYATANYAQK	GYATANYAQK	GYATANYAQK
FTLTISLQPEDF	FQGRVTITADE	FQGRVTITADE	FQGRVTITADE
ATYYCQSTYTAP	STSTAYMELSS	STSTAYMELSS	STSTAYMELSS
WTFGGGTKVEI	LRSEDTAVYYC	LRSEDTAVYYC	LRSEDTAVYYC
KRTVAAPSVFIF	ARDAAGIRLFA	ARDAAGIRLFA	ARDAAGIRLFA
PPSDEQLKSGTA	DWGQGTLVTV	DWGQGTLVTV	DWGQGTLVTV
SVVCLLNNFYPR	SSASTKGPSVF	SSASTKGPSVF	SSASTKGPSVF
EAKVQWKVDN	PLAPSSKSTSG	PLAPSSKSTSG	PLAPSSKSTSG
ALQSGNSQESVT	GTAALGCLVK	GTAALGCLVK	GTAALGCLVK
EQDSKdstysls	DYFPEPVTVSW	DYFPEPVTVSW	DYFPEPVTVSW
STLTLskadyek	NSGALTSGVHT	NSGALTSGVHT	NSGALTSGVHT
HKVYACEVTHQ	FPAVLQSSGLY	FPAVLQSSGLY	FPAVLQSSGLY
GLSSPVTksfNR	SLSSVVTVPSSS	SLSSVVTVPSSS	SLSSVVTVPSSS
GEC	LGTQTYICNVN	LGTQTYICNVN	LGTQTYICNVN
(SEQ ID NO:310)	HKPSNTKVdk	HKPSNTKVdk	HKPSNTKVdk
	KVEPKSCDKTH	KVEPKSCDKTH	KVEPKSCDKTH
	TCPPCPAPEAA	TCPPCPAPEAA	TCPPCPAPEAA
	GAPSVFLFPPK	GAPSVFLFPPK	GAPSVFLFPPK
	PKDTLMISRTP	PKDTLMISRTP	PKDTLMISRTP
	EVTCVVVDVS	EVTCVVVDVS	EVTCVVVDVS
	HEDPEVKFNW	HEDPEVKFNW	HEDPEVKFNW
	YVDGVEVHNA	YVDGVEVHNA	YVDGVEVHNA
	KTKPREEQYNS	KTKPREEQYNS	KTKPREEQYNS
	TYRVVSVLTVL	TYRVVSVLTVL	TYRVVSVLTVL
	HQDWLNGKEY	HQDWLNGKEY	HQDWLNGKEY
	KCKVSNKALP	KCKVSNKALP	KCKVSNKALP
	APIEKTISKAKG	APIEKTISKAKG	APIEKTISKAKG
	QPREPQVYTLp	QPREPQVCTLP	QPREPQVCTLP
	PCREEMTKNQ	PSREEMTKNQ	PSREEMTKNQ
	VSLSCAVKGFY	VSLWCLVKGF	VSLWCLVKGF
	PSDIAVEWESN	YPSDIAVEWES	YPSDIAVEWES
	GQPENNYKTP	NGQPENNYKT	NGQPENNYKT
	PVLDSDGsFFL	TPPVLDSDGSF	TPPVLDSDGSF
	VSKLTVDKSR	FLYSKLTVDKS	FLYSKLTVDKS

		WQQGNVFSC VMHEALHNHY TQKSLSLSPGS GGGSGGGGS GGGSAPTSSS TKKTQLQLEHL LLDLQMILNGI NNYKNPKLTE MLTAKFYMPK KATELKHLQCL EELKPLEEVL NLAQSKNFHLR PRDLISAINVIV LELKGSETTFM CEYADETATIV EFLNRWITFAQ SIISTLT (SEQ ID NO:311)	RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:312)	RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSPG K (SEQ ID NO:313)
xhCD8v13 - IL-2m1	DIQMTQSPSSLS ASVGDRVITICR ASQEIYGALNW YQQKPGKAPKL LIYGATNLQSGV PSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDF ATYYCQSTYDA PWTFGGGTKVEI KRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTA SVCCLLNNFYPR EAKVQWKVDN ALQSGNSQESVT EQDSKDYSTYSL STLTLSKADYEK HKVYACEVTHQ	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGGTFSSY AISWVRQAPG QGLEWMGGIIP GYATANYAQK FQGRVTITADE STSTAYMELSS LRSEDNAVYYC ARDAAGIRLFA DWGQGTLVTV SSASTKGPSVF PLAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVSW NSGALTSGVHT FPAVLQSSGLY	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGGTFSSY AISWVRQAPG QGLEWMGGIIP GYATANYAQK FQGRVTITADE STSTAYMELSS LRSEDNAVYYC ARDAAGIRLFA DWGQGTLVTV SSASTKGPSVF PLAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVSW NSGALTSGVHT FPAVLQSSGLY	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGGTFSSY AISWVRQAPG QGLEWMGGIIP GYATANYAQK FQGRVTITADE STSTAYMELSS LRSEDNAVYYC ARDAAGIRLFA DWGQGTLVTV SSASTKGPSVF PLAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVSW NSGALTSGVHT FPAVLQSSGLY

	GLSSPVTKSFNR GEC (SEQ ID NO:314)	SLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVN HKPSNTKVVDK KVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAA GAPSVFLFPPK PKDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYNS TYRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKAKG QPREPQVYTLT PCREEMTKNQ VSLSCAVKGFY PSDIAVEWESN GQPENNYKTP PVLDSGDGSFFL VSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPGS GGGGSGGGGS GGGGSAPTSSS TKKTQLQLEHL LLDLQMILNGI NNYKNPKLTE MLTAKFYMPK KATELKHLQCL EEELKPLEEVL NLAQSKNFHLR PRDLISAINVIV	SLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVN HKPSNTKVVDK KVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAA GAPSVFLFPPK PKDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYNS TYRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKAKG QPREPQVCTLP PSREEMTKNQ VSLWCLVKGF YPSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGDGSF FLYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:316)	SLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVN HKPSNTKVVDK KVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAA GAPSVFLFPPK PKDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYNS TYRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKAKG QPREPQVCTLP PSREEMTKNQ VSLWCLVKGF YPSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGDGSF FLYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSPG K (SEQ ID NO:317)
--	--	--	---	--

		LELKGSETTFM CEYADETATIV EFLNRWITFAQ SIISTLT (SEQ ID NO:315)		
xhCD8v14 - IL-2m1	EIVLTQSPGTLSL SPGERATLSCRA SQSVSSNLAWY QQKPGQAPRLLI YGASSRATGIPD RFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAV YYCQQYGSSPPV TFGQGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASV VCLLNNFYPREA KVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQ DSKDSTYLSST LTLISKADYEKH KVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRG EC (SEQ ID NO:318)	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYA MSWVRQAPGK GLEWVSDISYA GGSTAYADSV KGRFTISRDN KNSLYLQMNS LRAEDTAVYY CARSNAYAWD DALDIWGQGT MVTVSSASTK GPSVFPLAPSS KSTSGGTAALG CLVKDYFPEPV TVSWNSGALTS GVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCPPCP APEAAGAPSVF LFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYNSTYRVVS VLTVLHQDWL	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYA MSWVRQAPGK GLEWVSDISYA GGSTAYADSV KGRFTISRDN KNSLYLQMNS LRAEDTAVYY CARSNAYAWD DALDIWGQGT MVTVSSASTK GPSVFPLAPSS KSTSGGTAALG CLVKDYFPEPV TVSWNSGALTS GVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCPPCP APEAAGAPSVF LFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYNSTYRVVS VLTVLHQDWL	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYA MSWVRQAPGK GLEWVSDISYA GGSTAYADSV KGRFTISRDN KNSLYLQMNS LRAEDTAVYY CARSNAYAWD DALDIWGQGT MVTVSSASTK GPSVFPLAPSS KSTSGGTAALG CLVKDYFPEPV TVSWNSGALTS GVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCPPCP APEAAGAPSVF LFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYNSTYRVVS VLTVLHQDWL

		NGKEYKCKVS NKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQ VYTLPPCREEM TKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTPPVLDSD GSFFLVSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEALH NHYTQKSLSLS PGSGGGGSGG GGSGGGGSAPT SSSTKKTQLQL EHLLLDLQMIL NGINNYKNPKL TEMPLAKFYM PKKATELKHLQ CLEEELKPLEE VLNLAQSKNF HLRPRDLISAIN VIVLELKGSET TFMCEYADET ATIVEFLNRWI TFAQSIISTLT (SEQ ID NO:319)	NGKEYKCKVS NKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQ VCTLPPSREEM TKNQVSLWCL VKGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTPPVLDS DGSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSL SPG (SEQ ID NO:320)	NGKEYKCKVS NKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQ VCTLPPSREEM TKNQVSLWCL VKGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTPPVLDS DGSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSL SPGK (SEQ ID NO:321)
xhCD8v15 - IL-2m1	EIVLTQSPGTL SPGERATLSCRA SQSVSSNLAWY QQKPGQAPRLLI YGASSRATGIPD RFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAV YYCQQYGSSPPV	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYA MSWVRQAPGK GLEWVSDISYA GGSTAYADSV KGRFTISRDN KNSLYLQMNS	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYA MSWVRQAPGK GLEWVSDISYA GGSTAYADSV KGRFTISRDN KNSLYLQMNS	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYA MSWVRQAPGK GLEWVSDISYA GGSTAYADSV KGRFTISRDN KNSLYLQMNS

TFGQGTKVEIKR	LRAEDTAVYY	LRAEDTAVYY	LRAEDTAVYY
TVAAPSVFIFPPS	CARSNAYAWD	CARSNAYAWD	CARSNAYAWD
DEQLKSGTASV	DALDIWGQGT	DALDIWGQGT	DALDIWGQGT
VCLLNNFYPREA	LVTVSSASTKG	LVTVSSASTKG	LVTVSSASTKG
KVQWKVDNAL	PSVFPLAPSSKS	PSVFPLAPSSKS	PSVFPLAPSSKS
QSGNSQESVTEQ	TSGGTAALGCL	TSGGTAALGCL	TSGGTAALGCL
DSKDSTYLSST	VKDYFPEPVTV	VKDYFPEPVTV	VKDYFPEPVTV
LTLKADYEKH	SWNSGALTSG	SWNSGALTSG	SWNSGALTSG
KVYACEVTHQG	VHTFPAVLQSS	VHTFPAVLQSS	VHTFPAVLQSS
LSSPVTKSFNRG	GLYSLSSVVTV	GLYSLSSVVTV	GLYSLSSVVTV
EC	PSSSLGTQTYIC	PSSSLGTQTYIC	PSSSLGTQTYIC
(SEQ ID NO:322)	NVNHKPSNTK	NVNHKPSNTK	NVNHKPSNTK
	VDKKVEPKSC	VDKKVEPKSC	VDKKVEPKSC
	DKTHTCPPCPA	DKTHTCPPCPA	DKTHTCPPCPA
	PEAAGAPSVFL	PEAAGAPSVFL	PEAAGAPSVFL
	FPPKPKDTLMI	FPPKPKDTLMI	FPPKPKDTLMI
	SRTPEVTCVVV	SRTPEVTCVVV	SRTPEVTCVVV
	DVSHEDPEVKF	DVSHEDPEVKF	DVSHEDPEVKF
	NWYVDGVEVH	NWYVDGVEVH	NWYVDGVEVH
	NAKTKPREEQ	NAKTKPREEQ	NAKTKPREEQ
	YNSTYRVVSVL	YNSTYRVVSVL	YNSTYRVVSVL
	TVLHQDWLNG	TVLHQDWLNG	TVLHQDWLNG
	KEYKCKVSNK	KEYKCKVSNK	KEYKCKVSNK
	ALPAPIEKTISK	ALPAPIEKTISK	ALPAPIEKTISK
	AKGQPREPQV	AKGQPREPQV	AKGQPREPQV
	YTLPPCREEMT	CTLPPSREEMT	CTLPPSREEMT
	KNQVSLSCAV	KNQVSLWCLV	KNQVSLWCLV
	KGFYPSDIAVE	KGFYPSDIAVE	KGFYPSDIAVE
	WESNGQPENN	WESNGQPENN	WESNGQPENN
	YKTPPVLDSD	YKTPPVLDSD	YKTPPVLDSD
	GSFFLVSKLTV	GSFFLYSKLTV	GSFFLYSKLTV
	DKSRWQQGNV	DKSRWQQGNV	DKSRWQQGNV
	FSCSVMHEALH	FSCSVMHEALH	FSCSVMHEALH
	NHYTQKSLSLS	NHYTQKSLSLS	NHYTQKSLSLS
	PGSGGGGSGG	PG	PGK

		GGSGGGGSAPT SSSTKKTQLQL EHLDDLQ MIL NGINNYKNPKL TEMLTAKFYM PKKATELKHLQ CLEEELKPLEE VLNLAQSKNF HLRPRDLISAIN VIVLELKGSET TFMCEYADET ATIVEFLNRWI TFAQSIISTLT (SEQ ID NO:323)	(SEQ ID NO:324)	(SEQ ID NO:325)
xhCD8v9- IL-2m4	DIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCR ASQEIYGALNW YQQKPGKAPKL LIYGATNLQSGV PSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDF ATYYCQSTYDA PWTFGGGTKVEI KRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDN ALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEK HKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNR GEC (SEQ ID NO:326)	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGGTFSSY AISWVRQAPG QGLEWMGGIIP GAATANYAQK FQGRVTITADE STSTAYMELSS LRSED TAVYYC ARDAAGIRLFA DWGQGTLVTV SSASTKGPSVF PLAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVSW NSGALTSGVHT FPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVN HKPSNTKV DK KVEPKSCDKTH	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGGTFSSY AISWVRQAPG QGLEWMGGIIP GAATANYAQK FQGRVTITADE STSTAYMELSS LRSED TAVYYC ARDAAGIRLFA DWGQGTLVTV SSASTKGPSVF PLAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVSW NSGALTSGVHT FPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVN HKPSNTKV DK KVEPKSCDKTH	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGGTFSSY AISWVRQAPG QGLEWMGGIIP GAATANYAQK FQGRVTITADE STSTAYMELSS LRSED TAVYYC ARDAAGIRLFA DWGQGTLVTV SSASTKGPSVF PLAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVSW NSGALTSGVHT FPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVN HKPSNTKV DK KVEPKSCDKTH

	TCPPCPAPEAA GAPSVFLFPPK PKDTLMIS RTP EVT CVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYNS TYRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKAKG QPREPQVY TLP PCREEMTKNQ VSLSCAVKGFY PSDIAVEWESN GQPENNYK TTP PVLDS DGSFFL VSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPGS GGGGSGGGGS GGGGSAPTSSS TKKTQLQLEEL LLDLQMILNGI NNYKNPKLTE MLTAKFYMPK KATELKHLQCL EEELKPLEEVL NLAQSKNFHLR PRDLISNINVIV LELKGSETTFM CEYADETATIV EFLNRWITFAQ SIISTLT	TCPPCPAPEAA GAPSVFLFPPK PKDTLMIS RTP EVT CVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYNS TYRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKAKG QPREPQVCTLP PSREEMTKNQ VSLWCLVKGF YPSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:328)	TCPPCPAPEAA GAPSVFLFPPK PKDTLMIS RTP EVT CVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYNS TYRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKAKG QPREPQVCTLP PSREEMTKNQ VSLWCLVKGF YPSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSPG K (SEQ ID NO:329)
--	--	---	--

		(SEQ ID NO:327)		
xhCD8v10	EIVLTQSPGTL	EVQLVESGGGL	EVQLVESGGGL	EVQLVESGGGL
- IL-2m4	SPGERATLSCRA	VQPGGSLRLSC	VQPGGSLRLSC	VQPGGSLRLSC
	SQSVSSNLAWY	AASGFTFSSYA	AASGFTFSSYA	AASGFTFSSYA
	QQKPGQAPRLLI	MSWVRQAPGK	MSWVRQAPGK	MSWVRQAPGK
	YGASSRATGIPD	GLEWVSDITYA	GLEWVSDITYA	GLEWVSDITYA
	RFSGSGSGTDFT	GGSTAYADSV	GGSTAYADSV	GGSTAYADSV
	LTISRLEPEDFAV	KGRFTISRDNA	KGRFTISRDNA	KGRFTISRDNA
	YYCQQYGSSPPV	KNSLYLQMNS	KNSLYLQMNS	KNSLYLQMNS
	TFGQGTKVEIKR	LRAEDTAVYY	LRAEDTAVYY	LRAEDTAVYY
	TVAAPSVFIFPPS	CARSNAYAWD	CARSNAYAWD	CARSNAYAWD
	DEQLKSGTASV	DALDIWGQGT	DALDIWGQGT	DALDIWGQGT
	VCLLNNFYPREA	MVTVSSASTK	MVTVSSASTK	MVTVSSASTK
	KVQWKVDNAL	GPSVFPLAPSS	GPSVFPLAPSS	GPSVFPLAPSS
	QSGNSQESVTEQ	KSTSGGTAALG	KSTSGGTAALG	KSTSGGTAALG
	DSKDSTYLSST	CLVKDYFPEPV	CLVKDYFPEPV	CLVKDYFPEPV
	LTLISKADYEKH	TVSWNSGALTS	TVSWNSGALTS	TVSWNSGALTS
	KVYACEVTHQG	GVHTFPAVLQS	GVHTFPAVLQS	GVHTFPAVLQS
	LSSPVTKSFNRG	SGLYSLSSVVT	SGLYSLSSVVT	SGLYSLSSVVT
	EC	VPSSSLGTQTYI	VPSSSLGTQTYI	VPSSSLGTQTYI
	(SEQ ID NO:330)	CNVNHNKPSNT	CNVNHNKPSNT	CNVNHNKPSNT
		KVDKKVEPKS	KVDKKVEPKS	KVDKKVEPKS
		CDKTHTCPPCP	CDKTHTCPPCP	CDKTHTCPPCP
		APEAAGAPSVF	APEAAGAPSVF	APEAAGAPSVF
		LFPPKPKDTLM	LFPPKPKDTLM	LFPPKPKDTLM
		ISRTPEVTCVV	ISRTPEVTCVV	ISRTPEVTCVV
		VDVSHEDPEV	VDVSHEDPEV	VDVSHEDPEV
		KFNWYVDGVE	KFNWYVDGVE	KFNWYVDGVE
		VHNAKTKPRE	VHNAKTKPRE	VHNAKTKPRE
		EQYNSTYRVVS	EQYNSTYRVVS	EQYNSTYRVVS
		VLTVLHQDWL	VLTVLHQDWL	VLTVLHQDWL
		NGKEYKCKVS	NGKEYKCKVS	NGKEYKCKVS
		NKALPAPIEKTI	NKALPAPIEKTI	NKALPAPIEKTI
		SKAKGQPREPQ	SKAKGQPREPQ	SKAKGQPREPQ
		VYTLPPCREEM	VYTLPPCREEM	VYTLPPCREEM

		TKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTPPVLDSD GSFFLVSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEALH NHYTQKSLSLS PGSGGGGSGG GGSGGGGSAPT SSSTKKTQLQL EELLLDLQMIL NGINNYKNPKL TEMLTAKFYM PKKATELKHLQ CLEEELKPLEE VLNLAQSKNF HLRPRDLISNIN VIVLELKGSET TFMCEYADET ATIVEFLNRWI TFAQSIISTLT (SEQ ID NO:331)	TKNQVSLWCL VKGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTPPVLDS DGSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSL SPG (SEQ ID NO:332)	TKNQVSLWCL VKGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTPPVLDS DGSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSL SPGK (SEQ ID NO:333)
xhCD8v11 - IL-2m4	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCRA SQSVSSNLAWY QQKPGQAPRLLI YGASSRATGIPD RFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAV YYCQYQGSSPPV TFGQGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASV VCLLNNFYPREA	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYA MSWVRQAPGK GLEWVSDITYA GGSTAYADSV KGRFTISRDN KNSLYLQMNS LRAEDTAVYY CARSNAYAWD DALDIWGQGT LVTVSSASTKG	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYA MSWVRQAPGK GLEWVSDITYA GGSTAYADSV KGRFTISRDN KNSLYLQMNS LRAEDTAVYY CARSNAYAWD DALDIWGQGT LVTVSSASTKG	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYA MSWVRQAPGK GLEWVSDITYA GGSTAYADSV KGRFTISRDN KNSLYLQMNS LRAEDTAVYY CARSNAYAWD DALDIWGQGT LVTVSSASTKG

	KVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQ DSKDSTYLSST LTLKADYEH KVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRG EC (SEQ ID NO:334)	PSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCL VKDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCPA PEAAGAPSVFL FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPCREEMT KNQVSLSCAV KGFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTPPVLDSD GSFFLVSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEALH NHYTQKSLSLS PGSGGGGSGG GGSGGGGSAPT SSSTKKTQLQL EELLLDLQMIL NGINNYKNPKL	PSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCL VKDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCPA PEAAGAPSVFL FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTISK AKGQPREPQV CTLPPSREEMT KNQVSLWCLV KGFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTPPVLDSD GSFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEALH NHYTQKSLSLS PG (SEQ ID NO:336)	PSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCL VKDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCPA PEAAGAPSVFL FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTISK AKGQPREPQV CTLPPSREEMT KNQVSLWCLV KGFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTPPVLDSD GSFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEALH NHYTQKSLSLS PGK (SEQ ID NO:337)
--	--	---	--	---

		TEMLTAKFYM PKKATELKHLQ CLEEELKPLEE VLNLAQSKNF HLRPRDLISNIN VIVLELKGSET TFMCEYADET ATIVEFLNRWI TFAQSIISTLT (SEQ ID NO:335)		
xhCD8v12 - IL-2m4	DIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCR ASQSIYGALNW YQKPGKAPKL LIYGASNLQSGV PSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDF ATYYCQSTYTAP WTFGGGTKVEI KRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTA SVVCLLNIFYPR EAKVQWKVDN ALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEK HKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNR GEC (SEQ ID NO:338)	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGGTFSSY AISWVRQAPG QGLEWMGGIIP GYATANYAQK FQGRVTITADE STSTAYMELSS LRSEDNAVYYC ARDAAGIRLFA DWGQGTLVTV SSASTKGPSVF PLAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVSW NSGALTSGVHT FPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVN HKPSNTKVDK KVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAA GAPSVFLFPPK PKDTLMIS RTP EVTCVVVDVS	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGGTFSSY AISWVRQAPG QGLEWMGGIIP GYATANYAQK FQGRVTITADE STSTAYMELSS LRSEDNAVYYC ARDAAGIRLFA DWGQGTLVTV SSASTKGPSVF PLAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVSW NSGALTSGVHT FPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVN HKPSNTKVDK KVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAA GAPSVFLFPPK PKDTLMIS RTP EVTCVVVDVS	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGGTFSSY AISWVRQAPG QGLEWMGGIIP GYATANYAQK FQGRVTITADE STSTAYMELSS LRSEDNAVYYC ARDAAGIRLFA DWGQGTLVTV SSASTKGPSVF PLAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVSW NSGALTSGVHT FPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVN HKPSNTKVDK KVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAA GAPSVFLFPPK PKDTLMIS RTP EVTCVVVDVS

		HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYNS TYRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKAKG QPREPQVYTLF PCREEMTKNQ VSLSCAVKGFY PSDIAVEWESN GQPENNYKTP PVLDSGDSFFL VSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNYH TQKSLSLSPGS GGGGSGGGGS GGGGSAPTSSS TKKTQLQLEEL LLDLQMILNGI NNYKNPKLTE MLTAKFYMPK KATELKHLQCL EEELKPLEEVL NLAQSKNFHLR PRDLISNINVIV LELKGSETTFM CEYADETATIV EFLNRWITFAQ SIISTLT (SEQ ID NO:339)	HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYNS TYRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKAKG QPREPQVCTLP PSREEMTKNQ VSLWCLVKGF YPSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGDSF FLYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNNH YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:340)	HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYNS TYRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKAKG QPREPQVCTLP PSREEMTKNQ VSLWCLVKGF YPSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGDSF FLYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNNH YTQKSLSLSPG K (SEQ ID NO:341)
xhCD8v13 - IL-2m4	DIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCR ASQEIYGALNW	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGGTFSSY	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGGTFSSY	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKVS CKASGGTFSSY

YQQKPGKAPKL	AISWVRQAPG	AISWVRQAPG	AISWVRQAPG
LIYGATNLQSGV	QGLEWMGGIIP	QGLEWMGGIIP	QGLEWMGGIIP
PSRFSGSGSGTD	GYATANYAQK	GYATANYAQK	GYATANYAQK
FTLTISSLQPEDF	FQGRVTITADE	FQGRVTITADE	FQGRVTITADE
ATYYCQSTYDA	STSTAYMELSS	STSTAYMELSS	STSTAYMELSS
PWTFGGGTKVEI	LRSEDTAVYYC	LRSEDTAVYYC	LRSEDTAVYYC
KRTVAAPSVFIF	ARDAAGIRLFA	ARDAAGIRLFA	ARDAAGIRLFA
PPSDEQLKSGTA	DWGQGLVTV	DWGQGLVTV	DWGQGLVTV
SVVCLLNNFYPR	SSASTKGPSVF	SSASTKGPSVF	SSASTKGPSVF
EAKVQWKVDN	PLAPSSKSTSG	PLAPSSKSTSG	PLAPSSKSTSG
ALQSGNSQESVT	GTAALGCLVK	GTAALGCLVK	GTAALGCLVK
EQDSKDYSL	DYFPEPVTVSW	DYFPEPVTVSW	DYFPEPVTVSW
STLTLKADYEK	NSGALTSKVHT	NSGALTSKVHT	NSGALTSKVHT
HKVYACEVTHQ	FPAVLQSSGLY	FPAVLQSSGLY	FPAVLQSSGLY
GLSSPVTKSFNR	SLSSVTVPSSS	SLSSVTVPSSS	SLSSVTVPSSS
GEC	LGTQTYICNVN	LGTQTYICNVN	LGTQTYICNVN
(SEQ ID NO:342)	HKPSNTKVDK	HKPSNTKVDK	HKPSNTKVDK
	KVEPKSCDKTH	KVEPKSCDKTH	KVEPKSCDKTH
	TCPPCPAPEAA	TCPPCPAPEAA	TCPPCPAPEAA
	GAPSVFLFPPK	GAPSVFLFPPK	GAPSVFLFPPK
	PKDTLMISRTP	PKDTLMISRTP	PKDTLMISRTP
	EVTCVVVDVS	EVTCVVVDVS	EVTCVVVDVS
	HEDPEVKFNW	HEDPEVKFNW	HEDPEVKFNW
	YVDGVEVHNA	YVDGVEVHNA	YVDGVEVHNA
	KTKPREEQYNS	KTKPREEQYNS	KTKPREEQYNS
	TYRVVSVLTVL	TYRVVSVLTVL	TYRVVSVLTVL
	HQDWLNGKEY	HQDWLNGKEY	HQDWLNGKEY
	KCKVSNKALP	KCKVSNKALP	KCKVSNKALP
	APIEKTISKAKG	APIEKTISKAKG	APIEKTISKAKG
	QPREPQVCTLP	QPREPQVCTLP	QPREPQVCTLP
	PCREEMTKNQ	PSREEMTKNQ	PSREEMTKNQ
	VSLSCAVKGFY	VSLWCLVKGF	VSLWCLVKGF
	PSDIAVEWESN	YPSDIAVEWES	YPSDIAVEWES
	GQPENNYKTP	NGQPENNYKT	NGQPENNYKT
	PVLDSGDSF	TPPVLDSGDSF	TPPVLDSGDSF

		VSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPGS GGGGSGGGGS GGGGSAPTSSS TKKTQLQLEEL LLDLQMILNGI NNYKNPKLTE MLTAKFYMPK KATELKHLQCL EELKPLEEVL NLAQSKNFHLR PRDLISNINVIV LELKGSETTFM CEYADETATIV EFLNRWITFAQ SIISTLT (SEQ ID NO:343)	FLYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:344)	FLYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSPG K (SEQ ID NO:345)
xhCD8v14 - IL-2m4	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCRA SQSVSSNLAWY QQKPGQAPRLLI YGASSRATGIPD RFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAV YYCQQYGSSPPV TFGQGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASV VCLLNNFYPREA KVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQ DSKDSTYLSST LTLISKADYEKH	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYA MSWVRQAPGK GLEWVSDISYA GGSTAYADSV KGRFTISRDN KNSLYLQMNS LRAEDTAVYY CARSNAYAWD DALDIWGQGT MVTVSSASTK GPSVFPLAPSS KSTSGGTAALG CLVKDYFPEPV TVSWNSGALTS	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYA MSWVRQAPGK GLEWVSDISYA GGSTAYADSV KGRFTISRDN KNSLYLQMNS LRAEDTAVYY CARSNAYAWD DALDIWGQGT MVTVSSASTK GPSVFPLAPSS KSTSGGTAALG CLVKDYFPEPV TVSWNSGALTS	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYA MSWVRQAPGK GLEWVSDISYA GGSTAYADSV KGRFTISRDN KNSLYLQMNS LRAEDTAVYY CARSNAYAWD DALDIWGQGT MVTVSSASTK GPSVFPLAPSS KSTSGGTAALG CLVKDYFPEPV TVSWNSGALTS

	KVVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRG EC (SEQ ID NO:346)	GVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCPPCP APEAAGAPSVF LFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQ VYTLPPCREEM TKNQVSLSCAV KGFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS GSFFLVSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEALH NHYTQKSLSLS PGSGGGGSGG GGSGGGGSAPT SSSTKKTQLQL EELLLDLQMIL NGINNYKNPKL TEMLTAKFYM PKKATELKHLQ CLEEELKPLEE VLNLAQSKNF	GVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCPPCP APEAAGAPSVF LFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQ VCTLPPSREEM TKNQVSLWCL VKGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSL SPG (SEQ ID NO:348)	GVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCPPCP APEAAGAPSVF LFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQ VCTLPPSREEM TKNQVSLWCL VKGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSL SPGK (SEQ ID NO:349)
--	---	--	--	---

		HLRPRDLISNIN VIVLELKGSET TFMCEYADET ATIVEFLNRWI TFAQSIISTLT (SEQ ID NO:347)		
xhCD8v15 - IL-2m4	EIVLTQSPGTLSL SPGERATLSCRA SQSVSSNLAWY QQKPGQAPRLLI YGASSRATGIPD RFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAV YYCQQYGSSPPV TFGQGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASV VCLLNFPYPREA KVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQ DSKDSTYLSST LTLISKADYEKH KVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRG EC (SEQ ID NO:350)	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYA MSWVRQAPGK GLEWVSDISYA GGSTAYADSV KGRFTISRDN KNSLYLQMNS LRAEDTAVYY CARSNAYAWD DALDIWGQGT LVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCL VKDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCPA PEAAGAPSVFL FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSVL	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYA MSWVRQAPGK GLEWVSDISYA GGSTAYADSV KGRFTISRDN KNSLYLQMNS LRAEDTAVYY CARSNAYAWD DALDIWGQGT LVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCL VKDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCPA PEAAGAPSVFL FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSVL	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYA MSWVRQAPGK GLEWVSDISYA GGSTAYADSV KGRFTISRDN KNSLYLQMNS LRAEDTAVYY CARSNAYAWD DALDIWGQGT LVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCL VKDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCPA PEAAGAPSVFL FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSVL

	TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPCREEMT KNQVSLSCAV KGFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTPPVLDSD GSFFLVSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEALH NHYTQKSLSLS PGSGGGGSGG GGSGGGGSAPT SSSTKKTQLQL EELLLDLQMIL NGINNYKNPKL TEMLTAKFYM PKKATELKHLQ CLEEELKPLEE VLNLAQSKNF HLRPRDLISNIN VIVLELKGSET TFMCEYADET ATIVEFLNRWI TFAQSIISTLT (SEQ ID NO:351)	TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTISK AKGQPREPQV CTLPPSREEMT KNQVSLWCLV KGFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTPPVLDSD GSFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEALH NHYTQKSLSLS PG (SEQ ID NO:352)	TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTISK AKGQPREPQV CTLPPSREEMT KNQVSLWCLV KGFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTPPVLDSD GSFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEALH NHYTQKSLSLS PGK (SEQ ID NO:353)
--	---	--	---

Получение антител и слитых белков

[143] Кроме того, изобретение относится к полинуклеотидам (*например*, выделенным полинуклеотидам), кодирующим любые антитела, фрагменты антител и слитые белки, описанные в настоящем описании. Кроме того, изобретение относится к векторам (*например*, экспрессионным векторам), кодирующим любые антитела, фрагменты антител и слитые белки, описанные в настоящем описании.

[144] Кроме того, изобретение относится к клеткам-хозяевам (*например*, выделенным клеткам-хозяевам или линиям клеток-хозяев), содержащим любой из

полинуклеотидов или векторов, описанных в настоящем описании.

[145] Кроме того, изобретение относится к способам получения любых антител, фрагментов антител и слитых белков, описанных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления способы включают культивирование клетки-хозяина по настоящему изобретению в условиях, подходящих для продукции антитела, фрагмента антитела или слитого белка. В некоторых вариантах осуществления способы дополнительно включают выделение антитела, фрагмента антитела или слитого белка.

[146] Антитела, фрагменты антител и слитые белки могут быть получены с использованием рекомбинантных способов, *например*, как показано *ниже*. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая антитело/слитый белок, может быть выделена и встроена в реплицируемый вектор для дальнейшего клонирования или экспрессии. ДНК, кодирующая антитело/слитый белок, может быть легко выделена и секвенирована с использованием обычных процедур (*например*, с помощью олигонуклеотидных зондов, способных специфически связываться с генами, кодирующими тяжелые и легкие цепи антитела/фрагмента). В данной области техники известно много векторов; векторные компоненты обычно включают, но не ограничиваются ими, одну или более из следующих: сигнальную последовательность, точку начала репликации, один или более маркерных генов, энхансерный элемент, промотор и последовательность терминации транскрипции. Подходящими клетками-хозяевами для клонирования или экспрессии ДНК в векторах по настоящему изобретению являются клетки прокариот, дрожжей или высших эукариот. При использовании рекомбинантных методов антитело/слитый белок можно продуцировать внутриклеточно, в периплазматическом пространстве или непосредственно секретировать в среду. Если антитело/фрагмент получают внутриклеточно, частицы дебриса, либо клетки-хозяева, либо лизированные фрагменты, удаляют, например, центрифугированием или ультрафильтрацией. Когда антитело/слитый белок секретруется в среду, супернатанты из таких систем экспрессии обычно сначала концентрируют с использованием имеющегося в продаже фильтра для концентрирования белка.

Фармацевтические композиции

[147] В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению является частью фармацевтической композиции, *например*, включающей слитый белок и один или более фармацевтически приемлемых носителей. Фармацевтические композиции и составы, описанные в настоящем описании, могут быть получены путем смешивания активных ингредиентов (таких как слитый белок), имеющих желаемую степень чистоты, с одним или более необязательными фармацевтически приемлемыми носителями (*Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16-е издание, Osol, A. Ed. (1980)), в виде лиофилизированных составов или водных растворов. Фармацевтически приемлемые носители обычно нетоксичны для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и включают, но не ограничиваются ими: буферы, такие как фосфатный, цитратный и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты; низкомолекулярные (менее примерно 10 остатков)

полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (*например*, комплексы Zn-белок); и/или неионогенные поверхностно-активные вещества, такие как полиэтиленгликоль (ПЭГ). В некоторых вариантах осуществления слитый белок по настоящему изобретению лиофилизирован.

Способы и наборы

[148] Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к способам лечения рака или хронической инфекции. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение пациенту эффективного количества слитого белка или антитела или фармацевтической композиции, содержащей слитый белок или антитело и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления у пациента, нуждающегося в указанном лечении, диагностировано онкологическое заболевание.

[149] В некоторых вариантах осуществления слитый белок или композицию вводят в комбинации с терапией Т-клетками, противораковой вакциной, химиотерапевтическим средством или ингибитором контрольной точки иммунного ответа (ICI). В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтический агент представляет собой ингибитор киназы, антимераболит, цитотоксин или цитостатик, антигормональный агент, химиотерапевтический агент на основе платины, ингибитор метилтрансферазы, антитело или противораковый пептид. В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки иммунного ответа нацелен на PD-L1, PD-1, CTLA-4, CEACAM, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, CD276, VTCN1, HVEM, KIR, A2AR, MHC класса I, MHC класса II, GALS, аденозин, TGFR, OX40, CD137, CD40, CD47, TREM1, TREM2, HLA-G, CCR4, CCR8, CD39, CD73, IDO, CSF1R, TIM-3, BTLA, VISTA, LAG-3, TIGIT, IDO, MICA/B, LILRB4, SIGLEC-15 или аргиназу, включая, помимо прочего, ингибитор PD-1 (*например*, антитело к PD-1), PD-L1 (*например*, антитело к PD-L1), или CTLA-4 (*например*, антитело к CTLA-4).

[150] Примеры антител к PD-1 включают, помимо прочего, пембролизумаб, ниволумаб, цемиплимаб, зимберелимаб (Arcus), сасанлимаб (Pfizer), JTX-4014, спартализумаб (PDR001; Novartis), камрелизумаб (SHR1210; Jiangsu HengRui Medicine), синтилимаб (IBI308; Innovent и Eli Lilly), тислелизумаб (BGB-A317), торипалимаб (JS 001), достарлимаб (TSR-042, WBP-285), INCMGA00012 (MGA012), AMP-224 и AMP-514 (MEDI0680). Примеры антител к PD-L1 включают, без ограничения, атезолизумаб, авелумаб, дурвалумаб, KN035 и СК-301 (Checkpoint Therapeutics). Примеры ингибиторов PD-L1 (не основанных на антителах) включают, без ограничения, AUNP12, CA-170 и BMS-986189. Примеры антител к CTLA-4 включают, без ограничения, ипилимумаб, тремелимумаб, BMS-986218, BMS-986249, BMS-986288, HBM4003, ONC-392, KN044,

ADG116, ADU-1604, AGEN1181, AGEN1884, MK-1308 и REGN4659.

[151] Примеры Т-клеточной терапии включают, помимо прочего, терапию на основе CD4⁺ или CD8⁺ Т-клеток, адаптивную терапию Т-клетками, терапию Т-клетками на основе химерного антигенного рецептора (CAR), терапию на основе инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (TIL), терапию аутологичными Т-клетками, аллогенную Т-клеточную терапию и терапию Т-клетками, несущими трансдуцированный TCR. Примеры противораковых вакцин включают, без ограничения, вакцины на основе дендритных клеток, вакцины, содержащие один или более полинуклеотидов, кодирующих один или более раковых антигенов и вакцины, содержащие один или более раковых антигенных пептидов.

[152] Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к способам размножения Т-клеток, например, *ex vivo*. В некоторых вариантах осуществления способы включают приведение в контакт одной или более Т-клеток, *например, ex vivo*, с эффективным количеством антитела или слитого белка по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления одна или более Т-клеток представляют собой инфильтрирующие опухоль лимфоциты (TIL). В некоторых вариантах осуществления способы дополнительно включают выделение лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль (TIL), из опухоли или образца опухоли.

[153] Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к наборам или промышленным изделиям, содержащим любое из антител, фрагментов антител или слитых белков, раскрытых в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления промышленное изделие содержит контейнер и этикетку или вкладыш в упаковку на контейнере или связанный с ним. В некоторых вариантах осуществления набор или изделие производства дополнительно содержит инструкции по применению антитела или слитого белка в соответствии с любым из способов, раскрытых в настоящем описании, *например, для лечения рака или хронической инфекции или размножения Т-клеток, например, ex vivo*.

[154] Подходящие контейнеры включают, например, бутылки, флаконы, шприцы и т.д. Контейнеры могут быть изготовлены из различных материалов, таких как стекло или пластик. Контейнер содержит композицию, которая эффективна для лечения состояния и может иметь стерильный порт доступа (например, контейнер может представлять собой пакет для внутривенного раствора или флакон с пробкой, прокалываемой иглой для подкожных инъекций). По меньшей мере один активный агент в композиции представляет собой антитело или слитый белок, как описано в настоящем описании. На этикетке или листке-вкладыше указано, что композиция используется для лечения конкретного состояния. Этикетка или листок-вкладыш будут дополнительно содержать инструкции по введению композиции антитела или слитого белка субъекту. Предложены также готовые изделия и наборы, включающие описанные в настоящем описании комбинированные способы лечения.

[155] Вкладыш в упаковку относится к инструкциям, обычно включаемым в коммерческие упаковки терапевтических продуктов, которые содержат информацию о показаниях, использовании, дозировке, введении, противопоказаниях и/или

предупреждениях относительно использования таких терапевтических продуктов.

[156] Кроме того, изделие может дополнительно содержать второй контейнер, содержащий фармацевтически приемлемый буфер, такой как бактериостатическая вода для инъекций (BWFI), фосфатно-солевой буфер, раствор Рингера и раствор декстрозы. Кроме того, он может включать другие материалы, рассматриваемые с коммерческой точки зрения и с точки зрения пользователя, включая другие буферы, разбавители, фильтры, иглы и шприцы.

ПРИМЕРЫ

Пример 1: Получение и характеристика антител, которые связываются с CD8ab человека

Материалы и способы

Методы рекомбинантной ДНК

[157] Методы, включающие манипуляции с рекомбинантной ДНК, были ранее описаны в Sambrook et al., *Molecular cloning: A laboratory manual*; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989. Все реагенты использовали в соответствии с инструкциями производителя. Последовательности ДНК определяли двухцепочечным секвенированием.

Генный синтез

[158] Желаемые генные сегменты были либо созданы с помощью ПЦР с использованием соответствующих матриц, либо синтезированы в Genewiz (Саут-Плейнфилд, Нью-Джерси), Integrated DNA Technologies (Коралвилл, Айова) или GeneScript (Пискатауэй, Нью-Джерси) из синтетических олигонуклеотидов. Сегменты гена клонировали в векторы экспрессии, используя либо метод Gibson Assembly®, либо рестрикционный гидролизат с последующим лигированием. ДНК очищали от трансформированных бактерий и определяли концентрацию с помощью спектроскопии в УФ-видимой области. Секвенирование ДНК использовали для подтверждения последовательностей ДНК субклонированных фрагментов гена.

Выделение антител

[159] Антитела, связывающиеся с антигенами CD8, получали либо с помощью гуманизации мышинных антител, либо с помощью системы фагового дисплея *in vitro*.

[160] Для гуманизации комплементарно-определяющие области (CDR) остатков мыши трансплантировали в выбранный человеческий каркас (каркасы), которые демонстрируют близкое сходство последовательностей с родительским каркасом мыши и хорошую стабильность. Полученные CDR-привитые антитела были дополнительно гуманизированы для удаления любых ненужных нечеловеческих мутаций.

[161] Для метода дисплея *in vitro* неиммунную человеческую одноцепочечную фаговую библиотеку Fv, полученную из наивных В-клеток, панорамировали в течение 5-6 циклов для выделения антител к антигенам CD8. После пэннинга были идентифицированы отдельные фаговые клоны, которые демонстрировали специфическое связывание с антигеном-мишенью по сравнению с неспецифическими антигенами в ИФА. Фрагменты

ДНК V-доменов тяжелой и легкой цепей специфических связующих последовательно клонировали и секвенировали. Родительские клоны хhCD8v6 и хhCD8v7 выделяли из фаговой библиотеки человеческих антител. хhCD8v1 представлял собой мышинное моноклональное антитело к CD8b, а хhCD8v1.1 представлял собой гуманизованную версию хCD8v1.

Созревание аффинности антител человека *in vitro*

[162] Библиотеку созревания аффинности получали либо путем перетасовки легкой цепи родительского клона с легкой цепью, выделенной из здоровой донорской наивной В-клетки, либо путем мутации выбранных остатков CDR. Полученную библиотеку отображали как scFv на поверхности либо фага, либо дрожжей. Проводили от трех до пяти раундов скрининга с уменьшением концентрации растворимого антигена CD8. Полученные отобранные клоны впоследствии клонировали и секвенировали. хhCD8v6 и хhCD8v7 являются клонами, полученными в результате созревания аффинности. хhCD8v2, хhCD8v3, хhCD8v4 и хhCD8v5 представляют собой антитела с созревшей аффинностью, полученные из хhCD8v1.1.

Клонирование конструкций антител

[163] Общая информация о нуклеотидных последовательностях легкой и тяжелой цепей иммуноглобулинов человека приведена в: IMGT® (международная информационная система ImMunoGeneTics®) от Lefranc et al. IMGT®, the international ImMunoGeneTics information system® 25 years on. *Nucleic Acids Res.* 2015 Jan;43. Фрагменты ДНК V-доменов тяжелой и легкой цепей вставляли в рамку считывания в вектор экспрессии млекопитающего, содержащий IgG1 человека и СК.

Получение антител

[164] Конструкции с проверенной последовательностью ДНК, содержащие тяжелую и легкую цепи антитела, трансфицировали в клетки Expi 293 с использованием полиэтиленимина (PEI). Через 5 дней культивирования супернатант собирали и инкубировали со смолой, содержащей белок А, в течение >2 часов при комнатной температуре. Затем смолу многократно использовали с PBS, а затем антитело элюировали со смолы 20 мМ цитратом натрия, pH 3,6. Элюированные фракции объединяли и очищали с помощью эксклюзионной хроматографии (Superdex 200, GE Healthcare) в PBS.

Определение аффинности связывания с помощью поверхностного плазмонного резонанса (SPR) для антигена CD8ab

[165] Был получен рекомбинантный белок CD8ab человека. Рекомбинантный CD8ab, состоящий из внеклеточных доменов CD8a, слитых с кислой лейциновой застежкой и 8-кратной гистидиновой меткой и CD8b, слитых с основной лейциновой застежкой и стрептококковой меткой II, экспрессировали в секретлируемой форме из клеток HEK293 и очищали с помощью ИМАС, эксклюзионной и аффинной колоночной хроматографии со стрептавидином. Аффинность антител к CD8 при 37 °С определяли методом поверхностного плазмонного резонанса с использованием Biacore T200 (Cytiva). Сначала антитела были захвачены на поверхности анти-hIgG-Fc CM5 или CM4, приготовленной с

использованием набора для захвата человеческих антител (Cytiva). Растворимый антиген CD8ab, разведенный в буфере HBS-EP+ в четырех или более концентрациях, охватывающих от $0,1\times$ до $10\times$ KD, пропускали через захваченные поверхностью mAb к CD8 в течение 1-2 минут. Диссоциацию контролировали в течение 5-10 минут и поверхность анти-hIgG-Fc регенерировали с помощью 3M MgCl₂ перед повторным захватом mAb в каждом последующем цикле. Данные связывания анализировали с помощью оценочного программного обеспечения Biacore T200 версии 3.2 с использованием модели связывания 1:1.

Результаты

[166] В Таблице 1 показана кинетика связывания изолированных анти-CD8ab-антител (от xhCD8v1 до xhCD8v7) с рекомбинантным белком CD8ab человека, определенная с помощью поверхностного плазмонного резонанса.

Таблица 1.

Название антитела	Тип антитела	k_a (1/MS)	k_d (1/с)	K_D (нМ)
xhCD8v1	Мышь моноклональное	9,22E+05	0,0183	19,8
xhCD8v2	Созревание аффинности на основе гуманизированного xhCD8v1.1	4,83E+05	0,02005	41,6
xhCD8v3	Созревание аффинности на основе гуманизированного xhCD8v1.1	5,24E+05	0,03787	72,3
xhCD8v4	Созревание аффинности на основе гуманизированного xhCD8v1.1	3,60E+05	0,0493	137,0
xhCD8v5	Созревание аффинности на основе гуманизированного xhCD8v1.1	3,57E+05	0,04189	117,4
xhCD8v6	Созревание аффинности на основе клонов библиотеки фагов/дрожжей	1,62E+06	5,71E-04	0,35
xhCD8v7	Созревание аффинности на основе клонов библиотеки фагов/дрожжей	8,55E+05	9,22E-04	1,08

[167] Как показано в Таблице 1, выделенные антитела к CD8ab имели диапазон аффинности от 0,35 нМ до 137 нМ.

[168] Как показано на **Фиг. 1А-1С**, можно выделить три типа антител, которые связываются с антигеном CD8ab (антитела CD8ab): 1) антитела, связывающие только антиген CD8a, но не антиген CD8b (**Фиг. 1А**), эти антитела нацелены на эпитопы, присутствующие на молекуле CD8a; 2) антитела, слабо связывающиеся или не

связывающие антигены CD8a и CD8b (**Фиг. 1В**), эти антитела связывают эпитопы, которые находятся между CD8a и CD8b на гетеродимере CD8ab; 3) антитела, связывающие только антигены CD8b, но не антигены CD8a (**Фиг. 1С**), эти антитела нацелены на эпитопы на молекуле CD8b.

[169] Специфичность связывания антител определяли с помощью ИФА. 2мкг/мл рекомбинатного CD8ab, CD8a (Sino biological), CD8b (Sino biological) и овальбумин (Sigma) или Erb2 (рецептор фактора эпидермального роста человека 2) (Sino biological) в PBS наносили на планшет maxisorp в течение ночи при 4°C. В качестве отрицательного контроля использовали овальбумин или Erb2. Затем планшет блокировали блокирующим раствором казеина (Thermo Scientific) в течение 1 часа при комнатной температуре. После блокировки планшет промывали промывочным буфером (PBS/0,05% Tween-20). Затем на планшет добавляли разведение антител от 30 нМ до 0,0009 нМ в PBS/0,5% BSA/0,05% Tween-20 и инкубировали в течение 1-2 часов при комнатной температуре. После инкубации планшет промывали и инкубировали с конъюгатом античеловеческий IgG (Fc-специфический)-HRP или конъюгатом антимышиный IgG (Fc-специфичный)-HRP (Jackson Immunoresearch) в PBS/0,5% BSA/0,05% Tween-20 для 1 час. Связывание обнаруживали путем добавления в планшет субстрата ТМВ (SeraCare) с последующим останавливающим раствором 0,1 М HCl. Поглощение связывания считывали с помощью считывателя микропланшетов GloMax® Discover (Promega).

[170] На **Фиг. 2А** показаны два примера антител с эпитопами CD8a: хhCD8a1 (клон ОКТ8, Invitrogen) и хhCD8a2 (клон SK1, Biologend), которые оба связывают только CD8a, но не CD8b. Анти-CD8ab-антитела хhCD8v6 и хhCD8v7 связывают эпитопы между CD8a и CD8b и не связываются с CD8a и с CD8b (**Фиг. 2В**). Моноклональное антитело мыши хhCD8v1 и его гуманизированные варианты, от хhCD8v2 до хhCD8v5, хhCD8v9, хhCD8v12 и хhCD8v13, все связываются только с CD8b, но не с CD8a, и, следовательно, связываются с эпитопом на молекуле CD8b (**Фиг. 2С**).

[171] Как показано на **Фиг. 3А-3С**, эпитоп связывания антител к CD8ab определяет их специфичность в отношении CD8⁺ Т-клеток по сравнению с CD8⁺ NK-клетками. Некоторые иммунные клетки, такие как NK-клетки, экспрессируют только гомодимеры CD8aa и будут распознаваться антителами, изображенными на **Фиг. 3А**. Т-клетки обычно экспрессируют как гомодимеры CD8aa, так и гетеродимеры CD8ab и будут распознаваться всеми тремя типами антител, изображенными на **Фиг. 3А-3С**. Однако антитела, изображенные на **Фиг. 3В** и **Фиг. 3С** будут связываться только с CD8⁺ Т-клетками, но не с CD8⁺ NK-клетками, и поэтому их можно использовать для различения этих двух типов клеток.

[172] Связывание антител к CD8ab с клетками определяли с помощью проточной цитометрии. Свежевыделенные МКПК инкубировали с антителами к CD8ab в течение 2 часов при 4 °С. Затем клетки окрашивали антителами к поверхностным маркерам CD3 (UCHL1), CD4 (RPA-T4), CD8a (SK1), CD56 (HCD56) и антителами к Fc человека (HP6017). Антитело к Fc человека использовали для измерения связывания антител к CD8ab,

содержащих hFc. Окрашенные клетки промывали и анализировали с помощью проточной цитометрии, и для обозначения связывания использовали среднюю интенсивность флуоресценции (MFI) окрашивания анти-hFc.

[173] Как показано на **Фиг. 4 и 5**, антитело хhCD8a1, которое распознает эпитоп на CD8a, связывается как с CD8⁺ Т-клетками, так и с CD8⁺ НК-клетками. Антитела к CD8ab, которые распознавали эпитопы CD8ab или эпитопы CD8b, избирательно связывались с CD8⁺ Т-клетками по сравнению с CD8⁺ НК-клетками.

[174] Затем анти-CD8-антитело хhCD8v1 гуманизировали и доводили до зрелой аффинности. Неожиданно, когда хhCD8v1 привили к каркасу человека для получения хhCD8v1.1, связывание с CD8⁺ Т-клетками было утрачено (**Фиг. 6**).

[175] Созревание аффинности хhCD8v1.1 привело к появлению нескольких новых вариантов с повышенным связыванием с CD8⁺ Т-клетками, хhCD8v2, хhCD8v3, хhCD8v4 и хhCD8v5.

Пример 2. Слитые белки, нацеленные на гетеродимер CD8ab, но не на гомодимер CD8aa, избирательно активируют CD8⁺ Т-клетки человека по сравнению с CD8⁺ НК-клетками

Материалы и способы

Клонирование слитых конструкций

[176] Конструкции антител клонировали, как описано в Примере 1. Части IL-2 конструкций клонировали в рамке с тяжелой цепью с использованием 15-мерного линкера (G4S)₃ между С-концом тяжелой цепи IgG и N-концом IL-2. С-концевой остаток лизина тяжелой цепи IgG удаляли после слияния с частью IL-2. Для создания конструкции, в которой один ген IL-2 был слит с полным IgG, необходимо было сконструировать и трансфицировать две плазмиды тяжелой цепи для гетеродимеризации, облегченной модификацией «выступ-во-впадину» в доменах СН3 IgG. Тяжелая цепь «впадины», соединенная с частью IL-2, несет мутации Y349C, T366S, L368A и Y407V в домене СН3, тогда как тяжелая цепь без слияния «выступ» несет мутации S354C и T366W в домене СН3 (нумерация ЕС). Чтобы отменить функцию связывания/эффектора FcγR и предотвратить коактивацию FcR, в домен СН2 каждой из тяжелых цепей IgG вводили следующие мутации: L234A/L235A/G237A (нумерация ЕС). Экспрессия слитых конструкций антитело-IL-2 управлялась промотором CMV, а транскрипция терминировалась синтетической сигнальной последовательностью полиА, расположенной ниже кодирующей последовательности.

Получение слитых белков с полипептидами IL-2

[177] Конструкции, кодирующие слитые белки с полипептидами IL-2, используемые в примерах, получали путем совместной трансфекции экспоненциально растущих клеток Ecx1293 векторами экспрессии млекопитающих с использованием полиэтиленимина (PEI). Супернатанты собирали через 4-5 дней культивирования. Слитые конструкции IL-2 сначала очищали аффинной хроматографией с использованием матрицы белка А. Колонку с белком А уравнивали и промывали фосфатно-солевым буфером (PBS). Слитые

конструкции элюировали 20 мМ цитрата натрия, 50 мМ хлорида натрия, pH 3,6. Элюированные фракции объединяли и подвергали диализу в 10 мМ MES, 25 мМ хлорида натрия, pH 6. Белки дополнительно очищали с использованием ионообменного хроматографа (Mono-S, GE Healthcare) для очистки гетеродимеров по сравнению с гомодимерами. После загрузки белка колонку промывали 10 мМ MES, 25 мМ хлорида натрия, pH 6. Затем белок элюировали увеличивающимся градиентом хлорида натрия от 25 мМ до 500 мМ в 10 мМ MES, pH 6 буфере. Собирали и концентрировали главный пик элюента, соответствующий гетеродимеру. Очищенный белок затем очищали эксклюзионной хроматографией (Superdex 200, GE Healthcare) в PBS.

[178] Концентрацию белка в очищенных слитых конструкциях IL-2 определяли путем измерения оптической плотности (ОП) при 280 нм с использованием молярного коэффициента экстинкции, рассчитанного на основе аминокислотной последовательности. Чистоту, целостность и мономерное состояние слитых конструкций анализировали с помощью SDS-PAGE в присутствии и в отсутствие восстанавливающего агента (5 мМ 1,4-дитиотреитола) и окрашивали кумасси синим (SimpleBlue™ SafeStain, Invitrogen). Гелевую систему NuPAGE® Pre-Cast (Invitrogen) использовали в соответствии с инструкциями производителя (4-20% трис-глициновые гели или 3-12% Bis-Tris). Совокупный состав образцов иммуноконъюгатов анализировали на аналитической эксклюзионной колонке Superdex 200 10/300 GL (GE Healthcare).

Анализы pSTAT5 и Ki-67 для измерения активации слитыми белками IL-2

[179] Активность слитых белков IL-2 определяли в анализе с МКПК человека, измеряя фосфорилирование STAT5. МКПК выделяли из крови здоровых доноров с использованием Ficoll-Paque Plus (GE Healthcare) и лизировали эритроциты с использованием лизирующего буфера ACK (Gibco) в соответствии с инструкциями производителя. Как правило, МКПК ресуспендировали в среде RPMI1640, не содержащей сыворотки, в концентрации 20×10^6 клеток/мл и распределяли на аликвоты в 96-луночные планшеты с U-образным дном (50 мкл на лунку). Слитые белки IL-2 и контрольные белки, такие как рекомбинантный IL-2 человека и контрольные слитые белки, разбавляли до желаемых концентраций и добавляли в лунки (добавляли 50 мкл в качестве двукратного стимула). Инкубацию обычно проводили в течение 30 мин при 37 °C, после чего ее останавливали добавлением 100 мкл предварительно подогретого 8% PFA (конечная 4%) на 10 мин при комнатной температуре. Клетки промывали 3 раза промывочным буфером (2% FBS в PBS). Клетки пермеабелизировали в предварительно охлажденном буфере Phosflow Perm III (BD Biosciences) в соответствии с протоколом производителя и хранили при -20°C в течение ночи. На следующий день клетки промывали 3 раза промывочным буфером и окрашивали в течение 30-45 мин при 4°C антителами к: CD3 (UCHL1, BD Biosciences), CD8α (SK1, Biolegend; RPA-T8, Biolegend), CD4 (RPA-T4, Biolegend) и CD25 (M-A251, Biolegend), перфорину (клон δG9, BD Biosciences), Foxp3 (клон 259D, Biolegend), pSTAT5 [pY694] (клон 47, BD Biosciences). Затем клетки анализировали на проточном цитометре. Данные выражали как процент положительных результатов pSTAT5, а в

некоторых случаях как среднюю интенсивность флуоресценции pSTAT5 (MFI) и импортировали в GraphPad Prism.

[180] Для измерения клеточных изменений, индуцированных слитыми белками IL-2 ниже по пути от pSTAT5, таких как пролиферация, использовали анализ проточной цитометрии для обнаружения экспрессии маркера внутриклеточной пролиферации Ki-67. Вкратце, МКПК выделяли, как описано выше и ресуспендировали в концентрации 1×10^6 клеток/мл в среде RPMI1640 с добавлением сыворотки (10% FBS) в течение 4-6 дней или в среде AIM V без сыворотки (Gibco). Клетки высевали в 96-луночные планшеты с U-образным дном (150 мкл на лунку) и инкубировали с 150 мкл слитых белков IL-2 в течение пяти дней при 37 °C. В последний день сначала проводили окрашивание клеточной поверхности путем добавления антител к: CD3 (UCHT1, BD Biosciences), CD8 α (SK1, Biolegend), CD4 (RPA-T4, Biolegend), CD56 (HCD56, Biolegend) и CD25 (M-A251, Biolegend). Клетки промывали 3 раза промывочным буфером и проводили внутриклеточное окрашивание с использованием набора буферов для окрашивания Foxp3/Transcription Factor (Thermo Fisher Scientific) в соответствии с протоколом производителя. Вкратце, 1x буфер Fix/Perm добавляли к клеткам на 45 минут при 4°C в темноте. Клетки промывали 3 раза 1x буфером Perm Wash и окрашивали в течение 45 мин при 4°C в темноте антителами к внутриклеточным маркерам Ki-67 (B56, BD Biosciences) и Foxp3 (259D, Biolegend). Затем клетки промывали 3 раза буфером Perm Wash и анализировали на проточном цитометре.

Результаты

[181] Слитые белки, содержащие антитела к CD8ab и полипептиды IL-2 по настоящему изобретению, были получены в одном из четырех форматов (форматы A, B, C и D, показанные на **Фиг. 7**).

[182] Слитые белки, содержащие антитела к CD8ab, нацеленные на CD8a, активируют передачу сигналов IL-2R $\beta\gamma$ как на CD8 $^+$ Т-клетках, так и на CD8 $^+$ NK-клетках (**Фиг. 8A**). Слитые белки, содержащие антитела к CD8ab, нацеленные на эпитопы между CD8a и CD8b, предпочтительно активируют передачу сигналов IL-2R $\beta\gamma$ на CD8 $^+$ Т-клетках, а не на CD8 $^+$ NK-клетках (**Фиг. 8B**). Слитые белки, содержащие антитела к CD8ab, нацеленные на CD8b, предпочтительно активируют передачу сигналов IL-2R $\beta\gamma$ на CD8 $^+$ Т-клетках, а не на CD8 $^+$ NK-клетках (**Фиг. 8C**).

[183] Поскольку большая часть NK-клеток может экспрессировать CD8, слитые белки, содержащие антитела к CD8ab, не связывающиеся с эпитопами CD8a, также предпочтительно активировали CD8 $^+$ Т-клетки по сравнению с общими NK-клетками. На **Фиг. 9**, селективность различных слитых белков в отношении CD8 $^+$ Т-клеток и NK-клеток человека определяли путем измерения экспрессии Ki-67, как описано в Примере 1. Для слитого белка, содержащего контрольное антитело и ранее опубликованный вариант IL-2 (IL2v), NK-клетки активировались преимущественно по сравнению с CD8 $^+$ Т-клетками. Для слитого белка, содержащего антитело к CD8ab, нацеленное на CD8a (xhCD8a1), и мутантный полипептид IL-2, IL2m1, Т-клетки CD8 $^+$ активировались преимущественно по сравнению с NK-клетками, однако только с предпочтением ~ 10 x. Гораздо большее

предпочтение в активации CD8⁺ Т-клеток было получено с помощью слитых белков, содержащих антитело к CD8ab, нацеленное на CD8b (xhCD8v1) и мутантный полипептид IL-2, IL2m1 (>1000x).

[184] В дополнительных примерах, показанных на **Фиг. 10А-10С**, сильное предпочтение активации маркера пролиферации Ki-67 на CD8⁺ Т-клетках по сравнению с НК-клетками было продемонстрировано другими антителами к CD8ab, нацеленными на любой из эпитопов между CD8a и CD8b, такими как xhCD8v6 (**Фиг. 10А**) и xhCD8v7 (**Фиг. 10В**), или только эпитопы CD8b, такие как от xhCD8v2 до xhCD8v5 (**Фиг. 10А** и **Фиг. 10С**). Для каждого из протестированных слитых белков, содержащих антитело к CD8ab, предпочтение Т-клеток CD8 по сравнению с НК-клетками было >100x с использованием анализа Ki-67 в качестве считывания.

[185] Подобное предпочтение CD8⁺ Т-клеток по сравнению с НК-клетками также было продемонстрировано с использованием анализа pSTAT5, как показано на **Фиг. 11А-11D**. Активацию STAT5 измеряли в различных субпопуляциях лимфоцитов одного человека-донора МКПК. Слитый белок Ctrl-IL2v неизбирательно активировал CD8⁺ Т-клетки, НК-клетки, Treg-клетки и Т-эффекторные клетки (CD4⁺Foxp3⁻), в то время как слитые белки, содержащие антитело CD8ab по настоящему изобретению и мутантный полипептид IL-2, селективно активировали CD8⁺ Т-клетки по сравнению с НК-клетками не менее чем 100x.

[186] Активацию Ki67 в CD8⁺ Т-клетках и НК-клетках тестировали после инкубации чМКПК от другого донора со слитыми белками, содержащими то же самое антитело xhCD8v1 и один из следующих полипептидов IL-2: IL2m1, IL2m2, IL2m3, IL2m4 или IL2m5. Последовательности полипептида IL-2 показаны в Таблице 7. Как показано на **Фиг. 12**, все пять слитых белков достигли аналогичной активации CD8⁺ Т-клеток (EC₅₀ ~0,01 нМ), преимущественно НК-клеток со следующим ранжированием по EC₅₀ для НК-клеток: IL2m3, IL2m4 < IL2m1, IL2m2 < IL2m5.

[187] На **Фиг. 13А** показана активация STAT5 CD8⁺ Т-клеток и НК-клеток слитыми белками, содержащими одно и то же антитело xhCD8v1 и один из следующих полипептидов IL-2: IL2m1, IL2m2, IL2m6, IL2m7, IL2m8, IL2m9 или IL2m10 (сплошная линия) по сравнению с Ctrl Ab-IL2v (пунктирная линия). Все слитые белки, содержащие xhCD8v1, активировали CD8⁺ Т-клетки с более низкой EC₅₀, чем Ctrl Ab-IL2v и со следующим ранжированием для EC₅₀: IL2m6 < IL2m7 < IL2m1, IL2m8 < IL2m2 < IL2m9, IL2m10. Все слитые белки, содержащие xhCD8v1, активировали НК-клетки с более высокой EC₅₀, чем Ctrl Ab-IL2v. За исключением xhCD8v1-IL2m6 и xhCD8v1-IL2m7, EC₅₀ активации STAT5 для НК-клеток составляла > 100 нМ. На **Фиг. 13В** показана активация STAT5 CD8⁺ Т-клеток и НК-клеток с помощью слитых белков, содержащих антитело xhCD8v11 или xhCD8v12 и один из следующих полипептидов IL-2: IL2m11, IL2m12 или IL2m13 по сравнению с Ctrl Ab-IL2v. Все слитые белки, содержащие либо xhCD8v11, либо xhCD8v12, активировали CD8⁺ Т-клетки с более низкой EC₅₀, чем у НК-клеток и со следующим ранжированием для EC₅₀: IL2m12, IL2m11 < IL2m13. Все слитые белки, содержащие

антитело хhCD8v11 или хhCD8v12, активировали NK-клетки с более высокой EC50, чем Ctrl Ab-IL2v. EC50 активации STAT5 для NK-клеток составляла > 100 нМ.

Пример 3: Влияние формата слитого белка на активацию CD8+ Т-клеток

[188] **На Фиг. 14А** показано влияние формата слитого белка на предпочтительную активацию CD8+ Т-клеток. Активация CD8+ Т-клеток (сплошные линии) и NK-клеток (пунктирные линии) с помощью хhCD8v1-IL2m1 (левая панель) и хhCD8v6-IL2m1 (правая панель) в 3 различных форматах (А, В, С, см. **Фиг. 7**), как указано, в подписе к **Фиг. 14А**, показаны. Хотя все три формата активировали CD8+ Т-клетки преимущественно по сравнению с NK-клетками, формат А показал наибольшее предпочтение по сравнению с форматами В и С. Это говорит о том, что формат А оптимален для слитых белков с антителами к CD8ab, нацеленными на эпитопы между CD8a и CD8b или только CD8b.

[189] **На Фиг. 14В** показано влияние формата слитого белка на предпочтительную активацию CD8+ Т-клеток. Связывание и способность индуцировать Ki67 для хhCD8v6-IL2m1 во всех четырех форматах, показанных на **Фиг. 7** (А, В, С и D). Формат А показал приблизительно в 5 раз более высокую аффинность к связыванию клеток по сравнению с другими форматами; это, вероятно, связано с усилением связывания, обусловленным авидностью, в формате А. Неожиданно, по сравнению с изменением кратности связывания, формат А (черная сплошная линия) показал большую степень индукции Ki67, приблизительно в 20-40 раз, по сравнению с форматами В, С и D (серые пунктирные линии). Результаты в настоящем изобретении показали, что формат А может предпочтительно и непропорционально вызывать более высокий уровень активации Ki-67 по сравнению с другими форматами. **На Фиг. 14С** показаны результаты слитых молекул в формате А и D, оцениваемые по связыванию с CD8+ Т-клетками и индукции Ki67 в CD8+ Т-клетках для широкого диапазона связывающих хhCD8, слитых с IL2m1 и IL2m4. Из-за повышенной авидности, опосредованной двухвалентным связыванием, формат А показал приблизительно 10-кратное снижение EC50 связывания по сравнению с форматом D для всех гибридов. Неожиданно формат А продемонстрировал увеличение эффективности по сравнению с форматом D приблизительно в 200-1000 раз в отношении активации биомаркера пролиферации Ki-67, сверх 10-кратного увеличения, наблюдаемого для связывания. Таким образом, полученные в настоящем изобретении результаты подтверждают, что формат А более эффективно индуцирует пролиферацию в нисходящем направлении и, следовательно, является предпочтительным форматом для слитых белков, содержащих антитела к CD8ab, нацеленные на эпитопы между CD8a и CD8b (**Фиг. 8В**) или эпитопы CD8b (**Фиг. 8С**).

[190] **На Фиг. 15** показана более чем 10-кратная предпочтительная активация Ki67 в CD8 Т-клетках (закрашенные квадраты) по сравнению с NK-клетками (закрашенные треугольники) слитым белком хhCD8v8-IL2m1, содержащим CD8ab-антитело хhCD8v8.

Пример 4. Слитые белки по настоящему изобретению избирательно активируют и обогащают CD8+ Т-клетки в ТП от больных раком человека.

[191] Суспензию отдельных клеток, содержащую ТП, выделяли из биопсии

опухоли, взятой у пациента с почечно-клеточной карциномой, с использованием набора для диссоциации опухолей человека (Miltenyi) в соответствии с протоколом производителя. Суспензии отдельных клеток ресуспендировали в полной среде RPMI и высевали в количестве 1×10^5 клеток/лунку с указанными слитыми белками, всего 300 мкл на лунку. Через пять дней культуры анализировали на экспрессию Ki-67 в различных субпопуляциях и определяли общее количество клеток на лунку с помощью проточной цитометрии.

[192] Определяли способность rhIL-2, Ctrl Ab-IL2v и xhCD8v1-IL2m1 активировать Ki-67 в CD8+ Т-клетках и НК-клетках в изолированных суспензиях одиночных клеток из почечно-клеточной карциномы (**Фиг. 16А**). Результаты показали, что xhCD8v1-IL2m1 более сильно активировал Ki-67 в CD8+ Т-клетках, чем rhIL-2 и Ctrl-IL2v, без активации Ki-67 в НК-клетках. Кроме того, количество CD8+ Т-клеток было предпочтительно увеличено по сравнению с количеством НК-клеток и CD4+ Т-клеток (**Фиг. 16В**).

[193] В дополнение к этим выводам одно из применений слитых белков с нацеливанием антител к CD8ab заключается в усилении селективной экспансии CD8+ Т-клеток в ТП, выделенных от больных раком, с целью повторного введения их пациентам для лечения.

[194] Другим применением является использование белков слияния с антителами к CD8ab в сочетании с терапией ТП или другой терапией Т-клетками, в частности терапией TCR-Т-клетками с Т-клетками, ограниченными МНС класса I.

Пример 5: Тестирование дополнительных антител к CD8, нацеленных на гетеродимер CD8ab, для селективной активации CD8+ Т-клеток человека по сравнению с CD8+ НК-клетками

[195] Дополнительные антитела к CD8ab xhCD8v9-v15 были созданы и протестированы на связывание с рекомбинантным CD8ab, как описано в Примере 1. Эти антитела были разработаны в виде улучшенных версий (*например*, v9, v12 и v13 на основе v2 и v10, v11, v14 и v15 на основе v6), которые (1) уменьшают количество потенциальных аминокислотных проблем (*например*, предполагаемое N-связанное гликозилирование, дезаминирование или сайты кислотного расщепления), потенциально улучшая технологичность; и (2) уменьшают количество несовпадений аминокислот с зародышевой линией человека, потенциально снижая иммуногенность *in vivo* (**Фиг. 18А**). Как отмечалось выше, когда анти-CD8-антитело xhCD8v1 было привито к человеческому каркасу для получения xhCD8v1.1 (как показано на **Фиг. 18В**), связывание с CD8+ Т-клетками было неожиданно утрачено (**Фиг. 6**). Дополнительные замены были необходимы для восстановления связывания в контексте гуманизированного антитела и еще дополнительные замены были введены для уменьшения потенциальных проблем и/или несовпадений с зародышевой линией человека (**Фиг. 18С и 18D**).

[196] Как показано в Таблице 6, все дополнительные антитела xhCD8v9-v15 демонстрировали высокоаффинное связывание с CD8ab.

Таблица 6. Данные биосенсора о связывании нового антитела CD8ab.

	k_a (1/мс)	k_d (1/с)	K_D (М)	K_D (нМ)
--	--------------	-------------	-----------	------------

xhCD8v8	-	-	2,36E-07*	236,0*
xhCD8v9	2,25E+05	2,73E-02	1,21E-07	121,0
xhCD8v10	1,06E+05	3,86E-03	3,64E-08	36,4
xhCD8v11	9,55E+04	3,61E-03	3,78E-08	37,8
xhCD8v12	2,59E+05	2,71E-02	1,05E-07	105,0
xhCD8v13	3,68E+05	3,01E-02	8,18E-08	81,8
xhCD8v14	1,62E+05	8,55E-03	5,29E-08	52,9
xhCD8v15	1,86E+05	1,75E-02	9,43E-08	94,3

*определено подгонкой в равновесном состоянии

[197] Эти антитела также тестировали в виде слитых белков в формате А (как показано на **Фиг. 7**) с мутантным полипептидом IL-2 (IL2m1 или IL2m4) на способность селективно активировать CD8+ Т-клетки человека по сравнению с CD8+ НК-клетками, как описано выше в Примере. 2. Как показано на **Фиг. 17А-17Е**, эти антитела были способны стимулировать селективную активацию CD8+ Т-клеток человека по сравнению с CD8+ НК-клетками при использовании в контексте слитого белка с мутантным полипептидом IL-2.

Пример 6: Оценка термостабильности клонов относящихся к семейству xhCD8v2

Материалы и способы

Анализ принудительной деградации

[198] Для оценки молекулярной стабильности и склонности к агрегации очищенные антитела в концентрации 1 мг/мл в PBS подвергали стрессу при температуре от 4 °С до 64 °С в течение 24 часов. Образцы фильтровали и анализировали с помощью аналитической эксклюзионной хроматографии на Superdex 200 5/150 GL (Cytiva). Процент мономера и площадь мономера рассчитывали с использованием OpenLab ChemStation (Agilent Technologies). Эксперименты проводились в двух повторностях.

Измерения термической стабильности

[199] Для определения характеристик термостабильности измеряли собственную дифференциальную сканирующую флуориметрию (DSF) и статическое светорассеяние (SLS) на приборе UNit (Unchained labs). Очищенные антитела в концентрации 1 мг/мл в PBS подвергали линейному изменению температуры от 25 °С до 95 °С со скоростью 1 °С/мин. УФ-спектры записывали для DSF, а SLS регистрировали при 266 нм. Образцы анализировали в четырехкратной повторности. Температуру плавления (T_m) и температуру агрегации (T_{agg}) анализировали и рассчитывали с помощью программного обеспечения для анализа UNcle V3.2 (Unchained labs).

Результаты

Улучшена термостабильность xhCD8v9, xhCD8v12 и xhCD8v13 по сравнению с исходным xhCD8v2.

[200] Родительское антитело xhCD8v2 и его производные xhCD8v9, xhCD8v12 и xhCD8v13 подвергали испытаниям на принудительную деградацию и термостабильность.

Результаты анализа принудительной деградации, представленные как % извлечения мономера (отношение площади мономера при 64°C к 4°C) для различных антител, показаны в Таблице 7. Антитела хhCD8v9, хhCD8v12 и хhCD8v13 имеют больший % извлечения по сравнению с исходным антителом хhCD8v2. Измерения термостабильности, показанные в Таблице 7, показали, что антитела хhCD8v9, хhCD8v12 и хhCD8v13 имеют более высокие значения T_m и T_{agg} , чем у родительского антитела хhCD8v2. В совокупности эти результаты демонстрируют, что молекулы хhCD8v9, хhCD8v12 и хhCD8v13 обладают улучшенной термостабильностью по сравнению с исходным антителом хhCD8v2 и поэтому хhCD8v9, хhCD8v12 и хhCD8v13 более желательны в качестве терапевтических агентов.

Таблица 7. Результаты испытаний на принудительную деградацию и термостабильность

Конструкция	Принудительная деградация	Термостабильность	
	% Извлечения	T_m (°C)	T_{agg} (°C)
хhCD8v2	6,3	67,4±0,2	66,4±0,4
хhCD8v9	85,5	68,9±0,1	74,7±0,1
хhCD8v12	78,5	68,8±0,2	70,9±0,8
хhCD8v13	76,7	69,2±0,2	73,7±0,3

Пример 7: Оценка нахождения гликанов на исходном хhCD8v6 и его производных
Материалы и способы

Дегликозилирование антител

[201] Для удаления как N-связанного, так и O-связанного гликозилирования 10 мкг антител смешивали с 1 мкл 10X GlycoBuffer 2 (New Engli Biolabs), 1 мкл Protein Deglycosylation Mix II (New Engli Biolabs) и доводили до 10 мкл водой. Реакции инкубировали в течение ночи при комнатной температуре.

ИФА для обнаружения гликозилирования молекулы, родственной P3F4

[202] Наличие N-связанного гликозилирования определяли с помощью ИФА. Вкратце, 25 мкл белка с концентрацией от 0,5 до 10 мкг/мл наносили на 384-луночный планшет Nunc MaxiSorp (Thermo Fisher Scientific) и инкубировали при 37°C в течение 1 часа. Белки удаляли и планшет промывали PBS+0,05% Tween-20 (PBST). Лунки заполняли блокирующим раствором, не содержащим углеводов (Vector Labs) и инкубировали при комнатной температуре в течение 30 мин. Блокирующий раствор удаляли, лунки промывали PBST. Добавляли 25 мкл 5 мкг/мл биотинилированного агглютинина зародышей пшеницы (Vector Labs), который связывается с гликоконъюгатами, в PBS и инкубировали при комнатной температуре в течение 30 минут. Затем его удаляли, а планшет снова промывали PBST. Добавляли 25 мкл реагента для обнаружения VECTASTAIN Elite ABC-HRP Reagent, Peroxidase, RTU (Vector Labs) и инкубировали в течение 30 минут при комнатной температуре. Реагент удаляли, лунки промывали PBST.

Лунки разрабатывали с использованием 25 мкл субстрата KPL SureBlue TMB (SeraCare) на лунку в течение 5-7 минут и гасили 25 мкл 0,1 М HCl. Поглощение при 450 нм регистрировали на планшет-ридере SpectraMax iD5 (Molecular Devices). Фетуин, гликопротеин, содержащий сиалированные N-связанные и O-связанные гликаны, использовали в качестве положительного контроля. Все эксперименты проводили при n=8.

Результаты

Удаление сайта N-связанного гликозилирования на хhCD8v6 улучшает гомогенность

[203] хhCD8v6 обладает предполагаемым N-связанным мотивом гликозилирования в области CDR-H2. Этот предполагаемый N-связанный мотив гликозилирования был удален в производных хhCD8v6, а именно хhCD8v10, хhCD8v11, хhCD8v14 и хhCD8v15. Присутствие переменного количества гликанов в области CDR снижает гомогенность конечного продукта и может влиять на связывающую способность. Для определения наличия гликанов был проведен ИФА с использованием агглютинина зародышей пшеницы (АЗП), который связывается с N-ацетилглюкозамином. Fab родительских хhCD8v6 и хhCD8v11, которые служили в качестве отрицательного контроля, анализировали для изучения только переменных доменов. В качестве положительного контроля использовали фетуин. Как показано на **Фиг. 19** связывание WGA было обнаружено для родительского хhCD8v6, но не для хhCD8v11. После обработки дегликозидазами не было связывания АЗП с дегликозилированным хhCD8v6, что подтверждает присутствие гликана на хhCD8v6. Результаты в настоящем изобретении позволяют предположить, что хhCD8v10, хhCD8v11, хhCD8v14 и хhCD8v15, которые не обладают предполагаемым мотивом N-связанного гликозилирования, являются лучшими и более однородными терапевтическими агентами по сравнению с родительским хhCD8v6.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело человека или гуманизированное антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, причем антитело или фрагмент специфически связывает CD8b человека и/или CD8ab человека с по меньшей мере в 10 раз большей аффинностью, чем оно связывает CD8a человека и/или CD8aa человека.

2. Антитело или фрагмент по п.1, причем антитело или фрагмент связывается с клеткой, экспрессирующей на своей поверхности гетеродимер CD8ab человека, с EC50 менее 1000 нМ.

3. Антитело или фрагмент по п.1 или п.2, причем антитело или его фрагмент связывает Т-клетки CD8+ человека.

4. Гуманизированное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:13, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:14, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:15; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18.

5. Гуманизированное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:51, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:52, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:15; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18.

6. Антитело или фрагмент по п.4 или п.5, в котором домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 62, и причем домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:63.

7. Гуманизированное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:19, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:20, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21; и причем домен VL

содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:22, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:23, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:24.

8. Гуманизированное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:53, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:52, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:22, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:23, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:24.

9. Антитело или фрагмент по п.7 или п.8, в котором домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:64, и причем домен VL содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 90%, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:65.

10. Гуманизированное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:25, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:26, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:27; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:28, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:29, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:30.

11. Гуманизированное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:49, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:52 и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:27; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:28, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:29 и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:30.

12. Антитело или фрагмент по п.10 или п.11, в котором домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:66, и причем домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по

меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:67.

13. Гуманизированное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или его фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:31, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:32 и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:33; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:34, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:35 и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:36.

14. Гуманизированное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:54, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:52 и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:33; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:34, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:35 и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:36.

15. Антитело или фрагмент по п.13 или п.14, в котором домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:68, и причем домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:69.

16. Антитело человека или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:37, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:38, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:39; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42.

17. Антитело человека или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:55, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:56, и CDR-

H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:39; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42.

18. Антитело или фрагмент по п.16 или п.17, в котором домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:70, и причем домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:71.

19. Антитело человека или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:43, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:44, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:45; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:46, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:47, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:48.

20. Антитело человека или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:55, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:45; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:46, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:47, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:48.

21. Антитело или фрагмент по п.19 или п.20, в котором домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:72, и причем домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:73.

22. Гуманизованное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:1, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:3; и причем домен VL

содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:4, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:5, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:6.

23. Гуманизованное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:49, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:50 и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:3; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:4, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:5 и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:6.

24. Гуманизованное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:177, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:178 и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:179; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:180, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:181 и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:182.

25. Гуманизованное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL); причем домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:183, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:184 и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:179; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:180, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:181 и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:182.

26. Гуманизованное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL);

причем домен VH содержит:

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность X_1X_2AIS , где X_1 представляет собой S, K, G, N, R, D, T или G, и где X_2 представляет собой Y, L, H или F (SEQ ID NO: 259),

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность $X_1X_2X_3PX_4X_5X_6X_7X_8X_9YX_{10}QKFX_{11}G$, где X_1 представляет собой G или H, X_2 представляет собой I или F, X_3 представляет собой I, N или M, X_4 представляет собой G, N, H, S, R, I или

A, X₅ представляет собой A, N, H, S, T, F или Y, X₆ представляет собой A, D или G, X₇ представляет собой T, E, K, V, Q или A, X₈ представляет собой A или T, X₉ представляет собой N или K, X₁₀ представляет собой A или N, и X₁₁ представляет собой Q или T (SEQ ID NO:260), и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность X₁X₂X₃GX₄X₅LFX₆X₇, где X₁ представляет собой D или A, X₂ представляет собой A, G, E, R, Y, K, N, Q, L или F, X₃ представляет собой A, L, P или Y, X₄ представляет собой I или L, X₅ представляет собой R, A, Q или S, X₆ представляет собой A или D, и X₇ представляет собой D, E, A или S (SEQ ID NO: 261); и

причем домен VL содержит:

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность X₁X₂SX₃X₄IX₅GX₆LN, где X₁ представляет собой R или G, X₂ представляет собой A или T, X₃ представляет собой Q или E, X₄ представляет собой E, N, T, S, A, K, D, G, R или Q, X₅ представляет собой Y или S, и X₆ представляет собой A или V (SEQ ID NO: 262),

CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность GX₁X₂X₃LX₄X₅, где X₁ представляет собой A или S, X₂ представляет собой T, S, E, Q или D, X₃ представляет собой N, R, A, E или H, X₄ представляет собой Q или A, и X₅ представляет собой S или D (SEQ ID NO: 263), и

CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QX₁X₂X₃X₄X₅PWT, где X₁ представляет собой S, N, D, Q, A или E, X₂ представляет собой T, I или S, X₃ представляет собой Y, L или F, X₄ представляет собой D, G, T, E, Q, A или Y, и X₅ представляет собой A, T, R, S, K или Y (SEQ ID NO: 264).

27. Антитело по п.26, в котором домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 225, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 226, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:227; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:228.

28. Антитело по п.26, в котором домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 225, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 232, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:234, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:235, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:236.

29. Антитело по п.26, в котором домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 225, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 232, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233; и причем домен VL содержит CDR-

L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:228.

30. Антитело по любому из пп. 26-29, в котором домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащую последовательность QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFS (SEQ ID NO:274), FW-2, содержащую последовательность WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:275), FW-3, содержащую последовательность RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:276), и FW-4, содержащую последовательность WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:277); и причем домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащую последовательность DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC (SEQ ID NO:289), FW-2, содержащую последовательность WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:290), FW-3, содержащую последовательность GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:291) и FW-4, содержащую последовательность FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:292).

31. Гуманизованное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL);

причем домен VH содержит:

CDR-H1 содержащую аминокислотную последовательность $GX_1X_2FX_3X_4X_5$, где X_1 представляет собой G, Y, S или A, X_2 представляет собой T, S, G, R, N или H, X_3 представляет собой S, T, R, H, Y, G или P, X_4 представляет собой S, K, G, N, R, D, T или G, и X_5 представляет собой Y, L, H или F (SEQ ID NO:265),

CDR-H2 содержащую аминокислотную последовательность $X_1PX_2X_3X_4X_5$, где X_1 представляет собой I, N или M, X_2 представляет собой G, N, H, S, R, I или A, X_3 представляет собой A, N, H, S, T, F или Y, X_4 представляет собой A, D или G, и X_5 представляет собой T, E, K, V, Q или A (SEQ ID NO:266), и

CDR-H3 содержащую аминокислотную последовательность $X_1X_2X_3GX_4X_5LFX_6X_7$, где X_1 представляет собой D или A, X_2 представляет собой A, G, E, R, Y, K, N, Q, L или F, X_3 представляет собой A, L, P или Y, X_4 представляет собой I или L, X_5 представляет собой R, A, Q или S, X_6 представляет собой A или D, и X_7 представляет собой D, E, A или S (SEQ ID NO:267); и

причем домен VL содержит:

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность $X_1X_2SX_3X_4IX_5GX_6LN$, где X_1 представляет собой R или G, X_2 представляет собой A или T, X_3 представляет собой Q или E, X_4 представляет собой E, N, T, S, A, K, D, G, R или Q, X_5 представляет собой Y или S, и X_6 представляет собой A или V (SEQ ID NO: 262),

CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность $GX_1X_2X_3LX_4X_5$, где X_1 представляет собой A или S, X_2 представляет собой T, S, E, Q или D, X_3 представляет собой N, R, A, E или H, X_4 представляет собой Q или A, и X_5 представляет собой S или D (SEQ ID NO: 263), и

CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность $QX_1X_2X_3X_4X_5PWT$, где X_1 представляет собой S, N, D, Q, A или E, X_2 представляет собой T, I или S, X_3 представляет собой Y, L или F, X_4 представляет собой D, G, T, E, Q, A или Y, и X_5 представляет собой A, T, R, S, K или Y (SEQ ID NO: 264).

32. Антитело по п.31, в котором домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 238, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 239, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:228.

33. Антитело по п.31, в котором домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 238, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 243, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:234, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:235, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:236.

34. Антитело по п.31, в котором домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 238, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 243, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:228.

35. Антитело по любому из пп. 31-34, в котором домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащую последовательность QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKAS (SEQ ID NO:278), FW-2, содержащую последовательность AISWVRQAPGQGLEWMGGI (SEQ ID NO:279), FW-3, содержащую последовательность ANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAR (SEQ ID NO:280), и FW-4, содержащую последовательность WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:277); и причем домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащую последовательность DIQMTQSPSSLSASVGRVTITC (SEQ ID NO:289), FW-2, содержащую последовательность WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:290), FW-3, содержащую последовательность GVPSRFGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:291) и FW-4, содержащую последовательность FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:292).

36. Антитело по п.26 или п.31, в котором домен VH содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 90%, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 245, и причем домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей

мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:246.

37. Антитело по п.26 или п.31, в котором домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 251, и причем домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:252; необязательно причем домен VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:251, и домен VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:252.

38. Антитело по п.26 или п.31, в котором домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 253, и причем домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:254.

39. Гуманизованное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL);

причем домен VH содержит:

CDR-H1 содержащую аминокислотную последовательность X_1YX_2MS , где X_1 представляет собой S, D, E, A или Q, и X_2 представляет собой A, G или T (SEQ ID NO:268),

CDR-H2 содержащую аминокислотную последовательность $DIX_1X_2X_3GX_4X_5TX_6YADSVKG$, где X_1 представляет собой T, N, S, Q, E, H, R или A, X_2 представляет собой Y, W, F или H, X_3 представляет собой A, S, Q, E или T, X_4 представляет собой G или E, X_5 представляет собой S или I, и X_6 представляет собой A или G (SEQ ID NO:269), и

CDR-H3 содержащую аминокислотную последовательность $X_1X_2X_3YX_4WX_5X_6AX_7DX_8$, где X_1 представляет собой S или A, X_2 представляет собой N, H, A, D, L, Q, Y или R, X_3 представляет собой A, N, S, или G, X_4 представляет собой A, V, R, E или S, X_5 представляет собой D или S, X_6 представляет собой D, N, Q, E, S, T или L, X_7 представляет собой L, F или M, и X_8 представляет собой I, Y или V (SEQ ID NO:270); и

причем домен VL содержит:

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RASQSVSSNLA (SEQ ID NO:40),

CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность GASSRAT (SEQ ID NO:41), и

CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQYGSSPPVT (SEQ ID NO:42).

40. Антитело по п.39, в котором домен VH содержит CDR-H1, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 229, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 230, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:231.

41. Антитело по п.39, в котором домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 229, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 237, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:231.

42. Антитело по любому из пп. 39-41, в котором домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащую последовательность EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (SEQ ID NO:281), FW-2, содержащую последовательность WVRQAPGKGLEWVS (SEQ ID NO:282), FW-3, содержащую последовательность RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:283), и FW-4, содержащую последовательность WGQGTMTVSS (SEQ ID NO:284) или WGQGLTLTVSS (SEQ ID NO:285); и причем домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащую последовательность EIVLTQSPGTLSPGERATLSC (SEQ ID NO:293), FW-2, содержащую последовательность WYQQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:294), FW-3, содержащую последовательность GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:295) и FW-4, содержащую последовательность FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:296).

43. Гуманизованное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL);

причем домен VH содержит:

CDR-H1 содержащую аминокислотную последовательность GFTFX₁X₂Y, где X₁ представляет собой S, D, E, Q, S или A и X₂ представляет собой S, D, E, A или Q (SEQ ID NO:271),

CDR-H2 содержащую аминокислотную последовательность X₁X₂X₃GX₄X₅, где X₁ представляет собой T, N, S, Q, E, H, R или A, X₂ представляет собой Y, W, F или H, X₃ представляет собой A, S, Q, E или T, X₄ представляет собой G или E, и X₅ представляет собой S или I (SEQ ID NO:272), и

CDR-H3 содержащую аминокислотную последовательность X₁X₂X₃YX₄WX₅X₆AX₇DX₈, где X₁ представляет собой S или A, X₂ представляет собой N, H, A, D, L, Q, Y или R, X₃ представляет собой A, N, S или G, X₄ представляет собой A, V, R, E, или S, X₅ представляет собой D или S, X₆ представляет собой D, N, Q, E, S, T или L, X₇ представляет собой L, F или M, и X₈ представляет собой I, Y или V (SEQ ID NO:273); и

причем домен VL содержит:

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность RASQSVSSNLA (SEQ ID NO:40),

CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность GASSRAT (SEQ ID NO:41), и

CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность QQYGSSPPVT (SEQ

ID NO:42).

44. Антитело по п.43, в котором домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 240, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 241, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:242.

45. Антитело по п.43, в котором домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 240, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 244, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:242.

46. Антитело по любому из пп. 43-45, в котором домен VH дополнительно содержит FW-1, содержащую последовательность EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (SEQ ID NO:286), FW-2, содержащую последовательность AMSWVRQAPGKGLEWVSDI (SEQ ID NO:287), FW-3, содержащую последовательность TAYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO:288), и FW-4, содержащую последовательность WGQGTMTVSS (SEQ ID NO:284) или WGQGTMLTVSS (SEQ ID NO:285); и причем домен VL дополнительно содержит FW-1, содержащую последовательность EIVLTQSPGTLSPGERATLSC (SEQ ID NO:293), FW-2, содержащую последовательность WYQQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:294), FW-3, содержащую последовательность GIPDRFSGSGGTDFTLISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:295) и FW-4, содержащую последовательность FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:296).

47. Антитело по п.39 или п.43, в котором домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 247, и причем домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 248.

48. Антитело по п.39 или п.43, в котором домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 249, и причем домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 250; необязательно причем домен VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 249, и домен VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 250.

49. Антитело по п.39 или п.43, в котором домен VH содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 90%, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 255, и причем домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:256.

50. Антитело по п.39 или п.43, в котором домен VH содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 90%, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO: 257, и причем домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:258.

51. Антитело по любому из пп. 1-50, причем антитело представляет собой полиспецифическое антитело.

52. Антитело по п.51, причем антитело представляет собой биспецифическое антитело.

53. Слитый белок, содержащий:

(а) первый фрагмент, содержащий антитело или его фрагмент по любому из пп. 1-52; и

(б) второй фрагмент, содержащий цитокин, хемокин или фактор роста;

причем первый фрагмент слит со вторым фрагментом напрямую или через линкер.

54. Слитый белок, содержащий:

(а) первый фрагмент, содержащий антитело человека или гуманизованное антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL), причем:

домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:15; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18.

домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:22, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:23, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:24;

домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:27; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:28, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:29, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:30;

домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:

домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 225, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 232, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:234, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:235, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:236;

домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 225, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 232, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:228; или

домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 229, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 237, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:231; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42; и

(b) второй фрагмент, содержащий цитокин, хемокин или фактор роста; причем первый фрагмент слит со вторым фрагментом напрямую или через линкер.

55. Слитый белок, содержащий:

(a) первый фрагмент, содержащий антитело человека или гуманизированное антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывает CD8b и/или CD8ab, причем антитело или фрагмент содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL), причем:

домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:15; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18.

домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:22, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:23, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:24;

домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:27; и причем

SEQ ID NO: 240, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 241, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:242; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42;

домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 238, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 243, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:234, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:235, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:236;

домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 238, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 243, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:228; или

домен VH содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 240, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 244, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:242; и причем домен VL содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42; и

(b) второй фрагмент, содержащий цитокин, хемокин или фактор роста;

причем первый фрагмент слит со вторым фрагментом напрямую или через линкер.

56. Слитый белок по любому из пп. 53-55, в котором второй фрагмент индуцирует активацию CD8+ Т-клеток.

57. Слитый белок по п.56, причем слитый белок индуцирует активацию клеток, экспрессирующих гетеродимер CD8ab человека с по меньшей мере в 10 раз большей эффективностью, чем активацию клеток, экспрессирующих гомодимер CD8aa человека.

58. Слитый белок по п.56, причем слитый белок индуцирует активацию CD8+ Т-клеток с по меньшей мере в 10 раз большей эффективностью, чем активацию NK-клеток.

59. Слитый белок по п.57 или п.58, где активность активации измеряют по EC50, оцениваемой по клеточной пролиферации.

60. Слитый белок по любому из пп. 53-59, в котором первый фрагмент содержит два полипептида тяжелой цепи антитела, имеющие структуру согласно формуле [I], от N-конца к C-концу:

VH-CH1-шарнир-CH2-CH3 [I]

и два полипептида легкой цепи антитела, имеющие структуру согласно формуле [II], от N-конца к C-концу:

VL-CL [II]

причем VH представляет собой домен VH, причем CH1 представляет собой домен CH1 антитела, причем шарнир представляет собой шарнирный домен антитела, причем CH2-CH3 представляет собой домен Fc антитела, причем VL представляет собой домен VL и причем CL представляет собой константный домен легкой цепи антитела; и

причем N-конец второго фрагмента слит с C-концом одного из двух доменов CH3.

61. Слитый белок по любому из пп. 53-59, в котором первый фрагмент содержит первый полипептид тяжелой цепи антитела, имеющий структуру согласно формуле [I], от N-конца к C-концу:

VH-CH1-шарнир-CH2-CH3 [I],

полипептид легкой цепи антитела, содержащий структуру согласно формуле [II], от N-конца к C-концу:

VL-CL [II],

и второй полипептид тяжелой цепи антитела, имеющий структуру согласно формуле [III], от N-конца к C-концу:

шарнир-CH2-CH3 [III],

причем VH представляет собой домен VH, причем CH1 представляет собой домен CH1 антитела, причем шарнир представляет собой шарнирный домен антитела, причем CH2-CH3 представляет собой домен Fc антитела, причем VL представляет собой домен VL и причем CL представляет собой константный домен легкой цепи антитела; и

N-конец второго фрагмента слит с C-концом домена CH3 полипептида тяжелой цепи второго антитела.

62. Слитый белок по любому из пп. 53-59, в котором первый фрагмент содержит первый полипептид тяжелой цепи антитела, имеющий структуру согласно формуле [I], от N-конца к C-концу:

VH-CH1-шарнир-CH2-CH3 [I],

полипептид легкой цепи антитела, содержащий структуру согласно формуле [II], от N-конца к C-концу:

VL-CL [II],

и второй полипептид тяжелой цепи антитела, имеющий структуру согласно формуле [III], от N-конца к C-концу:

шарнир-CH2-CH3 [III],

причем VH представляет собой домен VH, причем CH1 представляет собой домен CH1 антитела, причем шарнир представляет собой шарнирный домен антитела, причем CH2-CH3 представляет собой домен Fc антитела, причем VL представляет собой домен VL и причем CL представляет собой константный домен легкой цепи антитела; и

причем C-конец второго фрагмента слит с N-концом шарнирного домена полипептида тяжелой цепи второго антитела.

63. Слитый белок по любому из пп. 53-59, в котором первый фрагмент содержит первый полипептид тяжелой цепи антитела, имеющий структуру согласно формуле [I], от

N-конца к С-концу:

VH-CH1-шарнир-CH2-CH3 [I],

полипептид легкой цепи антитела, содержащий структуру согласно формуле [II], от

N-конца к С-концу:

VL-CL [II],

и второй полипептид тяжелой цепи антитела, имеющий структуру согласно формуле [III], от N-конца к С-концу:

шарнир-CH2-CH3 [III],

причем VH представляет собой домен VH, причем CH1 представляет собой домен CH1 антитела, причем шарнир представляет собой шарнирный домен антитела, причем CH2-CH3 представляет собой домен Fc антитела, причем VL представляет собой домен VL и причем CL представляет собой константный домен легкой цепи антитела; и

причем N-конец второго фрагмента слит с С-концом домена CH3 полипептида тяжелой цепи первого антитела.

64. Слитый белок по п.60, в котором:

домен VH полипептидов тяжелой цепи обоих антител содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:13, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:14, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:15; и причем домен VL обоих полипептидов легкой цепи антитела содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18;

домен VH полипептидов тяжелой цепи обоих антител содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:19, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:20, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21; и причем домен VL обоих полипептидов легкой цепи антитела содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:22, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:23, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:24;

домен VH полипептидов тяжелой цепи обоих антител содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:25, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:26, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:27; и причем домен VL обоих полипептидов легкой цепи антитела содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:28, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:29, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:30;

домен VH полипептидов тяжелой цепи обоих антител содержит CDR-H1,

домен VH полипептидов тяжелой цепи обоих антител содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:238, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:243, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233; и причем домен VL обоих полипептидов легкой цепи антитела содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:234, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:235, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:236;

домен VH полипептидов тяжелой цепи обоих антител содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:238, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:243, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233; и причем домен VL обоих полипептидов легкой цепи антитела содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:228; или

домен VH полипептидов тяжелой цепи обоих антител содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:240, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:244, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:242; и причем домен VL обоих полипептидов легкой цепи антитела содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42.

66. Слитый белок по п.60, 64 или 65, в котором:

домен VH обоих полипептидов тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:62, и причем домен VL полипептидов легкой цепи обоих антител содержит аминокислотную последовательность которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:63; необязательно домен VH полипептидов тяжелой цепи обоих антител содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:62, и домен VL полипептидов легкой цепи обоих антител содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:63;

домен VH обоих полипептидов тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, которая по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:64, и причем домен VL полипептидов легкой цепи обоих антител содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:65;

и домен VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:256; или

домен VH содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:257, и причем домен VL содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности SEQ ID NO:258; необязательно домен VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:257, и домен VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:258.

70. Слитый белок по любому из пп. 60-69, в котором один или оба полипептида тяжелой цепи антитела содержат следующие аминокислотные замены: L234A, L235A и G237A, нумерация в соответствии с индексом EU.

71. Слитый белок по любому из пп. 60-70, в котором первый из полипептидов тяжелой цепи антитела содержит аминокислотные замены Y349C и T366W, и второй из полипептидов тяжелой цепи антитела содержит аминокислотные замены S354C, T366S, L368A и Y407V, нумерация в соответствии с индексом EU.

72. Слитый белок по любому из пп. 53-59, в котором первый фрагмент содержит один или два полипептида тяжелой цепи антитела, и один или два полипептида легкой цепи антитела.

73. Слитый белок по любому из пп. 53-59, в котором первый фрагмент содержит одноцепочечное антитело или одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv).

74. Слитый белок по любому из пп. 53-59, в котором первый фрагмент содержит антитело VHH.

75. Слитый белок по любому из пп. 53-74, в котором второй фрагмент содержит полипептид IL-2.

76. Слитый белок по п.75, в котором полипептид IL-2 представляет собой мутантный полипептид IL-2, содержащий одну или более мутаций по сравнению с полипептидом IL-2 человека, содержащим последовательность
 APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCL
 EEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFFMCEYADETAT
 IVEFLNRWITFCQSIISTLT (SEQ ID NO:81).

77. Слитый белок по п.76, в котором мутантный полипептид IL-2 имеет аффинность связывания с IL-2R α , которая снижена на 50% или более по сравнению с аффинностью связывания полипептида IL-2 дикого типа, содержащего последовательность SEQ ID: 81 для IL-2R α .

78. Слитый белок по п.77, в котором мутантный полипептид IL-2 имеет аффинность связывания с IL-2R β , которая снижена на 50% или более по сравнению с аффинностью связывания полипептида IL-2 дикого типа, содержащего последовательность SEQ ID: 81 для IL-2R β ; и/или

причем мутантный полипептид IL-2 имеет аффинность связывания с IL-2R γ , которая снижена на 50% или более по сравнению с аффинностью связывания полипептида IL-2

дикого типа, содержащего последовательность SEQ ID: 81 для IL-2R γ .

79. Слитый белок по любому из пп. 63-78, в котором полипептид IL-2 содержит последовательность SEQ ID NO:81 с одной, двумя, тремя, четырьмя или пятью аминокислотными заменами относительно SEQ ID NO:81, и причем одна, две, три, четыре или пять замен включают замену(-ы) в положениях SEQ ID NO:81, выбранную из группы, состоящей из: Q11, H16, L18, L19, D20, Q22, R38, F42, K43, Y45, E62, P65, E68, V69, L72, D84, S87, N88, V91, I92, T123, Q126, S127, I129 и S130.

80. Слитый белок по п.79, в котором полипептид IL-2 содержит последовательность SEQ ID NO: 81 с одним из следующих наборов аминокислотных замен (относительно последовательности SEQ ID NO: 81): R38E и F42A; R38D и F42A; F42A и E62Q; R38A и F42K; R38E, F42A и N88S; R38E, F42A и N88A; R38E, F42A и N88G; R38E, F42A и N88R; R38E, F42A и N88T; R38E, F42A и N88D; R38E, F42A и V91E; R38E, F42A и D84H; R38E, F42A и D84K; R38E, F42A и D84R; H16D, R38E и F42A; H16E, R38E и F42A; R38E, F42A и Q126S; R38D, F42A и N88S; R38D, F42A и N88A; R38D, F42A и N88G; R38D, F42A и N88R; R38D, F42A и N88T; R38D, F42A и N88D; R38D, F42A и V91E; R38D, F42A и D84H; R38D, F42A и D84K; R38D, F42A и D84R; H16D, R38D и F42A; H16E, R38D и F42A; R38D, F42A и Q126S; R38A, F42K и N88S; R38A, F42K и N88A; R38A, F42K и N88G; R38A, F42K и N88R; R38A, F42K и N88T; R38A, F42K и N88D; R38A, F42K и V91E; R38A, F42K и D84H; R38A, F42K и D84K; R38A, F42K и D84R; H16D, R38A и F42K; H16E, R38A и F42K; R38A, F42K и Q126S; F42A, E62Q и N88S; F42A, E62Q и N88A; F42A, E62Q и N88G; F42A, E62Q и N88R; F42A, E62Q и N88T; F42A, E62Q и N88D; F42A, E62Q и V91E; F42A, E62Q и D84H; F42A, E62Q и D84K; и F42A, E62Q и D84R.

81. Слитый белок по п.79, в котором полипептид IL-2 содержит последовательность SEQ ID NO:81 с дополнительной аминокислотной заменой относительно SEQ ID NO:81 в положении C125.

82. Способ по п.81, в котором полипептид IL-2 содержит последовательность SEQ ID NO: 81 с одним из следующих наборов аминокислотных замен (относительно последовательности SEQ ID NO: 81): R38E, F42A, и C125A; R38D, F42A, и C125A; F42A, E62Q, и C125A; R38A, F42K, и C125A; R38E, F42A, N88S, и C125A; R38E, F42A, N88A, и C125A; R38E, F42A, N88G, и C125A; R38E, F42A, N88R, и C125A; R38E, F42A, N88D, и C125A; R38E, F42A, N88T, и C125A; R38E, F42A, V91E, и C125A; R38E, F42A, D84H, и C125A; R38E, F42A, D84K, и C125A; R38E, F42A, D84R, и C125A; H16D, R38E, F42A, и C125A; H16E, DR38E, F42A, и C125A; R38E, F42A, C125A и Q126S; R38D, F42A, N88S, и C125A; R38D, F42A, N88A, и C125A; R38D, F42A, N88G, и C125A; R38D, F42A, N88R, и C125A; R38D, F42A, N88T, и C125A; R38D, F42A, N88D, и C125A; R38D, F42A, V91E, и C125A; R38D, F42A, D84H, и C125A; R38D, F42A, D84K, и C125A; R38D, F42A, D84R, и C125A; H16D, R38D, F42A, и C125A; H16E, R38D, F42A, и C125A; R38D, F42A, C125A, и Q126S; R38A, F42K, N88S, и C125A; R38A, F42K, N88G, и C125A; R38A, F42K, N88R, и C125A; R38A, F42K, N88T, и C125A; R38A, F42K, N88D, и C125A; R38A, F42K, N88A, и C125A; R38A, F42K, V91E, и C125A; R38A, F42K, D84H, и C125A; R38A, F42K, D84K, и

C125A; R38A, F42K, D84R, и C125A; H16D, R38A, F42K, и C125A; H16E, R38A, F42K, и C125A; R38A, F42K, C125A и Q126S; F42A, E62Q, N88S, и C125A; F42A, E62Q, N88A, и C125A; F42A, E62Q, N88G, и C125A; F42A, E62Q, N88R, и C125A; F42A, E62Q, N88T, и C125A; F42A, E62Q, N88D, и C125A; F42A, E62Q, V91E, и C125A; F42A, E62Q, и D84H, и C125A; F42A, E62Q, и D84K, и C125A; F42A, E62Q, и D84R, и C125A; H16D, F42A, и E62Q, и C125A; H16E, F42A, E62Q, и C125A; F42A, E62Q, C125A и Q126S; F42A, N88S, и C125A; F42A, N88A, и C125A; F42A, N88G, и C125A; F42A, N88R, и C125A; F42A, N88T, и C125A; F42A, N88D, и C125A; F42A, V91E, и C125A; F42A, D84H, и C125A; F42A, D84K, и C125A; F42A, D84R, и C125A; H16D, F42A, и C125A; H16E, F42A, и C125A; и F42A, C125A и Q126S.

83. Слитый белок по любому из пп. 63-78, в котором полипептид IL-2 содержит последовательность

APTSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISAINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:80) или последовательность APTSSTKKTQLQLEELLLDLQMILNGINNYKNPKLTEMMLTAKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISININVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT (SEQ ID NO:297).

84. Слитый белок по любому из пп. 75-78, в котором полипептид IL-2 содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 80, 85-155, 190-216, 297 и 354-383.

85. Слитый белок по любому из пп. 53-74, в котором второй фрагмент содержит полипептид, который индуцирует передачу сигнала через IL2R $\beta\gamma$.

86. Слитый белок по любому из пп. 53-74, в котором второй фрагмент содержит полипептид IL-21.

87. Слитый белок по любому из пп. 60-86, в котором один или оба домена Fc антитела содержат домены Fc IgG1 человека со следующими аминокислотными заменами: L234A, L235A и G237A, нумерация в соответствии с индексом EU; необязательно указанный один или оба домена Fc антитела не имеют C-концевого лизина.

88. Слитый белок по любому из пп. 60-87, в котором первый из двух доменов Fc содержит домен Fc IgG1 человека с аминокислотными заменами Y349C и T366W, и второй из двух доменов Fc содержит домен Fc IgG1 человека с аминокислотными заменами S354C, T366S, L368A и Y407V, нумерация в соответствии с индексом EU; необязательно указанный один или оба домена Fc антитела не имеют C-концевого лизина.

89. Слитый белок по любому из пп. 53-88, в котором линкер содержит последовательность (GGGS) \times Gn (SEQ ID NO:74), (GGGGS) \times Gn (SEQ ID NO:75) или (GGGGGS) \times Gn (SEQ ID NO:76), S(GGGS) \times Gn (SEQ ID NO:386), S(GGGGS) \times Gn (SEQ ID NO:387) или S(GGGGGGS) \times Gn (SEQ ID NO:388), где $x=1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11$ или 12 , где $n=0, 1, 2$ или 3 .

90. Слитый белок по любому из пп. 53-88, в котором линкер содержит

ID NO:334, тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:335, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:337;

одну или две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:338, тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:339, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:341;

одну или две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:342, тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:343, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:345;

одну или две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:346, тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:347, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:349; или

одну или две легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность SEQ ID NO:350, тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:351, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:353.

92. Слитый белок, содержащий первый фрагмент, который связывается с CD8b человека и второй фрагмент, содержащий полипептид IL2, в котором слитый белок содержит четыре полипептидные цепи, причем:

первая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:334, вторая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:335, третья полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:336 и четвертая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:334;

первая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:334, вторая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:335, третья полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:337 и четвертая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:334;

первая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:338, вторая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:339, третья полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:340 и четвертая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:338; или

первая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:338, вторая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:339, третья полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность

SEQ ID NO:341 и четвертая полипептидная цепь содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:338.

93. Один или более полинуклеотидов, кодирующих антитело или слитый белок по любому из пп. 1-92.

94. Один или более векторов, содержащих один или более полинуклеотидов по п.93.

95. Один или более векторов по п.94, причем что вектор(-ы) представляет(-ют) собой вектор(-ы) экспрессии.

96. Выделенная клетка-хозяин, содержащая один или более полинуклеотидов или векторов по любому из пп. 93-95.

97. Способ получения антитела или слитого белка, включающий культивирование клетки-хозяина по п.96 в условиях, подходящих для продукции антитела или слитого белка.

98. Способ по п.97, дополнительно включающий выделение антитела или слитого белка из клетки-хозяина.

99. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело или слитый белок по любому из пп. 1-92 и фармацевтически приемлемый носитель.

100. Антитело или слитый белок по любому из пп. 1-92 для применения в качестве лекарственного средства.

101. Способ лечения рака, включающий введение индивидууму, больному раком, эффективного количества антитела или слитого белка по любому из пп. 1-92 или композиции по п.99.

102. Способ по п.101, дополнительно включающий введение индивидууму Т-клеточной терапии, противораковой вакцины, химиотерапевтического средства или ингибитора иммунных контрольных точек (ICI).

103. Способ по п.102, в котором ICI представляет собой ингибитор PD-1, PD-L1 или CTLA-4.

104. Способ по п.102, в котором терапия Т-клетками включает терапию Т-клетками на основе химерного антигенного рецептора (CAR), терапию на основе инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (TIL) или терапию Т-клетками, несущими трансдуцированный TCR.

105. Антитело или слитый белок по любому из пп. 1-92 для применения в способе лечения рака, причем указанный способ включает введение индивидууму, больному раком, эффективного количества антитела или слитого белка.

106. Способ лечения инфекции, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму эффективного количества антитела или слитого белка по любому из пп. 1-92 или композиции по п.99.

107. Способ по п.106, в котором инфекция представляет собой вирусную инфекцию.

108. Применение антитела или слитого белка по любому из пп. 1-92 для получения лекарственного средства для лечения рака или хронической инфекции.

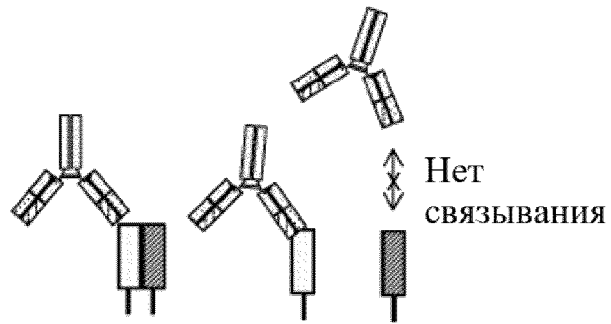
109. Способ размножения Т-клеток *ex vivo*, включающий приведение в контакт одной или более Т-клеток *ex vivo* с эффективным количеством антитела или слитого белка по любому из пп. 1-92 или композиции по п.99.

110. Способ по п.109, в котором одна или более Т-клеток представляют собой инфильтрирующие опухоль лимфоциты (TIL).

По доверенности

Фиг. 1А

Антитела к CD8ab с
эпитопом CD8a

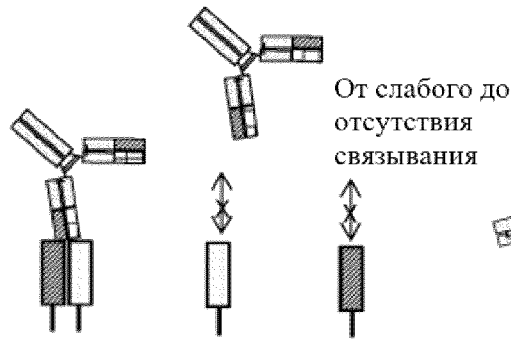


Связывание

+ + -

Фиг. 1В

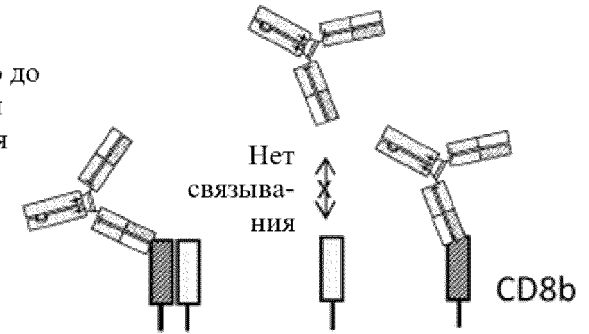
Антитела к CD8ab с эпитопом
между CD8a и CD8b



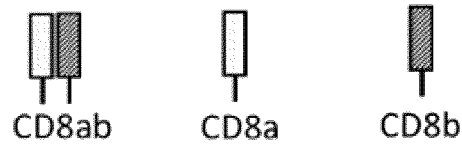
+ -/+ -/+

Фиг. 1С

Антитела к CD8ab с
эпитопом CD8b



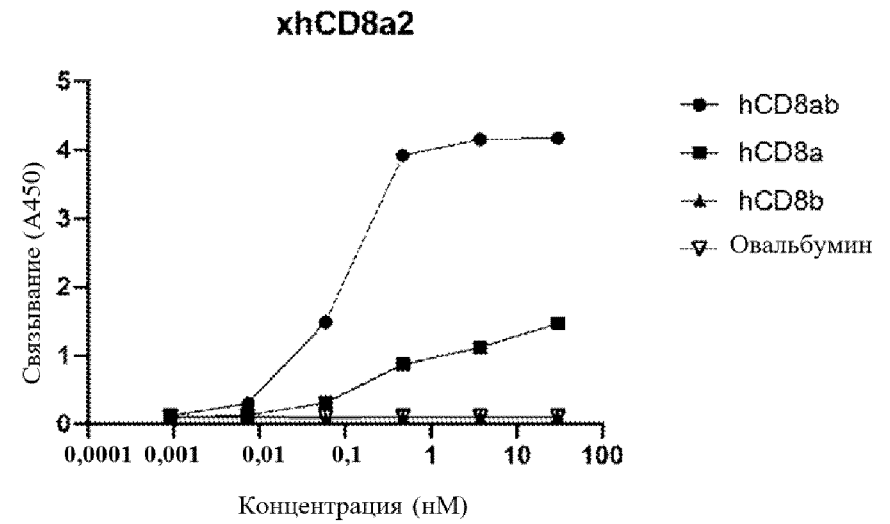
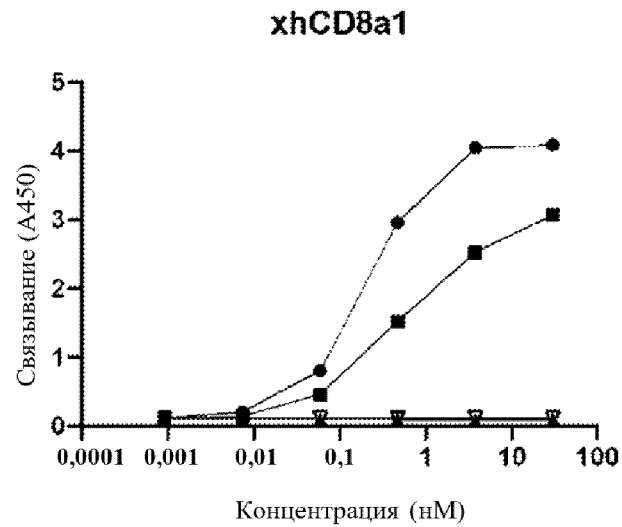
+ - +



1/41

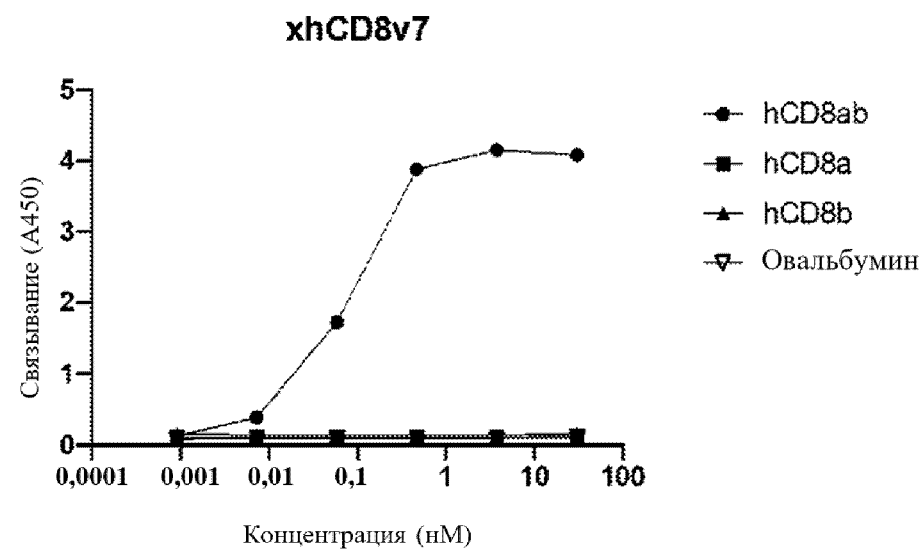
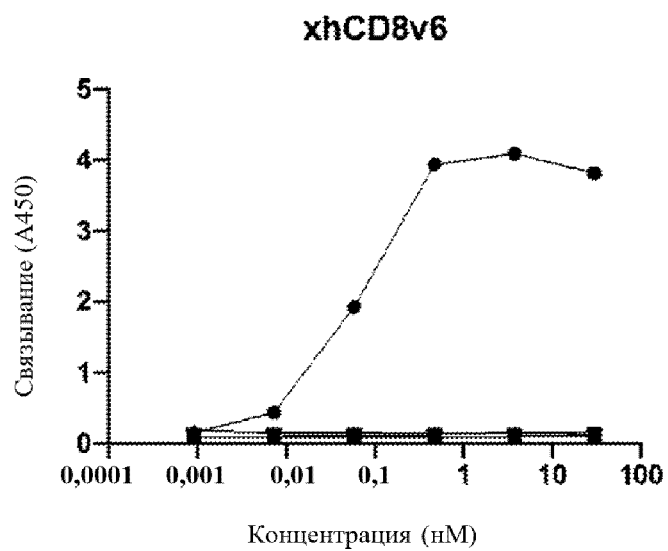
577948

Антитела к CD8ab с
эпитопом CD8a



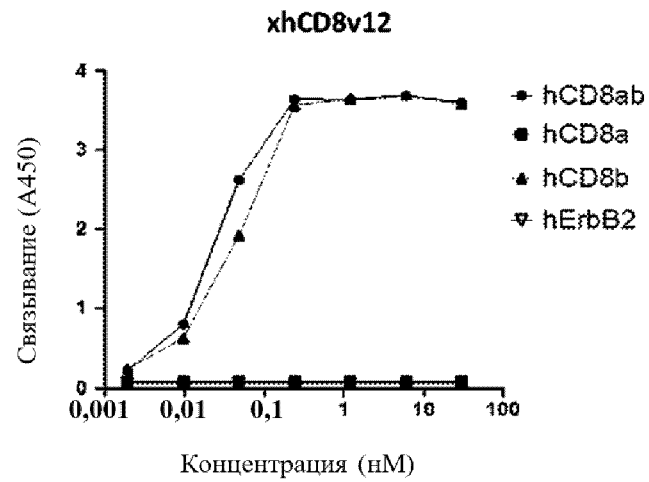
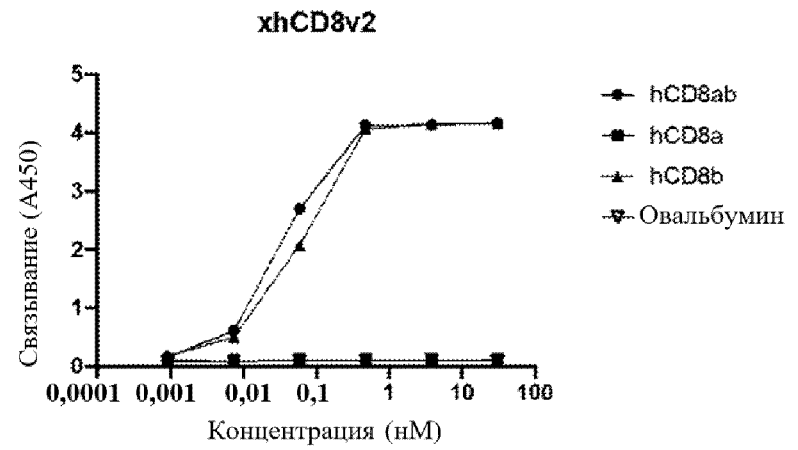
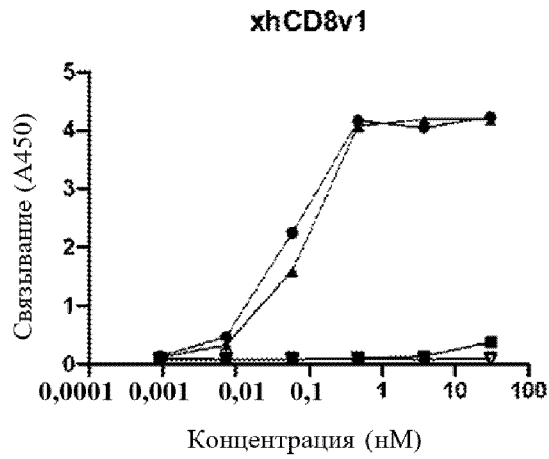
Фиг. 2А

Антитела к CD8ab с эпитопом
между CD8a и CD8b



Фиг. 2В

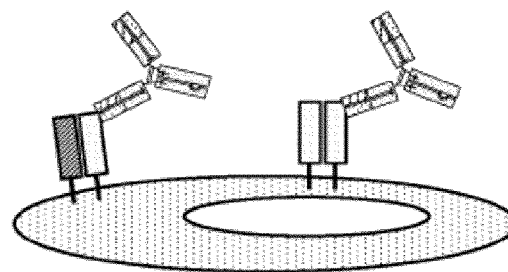
Антитела к CD8ab с
эпитопом CD8b



Фиг. 2С

Антитела к CD8ab с эпитопом CD8a
связывают как CD8+ Т, так и CD8+
NK-клетки

CD8aa+
CD8ab+
Т-клетки

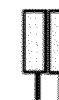


CD8ab

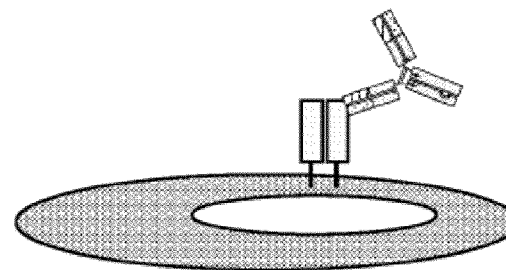


5/41

CD8aa

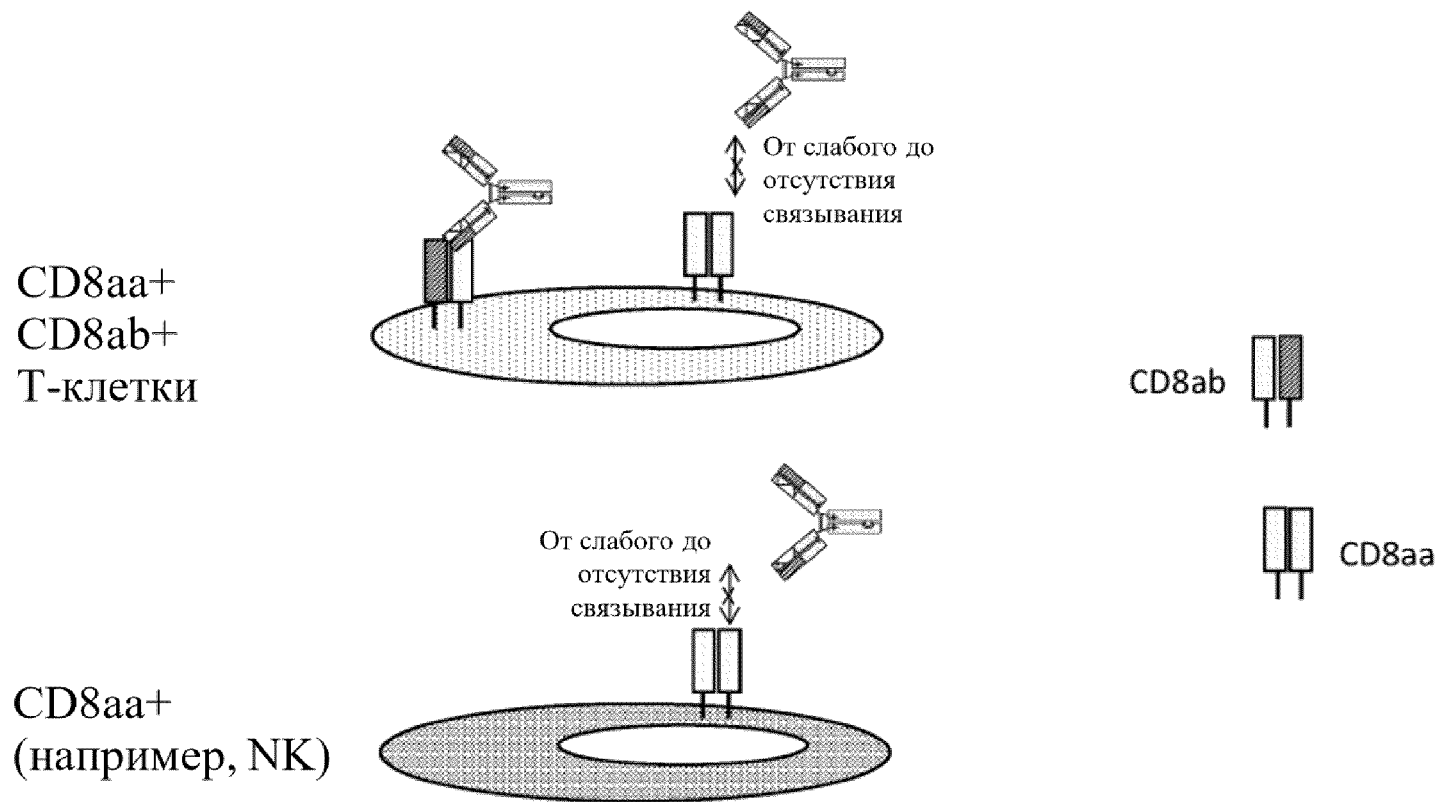


CD8aa+
(например, NK)



Фиг. 3А

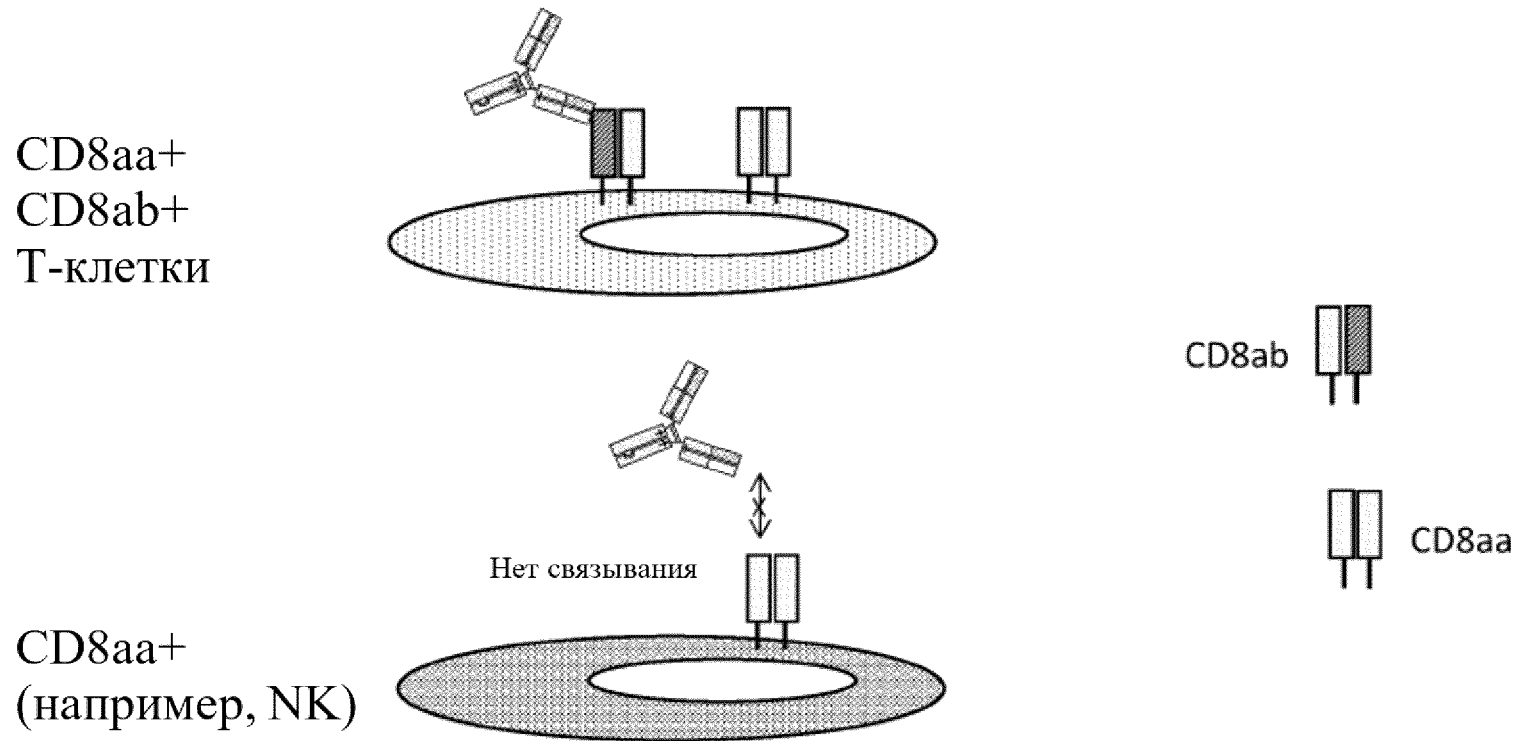
Антитела к CD8ab с эпитопом между CD8a и CD8b предпочитают связывают CD8+ Т, а не CD8+ НК-клетки.



6/41

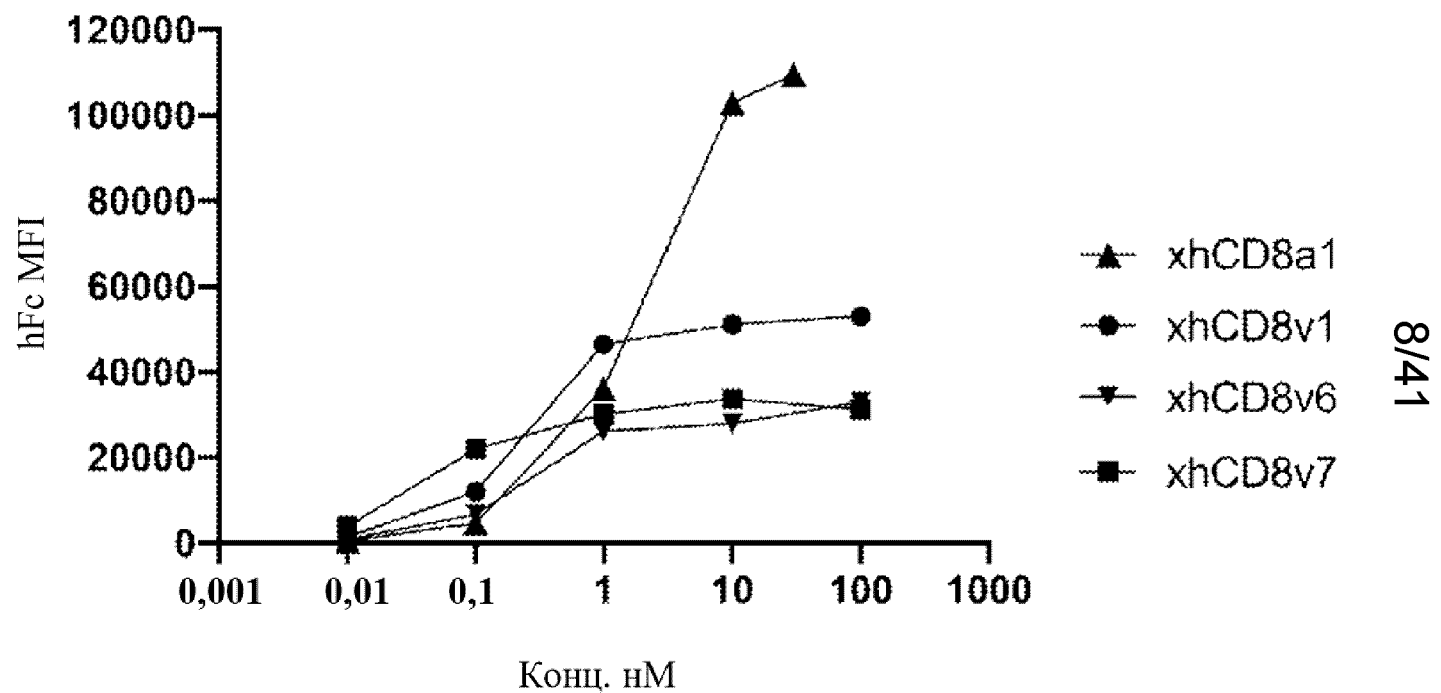
Фиг. 3В

Антитела к CD8ab с эпитопом CD8b
предпочтительно связывают CD8+ T,
а не CD8+ NK-клетки.



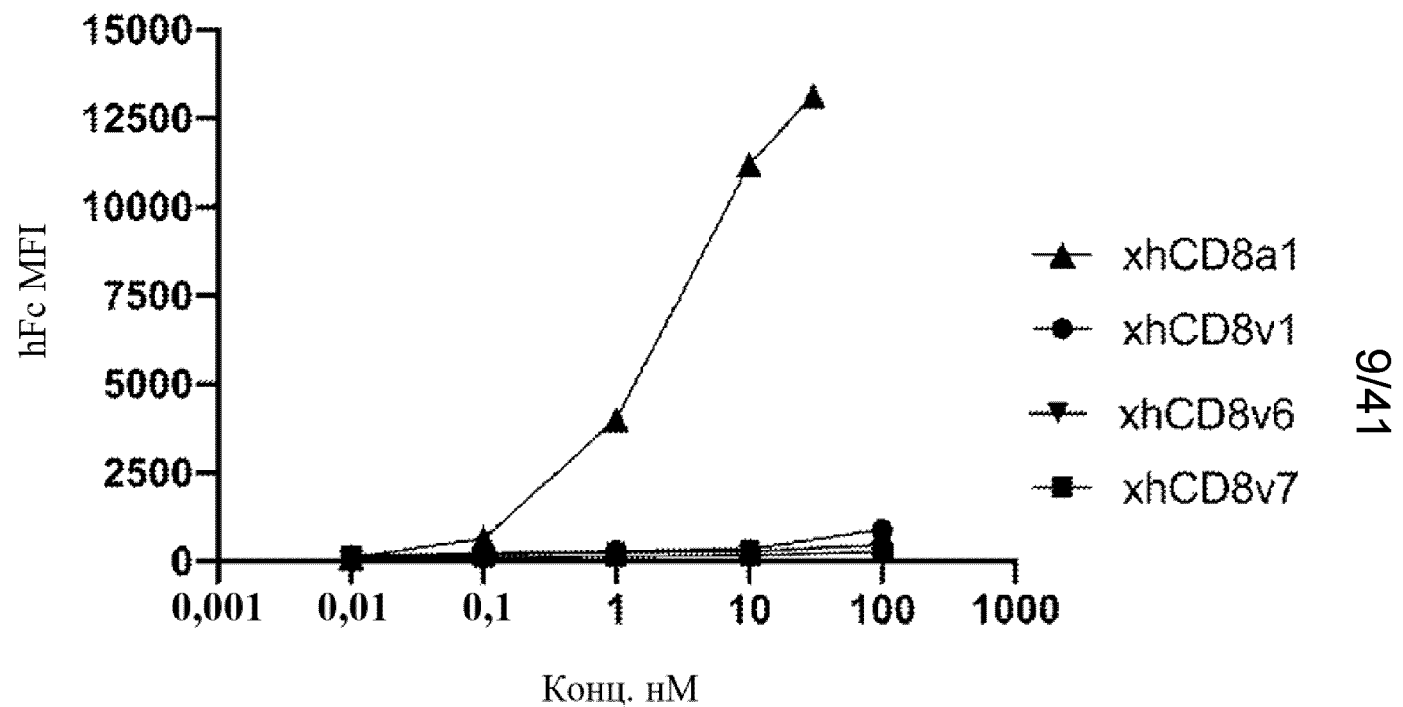
Фиг. 3С

Связывание с CD8+ Т клетками



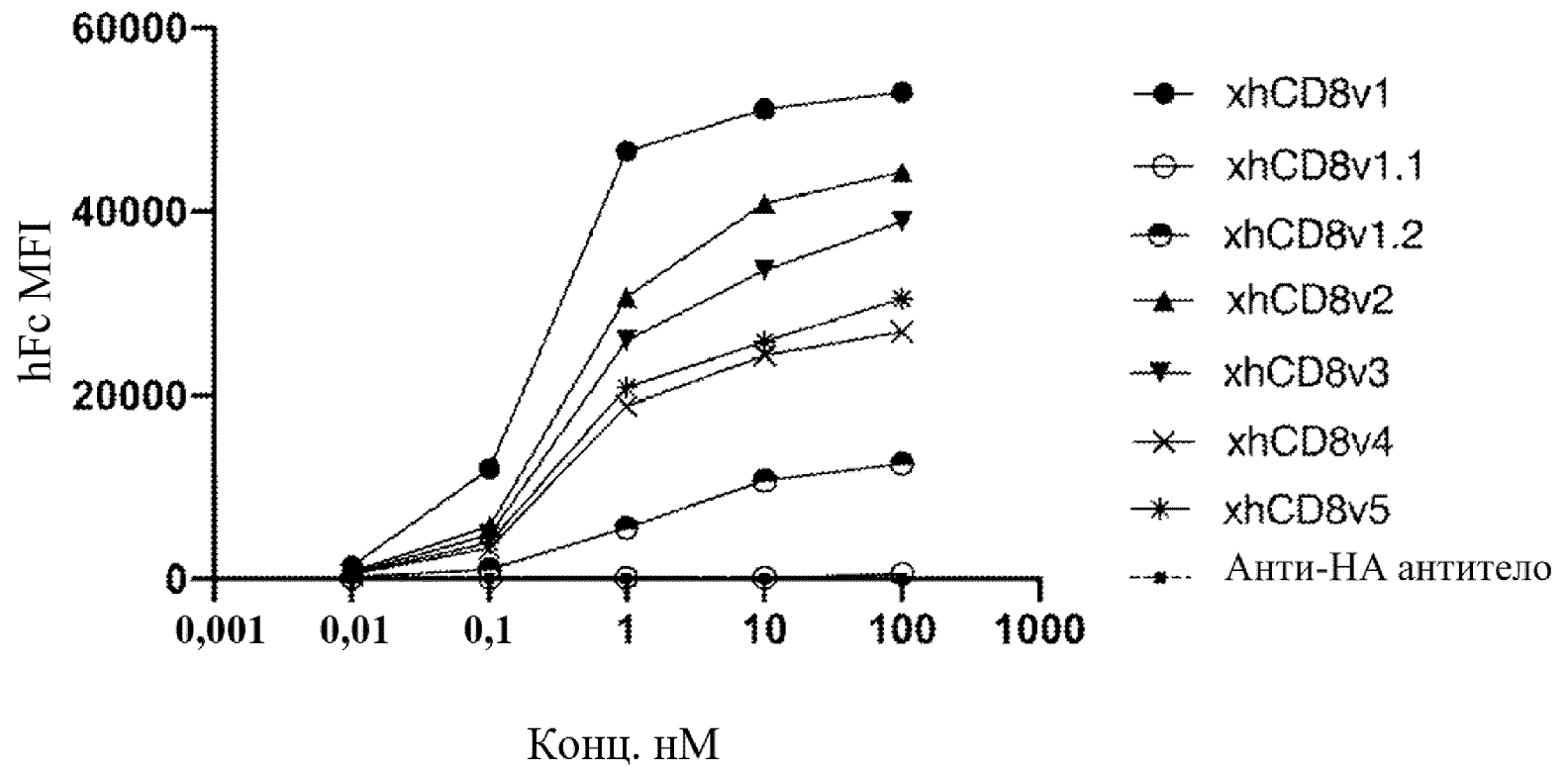
ФИГ. 4

Связывание с CD8+ NK клетками



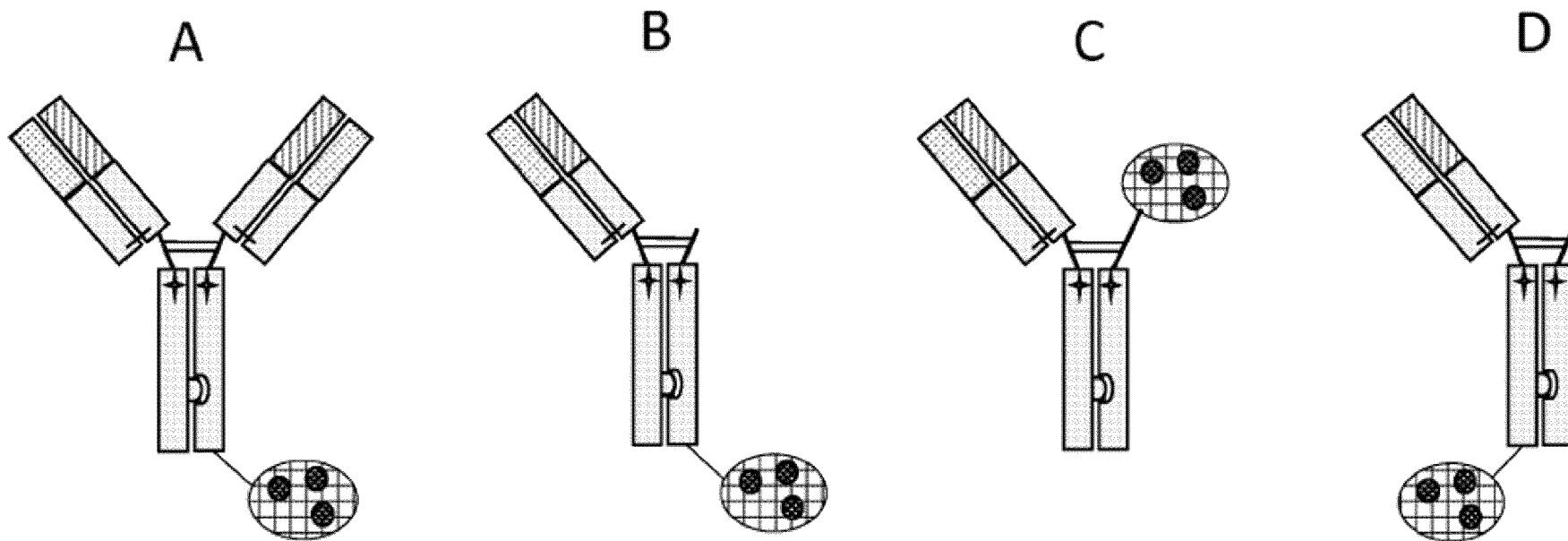
Фиг. 5


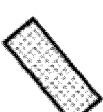


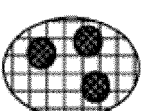
Связывание с CD8+ Т клетками



10/41

Фиг. 6

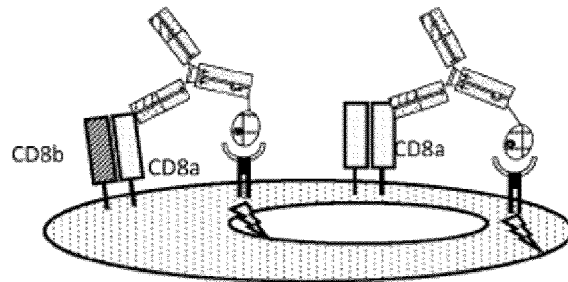


 VH-вариабельная тяжелая #1
  VL-вариабельная легкая #1
  Мутация Fc
 CH-константные области
  Мутантный полипептид IL-2

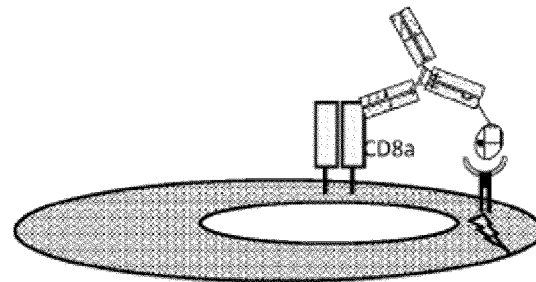
Фиг. 7

Слитые белки, нацеленные на CD8a, активируют как CD8, так и NK-клетки.

CD8aa+
CD8ab+
Т-клетки

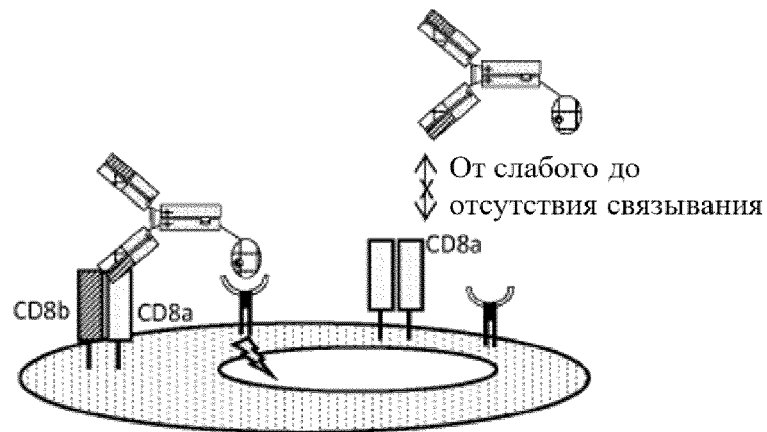


CD8aa+
(например, NK)



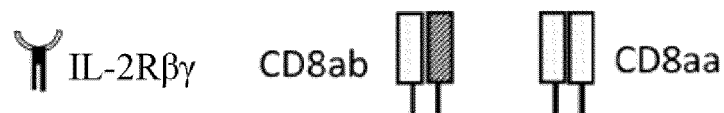
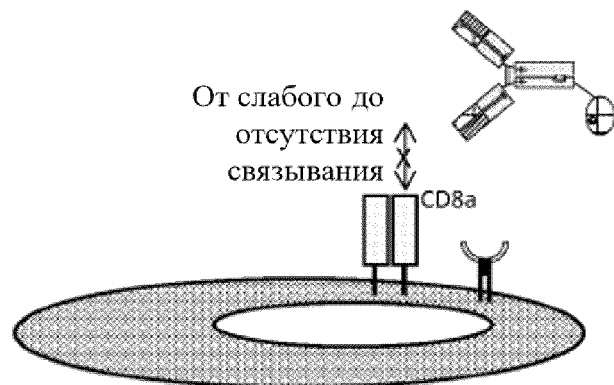
Фиг. 8А

CD8aa+
CD8ab+
Т-клетки



Слитые белки, нацеленные на CD8ab, но не на CD8aa, предпочтительно активируют CD8 Т-клетки, а не NK-клетки.

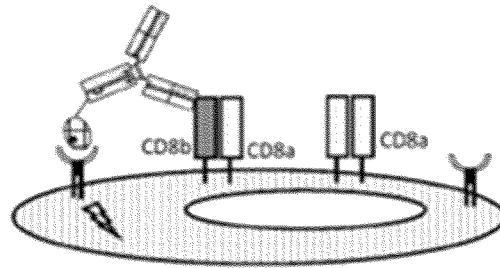
CD8aa+
(например, NK)



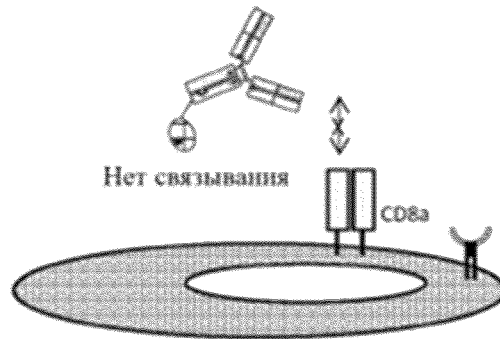
Фиг. 8В

Слитые белки, нацеленные на CD8b, предпочтительно активируют Т-клетки CD8, а не NK-клетки.

CD8aa+
CD8ab+
Т-клетки



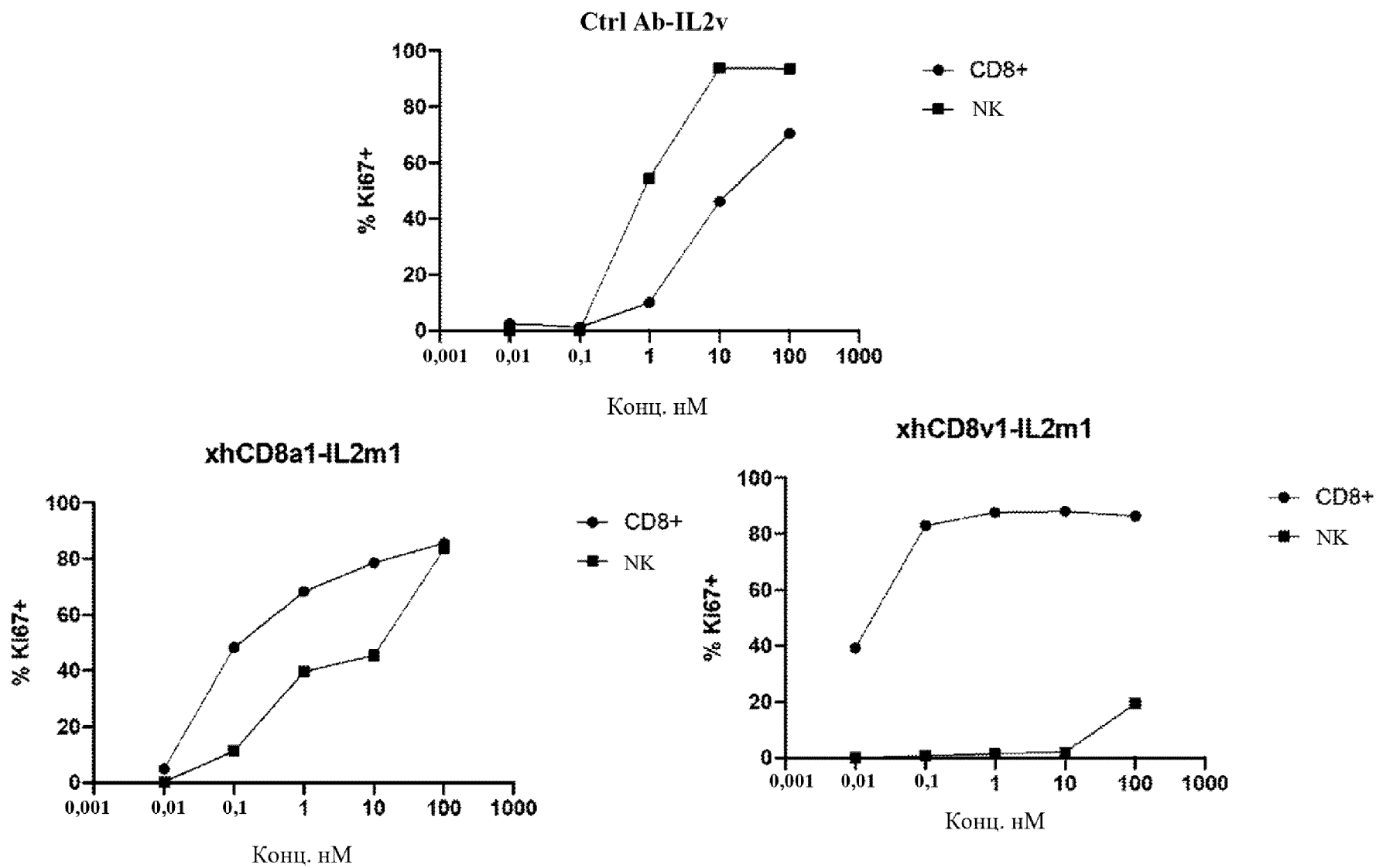
CD8aa+
(например, NK)



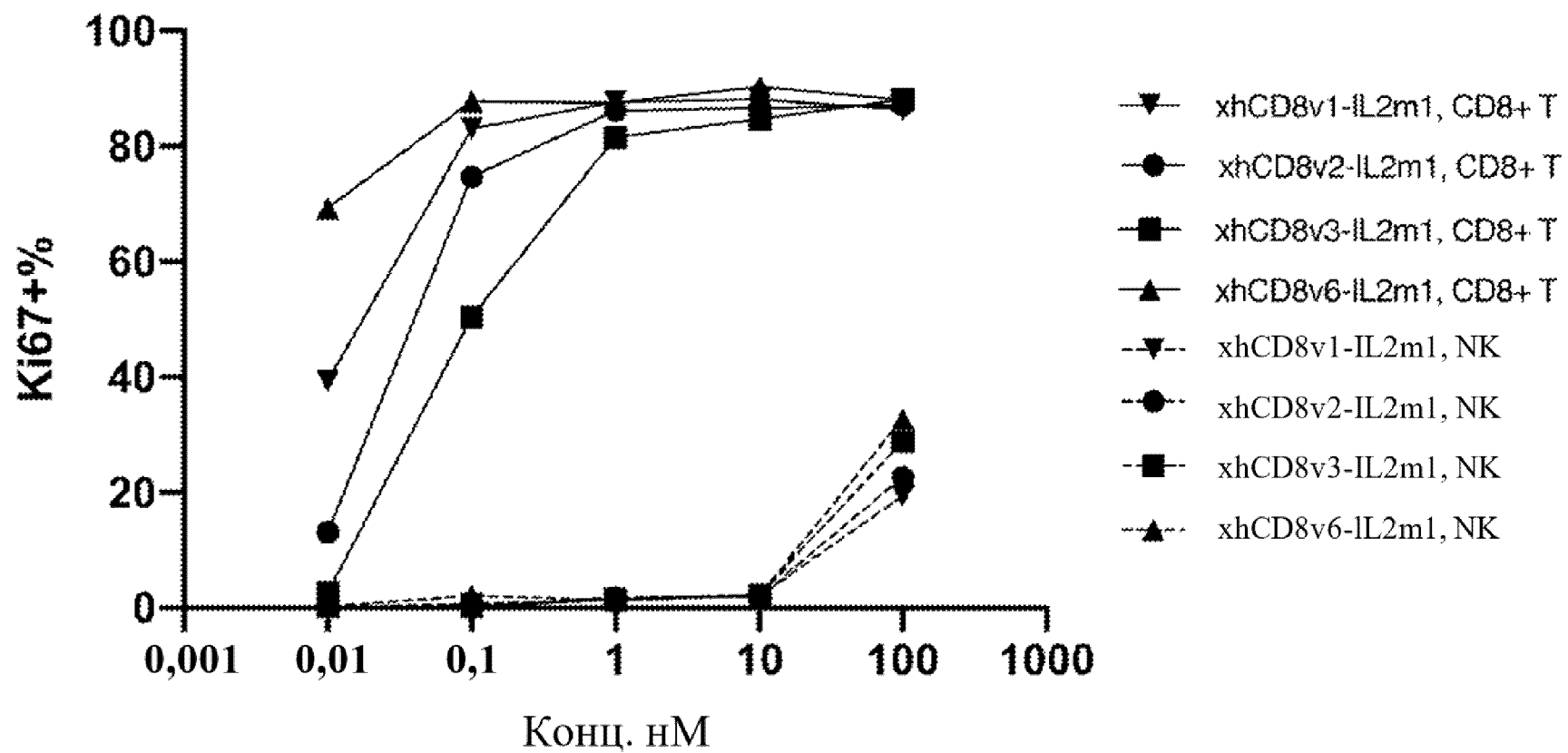
Нет связывания



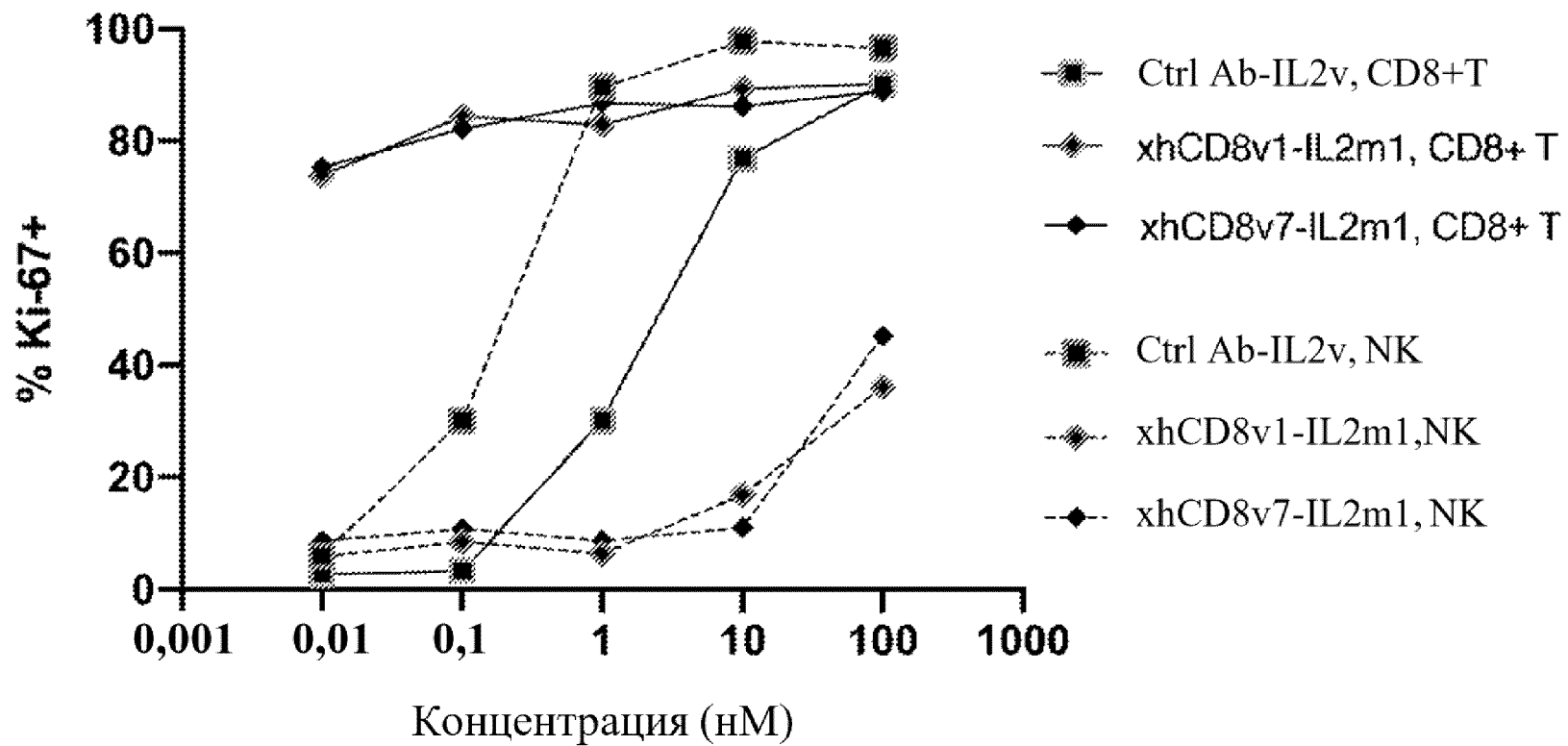
ФИГ. 8С



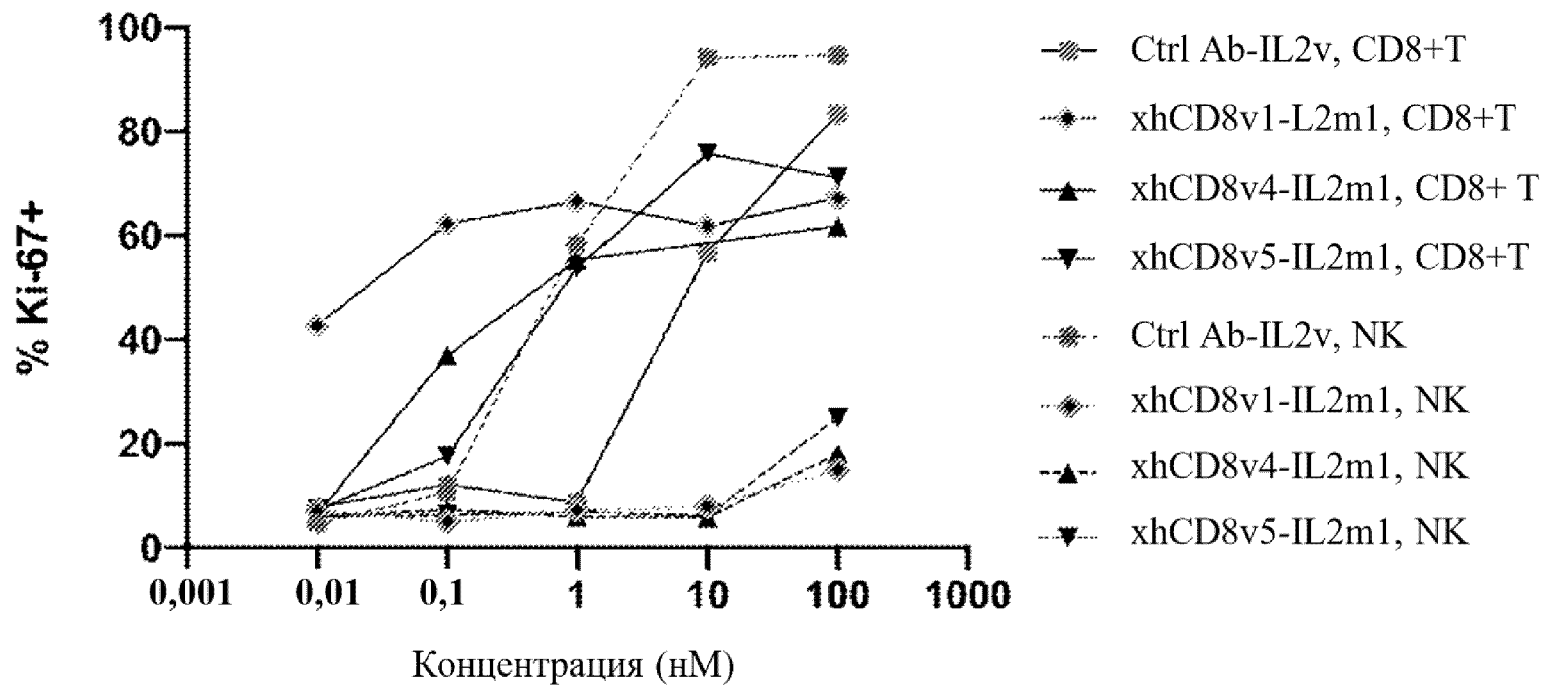
Фиг. 9



Фиг. 10А

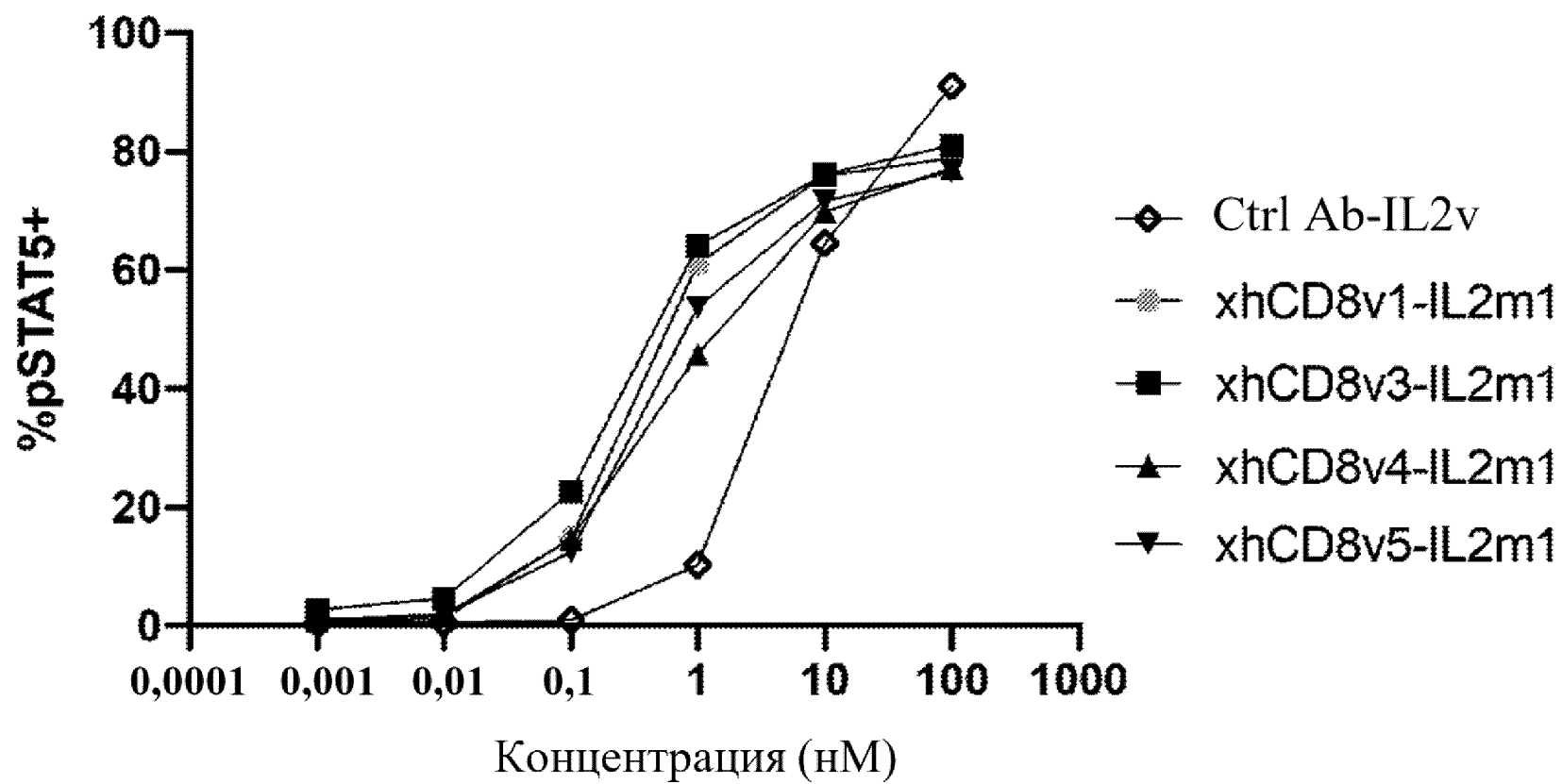


Фиг. 10В



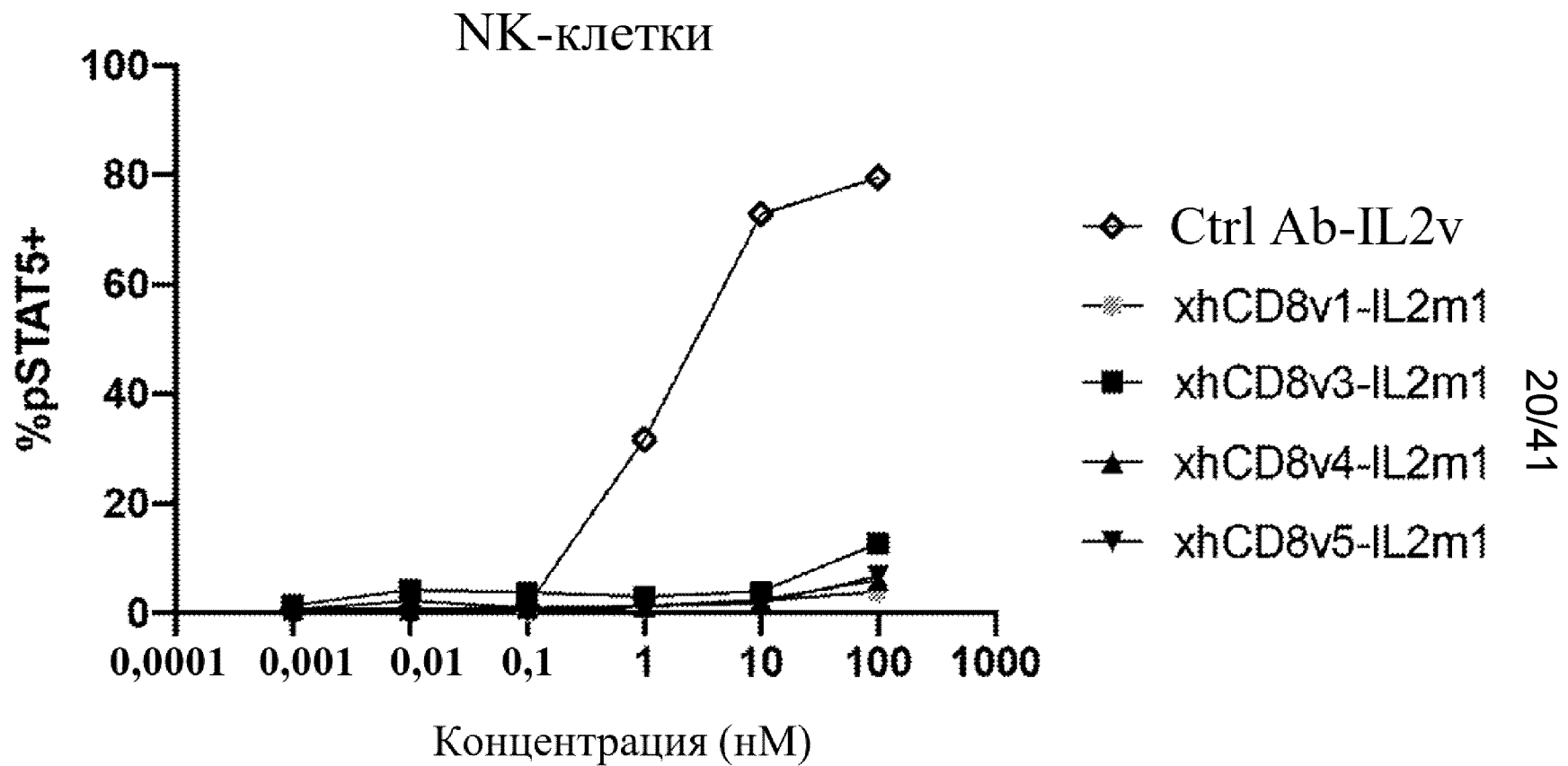
Фиг. 10С

CD8+ Т-клетки



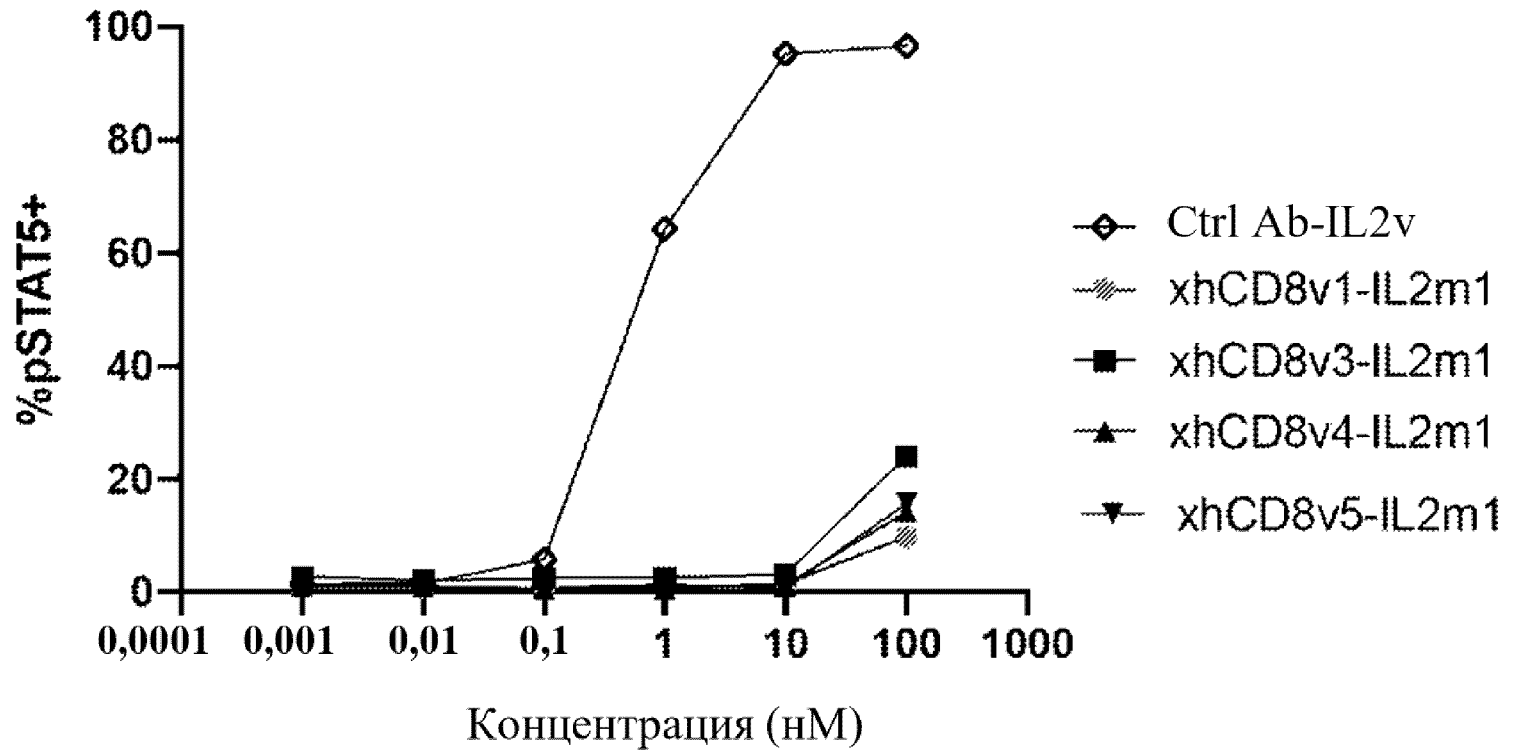
19/41

Фиг. 11А



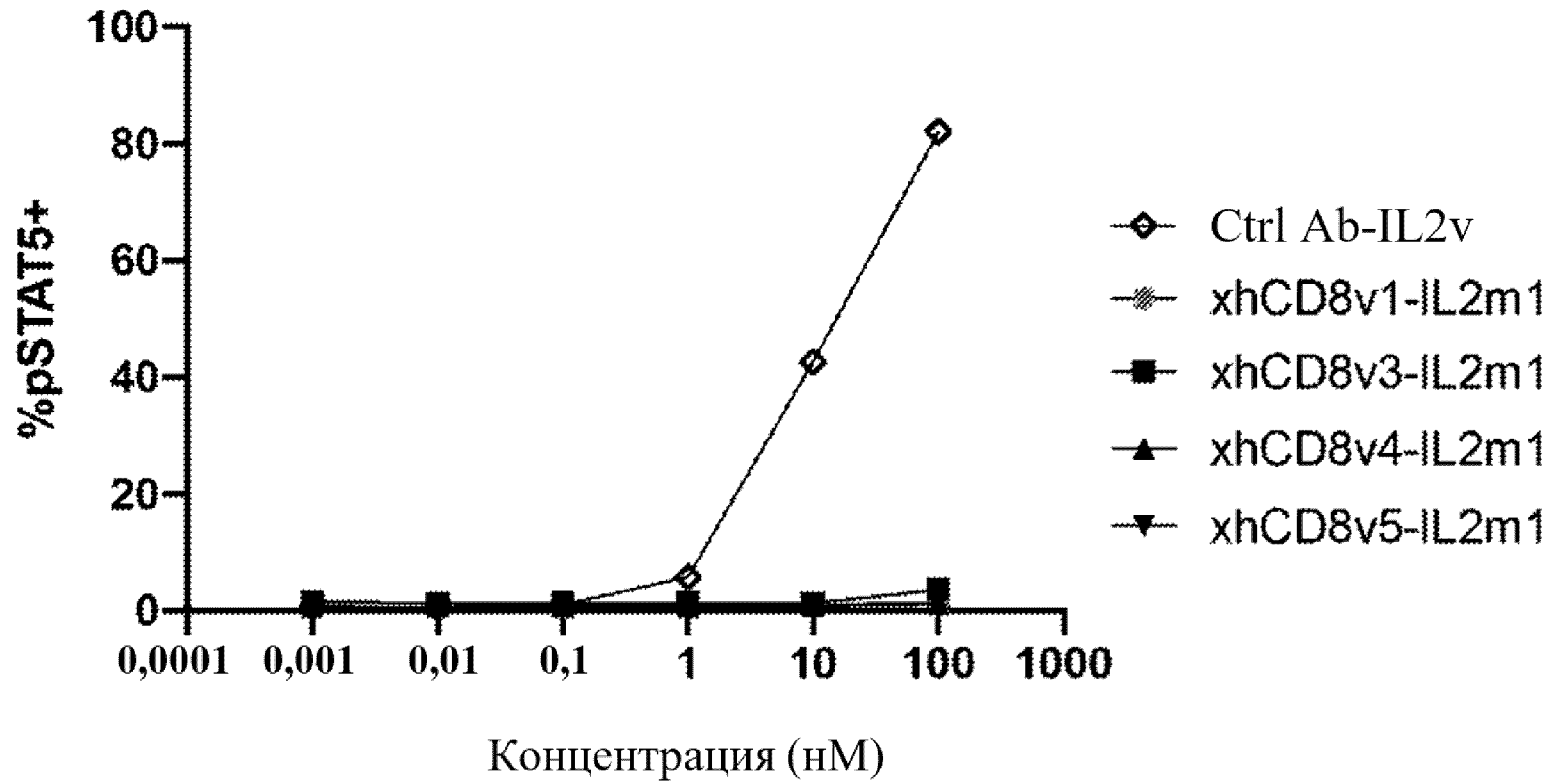
Фиг. 11В

Treg (CD4+Foxp3+)



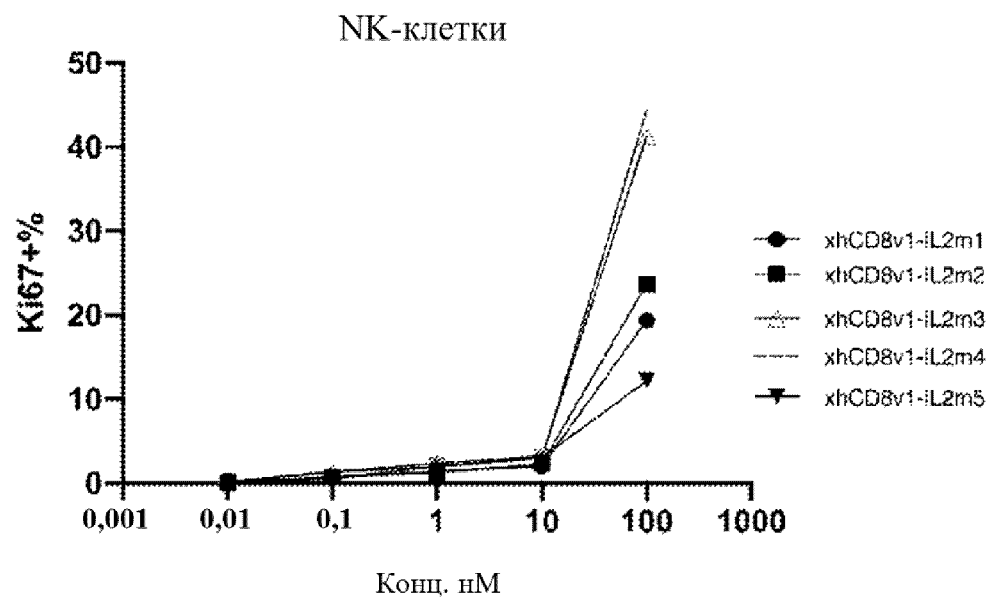
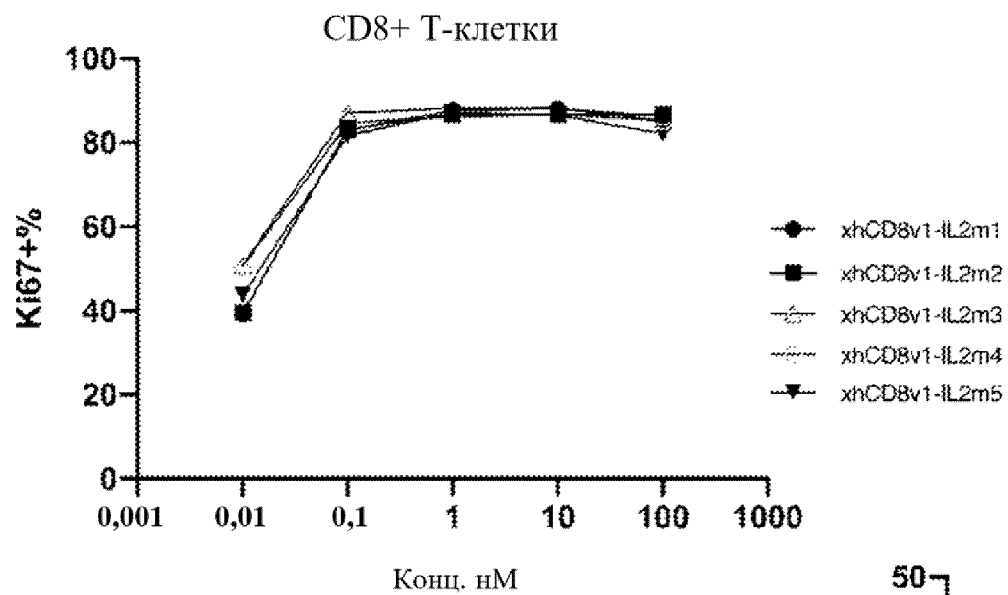
Фиг. 11С

CD4+Foxp3-

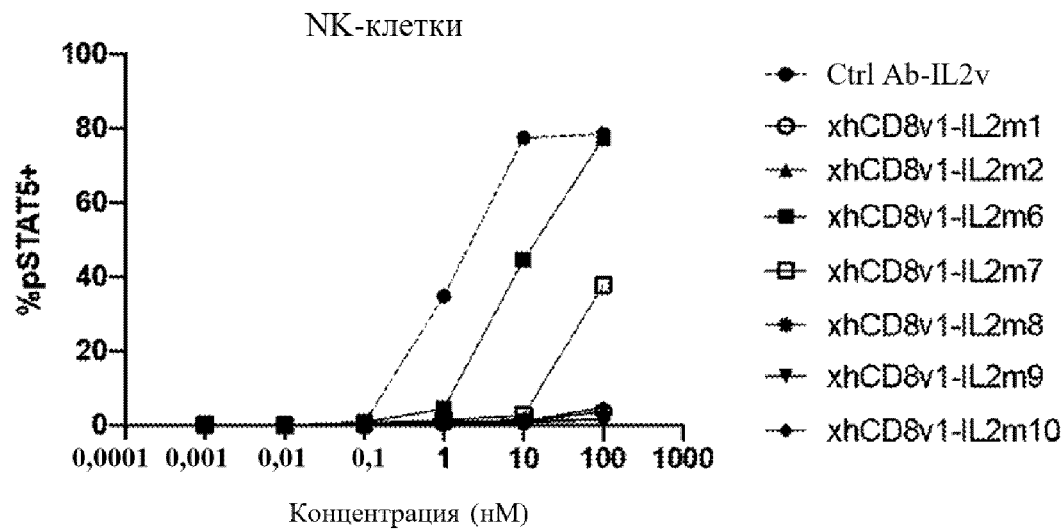
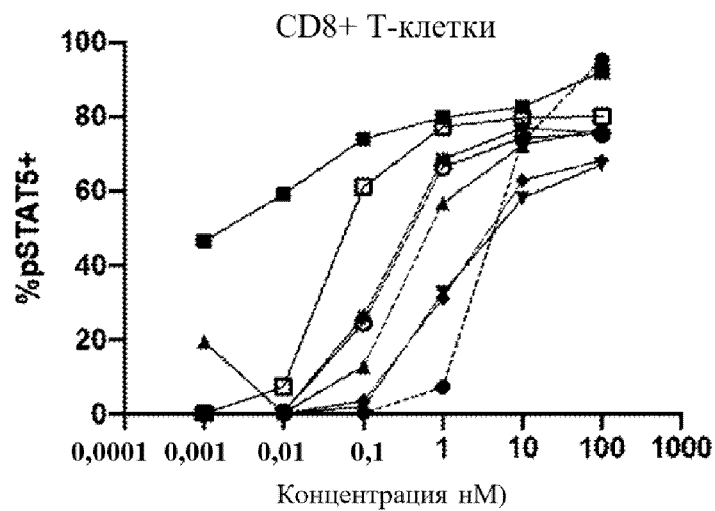


22/41

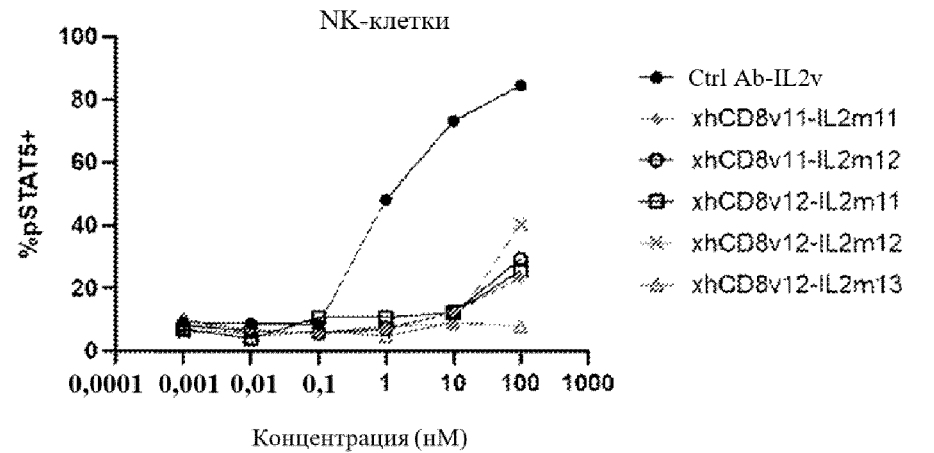
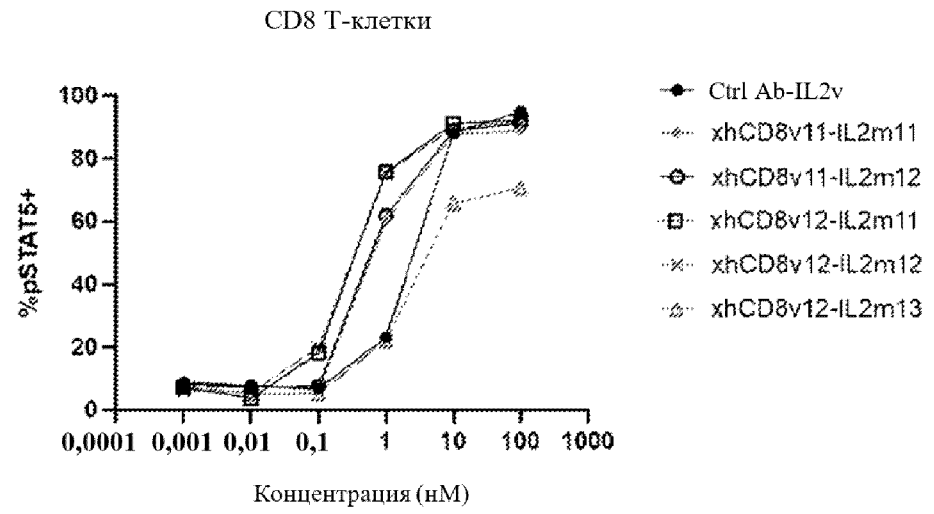
Фиг. 11D



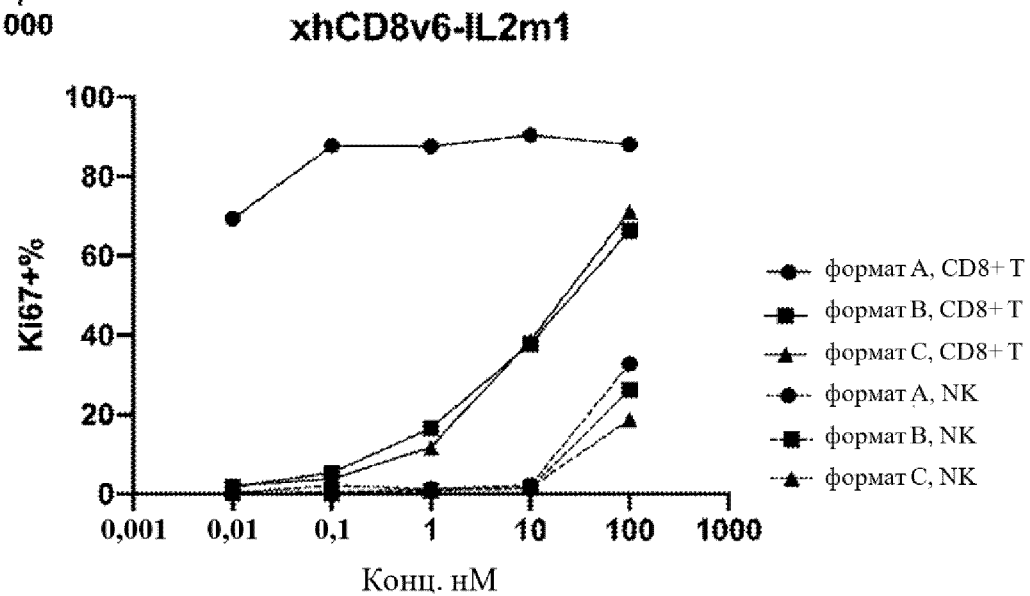
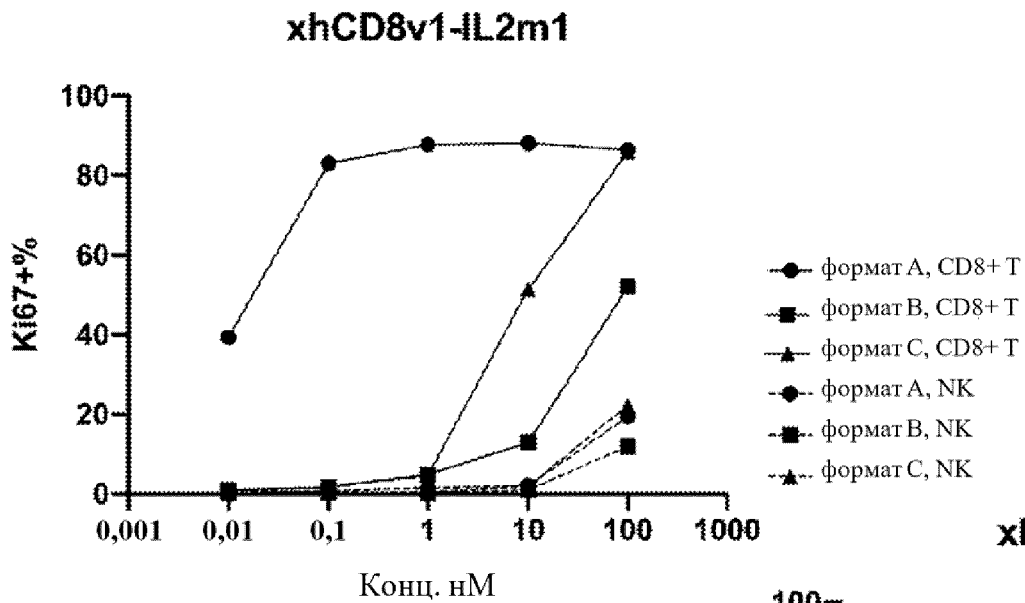
Фиг. 12



Фиг. 13А

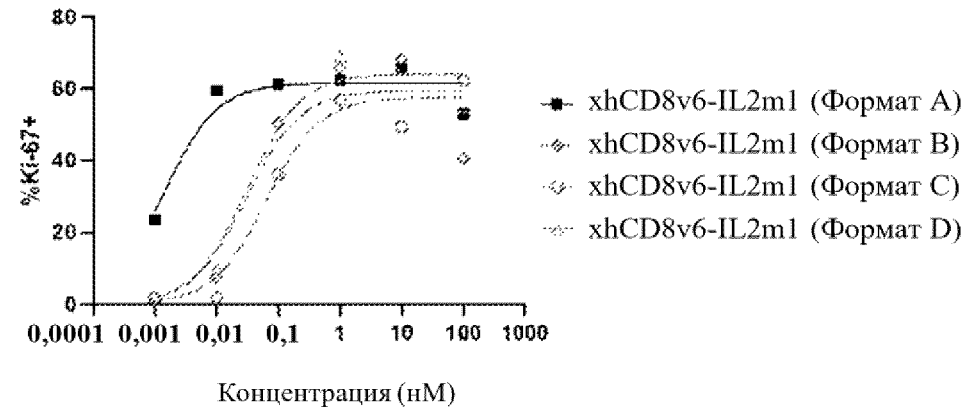
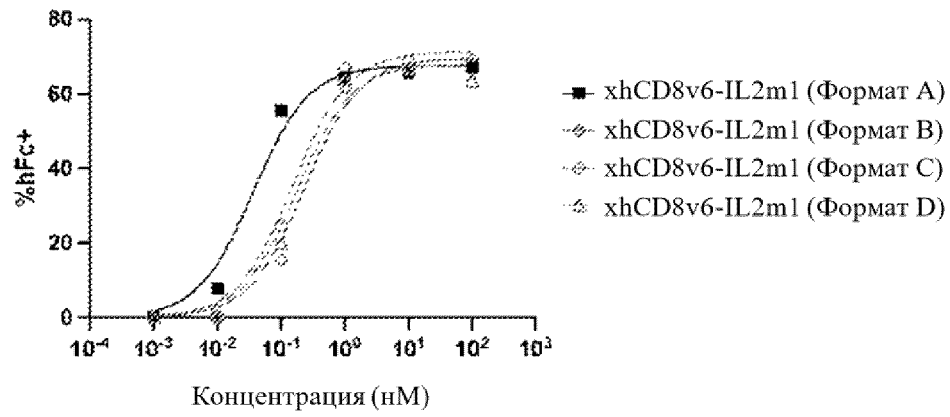


Фиг. 13В



Фиг. 14А

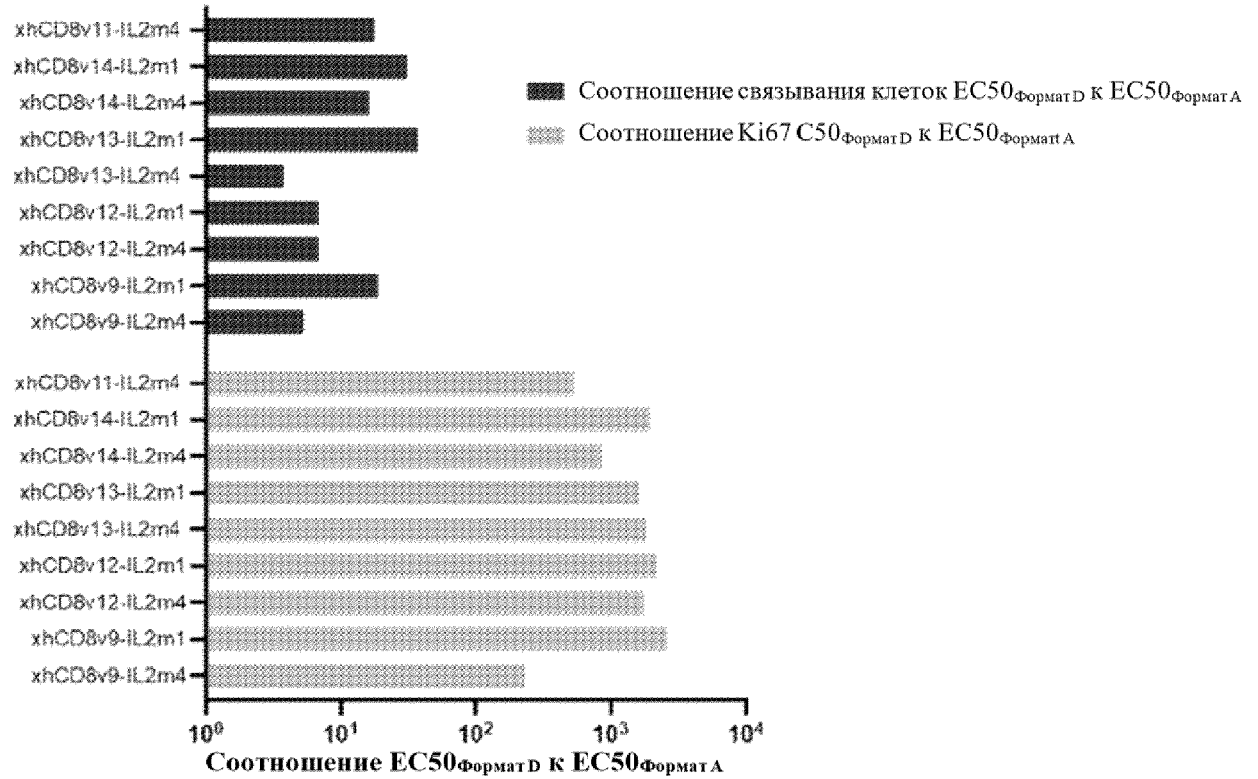
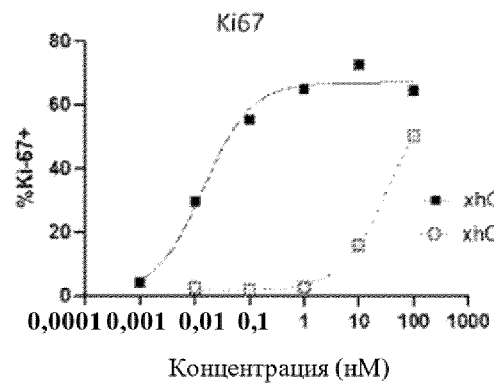
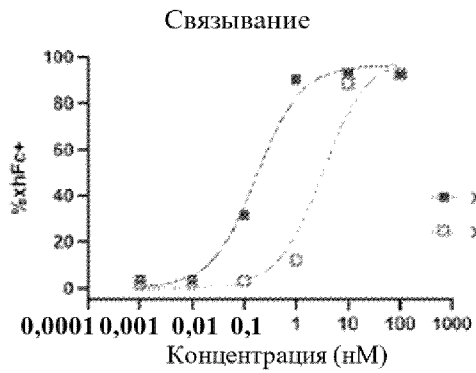
В



27/41

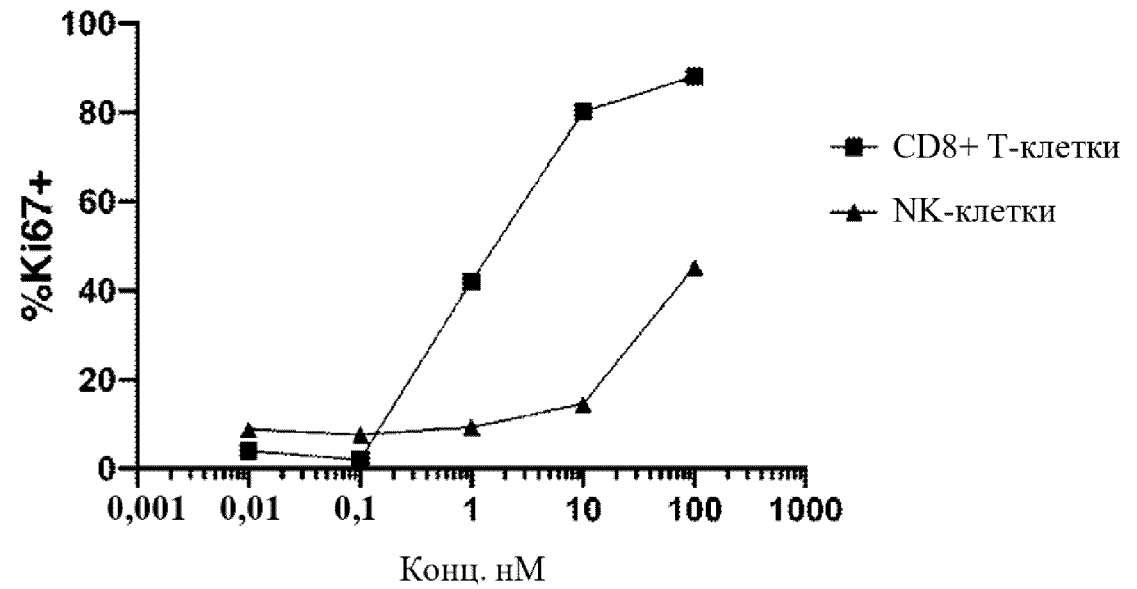
Фиг. 14В

С



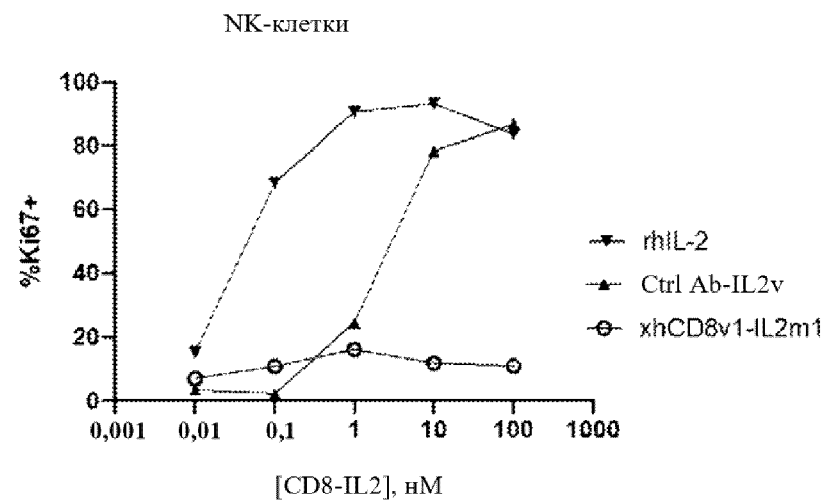
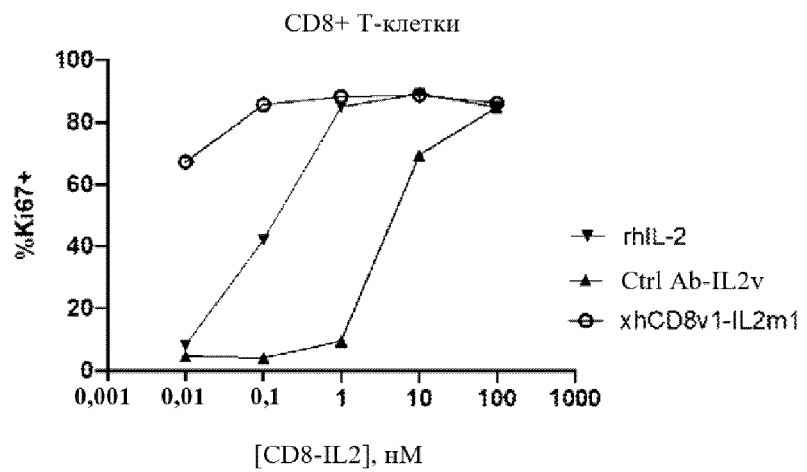
Фиг. 14С

xhCD8v8-IL2m1



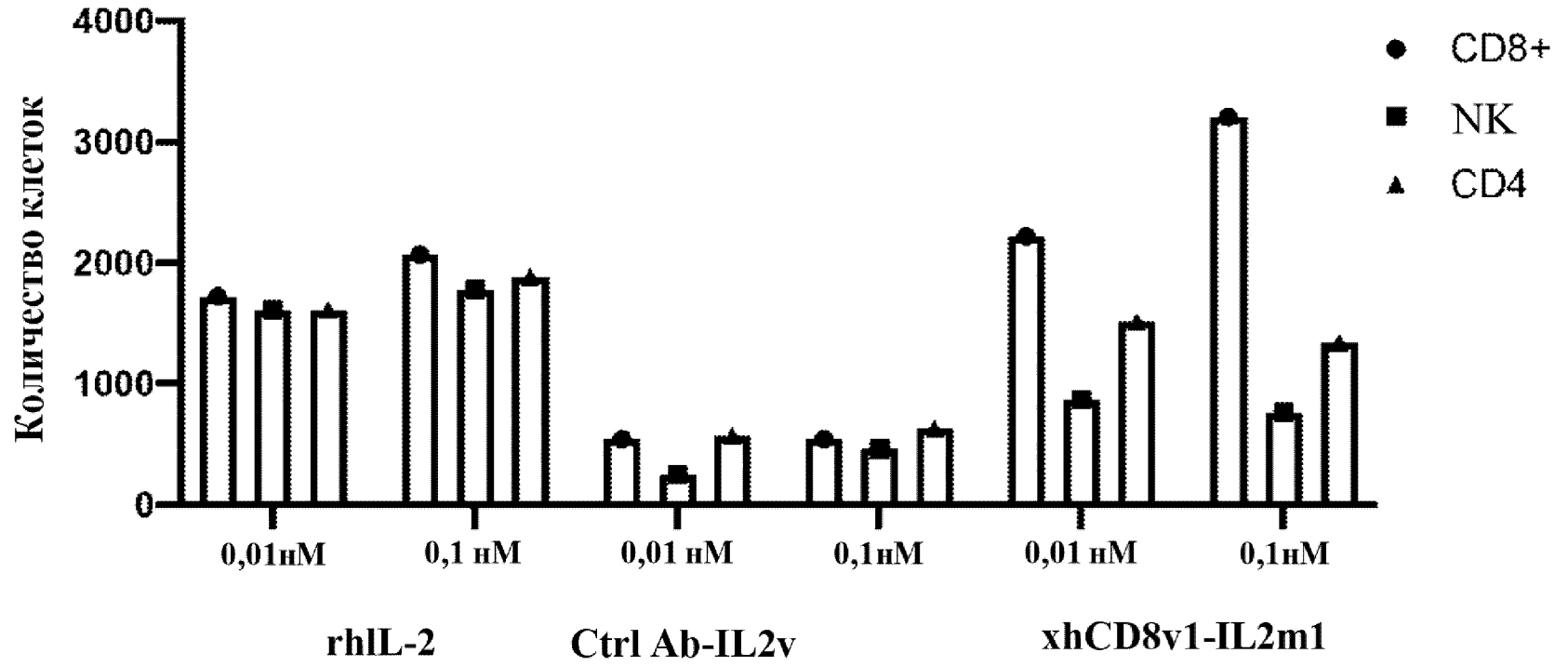
29/41

Фиг. 15



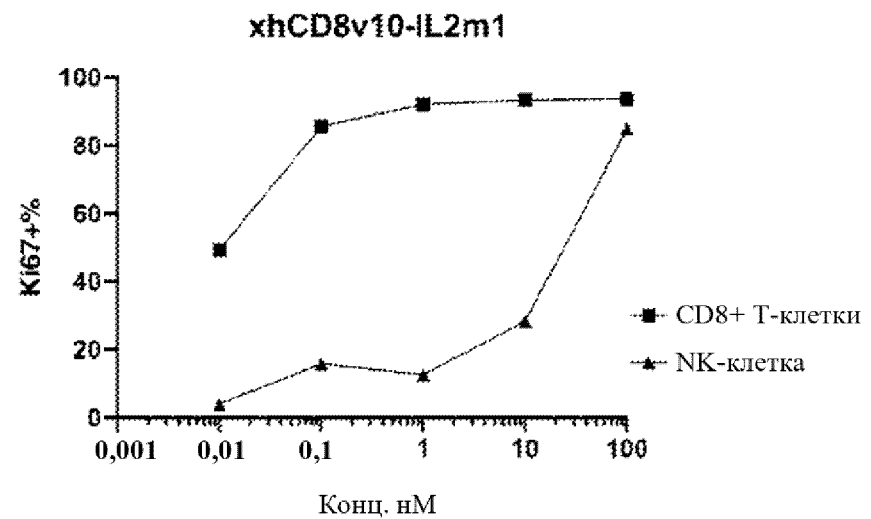
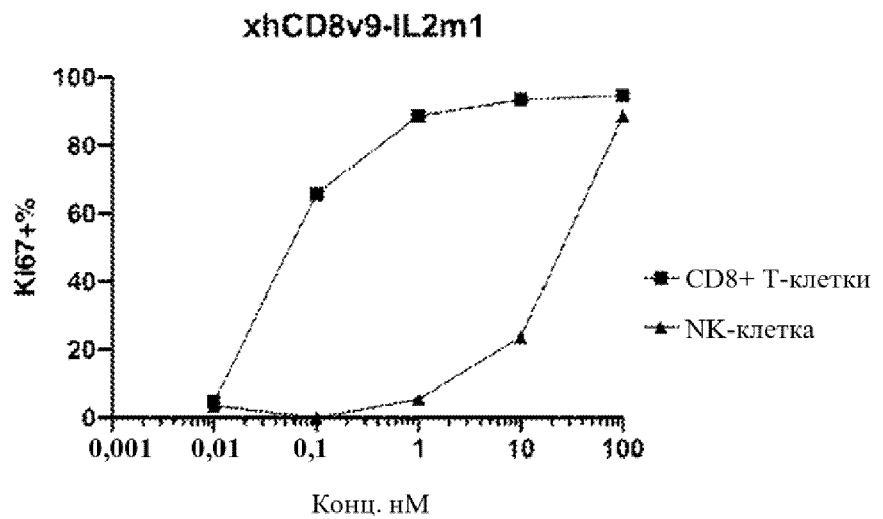
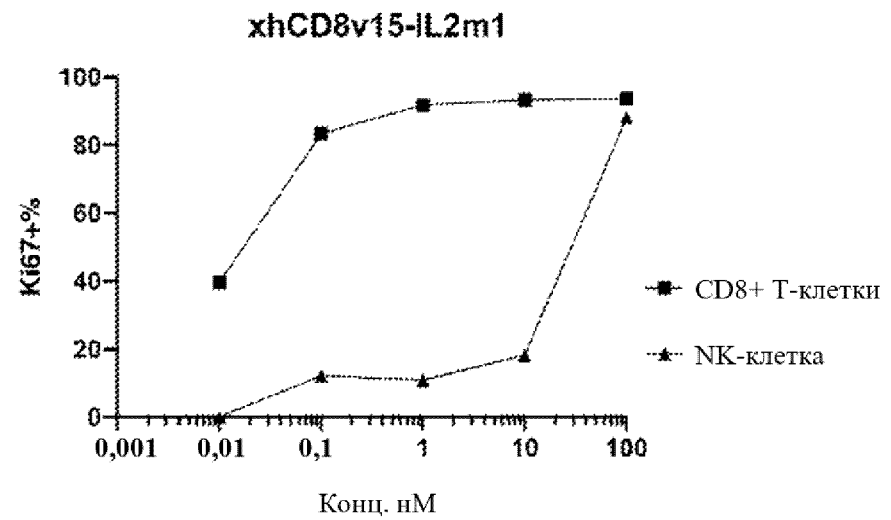
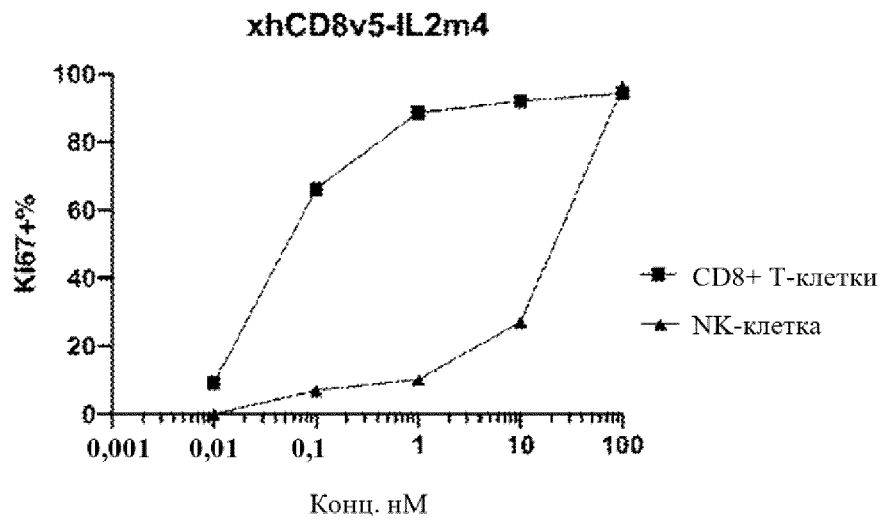
Фиг. 16А

Инфильтрирующие опухоль иммунные клетки

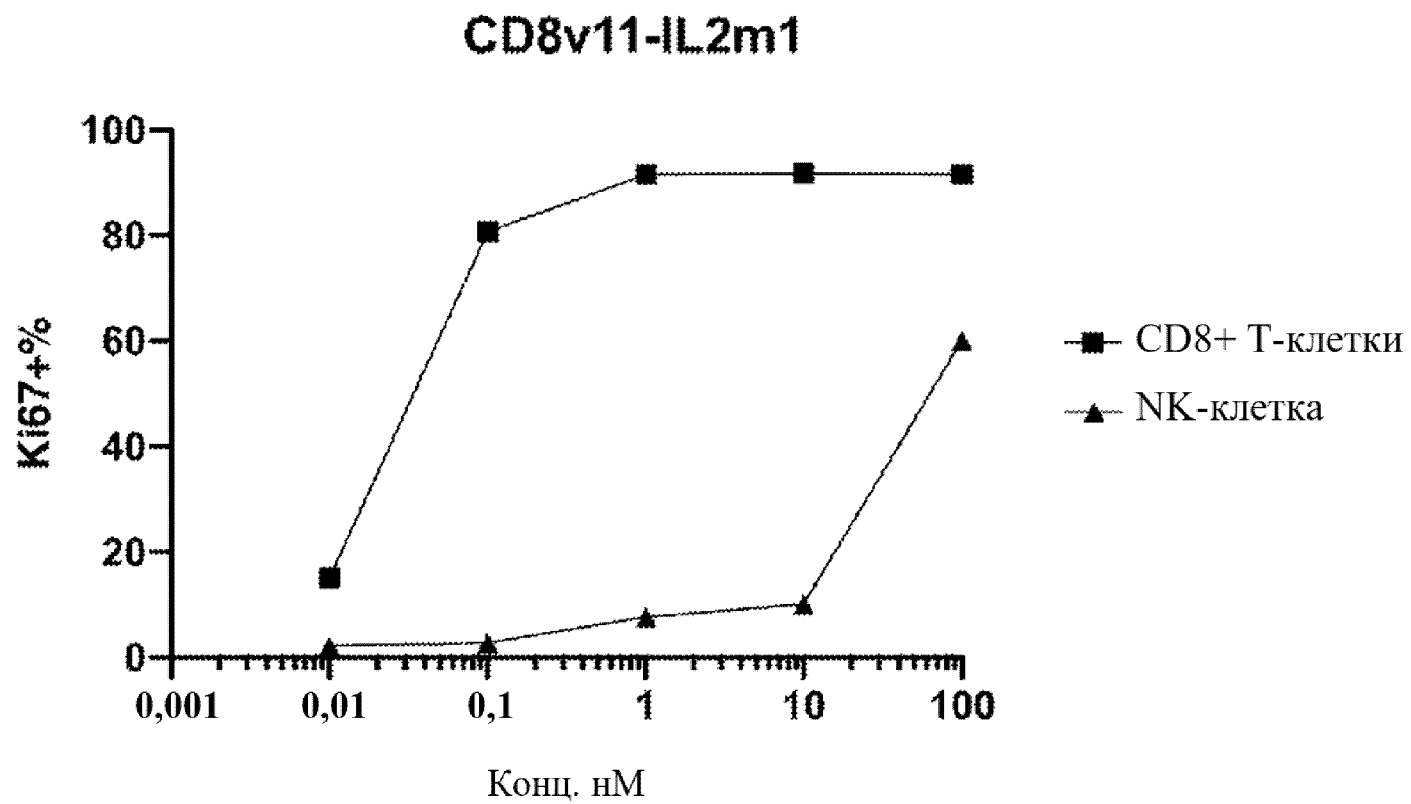


31/41

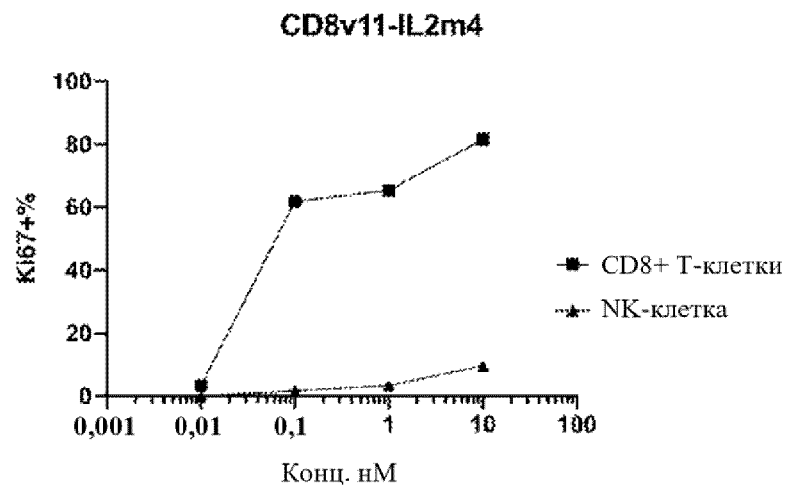
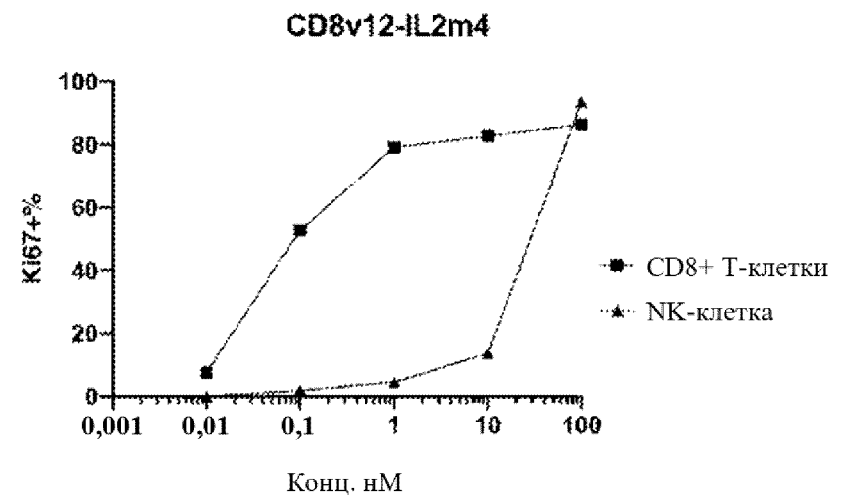
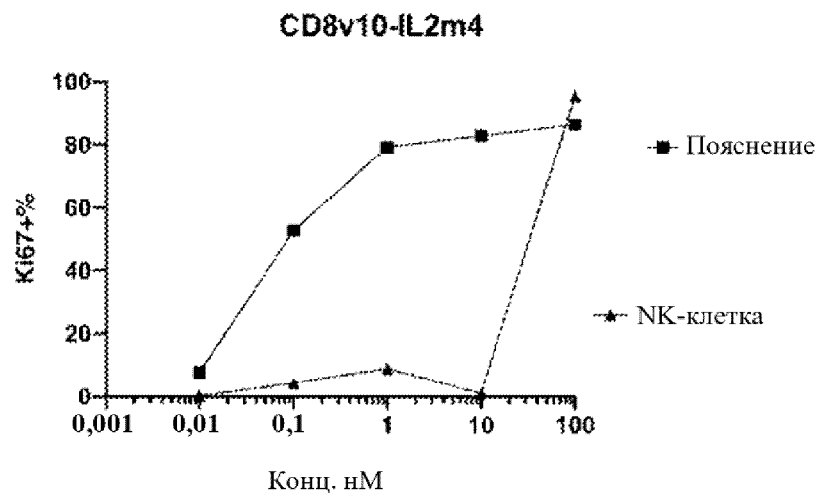
Фиг. 16В



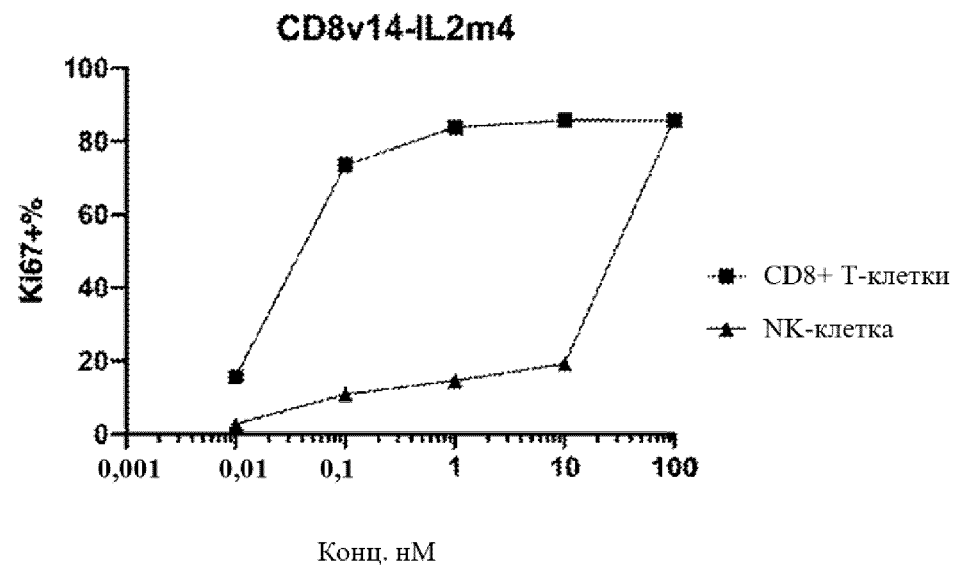
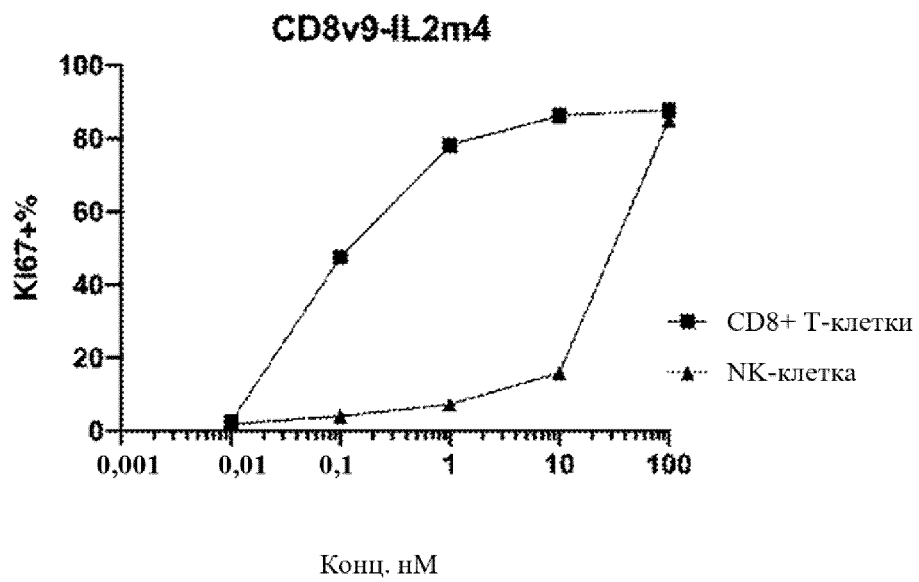
Фиг. 17А



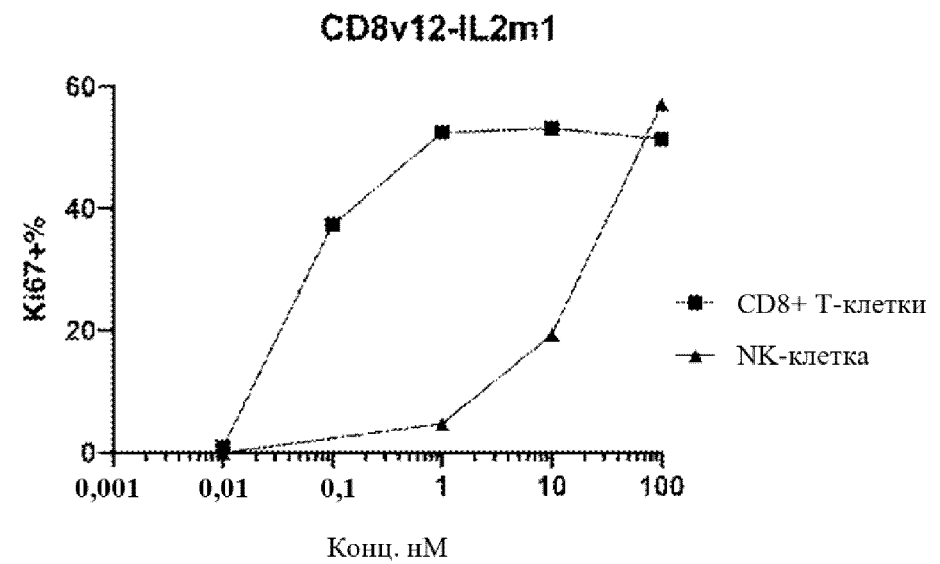
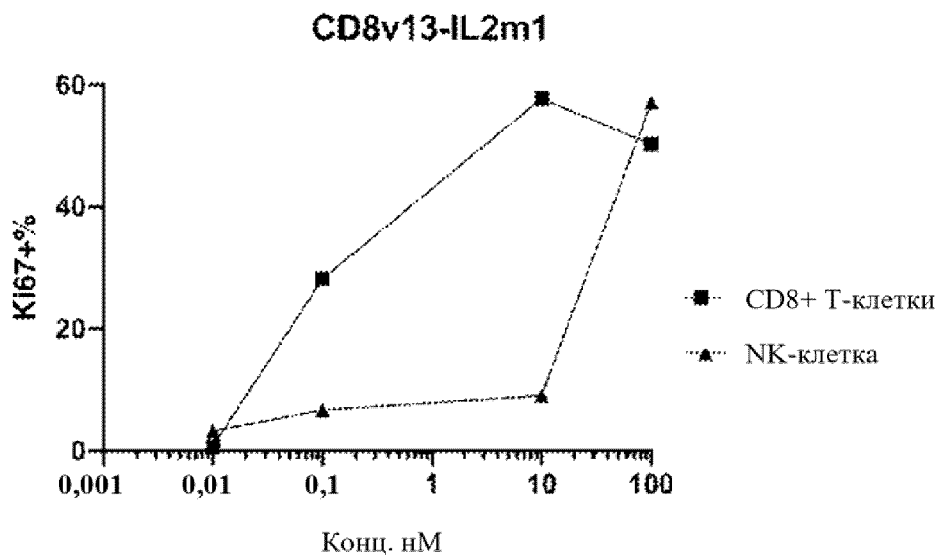
Фиг. 17В



Фиг. 17С



Фиг. 17D



Фиг. 17Е

	№ аминокислотной последовательности	% сходно с зародышевой линией человека				
		VH	№ а.о. несоответствие	VK	№ а.о. несоответствие	Общее кол. а.о. несоответствий
xhCD8v2	2	91%	9	92%	7	16
xhCD8v3	1	91%	9	92%	7	16
xhCD8v4	2	93%	7	92%	7	14
xhCD8v5	3	91%	9	92%	7	16
xhCD8v6	5	86%	14	98%	2	16
xhCD8v9	0	97%	3	92%	7	10
xhCD8v10	2	92%	8	98%	2	10
xhCD8v11	2	92%	8	98%	2	10
xhCD8v12	0	97%	3	94%	5	8
xhCD8v13	0	97%	3	92%	7	10
xhCD8v14	2	93%	7	98%	2	9
xhCD8v15	2	93%	7	98%	2	9

37/41

Фиг. 18А

xhCD8v1.1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTKYAISWVRQAPGQGLEWMGFNPNNDETKY
xhCD8v2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYRFHNFALSWVRQAPGQGLEWMGGIIPGHAKANY
xhCD8v3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGSRFYKFAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPGHAKANY
xhCD8v4	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTKYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPGHAKANY
xhCD8v5	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGSGFRGHALSWVRQAPGQGLEWMGGIIPGHAKANY
xhCD8v9	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYALSWVRQAPGQGLEWMGGIIPGAATANY
xhCD8v12	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYALSWVRQAPGQGLEWMGGIIPGYATANY
xhCD8v13	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYALSWVRQAPGQGLEWMGGIIPGYATANY
	***** * . ***** : * . : : *

xhCD8v1.1	NQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDGLGLRRLFADWGQGLTVTVSS
xhCD8v2	AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDGLGIRLFADWGQGLTVTVSS
xhCD8v3	AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDGLGIRLFADWGQGLTVTVSS
xhCD8v4	AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDGLGIRLFADWGQGLTVTVSS
xhCD8v5	AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDGLGIRLFADWGQGLTVTVSS
xhCD8v9	AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDAAGIRLFADWGQGLTVTVSS
xhCD8v12	AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDAAGIRLFADWGQGLTVTVSS
xhCD8v13	AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDAAGIRLFADWGQGLTVTVSS
	***** . * : *****

Фиг. 18С

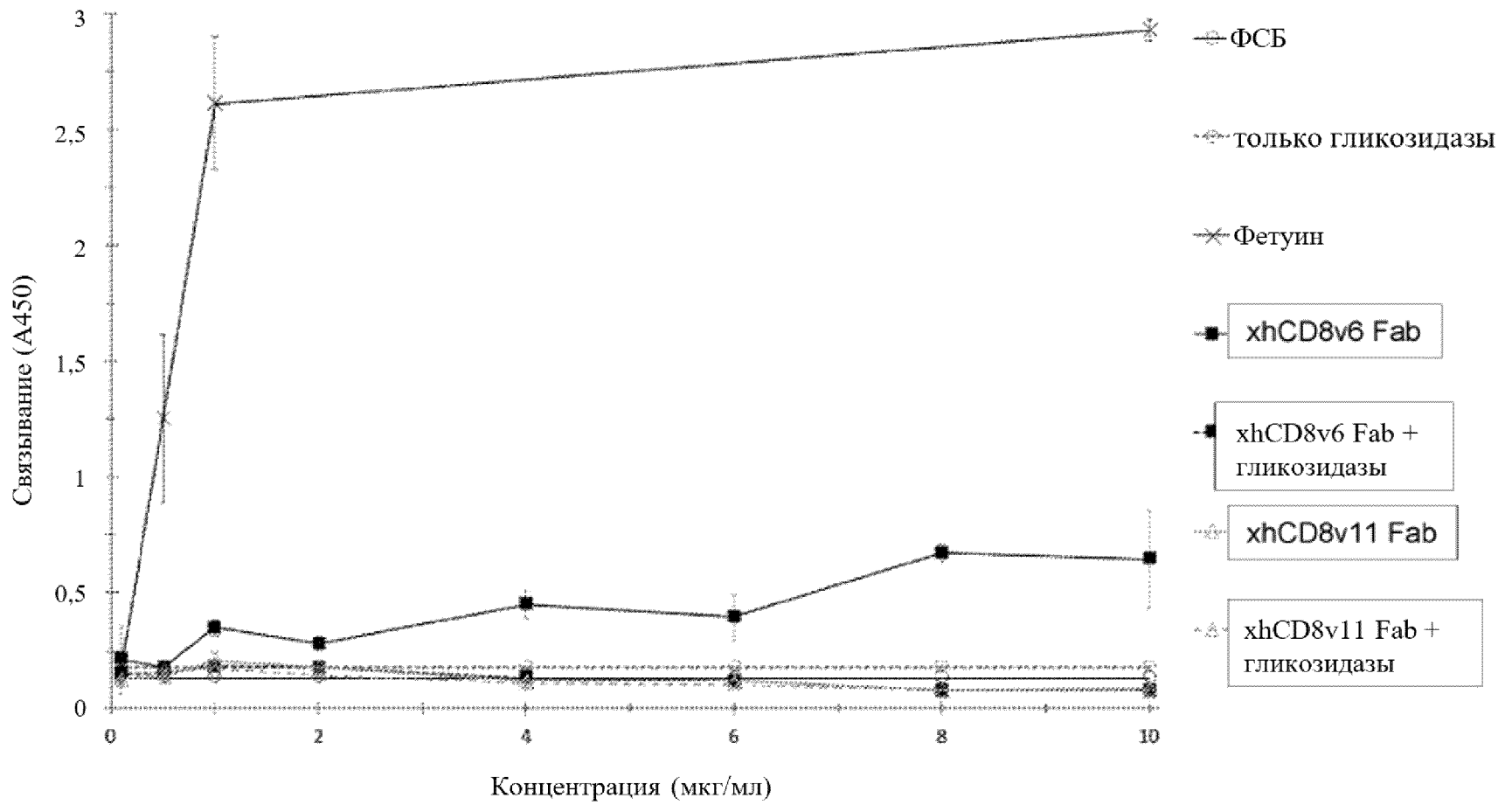
xhCD8v1.1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENIYGALNWFYQQKPGKAPKLLIYGATNLADGVPS
xhCD8v2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQEIYGALNWFYQQKPGKAPKLLIYGATNLQSGVPS
xhCD8v3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQEIYGALNWFYQQKPGKAPKLLIYGATNLQSGVPS
xhCD8v4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQKIYGALNWFYQQKPGKAPKLLIYGATNLQSGVPS
xhCD8v5	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQKIYGALNWFYQQKPGKAPKLLIYGATNLQSGVPS
xhCD8v9	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQEIYGALNWFYQQKPGKAPKLLIYGATNLQSGVPS
xhCD8v12	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIYGALNWFYQQKPGKAPKLLIYGASNQSGVPS
xhCD8v13	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQEIYGALNWFYQQKPGKAPKLLIYGATNLQSGVPS

*****:*****:***

xhCD8v1.1	RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQNILDTPWTFGGGTKLEIK
xhCD8v2	RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQDIYDAPWTFGGGTKVEIK
xhCD8v3	RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQDIYDAPWTFGGGTKVEIK
xhCD8v4	RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQNTYDTPWTFGGGTKVEIK
xhCD8v5	RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQNTYDTPWTFGGGTKVEIK
xhCD8v9	RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQSTYDAPWTFGGGTKVEIK
xhCD8v12	RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQSTYTAPWTFGGGTKVEIK
xhCD8v13	RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQSTYDAPWTFGGGTKVEIK

*****:*****:***

Фиг. 18D



41/41

Фиг. 19