



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I825029 B

(45)公告日：中華民國 112 (2023) 年 12 月 11 日

(21)申請案號：107133221

(22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 09 月 20 日

(51)Int. Cl. : C07K14/725 (2006.01)

C12N15/12 (2006.01)

A61K38/19 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

G01N33/574 (2006.01)

(30)優先權：2017/09/20 美國

62/560,930

(71)申請人：美國衛生與公眾服務部(美國) THE UNITED STATES OF AMERICA, AS
REPRESENTED BY THE SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH AND
HUMAN SERVICES (US)

美國

(72)發明人：約瑟夫 拉彌 YOSEPH, RAMI (IL)；卡夫利 蓋爾 CAFRI, GAL (IL)；羅賓斯
保羅 F ROBBINS, PAUL F. (US)；羅森伯格 史帝文 A ROSENBERG, STEVEN
A. (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

WO 2016/085904A1

WO 2017/048593A1

審查人員：吳思嫻

申請專利範圍項數：47 項 圖式數：10 共 126 頁

(54)名稱

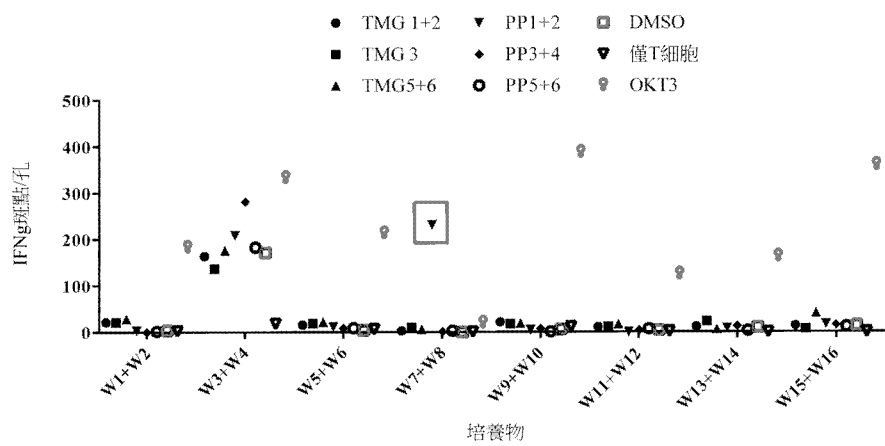
針對突變 RAS 之 HLA 第 II 類限制性 T 細胞受體

(57)摘要

本發明揭示經分離或純化之 T 細胞受體(TCR)，其中該 TCR 對人類白血球抗原(HLA)第 II 類分子呈現之突變 Kirsten 大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(KRAS)具有抗原性特異性。亦提供相關多肽及蛋白質，以及相關核酸、重組表現載體、宿主細胞、細胞群體及醫藥組合物。亦揭示檢測哺乳動物中癌症存在之方法及治療或預防哺乳動物癌症的方法。

Disclosed is an isolated or purified T cell receptor (TCR), wherein the TCR has antigenic specificity for mutated Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (KRAS) presented by a human leukocyte antigen (HLA) Class II molecule. Related polypeptides and proteins, as well as related nucleic acids, recombinant expression vectors, host cells, populations of cells, and pharmaceutical compositions are also provided. Also disclosed are methods of detecting the presence of cancer in a mammal and methods of treating or preventing cancer in a mammal.

指定代表圖：



【圖2】



I825029

【發明摘要】

【中文發明名稱】

針對突變RAS之HLA第II類限制性T細胞受體

【英文發明名稱】

HLA CLASS II-RESTRICTED T CELL RECEPTORS AGAINST
MUTATED RAS

【中文】

本發明揭示經分離或純化之T細胞受體(TCR)，其中該TCR對人類白血球抗原(HLA)第II類分子呈現之突變Kirsten大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(KRAS)具有抗原性特異性。亦提供相關多肽及蛋白質，以及相關核酸、重組表現載體、宿主細胞、細胞群體及醫藥組合物。亦揭示檢測哺乳動物中癌症存在之方法及治療或預防哺乳動物癌症的方法。

【英文】

Disclosed is an isolated or purified T cell receptor (TCR), wherein the TCR has antigenic specificity for mutated Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (KRAS) presented by a human leukocyte antigen (HLA) Class II molecule. Related polypeptides and proteins, as well as related nucleic acids, recombinant expression vectors, host cells, populations of cells, and pharmaceutical compositions are also provided. Also disclosed are methods of detecting the presence of cancer in a mammal and methods of treating or preventing cancer in a mammal.

【指定代表圖】

圖2

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

針對突變RAS之HLA第II類限制性T細胞受體

【英文發明名稱】

HLA CLASS II-RESTRICTED T CELL RECEPTORS AGAINST
MUTATED RAS

【技術領域】

【先前技術】

【0001】 一些癌症可具有極有限之治療選擇，尤其在癌症變為轉移性及不可切除性時。儘管諸如手術、化學療法及輻射療法等治療已獲進展，但許多癌症(例如胰臟癌、結腸直腸癌、肺癌、子宮內膜癌、卵巢癌及前列腺癌)之預後可能較差。因此，存在對其他癌症治療之未滿足需求。

【發明內容】

【0002】 本發明一實施例提供分離或純化T細胞受體(TCR)，其中該TCR對由人類白血球抗原(HLA)第II類分子呈現之突變人類Ras胺基酸序列具有抗原性特異性，其中突變人類RAS胺基酸序列係突變人類Kirsten大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(KRAS)胺基酸序列、突變人類Harvey大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(HRAS)胺基酸序列或突變人類神經母細胞瘤大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(NRAS)胺基酸序列。

【0003】 本發明之另一實施例提供包括本發明TCR之功能部分之分離或純化多肽，其中該功能部分包括以下胺基酸序列：(a) SEQ ID NO: 1-3之全部，(b) SEQ ID NO: 4-6之全部，(c) SEQ ID NO: 7-9之全部，

(d) SEQ ID NO: 10-12之全部，(e) SEQ ID NO: 1-6之全部，或(f) SEQ ID NO: 7-12之全部。

【0004】 本發明之再一實施例提供包括至少一種本發明多肽之分離或純化蛋白。

【0005】 本發明實施例進一步提供涉及本發明之TCR、多肽及蛋白質之核酸、重組表現載體、宿主細胞、細胞群體及醫藥組合物。

【0006】 本發明實施例進一步提供檢測哺乳動物中癌症之存在之方法及治療或預防哺乳動物之癌症的方法。

【圖式簡單說明】

【0007】 圖1繪示圖解說明藉由流式細胞術檢測針對同型(對照)染色之細胞或針對PD-1及/或OX40表現染色之細胞之實驗數據(點圖)。直方圖中之數值代表表現PD-1之細胞之百分比。

【0008】 圖2係展示干擾素 γ (IFN γ)陽性斑點數/孔之圖形，其係在共培養效應自體T細胞之彙集培養物(培養物編號W1-W16)與脈衝輸送有所指示25聚體肽(PP)之池或由涵蓋各種腫瘤特異性突變之25聚體串聯小基因(TMG)所編碼肽之池的靶DC後所檢測。單獨、與二甲基亞砷(DMSO)或OKT3抗體一起培養之自體T細胞用作對照。加框符號(▼)指示分離TCR之彙集培養物(7及8)。

【0009】 圖3係展示IFN γ 陽性斑點數/ 2×10^4 (2E4)個細胞之圖形，其係在共培養7號培養物(W7)之自體T細胞與脈衝輸送有來自肽池1 (PP1)之肽1-17 (P1-P17)中之每一者的自體DC後所檢測。與二甲基亞砷(DMSO)或OKT3抗體一起培養之自體T細胞用作對照。

【0010】 圖4係展示經實例2中表現4-1BB之TCR轉導之效應T細胞

之百分比的圖形，其係在HLA-阻斷抗體W6/32 (抗HLA-A、-B、-C)、IVA12 (泛特異性，抗HLA第II類)、B7/21 (抗HLA-DP)、HB55 (抗HLA-DR)或SPV-L3 (HLA-DQ) (靶細胞)存在下與脈衝輸送有KRAS G12V肽(1 ng/mL)之靶自體APC共培養後所測定。單獨、與DMSO或佛波醇肉豆蔻酸乙酸酯(PMA)一起培養之效應轉導細胞用作對照。經與靶自體APC (脈衝輸送有1 ng/mL KRAS G12V肽)一起共培養之空載體(模擬)轉導之效應細胞用作再一對照。

【0011】 圖5係展示以下結果之圖形：(i) IFN- γ 數/ 2×10^4 個細胞，藉由ELISPOT量測；及(ii) mTCR β +CD8+4-1BB+細胞之百分比，藉由流式細胞術量測，其皆係在共培養經實例2之TCR轉導之T細胞與自體APC (4148 MB)或來自具有DRB1 01:01或DRB1 07:01單倍型之供體且脈衝輸送有KRAS^{G12V}肽或WT KRAS肽的APC後所量測。將效應細胞與來自HLA-DRB1陽性供體(「DRB失配」)之APC (作為對照)一起共培養。單獨、與DMSO或佛波醇肉豆蔻酸乙酸酯-離子黴素(PMA:Iono)一起培養之效應細胞用作其他對照。

【0012】 圖6係展示以下結果之圖形：(i) IFN- γ 數/ 2×10^4 個細胞，藉由ELISPOT量測(影線條)；及(ii)表現4-1BB及/或OX40之細胞之百分比，藉由流式細胞術量測(黑條)，其皆係在共培養經實例2 TCR轉導之T細胞與脈衝輸送有表現下列KRAS G12突變中之一者之腫瘤細胞系之細胞溶解物的自體DC後所量測：G12RG、12C、G12D或G12V。與脈衝輸送有表現WT KRAS之腫瘤細胞系之細胞溶解物之自體DC一起共培養的轉導細胞用作對照。單獨或與PMA或DMSO一起培養之轉導細胞用作其他對照。

【0013】圖7係展示藉由流式細胞術量測之mTCR β +CD8+4-1BB+細胞之百分比之圖形，其係在過夜共培養經實例2 TCR轉導之T細胞與脈衝輸送有指示濃度之KRAS^{G12V}肽(三角形)或WT KRAS肽(正方形)之自體DC後所量測。

【0014】圖8係展示IFN- γ 數/ 2×10^4 個細胞之圖形，其係藉由ELISPOT在共培養經實例2 TCR轉導之T細胞與脈衝輸送有表9中指示濃度之肽之自體DC後所量測。

【0015】圖9繪示圖解說明表現鼠類TCR β 鏈及4-1BB之細胞之百分比之實驗數據(點圖)，其係在共培養經編碼KRAS^{G12C} TCR之MSGV-1-逆轉錄病毒轉導之細胞與DMSO (對照)或在指示濃度下加載指示WT KRAS或KRAS^{G12C}肽之DC後所測定。點繪圖指示以下細胞之百分比：mTCR β +/-4-1BB- (左上象限(Q1))；mTCR β +/-4-1BB+ (右上象限(Q2))；mTCR β -/-4-1BB+ (右下象限(Q3))；mTCR β -/-4-1BB- (左下象限(Q4))，且展示如下(括號中之百分比)：DMSO: Q1 (71.0), Q2 (0.96), Q3 (0.20), Q4 (27.9)。WT 10 μ g/ml: Q1 (64.5), Q2 (4.27), Q3 (0.43), Q4 (30.8)。WT 1 μ g/ml: Q1 (70.6), Q2 (1.13), Q3 (0.20), Q4 (28.1)。G12C 10 μ g/ml: Q1 (13.6), Q2 (51.7), Q3 (1.61), Q4 (33.0)。G12C 1 μ g/ml: Q1 (19.7), Q2 (46.9), Q3 (1.67), Q4 (31.7)。

【0016】圖10係展示表現CD3及4-1BB之細胞之百分比的圖形，其係在使用針對HLA-DQ、DR、DP之抗體或針對HLA-DQ、DR及DP之全部之抗體阻斷膜MHC-II分子後且將經KRAS^{G12C} TCR轉導之T細胞與匹配於單一HLA-DRB15:01或HLA-DRB11:01等位基因且脈衝輸送有KRAS^{G12C} 24聚體肽之自體DC或同種異體DC共培養後測定。與脈衝輸送

有WT KRAS肽之DC一起共培養之轉導細胞用作對照。與PMA/ion一起共培養之轉導細胞用作另一對照。

【實施方式】

相關申請案之交叉參考

【0017】 本申請案主張2017年9月20日提出申請之美國臨時專利申請案第62/560,930號之權益，該美國臨時專利申請案之全部內容以引用方式併入本文中。

關於由聯邦政府發起之研究或開發之聲明

【0018】 本發明係在政府支持下由國立衛生研究院(National Institutes of Health)之國家癌症研究院(National Cancer Institute)以項目號BC010984作出。該政府具有本發明之某些權利。

以電子方式提交之材料之以引用方式之引入

【0019】 本文以引用方式納入電腦可讀核苷酸/胺基酸序列表之全部內容，該序列表與本文同時提交且鑑別如下：一個59,753字節ASCII (文本)文件，命名為「739664_ST25.txt」，日期為2018年9月5日。

【0020】 RAS家族蛋白屬小GTPase之大家族。不受限於特定理論或機制，據信，在突變時，RAS蛋白可參與許多人類癌症之腫瘤形成之早期之信號轉導。單一胺基酸取代可活化蛋白質。突變RAS蛋白產物可組成型活化。突變RAS蛋白可表現於各種人類癌症(例如胰臟癌(例如胰臟癌瘤)、結腸直腸癌、肺癌(例如肺腺癌)、子宮內膜癌、卵巢癌(例如上皮卵巢癌)及前列腺癌)中之任一者中。人類RAS家族蛋白包含Kirsten大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(KRAS)、Harvey大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(HRAS)及神經母細胞瘤大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(NRAS)。

【0021】 KRAS亦稱為GTPase KRas、V-Ki-Ras2 Kirsten大鼠肉瘤病毒致癌基因或KRAS2。存在KRAS之以下兩種轉錄變體：KRAS變體A及KRAS變體B。野生型(WT) KRAS變體A具有SEQ ID NO: 17之胺基酸序列。野生型(WT) KRAS變體B具有SEQ ID NO: 18之胺基酸序列。在下文中，除非另外指定，否則所提及之「KRAS」(突變或未突變(WT))係指變體A及變體B。在活化時，突變KRAS結合至5'-三磷酸鳥苷(GTP)且將GTP轉化成5'-二磷酸鳥苷(GDP)。

【0022】 HRAS係RAS蛋白家族之另一成員。HRAS亦稱為Harvey大鼠肉瘤病毒致癌蛋白、V-Ha-Ras Harvey大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物或Ras家族小GTP結合蛋白H-Ras。WT HRAS具有SEQ ID NO: 19之胺基酸序列。

【0023】 NRAS係RAS蛋白家族之再一成員。NRAS亦稱為GTPase NRas、V-Ras神經母細胞瘤RAS病毒致癌基因同系物或NRAS1。WT NRAS具有SEQ ID NO: 20之胺基酸序列。

【0024】 本發明之一實施例提供對由人類白血球抗原(HLA)第II類分子呈現之突變人類RAS胺基酸序列(下文之「突變RAS」)具有抗原性特異性之分離或純化TCR，其中突變人類RAS胺基酸序列係突變人類KRAS、突變人類HRAS或突變人類NRAS胺基酸序列。在下文中，除非另外指定，否則所提及之「TCR」亦係指TCR之功能部分及功能變體。

【0025】 本發明TCR可對任一突變人類RAS蛋白、多肽或肽胺基酸序列具有抗原性特異性。在本發明之一實施例中，突變人類RAS胺基酸序列係突變人類KRAS胺基酸序列、突變人類HRAS胺基酸序列或突變人類NRAS胺基酸序列。WT人類KRAS、NRAS及HRAS蛋白之胺基酸序列各

自具有188-189個胺基酸殘基之長度且彼此具有高度一致性。舉例而言，WT人類NRAS蛋白之胺基酸序列與WT人類KRAS蛋白86.8%一致。WT人類NRAS蛋白及WT人類KRAS蛋白之胺基酸殘基1-86係100%一致。WT人類HRAS蛋白之胺基酸序列與WT人類KRAS蛋白86.3%一致。WT人類HRAS蛋白及WT人類KRAS蛋白之胺基酸殘基1-94係100%一致。在下文中，除非另外指定，否則所提及之「RAS」(突變或未突變(WT))集體地係指KRAS、HRAS及NRAS。

【0026】 在本發明之一實施例中，突變人類RAS胺基酸序列包括在位置12取代甘胺酸之WT RAS胺基酸序列，其中各別地藉由參照WT RAS蛋白來定義位置12。WT RAS蛋白可為WT KRAS蛋白(SEQ ID NO: 17或18)、WT HRAS蛋白(SEQ ID NO: 19)或WT NRAS蛋白(SEQ ID NO: 20)中之任一者，此乃因如上文所闡釋，WT人類NRAS蛋白及WT人類KRAS蛋白之胺基酸殘基1-86係100%一致，且WT人類HRAS蛋白及WT人類KRAS蛋白之胺基酸殘基1-94係100%一致。因此，WT KRAS、WT HRAS及WT NRAS蛋白中之每一者之位置12之胺基酸殘基係相同的，亦即甘胺酸。

【0027】 WT RAS胺基酸序列之位置12之甘胺酸可經除甘胺酸外之任一胺基酸殘基取代。在本發明之一實施例中，該取代係使用纈胺酸或半胱胺酸取代WT RAS胺基酸序列之位置12之甘胺酸。就此而言，本發明實施例提供對任一具有G12V突變或G12C突變之WT RAS蛋白、多肽或肽胺基酸序列具有抗原性特異性之TCR。

【0028】 在本文中，藉由參照WT RAS蛋白之胺基酸序列來定義RAS之突變及取代。因此，在本文中，藉由參照存在於WT RAS蛋白中特

定位置之胺基酸殘基、隨後係位置編號、隨後係以所論述特定突變或取代代替該殘基之胺基酸殘基來闡述RAS之突變及取代。RAS胺基酸序列(例如RAS肽)可包括少於全長WT RAS蛋白之所有胺基酸殘基的胺基酸殘基。因此，在本文中，藉由參照WT全長RAS蛋白(亦即SEQ ID NO: 17-20中之任一者)來定義位置12，且應理解，相應殘基在RAS胺基酸序列之特定實例中之實際位置可有所不同。在位置係如藉由SEQ ID NO: 17-20中之任一者所定義時，術語「G12」係指通常存在於SEQ ID NO: 17-20中之任一者之位置12之甘胺酸，且「G12V」指示，通常存在於SEQ ID NO: 17-20中之任一者之位置12之甘胺酸由纈胺酸代替。舉例而言，在RAS胺基酸序列之特定實例係(例如) TEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLI (SEQ ID NO: 29) (對應於SEQ ID NO: 17之鄰接胺基酸殘基2至24之實例性WT KRAS肽)時，「G12V」係指SEQ ID NO: 29中之加下劃線之甘胺酸經纈胺酸取代，即使SEQ ID NO: 29中之加下劃線之甘胺酸之實際位置為11。

【0029】 具有G12V或G12C突變之全長RAS蛋白之實例陳述於下表1中。

表1

突變全長RAS蛋白	SEQ ID NO:
G12V KRAS變體A	21
G12V KRAS變體B	22
G12V HRAS	23
G12V NRAS	24
G12C KRAS變體A	25
G12C KRAS變體B	26
G12C HRAS	27
G12C NRAS	28

【0030】 在本發明之一實施例中，TCR對具有上述G12V突變或G12C突變之RAS肽具有抗原性特異性，其中突變RAS肽具有任一長度。在本發明之一實施例中，突變RAS肽具有任一適於結合至本文所闡述之任一HLA第II類分子之長度。舉例而言，TCR可對具有G12V突變或G12C突變之RAS肽具有抗原性特異性，該RAS肽具有約11至約30個胺基酸殘基、約12至約24個胺基酸殘基或約18至約20個胺基酸殘基之長度。突變RAS肽可包括包含G12V或G12C突變之突變RAS蛋白之任何鄰接胺基酸殘基。在本發明之一實施例中，TCR可對具有G12V突變或G12C突變之RAS肽具有抗原性特異性，該突變RAS肽具有以下長度：約30個胺基酸殘基、約29個胺基酸殘基、約28個胺基酸殘基、約27個胺基酸殘基、約26個胺基酸殘基、約25個胺基酸殘基、約24個胺基酸殘基、約23個胺基酸殘基、約22個胺基酸殘基、約21個胺基酸殘基、約20個胺基酸殘基、約19個胺基酸殘基、約18個胺基酸殘基、約17個胺基酸殘基、約16個胺基酸殘基、約15個胺基酸殘基、約14個胺基酸殘基、約13個胺基酸殘基、約12個胺基酸殘基、約11個胺基酸殘基或前述值中之任兩者之範圍。各自具有G12V突變且可由本發明G12V TCR識別之具體肽之實例陳述於表9中。

【0031】 在本發明之一實施例中，本發明TCR能夠識別由HLA第II類分子呈現之突變RAS。就此而言，TCR可在結合至HLA第II類分子背景內之突變RAS時誘發免疫反應。本發明TCR能夠識別由HLA第II類分子呈現之突變RAS且除突變RAS外亦可結合至HLA第II類分子。

【0032】 在本發明之一實施例中，HLA第II類分子係HLA-DR分子。HLA-DR分子係 α 鏈及 β 鏈之異二聚體。HLA-DR α 鏈可由HLA-DRA基因編碼。HLA-DR β 鏈可由HLA-DRB1基因、HLA-DRB3基因、HLA-

DRB4基因或HLA-DRB5基因編碼。HLA-DR分子可為任一HLA-DR分子。HLA-DR分子之實例可包含(但不限於) HLA-DR1、HLA-DR2、HLA-DR3、HLA-DR4、HLA-DR5、HLA-DR6、HLA-DR7、HLA-DR8、HLA-DR9、HLA-DR10、HLA-DR11、HLA-DR12、HLA-DR13、HLA-DR14、HLA-DR15及HLA-DR16。較佳地，HLA-DR分子係HLA-DR7或HLA-DR11。

【0033】 在本發明之一實施例中，HLA第II類分子係HLA-DRB1分子。HLA-DRB1分子可為任一HLA-DRB1分子。HLA-DRB1分子之實例可包含(但不限於) HLA-DRB1*01:01、HLA-DRB1*01:02、HLA-DRB1*01:03、HLA-DRB1*03:01、HLA-DRB1*04:01、HLA-DRB1*04:02、HLA-DRB1*04:03、HLA-DRB1*04:04、HLA-DRB1*04:05、HLA-DRB1*04:07、HLA-DRB1*07:01、HLA-DRB1*08:01、HLA-DRB1*08:03、HLA-DRB1*09:01、HLA-DRB1*10:01、HLA-DRB1*11:01、HLA-DRB1*11:03、HLA-DRB1*11:04、HLA-DRB1*12:01、HLA-DRB1*13:01、HLA-DRB1*13:02、HLA-DRB1*13:03、HLA-DRB1*14:01、HLA-DRB1*15:01、HLA-DRB1*15:02及HLA-DRB1*16:01。較佳地，HLA第II類分子係HLA-DRB1*07:01分子或HLA-DRB1*11:01分子。

【0034】 本發明TCR可提供諸多優點中之任一者或多者，包含在由細胞表現時用於接受性細胞轉移。突變RAS由癌細胞表現且並不由正常、非癌性細胞表現。不受限於特定理論或機制，據信，本發明TCR旨在有利地破壞癌細胞且同時最小化或消除正常、非癌性細胞之破壞，由此減小毒性(例如最小化或消除)。此外，本發明TCR可有利地、成功地治療或預防

對其他類型治療(例如化學療法、手術或輻射)無反應之突變RAS陽性癌症。舉例而言，KRAS G12V突變分別表現於約27%及約8%之胰臟癌及結腸直腸癌患者中，且KRAS G12C突變表現於約15%之肺癌患者中。另外，本發明TCR可高度親合性地識別突變RAS，此可提供識別未操縱腫瘤細胞(例如未經干擾素(IFN)- γ 處理之腫瘤細胞、經編碼突變RAS及HLA-DRB1*07:01中之一或兩者、突變RAS及HLA-DRB1*11:01中之一或兩者之載體轉染之腫瘤細胞、脈衝輸送有具有G12V突變之RAS肽之腫瘤細胞、脈衝輸送有具有G12C突變之RAS肽之腫瘤細胞或其組合)之能力。此外，在美國，HLA-DRB1*07:01及HLA-DRB1*11:01等位基因分別表現於約25%及約10.5%之高加索種族個體中。因此，本發明TCR可增加免疫療法適應性癌症患者之數量以包含彼等表現HLA-DRB1*07:01及HLA-DRB1*11:01等位基因中之一或兩者且可能不適用於使用識別由其他MHC分子所呈現RAS之TCR之免疫療法的患者。

【0035】 本文所用之片語「抗原性特異性」意指，TCR可以高親合力特異性結合且免疫性識別突變RAS。舉例而言，在與(a)脈衝輸送有低濃度突變RAS肽(例如約0.05 ng/mL至約10 ng/mL、1 ng/mL、2 ng/mL、5 ng/mL、8 ng/mL、10 ng/mL或藉由前述值中之任兩者定義之範圍)之抗原陰性、HLA第II類分子陽性靶細胞或(b)已引入編碼突變RAS之核苷酸序列以便靶細胞表現突變RAS之抗原陰性、HLA第II類分子陽性靶細胞一起共培養後，若約 1×10^4 至約 1×10^5 個表現TCR之T細胞分泌至少約200 pg/mL或更多(例如200 pg/mL或更多、300 pg/mL或更多、400 pg/mL或更多、500 pg/mL或更多、600 pg/mL或更多、700 pg/mL或更多、1000 pg/mL或更多、5,000 pg/mL或更多、7,000 pg/mL或更多、10,000 pg/mL

或更多、20,000 pg/mL或更多或藉由前述值中之任兩者定義之範圍) IFN- γ ，則TCR可視為對突變RAS具有「抗原性特異性」。表現本發明TCR之細胞亦可在與脈衝輸送有較高濃度之突變RAS肽之抗原陰性、HLA第II類分子陽性靶細胞一起共培養後分泌IFN- γ 。HLA第II類分子可為本文所闡述之任一HLA第II類分子(例如HLA-DRB1*07:01分子或HLA-DRB1*11:01分子)。

【0036】 或者或另外，在與(a)脈衝輸送有低濃度突變RAS肽之抗原陰性、HLA第II類分子陽性靶細胞或(b)已引入編碼突變RAS之核苷酸序列以便靶細胞表現突變RAS之抗原陰性、HLA第II類分子陽性靶細胞一起共培養後，若表現TCR之T細胞分泌至少兩倍於藉由陰性對照表現之IFN- γ 量的IFN- γ ，則TCR可視為對突變RAS具有「抗原性特異性」。陰性對照可為(例如) (i)與以下細胞一起共培養之表現TCR之T細胞：(a)脈衝輸送有相同濃度之不相關肽(例如一些具有不同於突變RAS肽之序列之其他肽)之抗原陰性、HLA第II類分子陽性靶細胞，或(b)已引入編碼不相關肽之核苷酸序列以便靶細胞表現不相關肽之抗原陰性、HLA第II類分子陽性靶細胞；或(ii)與以下細胞一起共培養之未轉導T細胞(例如衍生自不表現TCR之PBMC)：(a)脈衝輸送有相同濃度之突變RAS肽之抗原陰性、HLA第II類分子陽性靶細胞，或(b)已引入編碼突變RAS之核苷酸序列以便靶細胞表現突變RAS之抗原陰性、HLA第II類分子陽性靶細胞。由陰性對照之靶細胞表現之HLA第II類分子與由與所測試T細胞一起共培養之靶細胞表現之HLA第II類分子相同。HLA第II類分子可為本文所闡述之任一HLA第II類分子(例如HLA-DRB1*07:01分子或HLA-DRB1*11:01分子)。可藉由業內已知方法(例如酶聯免疫吸附分析，ELISA)量測IFN- γ 分泌。

【0037】 或者或另外，在與(a)脈衝輸送有低濃度突變RAS肽之抗原陰性、HLA第II類分子陽性靶細胞或(b)已引入列編碼突變RAS之核苷酸序以便靶細胞表現突變RAS之抗原陰性、HLA第II類分子陽性靶細胞一起共培養後，與分泌IFN- γ 之陰性對照T細胞之數量相比，若至少兩倍多數量之表現TCR之T細胞分泌IFN- γ ，則TCR可視為對突變RAS具有「抗原特異性」。HLA第II類分子、肽濃度及陰性對照可如本文針對本發明之其他態樣所闡述。可藉由業內已知方法(例如ELISPOT)量測分泌IFN- γ 之細胞之數量。

【0038】 或者或另外，若表現TCR之T細胞上調一或多種T細胞活化標記物之表現，則TCR可視為對突變RAS具有「抗原特異性」，如藉由(例如)流式細胞術在使用表現突變RAS之靶細胞刺激之後所量測。T細胞活化標記物之實例包含4-1BB、OX40、CD107a、CD69及在抗原刺激時上調之細胞介素(例如腫瘤壞死因子(TNF)、介白素(IL)-2等)。

【0039】 本發明之一實施例提供包括兩個多肽(亦即多肽鏈，例如TCR之阿爾法(α)鏈、TCR之貝塔(β)鏈、TCR之伽馬(γ)鏈、TCR之德爾塔(δ)鏈或其組合)之TCR。本發明TCR之多肽可包括任一胺基酸序列，條件係該TCR對突變RAS具有抗原性特異性。

【0040】 在本發明之一實施例中，TCR包括兩條多肽鏈，其中之每一者包括含有TCR之互補決定區(CDR)1、CDR2及CDR3之可變區。在本發明之一實施例中，TCR包括第一多肽鏈及第二多肽鏈，第一多肽鏈包括含有SEQ ID NO: 1胺基酸序列之CDR1 (α 鏈之CDR1)、含有SEQ ID NO: 2胺基酸序列之CDR2 (α 鏈之CDR2)及含有SEQ ID NO: 3胺基酸序列之CDR3 (α 鏈之CDR3)，第二多肽鏈包括含有SEQ ID NO: 4胺基酸序列之

CDR1 (β 鏈之CDR1)、含有SEQ ID NO: 5胺基酸序列之CDR2 (β 鏈之CDR2)及含有SEQ ID NO: 6胺基酸序列之CDR3 (β 鏈之CDR3)。

【0041】 在本發明之另一實施例中，TCR包括第一多肽鏈及第二多肽鏈，第一多肽鏈包括含有SEQ ID NO: 7胺基酸序列之CDR1 (α 鏈之CDR1)、含有SEQ ID NO: 8胺基酸序列之CDR2 (α 鏈之CDR2)及含有SEQ ID NO: 9胺基酸序列之CDR3 (α 鏈之CDR3)，第二多肽鏈包括含有SEQ ID NO: 10胺基酸序列之CDR1 (β 鏈之CDR1)、含有SEQ ID NO: 11胺基酸序列之CDR2 (β 鏈之CDR2)及含有SEQ ID NO: 12胺基酸序列之CDR3 (β 鏈之CDR3)。

【0042】 就此而言，本發明TCR可包括選自由SEQ ID NO:1-12組成之群之胺基酸序列中之任一者或多者。在本發明之一實施例中，TCR包括以下胺基酸序列：(a) SEQ ID NO: 1-3之全部，(b) SEQ ID NO: 4-6之全部，(c) SEQ ID NO: 7-9之全部，(d) SEQ ID NO: 10-12之全部，(e) SEQ ID NO: 1-6之全部，或(f) SEQ ID NO: 7-12之全部。在一尤佳實施例中，TCR包括以下胺基酸序列：(i) SEQ ID NO: 1-6之全部或(ii) SEQ ID NO: 7-12之全部。

【0043】 在本發明之一實施例中，TCR包括含有上述CDR之TCR之可變區之胺基酸序列。就此而言，TCR可包括以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 13 (α 鏈之可變區)；SEQ ID NO: 14 (β 鏈之可變區)；SEQ ID NO: 15 (α 鏈之可變區)；SEQ ID NO: 16 (β 鏈之可變區)；SEQ ID NO: 13及14二者；或SEQ ID NO: 15及16二者。較佳地，TCR包括以下胺基酸序列：(i) SEQ ID NO: 13及14二者，或(ii) SEQ ID NO: 15及16二者。

【0044】 本發明TCR可進一步包括 α 鏈恆定區及 β 鏈恆定區。恆定區

可衍生自任一適宜物種(例如人類或小鼠)。在本發明之一實施例中，TCR 進一步包括鼠類 α 鏈及 β 鏈恆定區或人類 α 鏈及 β 鏈恆定區。如本文中所使用，在提及TCR或本文所闡述之任一TCR組分(例如互補決定區(CDR)、可變區、恆定區、 α 鏈及/或 β 鏈)時，術語「鼠類」或「人類」意指TCR (或其組分)分別衍生自小鼠或人類，亦即，TCR (或其組分)分別源自小鼠T細胞或人類T細胞或由其一次性表現。

【0045】 本發明之一實施例提供包括人類可變區及鼠類恆定區之嵌合TCR，其中該TCR對由HLA第II類分子呈現之突變人類RAS胺基酸序列具有抗原性特異性。鼠類恆定區可提供任一或多種優點。舉例而言，鼠類恆定區可減弱本發明TCR與引入本發明TCR之宿主細胞之內源性TCR之錯誤配對。或者或另外，與具有人類恆定區之相同TCR相比，鼠類恆定區可增加本發明TCR之表現。嵌合TCR可包括SEQ ID NO: 32 (野生型(WT)鼠類 α 鏈恆定區)、SEQ ID NO: 33 (WT鼠類 β 鏈恆定區)或SEQ ID NO: 32及33二者之胺基酸序列。較佳地，本發明TCR包括SEQ ID NO: 32及33二者之胺基酸序列。嵌合TCR可包括本文所闡述之任一鼠類恆定區與如本文針對本發明之其他態樣所闡述之任一CDR區的組合。就此而言，TCR可包括以下胺基酸序列：(a) SEQ ID NO: 1-3及32之全部；(b) SEQ ID NO: 4-6及33之全部；(c) SEQ ID NO: 7-9及32之全部；(d) SEQ ID NO: 10-12及33之全部；(e) SEQ ID NO: 1-6及32-33之全部；或(f) SEQ ID NO: 7-12及32-33之全部。在本發明之另一實施例中，嵌合TCR可包括本文所闡述之任一鼠類恆定區與本文針對本發明之其他態樣所闡述之任一可變區的組合。就此而言，TCR可包括以下胺基酸序列：(i) SEQ ID NO: 13及32二者；(ii) SEQ ID NO: 14及33二者；(iii) SEQ ID NO: 15及32二者；

(iv) SEQ ID NO: 16及33二者；(v) SEQ ID NO: 13-14及32-33之全部；或(vi) SEQ ID NO: 15-16及32-33之全部。

【0046】 在本發明之另一實施例中，TCR包括以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 38 (具有WT鼠類恆定區之 α 鏈)、SEQ ID NO: 39 (具有WT鼠類恆定區之 β 鏈)、SEQ ID NO: 40 (具有WT鼠類恆定區之 α 鏈)、SEQ ID NO: 41 (具有WT鼠類恆定區之 β 鏈)、SEQ ID NO: 38-39二者或SEQ ID NO: 40-41二者。

【0047】 在本發明之一實施例中，TCR包括含有可變區及恆定區之 α 鏈及含有可變區及恆定區之 β 鏈。就此而言，TCR可包括(a)包括SEQ ID NO: 34之胺基酸序列之 α 鏈，其中：(i) SEQ ID NO: 34之位置179之X係Thr或Cys；(ii) SEQ ID NO: 34之位置243之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；(iii) SEQ ID NO: 34之位置245之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；且(iv) SEQ ID NO: 34之位置246之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；(b)包括SEQ ID NO: 35之胺基酸序列之 β 鏈，其中SEQ ID NO: 35之位置189之X係Ser或Cys；(c)包括SEQ ID NO: 36之胺基酸序列之 α 鏈，其中：(i) SEQ ID NO: 36之位置180之X係Thr或Cys；(ii) SEQ ID NO: 36之位置244之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；(iii) SEQ ID NO: 36之位置246之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；且(iv) SEQ ID NO: 36之位置247之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；(d)包括SEQ ID NO: 37之胺基酸序列之 β 鏈，其中SEQ ID NO: 37之位置194之X係Ser或Cys；(e) (a)及(b)二者；或(f) (c)及(d)二者。

【0048】 在本發明之一個實施例中，TCR包括經取代之恆定區。就此而言，TCR可包括本文所述任一TCR的胺基酸序列在 α 鏈及 β 鏈中一者或二者之恆定區中具有一個、兩個、三個或四個胺基酸取代。較佳地，TCR包括鼠類恆定區在 α 鏈及 β 鏈中一者或兩者之鼠類恆定區中具有一個、兩個、三個或四個胺基酸取代。在一個尤佳實施例中，TCR包括鼠類恆定區在 α 鏈之鼠類恆定區中具有一個、兩個、三個或四個胺基酸取代且在 β 鏈之鼠類恆定區中具有一個胺基酸取代。在一些實施例中，與包括未取代(野生型)恆定區之親代TCR相比，包括經取代恆定區之TCR有利地提供以下之一或多者：增加突變RAS⁺靶之識別、增加宿主細胞之表現、減少與內源TCR之錯誤配對及增加抗腫瘤活性。一般而言，TCR α 鏈及 β 鏈之鼠類恆定區之經取代胺基酸序列SEQ ID NO: 30及31分別對應於未經取代之鼠類恆定區胺基酸序列SEQ ID NO: 32及33之全部或一部分，其中SEQ ID NO: 30與SEQ ID NO: 32相比具有一個、兩個、三個或四個胺基酸取代且SEQ ID NO: 31與SEQ ID NO: 33相比具有一個胺基酸取代。就此而言，本發明之一個實施例提供包括以下胺基酸序列之TCR：(a) SEQ ID NO: 30 (α 鏈之恆定區)，其中(i)位置48之X係Thr或Cys；(ii)位置112之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；(iii)位置114之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及(iv)位置115之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；(b) SEQ ID NO: 31 (β 鏈之恆定區)，其中位置57之X係Ser或Cys；或(c) SEQ ID NO: 30及31二者。在本發明之一個實施例中，包括SEQ ID NO: 30之TCR不包括SEQ ID NO: 32 (α 鏈之未取代鼠類恆定區)。在本發明之一個實施例中，包括SEQ ID NO: 31之TCR不包括SEQ ID NO: 33 (β 鏈之未取代鼠類恆定區)。

【0049】 在本發明之一個實施例中，經取代恆定區包含 α 鏈及 β 鏈中一者或兩者之恆定區中之半胱胺酸取代以提供經半胱胺酸取代之TCR。 α 鏈及 β 鏈中之相對半胱胺酸提供二硫鍵，該二硫鍵使經取代TCR之 α 鏈及 β 鏈之恆定區彼此連接且並不存在於包括未取代鼠類恆定區之TCR中。就此而言，TCR可為經半胱胺酸取代之TCR，其中SEQ ID NO: 32中位置48之天然Thr (Thr48)及SEQ ID NO: 33中位置57之天然Ser (Ser57)中之一者或兩者可經Cys取代。較佳地，SEQ ID NO: 32之天然Thr48及SEQ ID NO: 33之天然Ser57二者皆經Cys取代。經半胱胺酸取代之TCR恆定區序列之實例述於表2中。在本發明之一個實施例中，經半胱胺酸取代之TCR包括(i) SEQ ID NO: 30、(ii) SEQ ID NO: 31或(iii) SEQ ID NO: 30及31二者，其中SEQ ID NO: 30及31二者係如表2中所定義。除本文所述之任一CDR或可變區外，本發明之經半胱胺酸取代之TCR可包含經取代之恆定區。

【0050】 在本發明之一實施例中，經半胱胺酸取代之嵌合TCR包括全長 α 鏈及全長 β 鏈。經半胱胺酸取代之嵌合TCR α 鏈及 β 鏈序列之實例陳述於表2中。在本發明之一實施例中，TCR包括(i) SEQ ID NO: 34、(ii) SEQ ID NO: 35、(iii) SEQ ID NO: 36、(iv) SEQ ID NO: 37、(v) SEQ ID NO: 34及35二者或(vi) SEQ ID NO: 36及37二者，其中SEQ ID NO: 34-37之全部係如表2中所定義。

表2

SEQ ID NO:	「X」之定義
SEQ ID NO: 30 (恆定區 α 鏈)	位置48之X係Cys， 位置112之X係Ser， 位置114之X係Met，且 位置115之X係Gly。

SEQ ID NO:	「X」之定義
SEQ ID NO: 31 (恆定區β鏈)	位置57之X係Cys
SEQ ID NO: 34 (RAS ^{G12V} - HLA- DRB1*07:01 α鏈)	位置179之X係Cys， 位置243之X係Ser， 位置245之X係Met，且 位置246之X係Gly。
SEQ ID NO: 35 (RAS ^{G12V} - HLA- DRB1*07:01 β鏈)	位置189之X係Cys
SEQ ID NO: 36 (RAS ^{G12C} - HLA- DRB1*11:01 α鏈)	位置180之X係Cys， 位置244之X係Ser， 位置246之X係Met，且 位置247之X係Gly。
SEQ ID NO: 37 (RAS ^{G12C} - HLA- DRB1*11:01 β鏈)	位置194之X係Cys

【0051】 在本發明之一實施例中，經取代胺基酸序列包含具有疏水性胺基酸之α鏈及β鏈中之一者或兩者之恆定區中跨膜(TM)結構域中之一個、兩個或三個胺基酸的取代，從而提供經疏水性胺基酸取代之TCR (亦在本文中稱為「經LVL修飾之TCR」)。與在TM結構域中缺乏疏水性胺基酸取代之TCR相比，TCR之TM結構域中之疏水性胺基酸取代可增加TCR之TM結構域的疏水性。就此而言，TCR係經LVL修飾之TCR，其中SEQ ID NO: 32之天然Ser112、Met114及Gly115中之一者、兩者或三者可獨立地經Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp取代；較佳地經Leu、Ile或Val取代。較佳地，SEQ ID NO: 32之天然Ser112、Met114及Gly115中之所有三者皆可獨立地經Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp取代；較佳地經Leu、Ile或Val取代。在本發明之一實施例中，經LVL修飾之

TCR包括(i) SEQ ID NO: 30、(ii) SEQ ID NO: 31或(iii) SEQ ID NO: 30及31二者，其中SEQ ID NO: 30及31二者係如表3中所定義。除本文所闡述之任一CDR或可變區外，經LVL修飾之本發明TCR可包含經取代恆定區。

【0052】 在本發明之一實施例中，經LVL修飾之TCR包括全長 α 鏈及全長 β 鏈。經LVL修飾之TCR α 鏈及 β 鏈序列之實例陳述於表3中。在本發明之一實施例中，經LVL修飾之TCR包括(i) SEQ ID NO: 34、(ii) SEQ ID NO: 35、(iii) SEQ ID NO: 36、(iv) SEQ ID NO: 37、(v) SEQ ID NO: 34及35二者或(vi) SEQ ID NO: 36及37二者，其中SEQ ID NO: 34-37之全部係如表3中所定義。

表3

SEQ ID NO:	「X」之定義
SEQ ID NO: 30 (恆定區 α 鏈)	位置48之X係Thr； 位置112之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp； 較佳地，其中位置112之X係Leu、Ile或Val； 尤佳地，其中位置112之X係Leu； 位置114之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp； 較佳地，其中位置114之X係Leu、Ile或Val； 尤佳地，其中位置114之X係Ile；且 位置115之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp； 較佳地，其中位置115之X係Leu、Ile或Val； 尤佳地，其中位置115之X係Val； 其中SEQ ID NO: 30不包括SEQ ID NO: 32 (α 鏈之未取代恆定區)
SEQ ID NO: 31 (恆定區 β 鏈)	位置57之X係Ser

SEQ ID NO:	「X」之定義
SEQ ID NO: 34 (RAS ^{G12V} - HLA-DRB1*07:01 α鏈)	位置179之X係Thr； 位置243之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp； 較佳地，其中位置243之X係Leu、Ile或Val； 尤佳地，其中位置243之X係Leu； 位置245之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp； 較佳地，其中位置245之X係Leu、Ile或Val； 尤佳地，其中位置245之X係Ile；且 位置246之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp； 較佳地，其中位置246之X係Leu、Ile或Val； 尤佳地，其中位置246之X係Val， 其中SEQ ID NO: 34不包括SEQ ID NO: 38 (未取代α鏈)
SEQ ID NO: 35 (RAS ^{G12V} - HLA-DRB1*07:01 β鏈)	位置189之X係Ser
SEQ ID NO: 36 (RAS ^{G12C} - HLA-DRB1*11:01 α鏈)	位置180之X係Thr； 位置244之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp； 較佳地，其中位置244之X係Leu、Ile或Val； 尤佳地，其中位置244之X係Leu； 位置246之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp； 較佳地，其中位置246之X係Leu、Ile或Val； 尤佳地，其中位置246之X係Ile；且 位置247之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp； 較佳地，其中247之X位置係Leu、Ile或Val； 尤佳地，其中位置247之X係Val； 其中SEQ ID NO: 36不包括SEQ ID NO: 40 (未取代α鏈)

SEQ ID NO:	「X」之定義
SEQ ID NO: 37 (RAS ^{G12C} - HLA- DRB1*11:01 β鏈)	位置194之X係Ser

【0053】 在本發明之一實施例中，經取代胺基酸序列包含α鏈及β鏈中之一者或兩者之恆定區中之半胱胺酸取代，且組合包含具有疏水性胺基酸之α鏈及β鏈中之一者或兩者之恆定區中跨膜(TM)結構域中之一個、兩個或三個胺基酸的取代(亦在本文中稱為「經半胱胺酸取代、經LVL修飾之TCR」)。就此而言，TCR係經半胱胺酸取代、經LVL修飾之嵌合TCR，其中SEQ ID NO: 32之天然Thr48經Cys取代；SEQ ID NO: 32之天然Ser112、Met114及Gly115中之一者、兩者或三者獨立地經Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp取代；較佳地經Leu、Ile或Val取代；且SEQ ID NO: 33之天然Ser57經Cys取代。較佳地，SEQ ID NO: 32之天然Ser112、Met114及Gly115中之所有三者皆可獨立地經Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp取代；較佳地經Leu、Ile或Val取代。在本發明之一實施例中，經半胱胺酸取代、經LVL修飾之TCR包括(i) SEQ ID NO: 30、(ii) SEQ ID NO: 31或(iii) SEQ ID NO: 30及31二者，其中SEQ ID NO: 30及31二者係如表4中所定義。除本文所闡述之任一CDR或可變區外，經半胱胺酸取代、經LVL修飾之本發明TCR可包含經取代恆定區。

【0054】 在一實施例中，經半胱胺酸取代、經LVL修飾之TCR包括全長α鏈及全長β鏈。在本發明之一實施例中，經半胱胺酸取代、經LVL修飾之TCR包括(i) SEQ ID NO: 34、(ii) SEQ ID NO: 35、(iii) SEQ ID NO: 36、(iv) SEQ ID NO: 37、(v) SEQ ID NO: 34及35二者或(vi) SEQ ID NO: 36及37二者，其中SEQ ID NO: 34-37之全部係如表4中所定義。

表4

SEQ ID NO:	「X」之定義
SEQ ID NO: 30 (恆定區α鏈)	位置48之X係Cys； 位置112之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp； 較佳地，其中位置112之X係Leu、Ile或Val； 尤佳地，其中位置112之X係Leu； 位置114之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp； 較佳地，其中位置114之X係Leu、Ile或Val； 尤佳地，其中位置114之X係Ile；且 位置115之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp； 較佳地，其中位置115之X係Leu、Ile或Val；且 尤佳地，其中位置115之X係Val， 其中SEQ ID NO: 30不同時包括位置112之Ser、位置114之Met及位置115之Gly之全部。
SEQ ID NO: 31 (恆定區β鏈)	位置57之X係Cys
SEQ ID NO: 34 (RAS ^{G12V} -HLA-DRB1*07:01 α鏈)	位置179之X係Cys； 位置243之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp； 較佳地，其中位置243之X係Leu、Ile或Val； 尤佳地，其中位置243之X係Leu； 位置245之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp； 較佳地，其中位置245之X係Leu、Ile或Val； 尤佳地，其中位置245之X係Ile；且 位置246之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

SEQ ID NO:	「X」之定義
	較佳地，其中位置246之X係Leu、Ile或Val；且 尤佳地，其中位置246之X係Val， 其中SEQ ID NO: 34不同時包括位置243之Ser、位置245之Met及位置246之Gly之全部。
SEQ ID NO: 35 (RAS ^{G12V} -HLA-DRB1*07:01 β鏈)	位置189之X係Cys
SEQ ID NO: 36 (RAS ^{G12C} -HLA-DRB1*11:01 α鏈)	位置180之X係Cys； 位置244之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp； 較佳地，其中位置244之X係Leu、Ile或Val； 尤佳地，其中位置244之X係Leu； 位置246之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp； 較佳地，其中位置246之X係Leu、Ile或Val； 尤佳地，其中位置246之X係Ile；且 位置247之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp； 較佳地，其中位置247之X係Leu、Ile或Val；且 尤佳地，其中位置247之X係Val， 其中SEQ ID NO: 36不同時包括位置244之Ser、位置246之Met及位置247之Gly之全部。
SEQ ID NO: 37 (RAS ^{G12C} -HLA-DRB1*11:01 β鏈)	位置194之X係Cys

【0055】 本發明亦提供包括本文所闡述之任一TCR之功能部分之多肽。本文所用之術語「多肽」包含寡肽且係指由一或多個肽鏈連結之胺基酸之單鏈。

【0056】就本發明多肽而言，功能部分可為包括TCR之鄰接胺基酸且係其一部分之任一部分，條件係該功能部分特異性結合至突變RAS。術語「功能部分」在提及TCR使用時係指本發明TCR之任一部分或片段，該部分或片段保留產生該部分之TCR (親代TCR)之生物活性。功能部分涵蓋(例如)TCR中保留以下能力之彼等部分：特異性結合至突變RAS (例如在HLA-DRB1*07:01分子或HLA-DRB1*11:01分子之背景內)或與親代TCR相比以類似程度、相同程度或較高度檢測、治療或預防癌症。參照親代TCR，功能部分可包括(例如)約10%、約25%、約30%、約50%、約68%、約80%、約90%、約95%或更多之親代TCR。

【0057】功能部分可在該部分之胺基或羧基末端處或在兩個末端處包括其他胺基酸，該等其他胺基酸並未發現於親代TCR之胺基酸序列中。期望地，其他胺基酸並不干擾功能部分之生物功能，例如特異性結合至突變RAS及/或具有檢測癌症、治療或預防癌症之能力等。更期望地，與親代TCR之生物活性相比，其他胺基酸增強了生物活性。

【0058】多肽可包括本發明TCR之 α 鏈及 β 鏈中之任一者或兩者之功能部分，例如包括本發明TCR之 α 鏈及/或 β 鏈中可變區之CDR1、CDR2及CDR3中之一或多者的功能部分。在本發明之一實施例中，多肽可包括SEQ ID NO: 1 (α 鏈之CDR1)、SEQ ID NO: 2 (α 鏈之CDR2)、SEQ ID NO: 3 (α 鏈之CDR3)、SEQ ID NO: 4 (β 鏈之CDR1)、SEQ ID NO: 5 (β 鏈之CDR2)、SEQ ID NO: 6 (β 鏈之CDR3)之胺基酸序列或其組合。在本發明之另一實施例中，多肽可包括SEQ ID NO: 7 (α 鏈之CDR1)、SEQ ID NO: 8 (α 鏈之CDR2)、SEQ ID NO: 9 (α 鏈之CDR3)、SEQ ID NO: 10 (β 鏈之CDR1)、SEQ ID NO: 11 (β 鏈之CDR2)、SEQ ID NO: 12 (β 鏈之

CDR3)之胺基酸序列或其組合。

【0059】就此而言，本發明多肽可包括選自由SEQ ID NO: 1-12組成之群之胺基酸序列中之任一者或多者。在本發明之一實施例中，TCR包括以下胺基酸序列：(a) SEQ ID NO: 1-3之全部，(b) SEQ ID NO: 4-6之全部，(c) SEQ ID NO: 7-9之全部，(d) SEQ ID NO: 10-12之全部，(e) SEQ ID NO: 1-6之全部，或(f) SEQ ID NO: 7-12之全部。在一較佳實施例中，多肽包括以下胺基酸序列：(i) SEQ ID NO: 1-6之全部或(ii) SEQ ID NO: 7-12之全部。

【0060】在本發明之一實施例中，本發明多肽可包括(例如)本發明TCR中包括上述CDR區之組合之可變區。就此而言，多肽可包括以下胺基酸序列：(i) SEQ ID NO: 13 (α 鏈之可變區)，(ii) SEQ ID NO: 14 (β 鏈之可變區)，(iii) SEQ ID NO: 13及14二者，(iv) SEQ ID NO: 15 (α 鏈之可變區)，(v) SEQ ID NO: 16 (β 鏈之可變區)，或(vi) SEQ ID NO: 15及16二者。較佳地，多肽包括以下胺基酸序列：(i) SEQ ID NO: 13及14二者或(ii) SEQ ID NO: 15及16二者。

【0061】在本發明之一實施例中，本發明多肽可進一步包括本發明TCR之上述恆定區。就此而言，多肽可進一步包括以下胺基酸序列：SEQ ID NO: 32 (α 鏈之WT鼠類恆定區)、SEQ ID NO: 33 (β 鏈之WT鼠類恆定區)、SEQ ID NO: 30 (α 鏈之經取代鼠類恆定區)、SEQ ID NO: 31 (β 鏈之經取代鼠類恆定區)、SEQ ID NO: 32及33二者或SEQ ID NO: 30及31二者。較佳地，多肽進一步包括SEQ ID NO: 30及31或SEQ ID NO: 32及33之胺基酸序列與本文針對本發明其他態樣所闡述之任一CDR區或可變區之組合。在本發明之一實施例中，多肽之SEQ ID NO: 30及31中之一者或兩

者係如表2-4中之任一者中所定義。

【0062】 在本發明之一實施例中，本發明多肽可包括本文所闡述TCR之 α 或 β 鏈之整個長度。就此而言，本發明多肽可包括SEQ ID NO: 34、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 36及SEQ ID NO: 37之胺基酸序列。或者，本發明多肽可包括本文所闡述TCR之兩條鏈。

【0063】 舉例而言，本發明多肽可包括：(a) SEQ ID NO: 34之胺基酸序列，其中：(i) SEQ ID NO: 34之位置179之X係Thr或Cys；(ii) SEQ ID NO: 34之位置243之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；(iii) SEQ ID NO: 34之位置245之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；且(iv) SEQ ID NO: 34之位置246之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；(b) SEQ ID NO: 35之胺基酸序列，其中SEQ ID NO: 35之位置189之X係Ser或Cys；(c) SEQ ID NO: 36之胺基酸序列，其中：(i) SEQ ID NO: 36之位置180之X係Thr或Cys；(ii) SEQ ID NO: 36之位置244之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；(iii) SEQ ID NO: 36之位置246之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；且(iv) SEQ ID NO: 36之位置247之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；(d) SEQ ID NO: 37之胺基酸序列，其中SEQ ID NO: 37之位置194之X係Ser或Cys；(e) (a)及(b)二者；或(f) (c)及(d)二者。在本發明之一實施例中，多肽之SEQ ID NO: 34-37中之任一者或多者係如表2-4中之任一者中所定義。

【0064】 本發明進一步提供包括本文所闡述之至少一種多肽之蛋白質。「蛋白質」意指包括一或多條多肽鏈之分子。

【0065】 在一實施例中，本發明蛋白質可包括(a)包括SEQ ID NO:

1-3之胺基酸序列之第一多肽鏈及包括SEQ ID NO: 4-6之胺基酸序列之第二多肽鏈；或(b)包括SEQ ID NO: 7-9之胺基酸序列之第一多肽鏈及包括SEQ ID NO: 10-12之胺基酸序列之第二多肽鏈。

【0066】 在本發明之另一實施例中，蛋白質可包括(i)包括SEQ ID NO: 13之胺基酸序列之第一多肽鏈及包括SEQ ID NO: 14之胺基酸序列之第二多肽鏈；或(ii)包括SEQ ID NO: 15之胺基酸序列之第一多肽鏈及包括SEQ ID NO: 16之胺基酸序列之第二多肽鏈。

【0067】 本發明蛋白質可進一步包括本文針對本發明其他態樣所闡述之任一恆定區。就此而言，在本發明之一實施例中，第一多肽鏈可進一步包括SEQ ID NO: 30或SEQ ID NO: 32之胺基酸序列且第二多肽鏈可進一步包括SEQ ID NO: 31或SEQ ID NO: 33之胺基酸序列。在本發明之一實施例中，蛋白質之SEQ ID NO: 30及31中之一者或兩者係如表2-4中之任一者中所定義。

【0068】 或者或另外，本發明實施例之蛋白質可包括(a)包括SEQ ID NO: 34之胺基酸序列之第一多肽鏈，其中：(i) SEQ ID NO: 34之位置179之X係Thr或Cys；(ii) SEQ ID NO: 34之位置243之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；(iii) SEQ ID NO: 34之位置245之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；且(iv) SEQ ID NO: 34之位置246之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；(b)包括SEQ ID NO: 35之胺基酸序列之第二多肽鏈，其中SEQ ID NO: 35之位置189之X係Ser或Cys；(c)包括SEQ ID NO: 36之胺基酸序列之第一多肽鏈，其中：(i) SEQ ID NO: 36之位置180之X係Thr或Cys；(ii) SEQ ID NO: 36之位置244之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或

Trp；(iii) SEQ ID NO: 36之位置246之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；且(iv) SEQ ID NO: 36之位置247之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；(d)包括SEQ ID NO: 37之胺基酸序列之第二多肽鏈，其中SEQ ID NO: 37之位置194之X係Ser或Cys；(e) (a)及(b)二者；或(f) (c)及(d)二者。在本發明之一實施例中，SEQ ID NO: 34-37中之一或多者係如表2-4中之任一者中所定義。

【0069】 本發明蛋白質可為TCR。或者，舉例而言，若蛋白質包含含有SEQ ID NO: 34及35二者、SEQ ID NO: 36及37二者之胺基酸序列之單一多肽鏈，或若蛋白質之第一及/或第二多肽鏈進一步包括其他胺基酸序列(例如編碼免疫球蛋白或其部分之胺基酸序列)，則本發明蛋白質可為融合蛋白。就此而言，本發明亦提供包括本文所闡述之至少一種本發明多肽以及至少一種其他多肽之融合蛋白。其他多肽可作為融合蛋白之單獨多肽存在，或可以與本文所闡述之一種本發明多肽同框(串聯)表現之多肽形式存在。其他多肽可編碼任一肽或蛋白質性分子或其部分，包含(但不限於)免疫球蛋白、CD3、CD4、CD8、MHC分子、CD1分子(例如CD1a、CD1b、CD1c、CD1d)等。

【0070】 融合蛋白可包括一或多個拷貝之本發明多肽及/或一或多個拷貝之其他多肽。舉例而言，融合蛋白可包括1、2、3、4、5或更多個拷貝之本發明多肽及/或其他多肽。業內已知製備融合蛋白之適宜方法且包含(例如)重組方法。

【0071】 在本發明之一些實施例中，本發明之TCR、多肽及蛋白質可表現為包括連接 α 鏈及 β 鏈之連接體肽之單一蛋白質。就此而言，本發明之TCR、多肽及蛋白質可進一步包括連接體肽。連接體肽可有利地促進重

組TCR、多肽及/或蛋白質在宿主細胞中之表現。連接體肽可包括任一適宜胺基酸序列。舉例而言，連接體肽可為包括SEQ ID NO:54之胺基酸序列之弗林蛋白酶(furin)-SGSG-P2A連接體。在包含連接體肽之構築體由宿主細胞表現時，連接體肽可發生裂解，從而產生分離之 α 鏈及 β 鏈。在本發明之一實施例中，TCR、多肽或蛋白質可包括含有全長 α 鏈、全長 β 鏈及定位於 α 鏈與 β 鏈之間之連接體肽之胺基酸序列。

【0072】 本發明蛋白質可為包括本文所闡述之至少一種本發明多肽之重組抗體或其抗原結合部分。如本文中所使用，「重組抗體」係指包括本發明多肽及抗體或其抗原結合部分之多肽鏈中之至少一者之重組(例如基因改造)蛋白。抗體或其抗原結合部分之多肽可為抗體之重鏈、輕鏈、重鏈或輕鏈之可變或恆定區、單鏈可變片段(scFv)或Fc、Fab或F(ab)₂'片段等。抗體或其抗原結合部分之多肽鏈可作為重組抗體之單獨多肽存在。或者，抗體或其抗原結合部分之多肽鏈可以與本發明多肽同框(串聯)表現之多肽形式存在。抗體或其抗原結合部分之多肽可為任一抗體或任一抗體片段(包含本文所闡述之任一抗體及抗體片段)之多肽。

【0073】 本發明範圍包含本文所闡述之本發明TCR、多肽或蛋白質之功能變體。本文所用之術語「功能變體」係指與親代TCR、多肽或蛋白質具有實質性或顯著序列一致性或類似性之TCR、多肽或蛋白質，該功能變體保留產生該變體之TCR、多肽或蛋白質之生物活性。功能變體涵蓋(例如)本文所闡述之TCR、多肽或蛋白質(親代TCR、多肽或蛋白質)之保留特異性結合至突變RAS (親代TCR對其具有抗原性特異性或親代多肽或蛋白質與其特異性結合)之能力的彼等變體，該等功能變體與親代TCR、多肽或蛋白質相比以類似程度、相同程度或較高程度進行該結合。參照親

代TCR、多肽或蛋白質，功能變體之胺基酸序列與親代TCR、多肽或蛋白質可分別(例如)至少約30%、約50%、約75%、約80%、約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%或更高程度一致。

【0074】 功能變體可(例如)包括具有至少一種保守胺基酸取代之親代TCR、多肽或蛋白質之胺基酸序列。業內已知保守胺基酸取代，且包含其中一個具有某些物理及/或化學性質之胺基酸交換為另一具有相同化學或物理性質之胺基酸之胺基酸取代。舉例而言，保守胺基酸取代可為一個酸性胺基酸取代另一酸性胺基酸(例如Asp或Glu)、具有非極性側鏈之胺基酸取代具有非極性側鏈之另一胺基酸(例如Ala、Gly、Val、Ile、Leu、Met、Phe、Pro、Trp、Val等)、鹼性胺基酸取代另一鹼性胺基酸(Lys、Arg等)、具有極性側鏈之胺基酸取代具有極性側鏈之另一胺基酸(Asn、Cys、Gln、Ser、Thr、Tyr等)等。

【0075】 或者或另外，功能變體可包括具有至少一種非保守胺基酸取代之親代TCR、多肽或蛋白質之胺基酸序列。在此情形下，較佳地，非保守胺基酸取代並不干擾或抑制功能變體之生物活性。較佳地，非保守胺基酸取代增強了功能變體之生物活性，從而功能變體之生物活性大於親代TCR、多肽或蛋白質。

【0076】 TCR、多肽或蛋白質可基本上由指定胺基酸序列或本文所闡述之序列組成，從而TCR、多肽或蛋白質之其他組分(例如其他胺基酸)並不實質上改變TCR、多肽或蛋白質之生物活性。就此而言，本發明TCR、多肽或蛋白質可(例如)基本上由SEQ ID NO: 34、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 37、SEQ ID NO: 34-35二者或SEQ ID NO: 36-37二者之胺基酸序列組成。同樣，舉例而言，本發明TCR、多

肽或蛋白質可基本上由(i) SEQ ID NO: 13、(ii) SEQ ID NO: 14、(iii) SEQ ID NO: 15、(iv) SEQ ID NO: 16、(v) SEQ ID NO: 13及14二者或(vi) SEQ ID NO: 15及16二者之胺基酸序列組成。另外，本發明TCR、多肽或蛋白質可基本上由以下胺基酸序列組成：(a) SEQ ID NO: 1-12中之任一者或多者；(b) SEQ ID NO: 1-3之全部；(c) SEQ ID NO: 4-6之全部；(d) SEQ ID NO: 7-9之全部；(e) SEQ ID NO: 10-12之全部；(f) SEQ ID NO: 1-6之全部；或(g) SEQ ID NO: 7-12之全部。

【0077】 本發明之TCR、多肽及蛋白質可具有任一長度，亦即可包括任一數量之胺基酸，條件係TCR、多肽或蛋白質保留其生物活性(例如能夠特異性結合至突變RAS；檢測哺乳動物之癌症；或治療或預防哺乳動物之癌症等)。舉例而言，多肽之長度可在約50至約5000個胺基酸之範圍內，例如長約50、約70、約75、約100、約125、約150、約175、約200、約300、約400、約500、約600、約700、約800、約900、約1000或更多個胺基酸。就此而言，本發明多肽亦包含寡肽。

【0078】 本發明之TCR、多肽及蛋白質可包括合成胺基酸來代替一或多種天然胺基酸。業內已知該等合成胺基酸且包含(例如)胺基環己烷甲酸、正白胺酸、 α -胺基正癸酸、高絲胺酸、S-乙醯基胺基甲基-半胱胺酸、反式-3-羥基脯胺酸及反式-4-羥基脯胺酸、4-胺基苯基丙胺酸、4-硝基苯基丙胺酸、4-氯苯基丙胺酸、4-羧基苯基丙胺酸、 β -苯基絲胺酸- β -羥基苯基丙胺酸、苯基甘胺酸、 α -萘基丙胺酸、環己基丙胺酸、環己基甘胺酸、二氫吡啶-2-甲酸、1,2,3,4-四氫異喹啉-3-甲酸、胺基丙二酸、胺基丙二酸單醯胺、N'-苄基-N'-甲基-離胺酸、N',N'-二苄基-離胺酸、6-羥基離胺酸、鳥胺酸、 α -胺基環戊烷甲酸、 α -胺基環己烷甲酸、 α -胺基環庚烷甲

酸、 α -(2-胺基-2-降莰烷)-甲酸、 α,γ -二胺基丁酸、 α,β -二胺基丙酸、高苯基丙胺酸及 α -第三丁基甘胺酸。

【0079】 本發明之TCR、多肽及蛋白質可經由(例如)二硫橋發生醯基化、醯胺化、羧基化、磷酸化、酯化、N-醯化、環化，或轉化成酸加成鹽及/或視情況發生二聚合或聚合或偶聯。

【0080】 可藉由業內已知方法(例如重新合成)來獲得本發明之TCR、多肽及/或蛋白質。同樣，可使用本文所闡述之核酸且使用標準重組方法以重組方式來產生多肽及蛋白質。例如參見**Molecular Cloning: A Laboratory Manual**，第4版，Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY (2012)。或者，本文所闡述之TCR、多肽及/或蛋白質可在商業上由公司(例如Synpep (Dublin, CA)、Peptide Technologies Corp. (Gaithersburg, MD)及Multiple Peptide Systems (San Diego, CA))來合成。就此而言，本發明TCR、多肽及蛋白質可為合成的、重組的、經分離及/或經純化的。

【0081】 本發明範圍包含含有任一本發明TCR、多肽或蛋白質(包含其任一功能部分或變體)、核酸、重組表現載體、宿主細胞、宿主細胞群體或抗體或其抗原結合部分之偶聯物(例如生物偶聯物)。業內已知偶聯物以及合成偶聯物之一般方法。

【0082】 本發明一實施例提供包括編碼本文所闡述之任一TCR、多肽或蛋白質之核苷酸序列之核酸。本文所用之「核酸」包含「多核苷酸」、「寡核苷酸」及「核酸分子」且通常意指DNA或RNA之聚合物，其可為單股或雙股，其可含有天然、非天然或改變之核苷酸，且其可含有天然、非天然或改變之核苷酸間鍵聯(例如磷醯胺酯鍵聯或硫代磷酸酯鍵

聯)來代替發現於未修飾寡核苷酸之核苷酸之間之磷酸二酯。在一實施例中，核酸包括互補DNA (cDNA)。通常較佳地，核酸不包括任何插入、缺失、反轉及/或取代。然而，在一些情況下，如本文所論述，核酸可適於包括一或多個插入、缺失、反轉及/或取代。

【0083】 較佳地，本發明核酸係重組的。如本文中所使用，術語「重組」係指：(i)分子係藉由使天然或合成核酸區段接合至可複製於活細胞中之核酸分子而構築於活細胞外部，或(ii)分子源自上文(i)中所闡述彼等部分之複製。出於本文目的，複製可為活體外複製或活體內複製。

【0084】 可基於化學合成及/或酶促連接反應使用業內已知程序來構築核酸。例如參見Green及Sambrook等人(見上文)。舉例而言，可使用天然核苷酸或以各種方式修飾之核苷酸以化學方式來合成核酸，該等經修飾核苷酸經設計以增加分子之生物穩定性或增加在雜交時形成之雙股體(例如硫代磷酸酯衍生物及經吡啶取代之核苷酸)之物理穩定性。可用於生成核酸之經修飾核苷酸之實例包含(但不限於)5-氟尿嘧啶、5-溴尿嘧啶、5-氯尿嘧啶、5-碘尿嘧啶、次黃嘌呤、黃嘌呤、4-乙醯基胞嘧啶、5-(羧基羥甲基)尿嘧啶、5-羧基氨基甲基-2-硫基尿苷、5-羧基氨基甲基尿嘧啶、二氫尿嘧啶、 β -D-半乳糖基 α 核苷、肌苷、N⁶-異戊烯基腺嘌呤、1-甲基鳥嘌呤、1-甲基肌苷、2,2-二甲基鳥嘌呤、2-甲基腺嘌呤、2-甲基鳥嘌呤、3-甲基胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、N⁶取代之腺嘌呤、7-甲基鳥嘌呤、5-甲基氨基甲基尿嘧啶、5-甲氧基氨基甲基-2-硫基尿嘧啶、 β -D-甘露糖基 α 核苷、5'-甲氧基羧基甲基尿嘧啶、5-甲氧基尿嘧啶、2-甲基硫基-N⁶-異戊烯基腺嘌呤、尿嘧啶-5-氧基乙酸(v)、懷丁氧苷(wybutoxosine)、假尿嘧啶、 α 核苷、2-硫基胞嘧啶、5-甲基-2-硫基尿嘧啶、2-硫基尿嘧啶、

4-硫基尿嘧啶、5-甲基尿嘧啶、尿嘧啶-5-氧基乙酸甲酯、3-(3-胺基-3-N-2-羧基丙基)尿嘧啶及2,6-二胺基嘌呤。或者，一或多種本發明核酸可購自諸如Macromolecular Resources (Fort Collins, CO)及Synthegen (Houston, TX)等公司。

【0085】 核酸可包括任一編碼本文所闡述之任一TCR、多肽或蛋白質之核苷酸序列。在本發明之一實施例中，核酸可包括SEQ ID NO: 42-45中之任一者之核苷酸序列(表5)。在本發明之一實施例中，核酸包括SEQ ID NO: 42-43二者或SEQ ID NO: 44-45二者之核苷酸序列。

表5

TCR ID	TCR鏈	核苷酸序列
RAS ^{G12V} - HLA- DRB1*07:01	α (TRAV13-1)	SEQ ID NO: 42
	β (TRBV20-1)	SEQ ID NO: 43
RAS ^{G12C} - HLA- DRB1*11:01	α (TRAV24)	SEQ ID NO: 44
	β (TRBV12-4)	SEQ ID NO: 45

【0086】 在本發明之一實施例中，核酸包括編碼本文所闡述之任一TCR、多肽或蛋白質之密碼子最佳化之核苷酸序列。不受限於任一特定理論或機制，據信，核苷酸序列之密碼子最佳化可增加mRNA轉錄物之轉譯效率。核苷酸序列之密碼子最佳化可涉及替換天然密碼子得到另一密碼子，該另一密碼子編碼相同胺基酸，但可藉由在細胞內更易於獲得之tRNA來轉譯，由此增加轉譯效率。核苷酸序列之最佳化亦可減少干擾轉譯之二級mRNA結構，由此增加轉譯效率。

【0087】 本發明亦提供包括與本文所闡述任一核酸之核苷酸序列互補之核苷酸序列或在嚴格條件下與本文所闡述任一核酸之核苷酸序列雜交之核苷酸序列的核酸。

【0088】 在嚴格條件下雜交之核苷酸序列較佳地在高嚴格條件下雜交。「高嚴格條件」意指核苷酸序列以可檢測地強於非特異性雜交之量與靶序列(本文所闡述任一核酸之核苷酸序列)特異性雜交。高嚴格條件包含可區分具有正確互補序列之多核苷酸或僅含有少數分散失配者之多核苷酸與具有少數小區域(例如3-10個鹼基)與該核苷酸序列匹配之隨機序列的條件。該等小互補性區域較14-17或更多個鹼基之全長互補體容易熔解，且高嚴格雜交可使得彼等容易區分。相對較高嚴格條件包含例如低鹽及/或高溫條件，例如由約0.02-0.1 M NaCl或等效物在約50-70℃之溫度所提供。該等高嚴格條件容忍該核苷酸序列與該模板或靶股之間極小(若存在)失配，且尤其適於檢測任何本發明TCR之表現。通常瞭解可藉由添加增加量之甲醯胺來使條件更嚴格。

【0089】 本發明亦提供包括與本文所述之任一核酸至少約70%或更高(例如約80%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%或約99%)一致之核苷酸序列之核酸。就此而言，核酸可基本上由本文所述之任一核苷酸序列組成。

【0090】 本發明核酸可納入重組表現載體中。就此而言，本發明提供包括本發明之任一核酸之重組表現載體。在本發明之一個實施例中，重組表現載體包括編碼 α 鏈、 β 鏈及連接體肽之核苷酸序列。

【0091】 出於本文之目的，術語「重組表現載體」意指經基因修飾之寡核苷酸或多核苷酸構築體，在該構築體包括編碼mRNA、蛋白質、多

肽或肽之核苷酸序列且使該載體與細胞在足以使mRNA、蛋白質、多肽或肽表現於細胞內之條件下接觸時，允許宿主細胞表現mRNA、蛋白質、多肽或肽。本發明載體整體非天然的。然而，載體之部分可為天然的。本發明重組表現載體可包括任何類型之核苷酸，包含(但不限於) DNA及RNA，可為單股或雙股，合成或部分自天然來源獲得，且可含有天然、非天然或改變之核苷酸。重組表現載體可包括天然、非天然核苷酸間鍵聯，或兩種類型之鍵聯。較佳地，非天然或改變之核苷酸或核苷酸間鍵聯不阻礙載體之轉錄或複製。

【0092】 本發明重組表現載體可為任何適宜重組表現載體，且可用於轉變或轉染任何適宜宿主細胞。適宜載體包含彼等經設計用於繁殖及擴增或用於表現或用於二者之載體，例如質體及病毒。載體可選自由以下組成之群：pUC系列(Fermentas Life Sciences)、pBluescript系列(Stratagene, LaJolla, CA)、pET系列(Novagen, Madison, WI)、pGEX系列(Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden)及pEX系列(Clontech, Palo Alto, CA)。亦可使用細菌噬菌體載體，例如λGT10、λGT11、λZapII (Stratagene)、λEMBL4及λNM1149。植物表現載體之實例包含pBI01、pBI101.2、pBI101.3、pBI121及pBIN19 (Clontech)。動物表現載體之實例包含pEUK-CI、pMAM及pMAMneo (Clontech)。較佳地，重組表現載體係病毒載體(例如逆轉錄病毒載體)。在一個尤佳實施例中，重組表現載體係MSGV1載體。

【0093】 可使用闡述於(例如) Green及Sambrook等人之上文文獻中之標準重組DNA技術來製備本發明之重組表現載體。可製備表現載體之圓形或線性構築體且含有原核或真核宿主細胞中之功能複製系統。複製系

統可衍生自(例如) ColEI、2 μ 質體、 λ 、SV40、牛乳頭瘤病毒及諸如此類。

【0094】 期望地，在適當時且考慮是否載體係基於DNA抑或RNA，重組表現載體包括調控序列(例如轉錄及轉譯起始及終止密碼子)，該等調控序列對擬引入載體之宿主細胞類型(例如細菌、真菌、植物或動物)具有特異性。

【0095】 重組表現載體可包含一或多種標記物基因，此容許選擇經轉變或轉染之宿主細胞。標記物基因包含殺生物劑抗性(例如對抗生素、重金屬等之抗性)、營養缺陷型宿主細胞中之互補性(以提供原營養)及諸如此類。用於本發明表現載體之適宜標記物基因包含(例如)新黴素(neomycin)/G418抗性基因，潮黴素(hygromycin)抗性基因、組胺醇抗性基因、四環素(tetracycline)抗性基因及胺苄西林(ampicillin)抗性基因。

【0096】 重組表現載體可包括天然或非天然啟動子，該啟動子可操作地連接至編碼TCR、多肽或蛋白質之核苷酸序列或連接至與編碼TCR、多肽或蛋白質之核苷酸序列互補或雜交之核苷酸序列。熟習此項技術者熟知啟動子之選擇，例如強、弱、可誘導、組織特異性及發育特異性。類似地，熟習此項技術者亦熟知核苷酸序列與啟動子之組合。啟動子可為非病毒啟動子或病毒啟動子，例如巨細胞病毒(CMV)啟動子、SV40啟動子、RSV啟動子及發現於鼠類幹細胞病毒之長末端重複中之啟動子。

【0097】 本發明重組表現載體可經設計用於瞬時表現、穩定表現或用於二者。同樣，重組表現載體可經製備以用於組成型表現或用於可誘導表現。

【0098】 另外，重組表現載體可經製備以包含自殺基因。如本文中

所使用，術語「自殺基因」係指使得表現自殺基因之細胞死亡之基因。自殺基因可為賦予藥劑(例如藥物)對表現基因之細胞之敏感性且在細胞接觸或暴露於藥劑時使細胞死亡之基因。業內已知自殺基因且包含(例如)單純疱疹病毒(HSV)胸苷激酶(TK)基因、胞嘧啶去胺酶、嘌呤核苷磷酸化酶、硝基還原酶及可誘導半胱天冬酶(caspase) 9基因系統。

【0099】 本發明之另一實施例進一步提供包括本文所闡述之任一重組表現載體之宿主細胞。如本文中所使用，術語「宿主細胞」係指可含有本發明重組表現載體之任一類細胞。宿主細胞可為真核細胞(例如植物、動物、真菌或藻類)，或可為原核細胞(例如細菌或原生動物)。宿主細胞可為經培養細胞或原代細胞(亦即直接分離自諸如人類等生物體)。宿主細胞可為附著細胞或懸浮細胞，亦即在懸浮液中生長之細胞。適宜宿主細胞為業內已知，且包含(例如) DH5 α 大腸桿菌(*E. coli*)細胞、中國倉鼠卵巢細胞、猴VERO細胞、COS細胞、HEK293細胞及諸如此類。出於擴增或複製重組表現載體之目的，宿主細胞較佳係原核細胞，例如DH5 α 細胞。出於產生重組TCR、多肽或蛋白質之目的，宿主細胞較佳係哺乳動物細胞。更佳地，宿主細胞係人類細胞。儘管宿主細胞可為任一細胞類型，可源自任一類型組織，且可處於任一發育階段，但宿主細胞較佳係末梢血淋巴球(PBL)或末梢血單核細胞(PBMC)。更佳地，宿主細胞係T細胞。

【0100】 出於本文之目的，T細胞可為任一T細胞，例如經培養T細胞(例如原代T細胞，或來自經培養T細胞系(例如Jurkat、SupT1等)之T細胞，或自哺乳動物獲得之T細胞)。若自哺乳動物獲得，則T細胞可自多種來源獲得，包含(但不限於)血液、骨髓、淋巴結、胸腺或其他組織或流體。T細胞亦可經富集或經純化。較佳地，T細胞係人類T細胞。T細胞可

為任一類型之T細胞且可處於任一發育階段，包含(但不限於) $CD4^+/CD8^+$ 雙陽性T細胞、 $CD4^+$ 輔助T細胞(例如 Th_1 及 Th_2 細胞)、 $CD4^+$ T細胞、 $CD8^+$ T細胞(例如細胞毒性T細胞)、腫瘤浸潤淋巴球(TIL)、記憶T細胞(例如中心記憶T細胞及效應物記憶T細胞)、幼稚T細胞及諸如此類。

【0101】 本發明亦提供包括本文所闡述之至少一種宿主細胞之細胞群體。細胞群體可為異質群體，其包括含有所闡述任一重組表現載體之宿主細胞以及至少一種其他細胞(例如不包括任一重組表現載體之宿主細胞(例如T細胞)或除T細胞外之細胞(例如B細胞、巨噬球、嗜中性球、紅血球、肝細胞、內皮細胞、上皮細胞、肌細胞、腦細胞等))。或者，細胞群體可為實質性均質群體，其中該群體主要包括含有重組表現載體之宿主細胞(例如基本上由其組成)。該群體亦可為純系細胞群體，其中所有群體細胞皆係包括重組表現載體之單一宿主細胞之純系，從而所有群體細胞皆包括重組表現載體。在本發明之一實施例中，細胞群體係包括含有如本文所闡述之重組表現載體之宿主細胞之純系群體。

【0102】 在本發明之一實施例中，群體中之細胞數可快速擴增。可藉由業內已知之諸多方法中之任一者來擴增T細胞數，如(例如)以下文獻中所闡述：美國專利8,034,334；美國專利8,383,099；美國專利申請案公開案第2012/0244133號；Dudley等人，J. Immunother., 26:332-42 (2003)；及Riddell等人，J. Immunol. Methods, 128:189-201 (1990)。在一實施例中，藉由將T細胞與OKT3抗體、IL-2及飼養PBMC (例如經輻照同種異體PBMC)一起培養來擴增T細胞數。

【0103】 本發明之TCR、多肽、蛋白質、核酸、重組表現載體及宿主細胞(包含其群體)可係經分離及/或純化的。本文所用之術語「經分離」

意指自其天然環境取出。本文所用之術語「經純化」意指具有增加之純度，其中「純度」係相對術語，且無需解釋為絕對純度。舉例而言，純度可為至少約50%，可大於約60%、約70%、約80%、約90%、約95%，或可為約100%。

【0104】 本發明之TCR、多肽、蛋白質、核酸、重組表現載體及宿主細胞(包含其群體)(其在下文中通稱為「本發明TCR材料」)可調配成組合物(例如醫藥組合物)。就此而言，本發明提供一種醫藥組合物，其包括本文所闡述之TCR、多肽、蛋白質、核酸、表現載體及宿主細胞(包含其群體)中之任一者及藥上可接受之載劑。含有任一本發明TCR材料之本發明醫藥組合物可包括一種以上之本發明TCR材料(例如多肽及核酸)或兩種或更多種不同TCR。或者，醫藥組合物可包括本發明TCR材料與另一醫藥活性劑或藥物之組合，該另一醫藥活性劑或藥物係(例如)化學治療劑，例如天門冬醯胺酶、白消安(busulfan)、卡鉑(carboplatin)、順鉑(cisplatin)、柔紅黴素(daunorubicin)、多柔比星(doxorubicin)、氟尿嘧啶、吉西他濱(gemcitabine)、羥基脲(hydroxyurea)、胺甲喋呤(methotrexate)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、利妥昔單抗(rituximab)、長春鹼(vinblastine)、長春新鹼(vincristine)等。

【0105】 較佳地，載劑係醫藥上可接受之載劑。就醫藥組合物而言，載劑可為任一常用於所考慮特定本發明TCR材料者。製備可投與組合物之方法為熟習此項技術者所習知或明瞭且更詳細地闡述於(例如)Remington: The Science and Practice of Pharmacy，第22版，Pharmaceutical Press (2012)中。較佳地，醫藥上可接受之載劑係在使用條件下並無有害副效應或毒性者。

【0106】 載劑之選擇部分地取決於特定本發明TCR材料以及用於投與本發明TCR材料之特定方法。因此，存在本發明之醫藥組合物之各種適宜調配物。適宜調配物可包含任一用於非經腸、皮下、靜脈內、肌內、動脈內、鞘內、腫瘤內或腹膜腔內投與者。可使用一種以上途徑來投與本發明TCR材料，且在某些情況下，特定途徑可較另一途徑提供更直接且更有效之反應。

【0107】 較佳地，藉由注射(例如經靜脈內)投與本發明TCR材料。在本發明TCR材料係表現本發明TCR之宿主細胞(或其群體)時，用於注射用細胞之醫藥上可接受之載劑可包含任一等滲載劑，例如生理鹽水(於水中之約0.90% w/v NaCl、於水中之約300 mOsm/L NaCl或約9.0 g NaCl/公升水)、NORMOSOL R電解質溶液(Abbott, Chicago, IL)、PLASMA - LYTE A (Baxter, Deerfield, IL)、於水中之約5%右旋糖或林格氏乳酸鹽(Ringer's lactate)。在一實施例中，醫藥上可接受之載劑補充有人類血清白蛋白。

【0108】 出於本發明目的，所投與本發明TCR材料之量或劑量(例如在本發明TCR材料係一或多種細胞時之細胞數)應足以在適當時間範圍內於個體或動物中產生效應(例如治療或預防反應)。舉例而言，本發明TCR材料之劑量應足以在自投與時開始約2小時或更長(例如12至24或更多小時)之時段內結合至癌症抗原(例如突變RAS)或檢測、治療或預防癌症。在某些實施例中，該時間段可甚至更長。劑量取決於特定本發明TCR材料之效能及動物(例如人類)之病狀以及擬治療動物(例如人類)之體重。

【0109】 業內已知用於測定投與劑量之許多分析。出於本發明目的，可使用包括以下步驟之分析來測定擬投與哺乳動物之起始劑量：在一

組各自給予不同劑量之T細胞之哺乳動物中，在向哺乳動物投與給定劑量之表現本發明TCR、多肽或蛋白質之T細胞後，比較藉由該等T細胞裂解靶細胞或分泌IFN- γ 之程度。可藉由業內已知方法來分析在投與某一劑量時靶細胞裂解或IFN- γ 分泌之程度。

【0110】 本發明TCR材料之劑量亦取決於可伴隨投與特定本發明TCR材料之任何不良副效應之存在、性質及程度。通常，主治醫師將考慮各種因素來決定用以治療每一個別患者之本發明TCR材料之劑量，該等因素係(例如)年齡、體重、一般健康狀況、飲食、性別、擬投與之本發明TCR材料、投與途徑及所治療癌症之嚴重程度。在本發明TCR材料係細胞群體之實施例中，每一輪注所投與之細胞數可有所變化，例如約 1×10^6 至約 1×10^{12} 個細胞或更多。在某些實施例中，可投與少於 1×10^6 個細胞。

【0111】 熟習此項技術者將易於瞭解，可以任一數量之方式來修飾本發明之發明性TCR材料，從而經由修飾來增加本發明TCR材料之治療或預防效能。舉例而言，本發明TCR材料可直接或經由橋間接偶聯至化學治療劑。業內已知使化合物偶聯至化學治療劑之實踐。熟習此項技術者認識到，本發明TCR材料上並非本發明TCR材料之功能所需之位點係用於附接橋及/或化學治療劑之適宜位點，條件係該橋及/或化學治療劑在附接至本發明TCR材料後並不干擾本發明TCR材料之功能(亦即能夠結合至突變RAS或檢測、治療或預防癌症)。

【0112】 本發明醫藥組合物、TCR、多肽、蛋白質、核酸、重組表現載體、宿主細胞及細胞群體預計可用於治療或預防癌症之方法中。不受限於特定理論，據信，本發明TCR特異性結合至突變RAS，從而TCR (或

相關本發明多肽或蛋白質)在由細胞表現時能夠調介針對表現突變RAS之靶細胞之免疫反應。就此而言，本發明提供治療或預防哺乳動物之癌症之方法，其包括以有效治療或預防哺乳動物之癌症之量向哺乳動物投與以下物質：本文所闡述之任一醫藥組合物、TCR、多肽或蛋白質；任一包括編碼本文所闡述之任一TCR、多肽、蛋白質之核苷酸序列之核酸或重組表現載體；或任一包括編碼本文所闡述之任一TCR、多肽或蛋白質之重組載體之宿主細胞或細胞群體。

【0113】 本發明一實施例提供用於治療或預防哺乳動物之癌症之以下物質：本文所闡述之任一醫藥組合物、TCR、多肽或蛋白質；任一包括編碼本文所闡述之任一TCR、多肽、蛋白質之核苷酸序列之核酸或重組表現載體；或任一包括編碼本文所闡述之任一TCR、多肽或蛋白質之重組載體之宿主細胞或細胞群體。

【0114】 本文所用之術語「治療」及「預防」以及源於其之詞語未必暗示100%或完全治療或預防。而是，存在熟習此項技術者識別為具有潛在益處或治療效應之不同程度之治療或預防。就此而言，本發明方法可在哺乳動物中提供任一量之任一程度之癌症治療或預防。另外，由本發明方法提供之治療或預防可包含治療或預防所治療或預防癌症之一或多種病狀或症狀。舉例而言，治療或預防可包含促進腫瘤消退。同樣，出於本文目的，「預防」可涵蓋延遲癌症或其症狀或病狀之發作。或者或另外，「預防」可涵蓋預防或延遲癌症或其症狀或病狀之復發。

【0115】 亦提供檢測哺乳動物中癌症之存在之方法。該方法包括：
(i)使包括一或多個來自哺乳動物之細胞之試樣與本文所闡述之任一本發明TCR、多肽、蛋白質、核酸、重組表現載體、宿主細胞、細胞群體或醫藥

組合物接觸，由此形成複合物；及檢測複合物，其中複合物之檢測指示哺乳動物中癌症之存在。

【0116】 就檢測哺乳動物之癌症之本發明方法而言，細胞試樣可為包括全細胞、其溶解物或全細胞溶解物餾分(例如細胞核或細胞質餾分、全蛋白餾分或核酸餾分)之試樣。

【0117】 出於檢測癌症之本發明方法之目的，接觸可發生於哺乳動物之活體外或活體內。較佳地，接觸係在活體外。

【0118】 同樣，可經由業內已知之任一數量之方式來檢測複合物。舉例而言，本文所闡述之本發明TCR、多肽、蛋白質、核酸、重組表現載體、宿主細胞或細胞群體可經可檢測標記進行標記，可檢測標記係(例如)放射性同位素、螢光團(例如螢光黃異硫氰酸酯(FITC)、藻紅素(PE))、酶(例如鹼性磷酸酶、辣根過氧化物酶)及元素顆粒(例如金顆粒)。

【0119】 出於投與宿主細胞或細胞群體之本發明方法之目的，細胞可為哺乳動物之同種異體或自體細胞。較佳地，細胞係哺乳動物之自體細胞。

【0120】 就本發明方法而言，癌症可為任一癌症，包含以下癌症中之任一者：急性淋巴球性癌症、急性骨髓樣白血病、肺泡橫紋肌肉瘤、骨癌、腦癌、乳癌、肛門癌、肛管癌或直腸肛門癌、眼癌、肝內膽管癌、關節癌、頸癌、膽囊癌或胸膜癌、鼻癌、鼻腔癌或中耳癌、口腔癌、陰道癌、外陰癌、慢性淋巴球性白血病、慢性骨髓樣癌症、結腸癌、結腸直腸癌、子宮內膜癌、食管癌、子宮頸癌、胃腸道類癌腫瘤、神經膠質瘤、何傑金氏淋巴瘤(Hodgkin lymphoma)、下咽癌、腎癌、喉癌、肝癌、肺癌、惡性間皮瘤、黑色素瘤、多發性骨髓瘤、鼻咽癌、非何傑金氏淋巴瘤

(non-Hodgkin lymphoma)、口咽癌、卵巢癌、陰莖癌、胰臟癌、腹膜癌、網膜癌及腸系膜癌、咽癌、前列腺癌、直腸癌、腎癌、皮膚癌、小腸癌、軟組織癌、胃癌、睪丸癌、甲狀腺癌、子宮癌、輸尿管癌及膀胱癌。較佳癌症係胰臟癌、結腸直腸癌、肺癌、子宮內膜癌、卵巢癌或前列腺癌。較佳地，肺癌係肺腺癌，卵巢癌係上皮卵巢癌，且胰臟癌係胰臟腺癌。在本發明之一實施例中，癌症表現突變人類RAS胺基酸序列，其中突變人類RAS胺基酸序列係突變人類KRAS、突變人類HRAS或突變人類NRAS胺基酸序列。由癌症表現之突變人類KRAS、突變人類HRAS及突變人類NRAS可如本文針對本發明其他態樣所闡述。

【0121】 本發明方法中所提及之哺乳動物可為任一哺乳動物。如本文中所使用，術語「哺乳動物」係指任一哺乳動物，包含(但不限於)嚙齒目(Rodentia)哺乳動物(例如小鼠及倉鼠)及兔形目(Logomorpha)哺乳動物(例如兔)。較佳地，哺乳動物係來自食肉目(Carnivora)，包含貓類(貓)及犬類(狗)。更佳地，哺乳動物係來自偶蹄目(Artiodactyla) (包含牛類(牛)及豬類(豬))或奇蹄目(Perssodactyla) (包含馬類(馬))。最佳地，哺乳動物係靈長目(Primate)、猿目(Ceboid)或猴目(Simoid) (猴)或類人猿目(人類及猿)。尤佳哺乳動物係人類。

【0122】 下列實例進一步闡釋本發明，但當然不應理解為以任一方式限制本發明範圍。

實例1

【0123】 此實例證實，分離出對由HLA-DRB1*07:01分子呈現之具有G12V突變之人類KRAS具有抗原性特異性之TCR。

【0124】 自患者子宮內膜腫瘤試樣分離對由HLA-DRB1*07:01分子

呈現之具有G12V突變之人類KRAS具有抗原性特異性之TCR。簡言之，將腫瘤試樣切碎，消解，並冷凍。在細胞分選之前，將腫瘤消解物解凍並在無細胞介素下放置過夜。基於PD-1及\或OX40表現(選通於PI⁻ (活細胞) > CD3+上)使用FACS自腫瘤消解物分選T細胞。FACS結果展示於圖1中。將同型染色之細胞用作對照。

【0125】 根據快速擴增方案(REP)來將分選細胞數擴增3.5週。對於REP而言，將T細胞在OKT3抗體、IL-2及輻照同種異體PBMC存在下培養於微量滴定96孔板中(3個細胞\孔)。

【0126】 彙集擴增數量之細胞，並針對脈衝輸送有所彙集25聚體肽或由涵蓋檢測於患者腫瘤中之各種腫瘤特異性突變之25聚體串聯小基因(TMG)編碼之肽的自體樹突狀細胞(DC)測試反應性。每一池各自含有17-21個肽或TMG。藉由酶聯免疫斑點(ELISPOT)量測干擾素- γ (IFN- γ)分泌。結果展示於圖2中。如圖2中所展示，培養物編號7及8中之所彙集效應自體T細胞識別脈衝輸送有肽池1 (PP1)及肽池2 (PP2)之靶DC。

【0127】 針對脈衝輸送有來自相關肽池之每一單一肽之自體DC來測試突變反應性T細胞培養物。圖3展示在共培養7號自體T細胞培養物(W7)與脈衝輸送有來自肽池1 (PP1)之肽1-17 (P1-P17)中之每一者之自體DC後所獲得的結果。如圖3中所展示，7號培養物之T細胞針對肽P17展示高特異性。肽17 (P17)編碼KRAS^{G12V}突變。

【0128】 自7號自體T細胞培養物(W7)之細胞分離總RNA。總RNA然後使用TCR- α 及 β 鏈恆定引子發生5'互補DNA端(5' RACE)之快速擴增。然後藉由標準瓊脂糖凝膠電泳及凝膠萃取來分離TCR PCR產物。對產物直接測序。TCR α 鏈及 β 鏈可變區之核苷酸序列分別係SEQ ID NO:

42及43。TCR α鏈及β鏈可變區之胺基酸序列展示於表6中。將互補決定區(CDR)加下劃線。

表6

TCR ID	TCR鏈	胺基酸序列 將互補決定區(CDR)加下劃線
KRAS ^{G12V} - HLA-DRB1*07:01	α (TRAV13-1)	MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENVEQHPS TLSVQEGDSAVIKCTYSDSASNYFPWYK QELGKGPQLIIDIRSNVGEKKDQRIAVTL NKTAKHFSLHITETQPEDSAVYFCAAST <u>GGGNKLTFGTGTQLKVEL</u> (SEQ ID NO: 13)
	β (TRBV20-1)	MLLLLLLLGPAGSGLGAVVSQHPSRVIC KSGTSVKIECRSLDFQATTMFWYRQFPK QSLMLMATSNEGSKATYEQGVEKDKFL INHASLTLSTLTVTSAHPEDSSFYICSARE <u>GAGGMGTQYFGPGTRLLVL</u> (SEQ ID NO: 14)

實例2

【0129】 此實例證實，實例1中所分離之TCR識別呈現於HLA-DR分子背景中之KRAS G12V肽抗原。

【0130】 將編碼實例1之經分離G12V反應性TCR (包括SEQ ID NO: 42及SEQ ID NO: 43之核苷酸序列)且包含經半胱胺酸取代、經LVL修飾之鼠類恆定區之核酸序列選殖至逆轉錄病毒表現載體中。α鏈鼠類恆定區包括SEQ ID NO: 30之胺基酸序列，其中位置48之X係Cys，位置112之X係Leu，位置114之X係Ile，且位置115之X係Val。β鏈恆定區包括SEQ ID NO: 31之胺基酸序列，其中位置57之X係Cys。包括SEQ ID NO: 54之胺

基酸序列之連接體定位於 α 鏈恆定區與 β 鏈可變區之間。使用逆轉錄病毒表現載體轉導同種異體T細胞。

【0131】 將轉導細胞(效應細胞)與脈衝輸送有KRAS^{G12V}肽(1 ng/mL)之靶自體抗原呈遞細胞(APC)以及HLA-阻斷抗體W6/32 (抗HLA-A、-B、-C)、IVA12 (泛特異性，抗HLA第II類)、B7/21 (抗HLA-DP)、HB55 (抗HLA-DR)或SPV-L3 (HLA-DQ) (靶細胞)一起共培養。單獨、與DMSO或佛波醇肉豆蔻酸乙酸酯(PMA)一起培養之效應轉導細胞用作對照。經與靶自體APC (脈衝輸送有1 ng/mL KRAS G12V肽(SEQ ID NO: 53))一起共培養之空載體(模擬)轉導之效應細胞用作再一對照。

【0132】 藉由使用流式細胞術檢測之4-1BB表現來量測效應細胞針對靶細胞之反應性(選通於CD3+ mTCR β 鏈+細胞上)。結果展示於圖4中。如圖4中所展示，IVA12及HB55抗體阻斷效應細胞針對靶細胞之反應性，從而指示經轉導效應細胞識別呈現於HLA-DR分子背景中之KRAS G12V肽抗原。

【0133】

實例3

此實例證實，實例2之TCR識別呈現於HLA-DRB1*07:01分子背景中之KRAS G12V肽抗原。

【0134】 將經實例2 TCR轉導之同種異體T細胞(效應細胞)與實例1患者之自體APC或來自具有DRB1 01:01或DRB1 07:01單倍型之供體的APC (靶細胞)一起共培養。使靶細胞脈衝輸送有KRAS^{G12V}肽(SEQ ID NO: 53)或WT KRAS肽(SEQ ID NO: 55)。將效應細胞與來自HLA-DRB1陽性供體之APC (作為對照)一起共培養(其中一個而非兩個供體等位基因

係DRB1*07:01) (「DRB失配」)。單獨、與DMSO一起或與PMA-離子黴素一起培養之效應細胞用作其他對照。藉由ELISPOT量測IFN- γ 分泌。對陽性孔數進行計數。結果展示於表7及圖5中。在表7中，「TNTC」代表「過多以致無法計數」。亦藉由流式細胞術量測表現4-1BB之mTCR表現細胞之百分比。結果展示於圖5中。結果展示，TCR針對由HLA-DRB*07:01呈現之突變KRAS具有特異性反應性。

表7

	自體 (患者4148)	DRB1 01:01 供體	DRB1 07:01 供體	HLA-DRB1 失配供體
KRAS WT	約(~) 354	2	~291	58
KRAS G12V	TNTC	27	TNTC	41
DMSO	102	2	123	~180
僅細胞	12	3	1	1
OKT3	~1122	~1019	~1007	~983

實例4

【0135】 此實例證實，分離出對由HLA-DRB1*11:01分子呈現之具有G12C突變之人類KRAS具有抗原性特異性之TCR。

【0136】 使用來自具有KRAS^{G12C}-表現腫瘤之卵巢癌患者之末梢血T細胞子組之重複活體外敏化(IVS)來鑑別KRAS^{G12C}反應性TCR。

【0137】 使自體DC脈衝輸送有G12C突變肽(SEQ ID NO: 56)並與經分選T細胞子組一起共培養10天，且然後測試反應性，如實例1中所闡述。

【0138】 為進一步富集反應性細胞，基於4-1BB/OX40表現來分選針對KRAS突變肽之反應性部分並使用突變肽再次刺激。基於4-1BB/OX40表現來分選反應性T細胞並測序。

【0139】 自細胞分離總RNA。總RNA然後使用TCR- α 及- β 鏈恆定引子發生5'互補DNA端(5' RACE)之快速擴增。然後藉由標準瓊脂糖凝膠電泳及凝膠萃取來分離TCR PCR產物。對產物直接測序。TCR α 鏈及 β 鏈可變區之核苷酸序列分別係SEQ ID NO: 44及45。TCR α 鏈及 β 鏈可變區之胺基酸序列展示於表8中。將互補決定區(CDR)加下劃線。

表8

TCR ID	TCR鏈	胺基酸序列 將互補決定區(CDR)加下劃線
KRAS ^{G12C} - HLA- DRB1*11:01	α (TRAV24)	MEKNPLAAPLLILWFHLDCVSSILNVEQSPQSLH VQEGDSTNFTCSFPSSNFYALHWYRWETAKSPE ALFVMTLNGDEKKKGRISATLNTKEGYSYLYIKG SQPEDSATYLCAFTTGNQFYFGTGTSLTVIP (SEQ ID NO: 15)
	β (TRBV12-4)	MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTE MGQEVTLRCKPISGHDYLFWYRQTMMRGLELLI YFNNNVPIDDSGMPEDRFS AKMPNASFSTLKIQP SEPRDSAVYFCASSSYGGYSNQPHFGDGTRL SI LED (SEQ ID NO: 16)

【0140】

實例5

此實例證實，實例4中所分離之TCR識別呈現於HLA-DR分子背景中之KRAS G12C肽抗原。

【0141】 將編碼實例4之經分離G12C反應性TCR (包括SEQ ID NO: 44及SEQ ID NO: 45之核苷酸序列)且包含經半胱胺酸取代、經LVL修飾之鼠類恆定區之核酸序列選殖至逆轉錄病毒表現載體中。 α 鏈鼠類恆定區

包括SEQ ID NO: 30之胺基酸序列，其中位置48之X係Cys，位置112之X係Leu，位置114之X係Ile，且位置115之X係Val。β鏈恆定區包括SEQ ID NO: 31之胺基酸序列，其中位置57之X係Cys。包括SEQ ID NO: 54之胺基酸序列之連接體定位於α鏈恆定區與β鏈可變區之間。使用逆轉錄病毒表現載體轉導同種異體T細胞。

【0142】 在使用針對HLA-DQ、HLA-DR或HLA-DP之抗體或針對HLA-DP、HLA-DR及HLA-DQ之全部之泛特異性抗體阻斷膜MHC第II類分子後，將轉導細胞(效應細胞)與匹配於單一HLA-DRB15:01或HLA-DRB11:01等位基因且脈衝輸送有KRAS^{G12C} 24聚體肽(SEQ ID NO: 56)之靶自體DC或同種異體DC一起共培養。與佛波醇肉豆蔻酸乙酸酯(PMA)或WT KRAS (SEQ ID NO: 55)一起培養之效應轉導細胞用作對照。

【0143】 藉由使用流式細胞術檢測之4-1BB表現來量測效應細胞針對靶細胞之反應性(選通於CD3+ mTCR β鏈+細胞上)。結果展示於圖10中。如圖10中所展示，TCR針對由HLA-DRB*11:01呈現之KRAS^{G12C}具有特異性反應性。

【0144】

實例6

此實例證實，經實例5之KRAS^{G12C} TCR轉導之PBMC識別脈衝輸送有KRAS^{G12C}肽之自體DC。

【0145】 使用編碼實例5之KRAS^{G12C} TCR之MSGV-1-逆轉錄病毒對同種異體T細胞進行基因改造。向自體DC加載WT KRAS (SEQ ID NO: 55)或KRAS^{G12C}肽(SEQ ID NO: 56)並與TCR轉導細胞一起共培養18小時，隨後使用流式細胞術分析4-1BB上調。結果展示於圖9中。如圖9中所

展示，經實例5之KRAS^{G12C} TCR轉導之PBMC識別脈衝輸送有KRAS^{G12C} 肽之自體DC。

【0146】

實例7

此實例證實，KRAS G12V突變蛋白經受處理且由DC呈現，並由實例2之TCR識別。

【0147】 將經實例2中G12V-DRB1*07:01轉導之同種異體T細胞與脈衝輸送有表現下列KRAS G12突變之一之腫瘤細胞系之細胞溶解物的自體DC一起共培養過夜：G12R、G12C、G12D或G12V。與脈衝輸送有表現WT KRAS之腫瘤細胞系之細胞溶解物之自體DC一起共培養的轉導細胞用作對照。單獨或與PMA或DMSO一起培養之轉導細胞用作其他對照。藉由流式細胞術量測上調4-1BB及/或OX40之細胞之百分比。藉由ELISPOT量測表現IFN γ 之細胞數(斑點/ 2×10^4 個細胞)。結果展示於圖6中。如圖6中所展示，KRAS G12V突變蛋白經受處理且由DC呈現，並由實例2之TCR識別。

【0148】

實例8

此實例證實，經實例2之G12V-DRB1*07:01 TCR轉導之細胞特異性識別KRAS^{G12V}肽。

【0149】 將經實例2之G12V-DRB1*07:01 TCR轉導之同種異體T細胞與脈衝輸送有各種濃度之24聚體肽KRAS^{G12V} (SEQ ID NO: 53)或WT KRAS (SEQ ID NO: 55)之自體DC一起共培養過夜。藉由流式細胞術量測mTCR β +CD8+4-1BB+細胞之百分比。結果展示於圖7中。如圖7中所展

示，經實例2之G12V-DRB1*07:01 TCR轉導之細胞特異性識別KRAS^{G12V}肽。

【0150】

實例9

此實例證實，經實例2之G12V-DRB1*07:01 TCR轉導之細胞特異性識別各種KRAS^{G12V}肽。

【0151】 將經實例2之G12V-DRB1*07:01 TCR轉導之同種異體T細胞與脈衝輸送有下表9中所列示各種濃度之肽之自體DC一起共培養過夜。藉由ELISPOT量測IFN γ 分泌。結果展示於圖8中。如圖8中所展示，儘管經實例2之G12V-DRB1*07:01 TCR轉導之細胞特異性識別所有KRAS^{G12V}肽，但SEQ ID NO: 52最佳。

表9

名稱	序列	SEQ ID NO:
KRAS G12V 11聚體	LVVVGAVGVGK	46
KRAS G12V 12聚體_1	KLVVVGAVGVGK	47
KRAS G12V 12聚體_2	LVVVGAVGVGKS	48
KRAS G12V 13聚體_1	YKLVVVGAVGVGK	49
KRAS G12V 13聚體_2	KLVVVGAVGVGKS	50
KRAS G12V 13聚體_3	LVVVGAVGVGKSA	51
KRAS G12V 15聚體_3	EYKLVVVGAVGVGKS	52
KRAS G12V 24聚體	MTEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLI	53

【0152】 本文所引用之所有參考文獻(包含出版物、專利申請案及專利)皆以引用方式併入本文中，其併入程度如同將每一參考文獻個別且特別指示以引用方式併入本文中且其全文列示於本文中一般。

【0153】 除非本文另外指示或上下文明顯矛盾，否則在闡述本發明

之上下文(尤其在下文申請專利範圍之上下文)中術語「一(a及an)」及「該」以及「至少一者」及類似指示物之使用皆應解釋為涵蓋單數及複數二者。除非本文另外指示或上下文明顯矛盾，否則緊接著一或多個物項之列表使用之術語「至少一者」(例如「A及B中之至少一者」)應解釋為意指選自所列示物項之一個物項(A或B)或兩個或更多個所列示物項之任一組合(A及B)。除非另外註明，否則術語「包括」、「具有」、「包含」及「含有」應解釋為開放式術語(亦即，意指「包含(但不限於)」)。除非本文另外指示，否則本文中之數值範圍僅意欲作為個別提及落入此範圍內之每一單獨值之速記方法，並且每一單獨值係如同在本文個別列舉一般併入說明書中。除非本文另外指示或上下文另外明顯矛盾，否則本文所闡述之所有方法皆可以任一適宜順序實施。除非另有主張，否則，本文中所提供之任何及所有實例或示範性語言(例如「例如」)之使用僅意欲更佳地闡明本發明且並不對本發明範圍強加限制。本說明書中之任何語言皆不應解釋為指示任一未主張要素對於本發明實踐係必需的。

【0154】 本文闡述本發明之較佳實施例，包含發明人已知用於實施本發明之最佳模式。熟習此項技術者在閱讀上述說明後可明瞭彼等較佳實施例之變化形式。發明者期望熟習此項技術者適當採用該等變化形式，且發明者期望本發明可以不同於本文特定闡述之方式實施。因此，本發明包含適用法律所允許之本文所附申請專利範圍中所引述標的物之所有修改形式及等效形式。此外，除非本文另外指示或上下文另外明顯矛盾，否則在其所有可能之變化形式中，上述要素之任一組合皆涵蓋於本發明中。

【序列表】

<110> 美國衛生與公眾服務部(THE UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES)

<120> 針對突變RAS之HLA第II類限制性T細胞受體

<130> 739664

<140> TW 107133221

<141> 2018-09-20

<150> US 62/560,930

<151> 2017-09-20

<160> 56

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 6

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

Asp Ser Ala Ser Asn Tyr
1 5

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<400> 2

Ile Arg Ser Asn Val Gly Glu
1 5

<210> 3

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人

<400> 3

Cys Ala Ala Ser Thr Gly Gly Gly Asn Lys Leu Thr Phe
1 5 10

<210> 4

<211> 6

<212> PRT

<213> 智人

<400> 4

Asp Phe Gln Ala Thr Thr
1 5

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<400> 5

Ser Asn Glu Gly Ser Lys Ala
1 5

<210> 6
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人

<400> 6

Cys Ser Ala Arg Glu Gly Ala Gly Gly Met Gly Thr Gln Tyr Phe
1 5 10 15

<210> 7
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 7

Ser Ser Asn Phe Tyr Ala
1 5

<210> 8
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 8

Met Thr Leu Asn Gly Asp Glu
1 5

<210> 9
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 9

Cys Ala Phe Thr Thr Gly Asn Gln Phe Tyr Phe
1 5 10

<210> 10
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 10

Ser Gly His Asp Tyr Leu
1 5

<210> 11
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 11

Phe Asn Asn Asn Val Pro

1 5

<210> 12
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人

<400> 12

Cys Ala Ser Ser Ser Tyr Gly Gly Tyr Ser Asn Gln Pro Gln His Phe
1 5 10 15

<210> 13
<211> 131
<212> PRT
<213> 智人

<400> 13

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

Leu Val Asn Gly Glu Asn Val Glu Gln His Pro Ser Thr Leu Ser Val
20 25 30

Gln Glu Gly Asp Ser Ala Val Ile Lys Cys Thr Tyr Ser Asp Ser Ala
35 40 45

Ser Asn Tyr Phe Pro Trp Tyr Lys Gln Glu Leu Gly Lys Gly Pro Gln
50 55 60

Leu Ile Ile Asp Ile Arg Ser Asn Val Gly Glu Lys Lys Asp Gln Arg
65 70 75 80

Ile Ala Val Thr Leu Asn Lys Thr Ala Lys His Phe Ser Leu His Ile
85 90 95

Thr Glu Thr Gln Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Ala Ser
100 105 110

Thr Gly Gly Gly Asn Lys Leu Thr Phe Gly Thr Gly Thr Gln Leu Lys
115 120 125

Val Glu Leu
130

<210> 14
<211> 132
<212> PRT
<213> 智人

<400> 14

Met Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gly Pro Ala Gly Ser Gly Leu Gly
1 5 10 15

Ala Val Val Ser Gln His Pro Ser Arg Val Ile Cys Lys Ser Gly Thr
20 25 30

Ser Val Lys Ile Glu Cys Arg Ser Leu Asp Phe Gln Ala Thr Thr Met
35 40 45

Phe Trp Tyr Arg Gln Phe Pro Lys Gln Ser Leu Met Leu Met Ala Thr
50 55 60

Ser Asn Glu Gly Ser Lys Ala Thr Tyr Glu Gln Gly Val Glu Lys Asp
65 70 75 80

Lys Phe Leu Ile Asn His Ala Ser Leu Thr Leu Ser Thr Leu Thr Val
85 90 95

Thr Ser Ala His Pro Glu Asp Ser Ser Phe Tyr Ile Cys Ser Ala Arg
100 105 110

Glu Gly Ala Gly Gly Met Gly Thr Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg
115 120 125

Leu Leu Val Leu
130

<210> 15
<211> 132
<212> PRT
<213> 智人

<400> 15

Met Glu Lys Asn Pro Leu Ala Ala Pro Leu Leu Ile Leu Trp Phe His
1 5 10 15

Leu Asp Cys Val Ser Ser Ile Leu Asn Val Glu Gln Ser Pro Gln Ser
20 25 30

Leu His Val Gln Glu Gly Asp Ser Thr Asn Phe Thr Cys Ser Phe Pro
35 40 45

Ser Ser Asn Phe Tyr Ala Leu His Trp Tyr Arg Trp Glu Thr Ala Lys
50 55 60

Ser Pro Glu Ala Leu Phe Val Met Thr Leu Asn Gly Asp Glu Lys Lys
65 70 75 80

Lys Gly Arg Ile Ser Ala Thr Leu Asn Thr Lys Glu Gly Tyr Ser Tyr
85 90 95

Leu Tyr Ile Lys Gly Ser Gln Pro Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys
100 105 110

Ala Phe Thr Thr Gly Asn Gln Phe Tyr Phe Gly Thr Gly Thr Ser Leu
115 120 125

Thr Val Ile Pro
130

<210> 16
<211> 137
<212> PRT
<213> 智人

<400> 16

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

Lys His Thr Asp Ala Gly Val Ile Gln Ser Pro Arg His Glu Val Thr
20 25 30

Glu Met Gly Gln Glu Val Thr Leu Arg Cys Lys Pro Ile Ser Gly His
35 40 45

Asp Tyr Leu Phe Trp Tyr Arg Gln Thr Met Met Arg Gly Leu Glu Leu
50 55 60

Leu Ile Tyr Phe Asn Asn Asn Val Pro Ile Asp Asp Ser Gly Met Pro
65 70 75 80

Glu Asp Arg Phe Ser Ala Lys Met Pro Asn Ala Ser Phe Ser Thr Leu
85 90 95

Lys Ile Gln Pro Ser Glu Pro Arg Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala
100 105 110

Ser Ser Ser Tyr Gly Gly Tyr Ser Asn Gln Pro Gln His Phe Gly Asp
115 120 125

Gly Thr Arg Leu Ser Ile Leu Glu Asp
130 135

<210> 17
<211> 189
<212> PRT
<213> 智人

<400> 17

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Gly Gly Val Gly Lys
1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr
20 25 30

Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly
35 40 45

Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr
50 55 60

Ser Ala Met Arg Asp Gln Tyr Met Arg Thr Gly Glu Gly Phe Leu Cys
65 70 75 80

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

Arg Glu Gln Ile Lys Arg Val Lys Asp Ser Glu Asp Val Pro Met Val
100 105 110

Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Pro Ser Arg Thr Val Asp Thr Lys
115 120 125

Gln Ala Gln Asp Leu Ala Arg Ser Tyr Gly Ile Pro Phe Ile Glu Thr
130 135 140

Ser Ala Lys Thr Arg Gln Arg Val Glu Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val
145 150 155 160

Arg Glu Ile Arg Gln Tyr Arg Leu Lys Lys Ile Ser Lys Glu Glu Lys
165 170 175

Thr Pro Gly Cys Val Lys Ile Lys Lys Cys Ile Ile Met
180 185

<210> 18
<211> 188
<212> PRT
<213> 智人

<400> 18

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Gly Gly Val Gly Lys
1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr
20 25 30

Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly
35 40 45

Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr
50 55 60

Ser Ala Met Arg Asp Gln Tyr Met Arg Thr Gly Glu Gly Phe Leu Cys
65 70 75 80

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

Arg Glu Gln Ile Lys Arg Val Lys Asp Ser Glu Asp Val Pro Met Val
100 105 110

Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Pro Ser Arg Thr Val Asp Thr Lys
115 120 125

Gln Ala Gln Asp Leu Ala Arg Ser Tyr Gly Ile Pro Phe Ile Glu Thr
130 135 140

Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Asp Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val
145 150 155 160

Arg Glu Ile Arg Lys His Lys Glu Lys Met Ser Lys Asp Gly Lys Lys
165 170 175

Lys Lys Lys Lys Ser Lys Thr Lys Cys Val Ile Met
180 185

<210> 19
<211> 189
<212> PRT
<213> 智人

<400> 19

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Gly Gly Val Gly Lys
1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr
20 25 30

Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly
35 40 45

Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr
50 55 60

Ser Ala Met Arg Asp Gln Tyr Met Arg Thr Gly Glu Gly Phe Leu Cys
65 70 75 80

Val Phe Ala Ile Asn Asn Thr Lys Ser Phe Glu Asp Ile His Gln Tyr
85 90 95

Arg Glu Gln Ile Lys Arg Val Lys Asp Ser Asp Asp Val Pro Met Val
100 105 110

Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Ala Ala Arg Thr Val Glu Ser Arg
115 120 125

Gln Ala Gln Asp Leu Ala Arg Ser Tyr Gly Ile Pro Tyr Ile Glu Thr
130 135 140

Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Glu Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val
145 150 155 160

Arg Glu Ile Arg Gln His Lys Leu Arg Lys Leu Asn Pro Pro Asp Glu
165 170 175

Ser Gly Pro Gly Cys Met Ser Cys Lys Cys Val Leu Ser
180 185

<210> 20
<211> 189
<212> PRT
<213> 智人

<400> 20

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Gly Gly Val Gly Lys
1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr
20 25 30

Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly
35 40 45

Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr
50 55 60

Ser Ala Met Arg Asp Gln Tyr Met Arg Thr Gly Glu Gly Phe Leu Cys
65 70 75 80

Val Phe Ala Ile Asn Asn Ser Lys Ser Phe Ala Asp Ile Asn Leu Tyr
85 90 95

Arg Glu Gln Ile Lys Arg Val Lys Asp Ser Asp Asp Val Pro Met Val
100 105 110

Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Pro Thr Arg Thr Val Asp Thr Lys
115 120 125

Gln Ala His Glu Leu Ala Lys Ser Tyr Gly Ile Pro Phe Ile Glu Thr
130 135 140

Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Glu Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val
145 150 155 160

Arg Glu Ile Arg Gln Tyr Arg Met Lys Lys Leu Asn Ser Ser Asp Asp
165 170 175

Gly Thr Gln Gly Cys Met Gly Leu Pro Cys Val Val Met
180 185

<210> 21
<211> 189
<212> PRT
<213> 智人

<400> 21

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Val Gly Val Gly Lys
1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr
20 25 30

Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly
35 40 45

Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr
50 55 60

Ser Ala Met Arg Asp Gln Tyr Met Arg Thr Gly Glu Gly Phe Leu Cys
65 70 75 80

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

Arg Glu Gln Ile Lys Arg Val Lys Asp Ser Glu Asp Val Pro Met Val
100 105 110

Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Pro Ser Arg Thr Val Asp Thr Lys
115 120 125

Gln Ala Gln Asp Leu Ala Arg Ser Tyr Gly Ile Pro Phe Ile Glu Thr
130 135 140

Ser Ala Lys Thr Arg Gln Arg Val Glu Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val
145 150 155 160

Arg Glu Ile Arg Gln Tyr Arg Leu Lys Lys Ile Ser Lys Glu Glu Lys
165 170 175

Thr Pro Gly Cys Val Lys Ile Lys Lys Cys Ile Ile Met
180 185

<210> 22
<211> 188
<212> PRT
<213> 智人

<400> 22

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Val Gly Val Gly Lys

1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr
20 25 30

Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly
35 40 45

Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr
50 55 60

Ser Ala Met Arg Asp Gln Tyr Met Arg Thr Gly Glu Gly Phe Leu Cys
65 70 75 80

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

Arg Glu Gln Ile Lys Arg Val Lys Asp Ser Glu Asp Val Pro Met Val
100 105 110

Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Pro Ser Arg Thr Val Asp Thr Lys
115 120 125

Gln Ala Gln Asp Leu Ala Arg Ser Tyr Gly Ile Pro Phe Ile Glu Thr
130 135 140

Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Asp Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val
145 150 155 160

Arg Glu Ile Arg Lys His Lys Glu Lys Met Ser Lys Asp Gly Lys Lys
165 170 175

Lys Lys Lys Lys Ser Lys Thr Lys Cys Val Ile Met
180 185

<210> 23
<211> 189
<212> PRT
<213> 智人

<400> 23

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Val Gly Val Gly Lys
1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr
20 25 30

Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly
35 40 45

Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr

50

55

60

Ser Ala Met Arg Asp Gln Tyr Met Arg Thr Gly Glu Gly Phe Leu Cys
65 70 75 80

Val Phe Ala Ile Asn Asn Thr Lys Ser Phe Glu Asp Ile His Gln Tyr
85 90 95

Arg Glu Gln Ile Lys Arg Val Lys Asp Ser Asp Asp Val Pro Met Val
100 105 110

Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Ala Ala Arg Thr Val Glu Ser Arg
115 120 125

Gln Ala Gln Asp Leu Ala Arg Ser Tyr Gly Ile Pro Tyr Ile Glu Thr
130 135 140

Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Glu Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val
145 150 155 160

Arg Glu Ile Arg Gln His Lys Leu Arg Lys Leu Asn Pro Pro Asp Glu
165 170 175

Ser Gly Pro Gly Cys Met Ser Cys Lys Cys Val Leu Ser
180 185

<210> 24
<211> 189
<212> PRT
<213> 智人

<400> 24

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Val Gly Val Gly Lys
1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr
20 25 30

Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly
35 40 45

Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr
50 55 60

Ser Ala Met Arg Asp Gln Tyr Met Arg Thr Gly Glu Gly Phe Leu Cys
65 70 75 80

Val Phe Ala Ile Asn Asn Ser Lys Ser Phe Ala Asp Ile Asn Leu Tyr
85 90 95

Arg Glu Gln Ile Lys Arg Val Lys Asp Ser Asp Asp Val Pro Met Val

100 105 110

Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Pro Thr Arg Thr Val Asp Thr Lys
115 120 125

Gln Ala His Glu Leu Ala Lys Ser Tyr Gly Ile Pro Phe Ile Glu Thr
130 135 140

Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Glu Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val
145 150 155 160

Arg Glu Ile Arg Gln Tyr Arg Met Lys Lys Leu Asn Ser Ser Asp Asp
165 170 175

Gly Thr Gln Gly Cys Met Gly Leu Pro Cys Val Val Met
180 185

<210> 25
<211> 189
<212> PRT
<213> 智人
<400> 25

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Cys Gly Val Gly Lys
1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr
20 25 30

Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly
35 40 45

Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr
50 55 60

Ser Ala Met Arg Asp Gln Tyr Met Arg Thr Gly Glu Gly Phe Leu Cys
65 70 75 80

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

Arg Glu Gln Ile Lys Arg Val Lys Asp Ser Glu Asp Val Pro Met Val
100 105 110

Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Pro Ser Arg Thr Val Asp Thr Lys
115 120 125

Gln Ala Gln Asp Leu Ala Arg Ser Tyr Gly Ile Pro Phe Ile Glu Thr
130 135 140

Ser Ala Lys Thr Arg Gln Arg Val Glu Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val

145 150 155 160

Arg Glu Ile Arg Gln Tyr Arg Leu Lys Lys Ile Ser Lys Glu Glu Lys
165 170 175

Thr Pro Gly Cys Val Lys Ile Lys Lys Cys Ile Ile Met
180 185

<210>	26
<211>	188
<212>	PRT
<213>	智人

<400> 26

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Cys Gly Val Gly Lys
1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr
20 25 30

Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly
35 40 45

Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr
50 55 60

Ser Ala Met Arg Asp Gln Tyr Met Arg Thr Gly Glu Gly Phe Leu Cys
65 70 75 80

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

Arg Glu Gln Ile Lys Arg Val Lys Asp Ser Glu Asp Val Pro Met Val
100 105 110

Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Pro Ser Arg Thr Val Asp Thr Lys
115 120 125

Gln Ala Gln Asp Leu Ala Arg Ser Tyr Gly Ile Pro Phe Ile Glu Thr
130 135 140

Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Asp Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val
145 150 155 160

Arg Glu Ile Arg Lys His Lys Glu Lys Met Ser Lys Asp Gly Lys Lys
165 170 175

Lys Lys Lys Lys Ser Lys Thr Lys Cys Val Ile Met
180 185

<210> 27

<211> 189
<212> PRT
<213> 智人

<400> 27

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

<210> 28
<211> 189
<212> PRT
<213> 智人

<400> 28

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Cys Gly Val Gly Lys
1 5 10 15
Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile Gln Asn His Phe Val Asp Glu Tyr
20 25 30

Asp Pro Thr Ile Glu Asp Ser Tyr Arg Lys Gln Val Val Ile Asp Gly
35 40 45

Glu Thr Cys Leu Leu Asp Ile Leu Asp Thr Ala Gly Gln Glu Glu Tyr
50 55 60

Ser Ala Met Arg Asp Gln Tyr Met Arg Thr Gly Glu Gly Phe Leu Cys
65 70 75 80

Val Phe Ala Ile Asn Asn Ser Lys Ser Phe Ala Asp Ile Asn Leu Tyr
85 90 95

Arg Glu Gln Ile Lys Arg Val Lys Asp Ser Asp Asp Val Pro Met Val
100 105 110

Leu Val Gly Asn Lys Cys Asp Leu Pro Thr Arg Thr Val Asp Thr Lys
115 120 125

Gln Ala His Glu Leu Ala Lys Ser Tyr Gly Ile Pro Phe Ile Glu Thr
130 135 140

Ser Ala Lys Thr Arg Gln Gly Val Glu Asp Ala Phe Tyr Thr Leu Val
145 150 155 160

Arg Glu Ile Arg Gln Tyr Arg Met Lys Lys Leu Asn Ser Ser Asp Asp
165 170 175

Gly Thr Gln Gly Cys Met Gly Leu Pro Cys Val Val Met
180 185

<210> 29
<211> 23
<212> PRT
<213> 智人

<400> 29

Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Gly Gly Val Gly Lys Ser
1 5 10 15

Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile
20

<210> 30
<211> 137
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (48)..(48)
<223> X係Thr或Cys

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (112)..(112)
<223> X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (114)..(114)
<223> X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (115)..(115)
<223> X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp

<400> 30

Asp Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr Gln Leu Lys Asp Pro Arg
1 5 10 15

Ser Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Ile
20 25 30

Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile Thr Asp Lys Xaa
35 40 45

Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Scr Lys Ser Asn Gly Ala Ile Ala
50 55 60

Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile Phe Lys Glu Thr
65 70 75 80

Asn Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp Ala Thr Leu Thr
85 90 95

Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Xaa
100 105 110

Val Xaa Xaa Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu
115 120 125

Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
130 135

<210> 31
<211> 173
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (57)..(57)
<223> X係Ser或Cys

<400> 31

Glu Asp Leu Arg Asn Val Thr Pro Pro Lys Val Ser Leu Phe Glu Pro
1 5 10 15

Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn Lys Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu
20 25 30

Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn
35 40 45

Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Xaa Thr Asp Pro Gln Ala Tyr Lys
50 55 60

Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala
65 70 75 80

Thr Phe Trp His Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe
85 90 95

His Gly Leu Ser Glu Glu Asp Lys Trp Pro Glu Gly Ser Pro Lys Pro
100 105 110

Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly
115 120 125

Ile Thr Ser Ala Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu
130 135 140

Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser
145 150 155 160

Thr Leu Val Val Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asn Ser
165 170

<210> 32
<211> 137
<212> PRT
<213> 家鼯鼠

<400> 32

Asp Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr Gln Leu Lys Asp Pro Arg
1 5 10 15

Ser Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Ile
20 25 30

Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile Thr Asp Lys Thr
35 40 45

Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn Gly Ala Ile Ala
50 55 60

Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile Phe Lys Glu Thr
65 70 75 80

Asn Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp Ala Thr Leu Thr
85 90 95

Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser
100 105 110

Val Met Gly Leu Arg Ile Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu
115 120 125

Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
130 135

<210> 33
<211> 173
<212> PRT
<213> 家鼯鼠

<400> 33

Glu Asp Leu Arg Asn Val Thr Pro Pro Lys Val Ser Leu Phe Glu Pro
1 5 10 15

Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn Lys Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu
20 25 30

Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn
35 40 45

Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Ala Tyr Lys
50 55 60

Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala
65 70 75 80

Thr Phe Trp His Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe
85 90 95

His Gly Leu Ser Glu Glu Asp Lys Trp Pro Glu Gly Ser Pro Lys Pro
100 105 110

Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly
115 120 125

Ile Thr Ser Ala Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu
130 135 140

Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser
145 150 155 160

Thr Leu Val Val Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asn Ser
165 170

<210> 34
<211> 268
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (179)..(179)
<223> X係Thr或Cys

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (243)..(243)
<223> X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (245)..(245)
<223> X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (246)..(246)
<223> X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp

<400> 34

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

Leu Val Asn Gly Glu Asn Val Glu Gln His Pro Ser Thr Leu Ser Val
20 25 30

Gln Glu Gly Asp Ser Ala Val Ile Lys Cys Thr Tyr Ser Asp Ser Ala
35 40 45

Ser Asn Tyr Phe Pro Trp Tyr Lys Gln Glu Leu Gly Lys Gly Pro Gln
50 55 60

Leu Ile Ile Asp Ile Arg Ser Asn Val Gly Glu Lys Lys Asp Gln Arg
65 70 75 80

Ile Ala Val Thr Leu Asn Lys Thr Ala Lys His Phe Ser Leu His Ile
85 90 95

Thr Glu Thr Gln Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Ala Ser
100 105 110

Thr Gly Gly Gly Asn Lys Leu Thr Phe Gly Thr Gly Thr Gln Leu Lys
115 120 125

Val Glu Leu Asp Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr Gln Leu Lys
130 135 140

Asp Pro Arg Ser Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp
145 150 155 160

Ser Gln Ile Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile Thr
165 170 175

Asp Lys Xaa Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn Gly
180 185 190

Ala Ile Ala Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile Phe
195 200 205

Lys Glu Thr Asn Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp Ala
210 215 220

Thr Leu Thr Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe Gln
225 230 235 240

Asn Leu Xaa Val Xaa Xaa Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly
245 250 255

Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
260 265

<210> 35
<211> 305
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (189)..(189)
<223> X係Ser或Cys

<400> 35

Met Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gly Pro Ala Gly Ser Gly Leu Gly
1 5 10 15

Ala Val Val Ser Gln His Pro Ser Arg Val Ile Cys Lys Ser Gly Thr
20 25 30

Ser Val Lys Ile Glu Cys Arg Ser Leu Asp Phe Gln Ala Thr Thr Met

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

Ser
305

<210> 36
<211> 269
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (180)..(180)
<223> X係Thr或Cys

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (244)..(244)
<223> X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (246)..(246)
<223> X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (247)..(247)
<223> X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp

<400> 36

Met Glu Lys Asn Pro Leu Ala Ala Pro Leu Leu Ile Leu Trp Phe His
1 5 10 15

Leu Asp Cys Val Ser Ser Ile Leu Asn Val Glu Gln Ser Pro Gln Ser
20 25 30

Leu His Val Gln Glu Gly Asp Ser Thr Asn Phe Thr Cys Ser Phe Pro
35 40 45

Ser Ser Asn Phe Tyr Ala Leu His Trp Tyr Arg Trp Glu Thr Ala Lys
50 55 60

Ser Pro Glu Ala Leu Phe Val Met Thr Leu Asn Gly Asp Glu Lys Lys
65 70 75 80

Lys Gly Arg Ile Ser Ala Thr Leu Asn Thr Lys Glu Gly Tyr Ser Tyr
85 90 95

Leu Tyr Ile Lys Gly Ser Gln Pro Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys
100 105 110

Ala Phe Thr Thr Gly Asn Gln Phe Tyr Phe Gly Thr Gly Thr Ser Leu
115 120 125

Thr Val Ile Pro Asp Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr Gln Leu
130 135 140

Lys Asp Pro Arg Ser Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe
145 150 155 160

Asp Ser Gln Ile Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile
165 170 175

Thr Asp Lys Xaa Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn
180 185 190

Gly Ala Ile Ala Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile
195 200 205

Phe Lys Glu Thr Asn Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp
210 215 220

Ala Thr Leu Thr Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe
225 230 235 240

Gln Asn Leu Xaa Val Xaa Xaa Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala
245 250 255

Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
260 265

<210> 37
<211> 310
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (194)..(194)
<223> X係Ser或Cys

<400> 37

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

Lys His Thr Asp Ala Gly Val Ile Gln Ser Pro Arg His Glu Val Thr
20 25 30

Glu Met Gly Gln Glu Val Thr Leu Arg Cys Lys Pro Ile Ser Gly His
35 40 45

Asp Tyr Leu Phe Trp Tyr Arg Gln Thr Met Met Arg Gly Leu Glu Leu
50 55 60

Leu Ile Tyr Phe Asn Asn Asn Val Pro Ile Asp Asp Ser Gly Met Pro
65 70 75 80

Glu Asp Arg Phe Ser Ala Lys Met Pro Asn Ala Ser Phe Ser Thr Leu
85 90 95

Lys Ile Gln Pro Ser Glu Pro Arg Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala
100 105 110

Ser Ser Ser Tyr Gly Gly Tyr Ser Asn Gln Pro Gln His Phe Gly Asp
115 120 125

Gly Thr Arg Leu Ser Ile Leu Glu Asp Glu Asp Leu Arg Asn Val Thr
130 135 140

Pro Pro Lys Val Ser Leu Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn
145 150 155 160

Lys Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp
165 170 175

His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly
180 185 190

Val Xaa Thr Asp Pro Gln Ala Tyr Lys Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys
195 200 205

Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp His Asn Pro Arg
210 215 220

Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe His Gly Leu Ser Glu Glu Asp
225 230 235 240

Lys Trp Pro Glu Gly Ser Pro Lys Pro Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala
245 250 255

Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Ile Thr Ser Ala Ser Tyr Gln
260 265 270

Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys
275 280 285

Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Thr Leu Val Val Met Ala Met
290 295 300

Val Lys Arg Lys Asn Ser
305 310

<210> 38
<211> 268

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 38

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

Leu Val Asn Gly Glu Asn Val Glu Gln His Pro Ser Thr Leu Ser Val
20 25 30

Gln Glu Gly Asp Ser Ala Val Ile Lys Cys Thr Tyr Ser Asp Ser Ala
35 40 45

Ser Asn Tyr Phe Pro Trp Tyr Lys Gln Glu Leu Gly Lys Gly Pro Gln
50 55 60

Leu Ile Ile Asp Ile Arg Ser Asn Val Gly Glu Lys Lys Asp Gln Arg
65 70 75 80

Ile Ala Val Thr Leu Asn Lys Thr Ala Lys His Phe Ser Leu His Ile
85 90 95

Thr Glu Thr Gln Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Ala Ser
100 105 110

Thr Gly Gly Gly Asn Lys Leu Thr Phe Gly Thr Gly Thr Gln Leu Lys
115 120 125

Val Glu Leu Asp Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr Gln Leu Lys
130 135 140

Asp Pro Arg Ser Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp
145 150 155 160

Ser Gln Ile Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile Thr
165 170 175

Asp Lys Thr Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn Gly
180 185 190

Ala Ile Ala Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile Phe
195 200 205

Lys Glu Thr Asn Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp Ala
210 215 220

Thr Leu Thr Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe Gln
225 230 235 240

Asn Leu Ser Val Met Gly Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly
245 250 255

Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
260 265

<210> 39
<211> 305
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 39

Met Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gly Pro Ala Gly Ser Gly Leu Gly
1 5 10 15

Ala Val Val Ser Gln His Pro Ser Arg Val Ile Cys Lys Ser Gly Thr
20 25 30

Ser Val Lys Ile Glu Cys Arg Ser Leu Asp Phe Gln Ala Thr Thr Met
35 40 45

Phe Trp Tyr Arg Gln Phe Pro Lys Gln Ser Leu Met Leu Met Ala Thr
50 55 60

Ser Asn Glu Gly Ser Lys Ala Thr Tyr Glu Gln Gly Val Glu Lys Asp
65 70 75 80

Lys Phe Leu Ile Asn His Ala Ser Leu Thr Leu Ser Thr Leu Thr Val
85 90 95

Thr Ser Ala His Pro Glu Asp Ser Ser Phe Tyr Ile Cys Ser Ala Arg
100 105 110

Glu Gly Ala Gly Gly Met Gly Thr Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg
115 120 125

Leu Leu Val Leu Glu Asp Leu Arg Asn Val Thr Pro Pro Lys Val Ser
130 135 140

Leu Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn Lys Gln Lys Ala Thr
145 150 155 160

Leu Val Cys Leu Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser
165 170 175

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

Gln Ala Tyr Lys Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu
195 200 205

Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp His Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys
210 215 220

Gln Val Gln Phe His Gly Leu Ser Glu Glu Asp Lys Trp Pro Glu Gly
225 230 235 240

Ser Pro Lys Pro Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg
245 250 255

Ala Asp Cys Gly Ile Thr Ser Ala Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser
260 265 270

Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala
275 280 285

Val Leu Val Ser Thr Leu Val Val Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asn
290 295 300

Ser
305

<210> 40
<211> 269
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 40

Met Glu Lys Asn Pro Leu Ala Ala Pro Leu Leu Ile Leu Trp Phe His
1 5 10 15

Leu Asp Cys Val Ser Ser Ile Leu Asn Val Glu Gln Ser Pro Gln Ser
20 25 30

Leu His Val Gln Glu Gly Asp Ser Thr Asn Phe Thr Cys Ser Phe Pro
35 40 45

Ser Ser Asn Phe Tyr Ala Leu His Trp Tyr Arg Trp Glu Thr Ala Lys
50 55 60

Ser Pro Glu Ala Leu Phe Val Met Thr Leu Asn Gly Asp Glu Lys Lys
65 70 75 80

Lys Gly Arg Ile Ser Ala Thr Leu Asn Thr Lys Glu Gly Tyr Ser Tyr
85 90 95

Leu Tyr Ile Lys Gly Ser Gln Pro Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys

100105110

Ala Phe Thr Thr Gly Asn Gln Phe Tyr Phe Gly Thr Gly Thr Ser Leu
115120125

Thr Val Ile Pro Asp Ile Gln Asn Pro Glu Pro Ala Val Tyr Gln Leu
130135140

Lys Asp Pro Arg Ser Gln Asp Ser Thr Leu Cys Leu Phe Thr Asp Phe
145150155160

Asp Ser Gln Ile Asn Val Pro Lys Thr Met Glu Ser Gly Thr Phe Ile
165170175

Thr Asp Lys Thr Val Leu Asp Met Lys Ala Met Asp Ser Lys Ser Asn
180185190

Gly Ala Ile Ala Trp Ser Asn Gln Thr Ser Phe Thr Cys Gln Asp Ile
195200205

Phe Lys Glu Thr Asn Ala Thr Tyr Pro Ser Ser Asp Val Pro Cys Asp
210215220

Ala Thr Leu Thr Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Met Asn Leu Asn Phe
225230235240

Gln Asn Leu Ser Val Met Gly Leu Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala
245250255

Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
260265

<210> 41
<211> 310
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 41

Met Gly Ser Trp Thr Leu Cys Cys Val Ser Leu Cys Ile Leu Val Ala
151015

Lys His Thr Asp Ala Gly Val Ile Gln Ser Pro Arg His Glu Val Thr
202530

Glu Met Gly Gln Glu Val Thr Leu Arg Cys Lys Pro Ile Ser Gly His
354045

Asp Tyr Leu Phe Trp Tyr Arg Gln Thr Met Met Arg Gly Leu Glu Leu
505560

Leu Ile Tyr Phe Asn Asn Asn Val Pro Ile Asp Asp Ser Gly Met Pro
65 70 75 80

Glu Asp Arg Phe Ser Ala Lys Met Pro Asn Ala Ser Phe Ser Thr Leu
85 90 95

Lys Ile Gln Pro Ser Glu Pro Arg Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala
100 105 110

Ser Ser Ser Tyr Gly Gly Tyr Ser Asn Gln Pro Gln His Phe Gly Asp
115 120 125

Gly Thr Arg Leu Ser Ile Leu Glu Asp Glu Asp Leu Arg Asn Val Thr
130 135 140

Pro Pro Lys Val Ser Leu Phe Glu Pro Ser Lys Ala Glu Ile Ala Asn
145 150 155 160

Lys Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala Arg Gly Phe Phe Pro Asp
165 170 175

His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn Gly Lys Glu Val His Ser Gly
180 185 190

Val Ser Thr Asp Pro Gln Ala Tyr Lys Glu Ser Asn Tyr Ser Tyr Cys
195 200 205

Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp His Asn Pro Arg
210 215 220

Asn His Phe Arg Cys Gln Val Gln Phe His Gly Leu Ser Glu Glu Asp
225 230 235 240

Lys Trp Pro Glu Gly Ser Pro Lys Pro Val Thr Gln Asn Ile Ser Ala
245 250 255

Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Ile Thr Ser Ala Ser Tyr Gln
260 265 270

Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys
275 280 285

Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Thr Leu Val Val Met Ala Met
290 295 300

Val Lys Arg Lys Asn Ser
305 310

<210> 42

<211> 393
<212> DNA
<213> 智人

<400> 42
atgaccagca tcagggccgt gttcatcttc ctgtggctgc agctggacct ggtgaacggc 60
gagaacgtgg agcagcaccc cagcaccttg agcgtgcagg agggcgacag cgccgtgac 120
aagtgcacct acagcgacag cgccagcaac tacttccctt ggtacaagca ggagctgggc 180
aagggccccc agctgatcat cgacatcagg agcaacgtgg gcgagaagaa ggaccagagg 240
atcgccgtga ccctgaacaa gaccgccaag cacttcagcc tgcacatcac cgagaccag 300
cccgaggaca gcgccgtgta cttctgcgcc gccagcaccg gcggcggcaa caagctgacc 360
ttcggcaccg gcacccagct gaaggtggag ctg 393

<210> 43
<211> 393
<212> DNA
<213> 智人

<400> 43
atgaccagca tcagggccgt gttcatcttc ctgtggctgc agctggacct ggtgaacggc 60
gagaacgtgg agcagcaccc cagcaccttg agcgtgcagg agggcgacag cgccgtgac 120
aagtgcacct acagcgacag cgccagcaac tacttccctt ggtacaagca ggagctgggc 180
aagggccccc agctgatcat cgacatcagg agcaacgtgg gcgagaagaa ggaccagagg 240
atcgccgtga ccctgaacaa gaccgccaag cacttcagcc tgcacatcac cgagaccag 300
cccgaggaca gcgccgtgta cttctgcgcc gccagcaccg gcggcggcaa caagctgacc 360
ttcggcaccg gcacccagct gaaggtggag ctg 393

<210> 44
<211> 396
<212> DNA
<213> 智人

<400> 44
atggagaaga accccctggc cggccccctg ctgatcctgt gggtccacct ggactgcgtg 60
agcagcatcc tgaacgtgga gcagagcccc cagagcctgc acgtgcagga gggcgacagc 120
accaacttca cctgcagctt ccccagcagc aacttctacg ccctgcactg gtacaggtgg 180
gagaccgcca agagccccga ggccctgttc gtgatgacct tgaacggcga cgagaagaag 240
aagggcagga tcagcgccac cctgaacacc aaggagggtt acagctacct gtacatcaag 300
ggcagccagc ccgaggacag cgccacctac ctgtgcgcct tcaccaccgg caaccagttc 360
tacttcggca ccggcaccag cctgaccgtg atcccc 396

<210> 45
<211> 411
<212> DNA
<213> 智人

<400> 45
atgggcagct ggaccctgtg ctgcgtgagc ctgtgcatcc tggaggccaa gcacaccgac 60
gccggcgtga tccagagccc caggcacgag gtgaccgaga tgggcccagga ggtgaccctg 120
aggtgcaagc ccatcagcgg ccacgactac ctgttctggt acaggcagac catgatgagg 180
ggcctggagc tgctgatcta cttcaacaac aacgtgccc tgcacgacag cggcatgccc 240
gaggacaggt tcagcgccaa gatgcccac gccagcttca gcaccctgaa gatccagccc 300
agcgagccca gggacagcgc cgtgtacttc tgcgccagca gcagctacgg cggctacagc 360
aaccagcccc agcacttcgg cgacggcacc aggtctagca tcctggagga c 411

<210> 46
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 46
Leu Val Val Val Gly Ala Val Gly Val Gly Lys
1 5 10

<210> 47
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<400> 47
Lys Leu Val Val Val Gly Ala Val Gly Val Gly Lys
1 5 10

<210> 48
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<400> 48
Leu Val Val Val Gly Ala Val Gly Val Gly Lys Ser
1 5 10

<210> 49
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 49
Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Val Gly Val Gly Lys
1 5 10

<210> 50
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 50

Lys Leu Val Val Val Gly Ala Val Gly Val Gly Lys Ser
1 5 10

<210> 51
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<400> 51

Leu Val Val Val Gly Ala Val Gly Val Gly Lys Ser Ala
1 5 10

<210> 52
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人

<400> 52

Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Val Gly Val Gly Lys Ser
1 5 10 15

<210> 53
<211> 24
<212> PRT
<213> 智人

<400> 53

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Val Gly Val Gly Lys
1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile
20

<210> 54
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<400> 54

Arg Ala Lys Arg Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys
1 5 10 15

Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
20 25

<210> 55
<211> 24
<212> PRT
<213> 智人

<400> 55

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Gly Gly Val Gly Lys

1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile
20

<210> 56
<211> 24
<212> PRT
<213> 智人

<400> 56

Met Thr Glu Tyr Lys Leu Val Val Val Gly Ala Cys Gly Val Gly Lys
1 5 10 15

Ser Ala Leu Thr Ile Gln Leu Ile
20

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種經分離或純化之T細胞受體(TCR)，其中該TCR對人類白血球抗原(HLA)第II類分子呈現之突變人類RAS胺基酸序列具有抗原性特異性，

其中該突變人類RAS胺基酸序列係突變人類Kirsten大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(KRAS)、突變人類Harvey大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(HRAS)或突變人類神經母細胞瘤大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(NRAS)胺基酸序列，以及該TCR包含：

(a) 包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之 α 鏈互補決定區(CDR)1、包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之 α 鏈CDR2、包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之 α 鏈CDR3、包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之 β 鏈CDR1、包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之 β 鏈CDR2、以及包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之 β 鏈CDR3，或

(b) 包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列之 α 鏈互補決定區(CDR)1、包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列之 α 鏈CDR2、包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之 α 鏈CDR3、包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之 β 鏈CDR1、包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列之 β 鏈CDR2、以及包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列之 β 鏈CDR3。

【請求項2】

如請求項1之TCR，其中該HLA第II類分子係HLA-DR分子。

【請求項3】

如請求項1之TCR，其中該HLA第II類分子係HLA-DRB1分子。

【請求項4】

如請求項1之TCR，其中該HLA第II類分子係HLA-DRB1*07:01分子或HLA-DRB1*11:01分子。

【請求項5】

如請求項1至4中任一項之TCR，其中該突變人類RAS胺基酸序列包括取代位置12之甘胺酸之野生型人類KRAS、野生型人類HRAS或野生型人類NRAS胺基酸序列，其中位置12係藉由分別參照該野生型人類KRAS、野生型人類HRAS或野生型人類NRAS蛋白來定義。

【請求項6】

如請求項5之TCR，其中該取代係使用纈胺酸或半胱胺酸取代位置12之甘胺酸。

【請求項7】

如請求項1至4中任一項之TCR，其包括：

- (i) 與SEQ ID NO: 13之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列；
- (ii) 與SEQ ID NO: 14之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列；
- (iii) 與SEQ ID NO: 15之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列；
- (iv) 與SEQ ID NO: 16之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列；
- (v) 與SEQ ID NO: 13之胺基酸21-131至少95%一致之胺基酸序列；
- (vi) 與SEQ ID NO: 14之胺基酸17-132至少95%一致之胺基酸序列；
- (vii) 與SEQ ID NO: 15之胺基酸23-132至少95%一致之胺基酸序列；
- (viii) 與SEQ ID NO: 16之胺基酸22-137至少95%一致之胺基酸序列；或
- (ix) (i)及(ii)二者；(i)及(vi)二者；(ii)及(v)二者；(v)及(vi)二者；

(iii)及(iv)二者；(iii)及(viii)二者；(iv)及(vii)二者或(vii)及(viii)二者。

【請求項8】

如請求項1至4中任一項之TCR，其包括：

(i) SEQ ID NO: 13之胺基酸，

(ii) SEQ ID NO: 14之胺基酸，

(iii) SEQ ID NO: 15之胺基酸，

(iv) SEQ ID NO: 16之胺基酸，

(v) SEQ ID NO: 13之胺基酸21-131；

(vi) SEQ ID NO: 14之胺基酸17-132；

(vii) SEQ ID NO: 15之胺基酸23-132；

(viii) SEQ ID NO: 16之胺基酸22-137；或

(ix) (i)及(ii)二者；(i)及(vi)二者；(ii)及(v)二者；(v)及(vi)二者；

(iii)及(iv)二者；(iii)及(viii)二者；(iv)及(vii)二者或(vii)及(viii)二者。

【請求項9】

如請求項1至4中任一項之TCR，其進一步包括：

(a)包括與SEQ ID NO: 30之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列之 α 鏈恆定區，其中：

(i) SEQ ID NO: 30之位置48之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 30之位置112之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 30之位置114之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 30之位置115之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、

Pro、Phe、Met或Trp；

(b)包括與SEQ ID NO: 31之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列之 β 鏈恆定區，其中SEQ ID NO: 31之位置57之X係Ser或Cys；或

(c) (a)及(b)二者。

【請求項10】

如請求項1至4中任一項之TCR，其進一步包括：

(a)包括SEQ ID NO: 30之胺基酸序列之 α 鏈恆定區，其中：

(i) SEQ ID NO: 30之位置48之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 30之位置112之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 30之位置114之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 30之位置115之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(b)包括SEQ ID NO: 31之胺基酸序列之 β 鏈恆定區，其中SEQ ID NO: 31之位置57之X係Ser或Cys；或

(c) (a)及(b)二者。

【請求項11】

如請求項1至4中任一項之經分離或純化之TCR，其包括：

(a)包括與SEQ ID NO: 34之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列之 α 鏈，其中：

(i) SEQ ID NO: 34之位置179之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 34之位置243之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、

Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 34之位置245之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 34之位置246之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(b)包括與SEQ ID NO: 35之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列之 β 鏈，其中SEQ ID NO: 35之位置189之X係Ser或Cys；

(c)包括與SEQ ID NO: 36之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列之 α 鏈，其中：

(i) SEQ ID NO: 36之位置180之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 36之位置244之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 36之位置246之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 36之位置247之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(d)包括與SEQ ID NO: 37之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列之 β 鏈，其中SEQ ID NO: 37之位置194之X係Ser或Cys；

(e) 包括與SEQ ID NO: 34之胺基酸21-268至少95%一致之胺基酸序列之 α 鏈，其中：

(i) SEQ ID NO: 34之位置179之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 34之位置243之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 34 之位置245之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 34之位置246之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(f) 包括與SEQ ID NO: 35之胺基酸17-305至少95%一致之胺基酸序列之 β 鏈，其中SEQ ID NO: 35之位置189之X係Ser或Cys；

(g) 包括與SEQ ID NO: 36之胺基酸23-269至少95%一致之胺基酸序列之 α 鏈，其中：

(i) SEQ ID NO: 36之位置180之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 36之位置244之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 36之位置246之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 36之位置247之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(h) 包括與SEQ ID NO: 37之胺基酸22-310至少95%一致之胺基酸序列之 β 鏈，其中SEQ ID NO: 37之位置194之X係Ser或Cys；或

(i) (a)及(b)二者；(a)及(f)二者；(b)及(e)二者；(e)及(f)二者；(c)及(d)二者；(c)及(h)二者；(d)及(g)二者或(g)及(h)二者。

【請求項12】

如請求項1至4中任一項之經分離或純化之TCR，其包括：

(a)包括SEQ ID NO: 34之胺基酸序列之 α 鏈，其中：

(i) SEQ ID NO: 34之位置179之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 34之位置243之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 34之位置245之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 34之位置246之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(b)包括SEQ ID NO: 35之胺基酸序列之 β 鏈，其中SEQ ID NO: 35之位置189之X係Ser或Cys；

(c)包括SEQ ID NO: 36之胺基酸序列之 α 鏈，其中：

(i) SEQ ID NO: 36之位置180之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 36之位置244之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 36之位置246之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 36之位置247之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(d)包括SEQ ID NO: 37之胺基酸序列之 β 鏈，其中SEQ ID NO: 37之位置194之X係Ser或Cys；

(e)包括SEQ ID NO: 34之胺基酸21-268之 α 鏈，其中：

(i) SEQ ID NO: 34之位置179之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 34之位置243之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 34之位置245之X係Met、Ala、Val、Leu、

Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 34之位置246之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(f)包括SEQ ID NO: 35之胺基酸17-305之 β 鏈，其中SEQ ID NO: 35之位置189之X係Ser或Cys；

(g)包括SEQ ID NO: 36之胺基酸23-269之 α 鏈，其中：

(i) SEQ ID NO: 36之位置180之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 36之位置244之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 36之位置246之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 36之位置247之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(h)包括SEQ ID NO: 37之胺基酸22-310之 β 鏈，其中SEQ ID NO: 37之位置194之X係Ser或Cys；或

(i) (a)及(b)二者；(a)及(f)二者；(b)及(e)二者；(e)及(f)二者；(c)及(d)二者；(c)及(h)二者；(d)及(g)二者或(g)及(h)二者。

【請求項13】

一種包括如請求項1至12中任一項之TCR之功能部分之經分離或純化之多肽，

其中該功能部份對人類白血球抗原(HLA)第II類分子呈現之突變人類RAS胺基酸序列具有抗原性特異性，

其中該突變人類RAS胺基酸序列係突變人類Kirsten大鼠肉瘤病毒致

癌基因同系物(KRAS)、突變人類Harvey大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(HRAS)或突變人類神經母細胞瘤大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(NRAS)胺基酸序列，以及

其中該功能部分包括：

(a) 包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之 α 鏈互補決定區(CDR)1、包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之 α 鏈CDR2、包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之 α 鏈CDR3、包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之 β 鏈CDR1、包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之 β 鏈CDR2、以及包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之 β 鏈CDR3，或

(b) 包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列之 α 鏈互補決定區(CDR)1、包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列之 α 鏈CDR2、包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之 α 鏈CDR3、包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之 β 鏈CDR1、包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列之 β 鏈CDR2、以及包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列之 β 鏈CDR3。

【請求項14】

如請求項13之經分離或純化之多肽，其中該功能部分包括：

- (i) 與SEQ ID NO: 13之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列；
- (ii) 與SEQ ID NO: 14之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列；
- (iii) 與SEQ ID NO: 15之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列；
- (iv) 與SEQ ID NO: 16之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列；
- (v) 與SEQ ID NO: 13之胺基酸21-131至少95%一致之胺基酸序列；
- (vi) 與SEQ ID NO: 14之胺基酸17-132至少95%一致之胺基酸序列；
- (vii) 與SEQ ID NO: 15之胺基酸23-132至少95%一致之胺基酸序

列；

(viii) 與SEQ ID NO: 16之胺基酸22-137至少95%一致之胺基酸序列；或

(ix) (i)及(ii)二者；(i)及(vi)二者；(ii)及(v)二者；(v)及(vi)二者；(iii)及(iv)二者；(iii)及(viii)二者；(iv)及(vii)二者或(vii)及(viii)二者。

【請求項15】

如請求項13之經分離或純化之多肽，其中該功能部分包括：

(i) SEQ ID NO: 13之胺基酸，

(ii) SEQ ID NO: 14之胺基酸，

(iii) SEQ ID NO: 15之胺基酸，

(iv) SEQ ID NO: 16之胺基酸，

(v) SEQ ID NO: 13之胺基酸21-131；

(vi) SEQ ID NO: 14之胺基酸17-132；

(vii) SEQ ID NO: 15之胺基酸23-132；

(viii) SEQ ID NO: 16之胺基酸22-137；或

(ix) (i)及(ii)二者；(i)及(vi)二者；(ii)及(v)二者；(v)及(vi)二者；(iii)及(iv)二者；(iii)及(viii)二者；(iv)及(vii)二者或(vii)及(viii)二者。

【請求項16】

如請求項13至15中任一項之經分離或純化之多肽，其進一步包括：

(a)包括與SEQ ID NO: 30之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列之 α 鏈恆定區，其中：

(i) SEQ ID NO: 30之位置48之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 30之位置112之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、

Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 30 之位置114之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 30 之位置115之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(b)包括與SEQ ID NO: 31之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列之 β 鏈恆定區，其中SEQ ID NO: 31之位置57之X係Ser或Cys；或

(c) (a)及(b)二者。

【請求項17】

如請求項13至15中任一項之經分離或純化之多肽，其進一步包括：

(a) SEQ ID NO: 30之胺基酸序列，其中：

(i) SEQ ID NO: 30之位置48之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 30之位置112之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 30 之位置114之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 30之位置115之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(b) SEQ ID NO: 31之胺基酸序列，其中SEQ ID NO: 31之位置57之X係Ser或Cys；或

(c) (a)及(b)二者。

【請求項18】

如請求項13至15中任一項之經分離或純化之多肽，其包括：

(a)與SEQ ID NO: 34之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列，其中：

(i) SEQ ID NO: 34之位置179之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 34之位置243之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 34之位置245之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 34之位置246之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(b)與SEQ ID NO: 35之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列，其中SEQ ID NO: 35之位置189之X係Ser或Cys；

(c)與SEQ ID NO: 36之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列，其中：

(i) SEQ ID NO: 36之位置180之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 36之位置244之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 36之位置246之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 36之位置247之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(d)與SEQ ID NO: 37之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列，其中SEQ ID NO: 37之位置194之X係Ser或Cys；

(e)與SEQ ID NO: 34之胺基酸21-268至少95%一致之胺基酸序列，

其中：

(i) SEQ ID NO: 34之位置179之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 34之位置243之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 34之位置245之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 34之位置246之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(f)與SEQ ID NO: 35之胺基酸17-305至少95%一致之胺基酸序列，其中SEQ ID NO: 35之位置189之X係Ser或Cys；

(g)與SEQ ID NO: 36之胺基酸23-269至少95%一致之胺基酸序列，其中：

(i) SEQ ID NO: 36之位置180之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 36之位置244之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 36之位置246之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 36之位置247之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(h)與SEQ ID NO: 37之胺基酸22-310至少95%一致之胺基酸序列，其中SEQ ID NO: 37之位置194之X係Ser或Cys；或

(i) (a)及(b)二者；(a)及(f)二者；(b)及(e)二者；(e)及(f)二者；(c)及(d)二者；(c)及(h)二者；(d)及(g)二者或(g)及(h)二者。

【請求項19】

如請求項13至15中任一項之經分離或純化之多肽，其包括：

(a) SEQ ID NO: 34之胺基酸序列，其中：

(i) SEQ ID NO: 34之位置179之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 34之位置243之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 34之位置245之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 34之位置246之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(b) SEQ ID NO: 35之胺基酸序列，其中SEQ ID NO: 35之位置189之X係Ser或Cys；

(c) SEQ ID NO: 36之胺基酸序列，其中：

(i) SEQ ID NO: 36之位置180之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 36之位置244之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 36之位置246之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 36之位置247之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(d) SEQ ID NO: 37之胺基酸序列，其中SEQ ID NO: 37之位置194之X係Ser或Cys；

(e) (a)及(b)二者；或

(f) (c)及(d)二者。

【請求項20】

一種經分離或純化之蛋白，其對人類白血球抗原(HLA)第II類分子呈現之突變人類RAS胺基酸序列具有抗原性特異性，

其中該突變人類RAS胺基酸序列係突變人類Kirsten大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(KRAS)、突變人類Harvey大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(HRAS)或突變人類神經母細胞瘤大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(NRAS)胺基酸序列，

以及其中該蛋白包括：

(a) 包括下列之第一多肽鏈：包含SEQ ID NO: 1之胺基酸序列之 α 鏈互補決定區(CDR)1、包含SEQ ID NO: 2之胺基酸序列之 α 鏈CDR2及包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列之 α 鏈CDR3，以及包括下列之第二多肽鏈：包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列之 β 鏈CDR1、包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列之 β 鏈CDR2及包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列之 β 鏈CDR3；或

(b) 包括下列之第一多肽鏈：包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列之 α 鏈互補決定區(CDR)1、包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列之 α 鏈CDR2及包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列之 α 鏈CDR3，以及包括下列之第二多肽鏈：包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列之 β 鏈CDR1、包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列之 β 鏈CDR2及包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列之 β 鏈CDR3。

【請求項21】

如請求項20之經分離或純化之蛋白，其包括：

(i)包括與SEQ ID NO: 13之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列之第一多肽鏈，及包括與SEQ ID NO: 14之胺基酸序列至少95%一致之胺基

酸序列之第二多肽鏈；

(ii) 包括與SEQ ID NO: 13之胺基酸21-131至少95%一致之胺基酸序列之第一多肽鏈，及包括與SEQ ID NO: 14之胺基酸17-132至少95%一致之胺基酸序列之第二多肽鏈；

(iii) 包括與SEQ ID NO: 13之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列之第一多肽鏈，及包括與SEQ ID NO: 14之胺基酸17-132至少95%一致之胺基酸序列之第二多肽鏈；

(iv) 包括與SEQ ID NO: 13之胺基酸21-131至少95%一致之胺基酸序列之第一多肽鏈，及包括與SEQ ID NO: 14之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列之第二多肽鏈；

(v) 包括與SEQ ID NO: 15之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列之第一多肽鏈，及包括與SEQ ID NO: 16之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列之第二多肽鏈；

(vi) 包括與SEQ ID NO: 15之胺基酸23-132至少95%一致之胺基酸序列之第一多肽鏈，及包括與SEQ ID NO: 16之胺基酸22-137至少95%一致之胺基酸序列之第二多肽鏈；

(vii) 包括與SEQ ID NO: 15之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列之第一多肽鏈，及包括與SEQ ID NO: 16之胺基酸22-137至少95%一致之胺基酸序列之第二多肽鏈；或

(viii) 包括與SEQ ID NO: 15之胺基酸23-132至少95%一致之胺基酸序列之第一多肽鏈，及包括與SEQ ID NO: 16之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列之第二多肽鏈。

【請求項22】

如請求項20之經分離或純化之蛋白，其包括：

(i)包括SEQ ID NO: 13之胺基酸序列之第一多肽鏈及包括SEQ ID NO: 14之胺基酸序列之第二多肽鏈；

(ii)包括SEQ ID NO: 13之胺基酸21-131之第一多肽鏈及包括SEQ ID NO: 14之胺基酸17-132之第二多肽鏈；

(iii)包括SEQ ID NO: 13之胺基酸序列之第一多肽鏈，及包括SEQ ID NO: 14之胺基酸17-132之胺基酸序列之第二多肽鏈；

(iv)包括SEQ ID NO: 13之胺基酸21-131之第一多肽鏈，及包括SEQ ID NO: 14之胺基酸序列之第二多肽鏈。

(v)包括SEQ ID NO: 15之胺基酸序列之第一多肽鏈，及包括SEQ ID NO: 16之胺基酸序列之第二多肽鏈；

(vi)包括SEQ ID NO: 15之胺基酸23-132之第一多肽鏈，及包括SEQ ID NO: 16之胺基酸22-137之第二多肽鏈；

(vii)包括SEQ ID NO: 15之胺基酸序列之第一多肽鏈，及包括SEQ ID NO: 16之胺基酸22-137之第二多肽鏈；或

(viii)包括SEQ ID NO: 15之胺基酸23-132之第一多肽鏈，及包括SEQ ID NO: 16之胺基酸序列之第二多肽鏈。

【請求項23】

如請求項20至22中任一項之經分離或純化之蛋白，其進一步包括：

(a)包括與SEQ ID NO: 30之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列之第一多肽鏈，其中：

(i) SEQ ID NO: 30之位置48之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 30之位置112之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、

Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 30 之位置114之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 30 之位置115之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(b)包括與SEQ ID NO: 31之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列之第二多肽鏈，其中SEQ ID NO: 31之位置57之X係Ser或Cys；或

(c) (a)及(b)二者。

【請求項24】

如請求項20至22中任一項之經分離或純化之蛋白，其進一步包括：

(a)包括SEQ ID NO: 30之胺基酸序列之第一多肽鏈，其中：

(i) SEQ ID NO: 30 之位置48之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 30 之位置112之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 30 之位置114之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 30 之位置115之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(b)包括SEQ ID NO: 31之胺基酸序列之第二多肽鏈，其中SEQ ID NO: 31之位置57之X係Ser或Cys；或

(c) (a)及(b)二者。

【請求項25】

如請求項20至22中任一項之經分離或純化之蛋白，其包括：

(a) 包括與SEQ ID NO: 34之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列之第一多肽鏈，其中：

(i) SEQ ID NO: 34之位置179之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 34之位置243之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 34之位置245之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 34之位置246之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(b) 包括與SEQ ID NO: 35之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列之第二多肽鏈，其中SEQ ID NO: 35之位置189之X係Ser或Cys；

(c) 包括與SEQ ID NO: 36之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列之第一多肽鏈，其中：

(i) SEQ ID NO: 36之位置180之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 36之位置244之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 36之位置246之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 36之位置247之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(d) 包括與SEQ ID NO: 37之胺基酸序列至少95%一致之胺基酸序列之第二多肽鏈，其中SEQ ID NO: 37之位置194之X係Ser或Cys；

(e) 包括與SEQ ID NO: 34之胺基酸21-268至少95%一致之胺基酸序

列之第一多肽鏈，其中：

(i) SEQ ID NO: 34之位置179之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 34之位置243之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 34之位置245之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 34之位置246之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(f) 包括與SEQ ID NO: 35之胺基酸17-305至少95%一致之胺基酸序列之第二多肽鏈，其中SEQ ID NO: 35之位置189之X係Ser或Cys；

(g) 包括與SEQ ID NO: 36之胺基酸23-269至少95%一致之胺基酸序列之第一多肽鏈，其中：

(i) SEQ ID NO: 36之位置180之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 36之位置244之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 36之位置246之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 36之位置247之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(h) 包括與SEQ ID NO: 37之胺基酸22-310至少95%一致之胺基酸序列之第二多肽鏈，其中SEQ ID NO: 37之位置194之X係Ser或Cys；或

(i) (a)及(b)二者；(a)及(f)二者；(b)及(e)二者；(e)及(f)二者；(c)及(d)二者；(c)及(h)二者；(d)及(g)二者或(g)及(h)二者。

【請求項26】

如請求項20至22中任一項之經分離或純化之蛋白，其包括：

(a)包括SEQ ID NO: 34之胺基酸序列之第一多肽鏈，其中：

(i) SEQ ID NO: 34之位置179之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 34之位置243之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 34之位置245之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 34之位置246之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(b)包括SEQ ID NO: 35之胺基酸序列之第二多肽鏈，其中SEQ ID NO: 35之位置189之X係Ser或Cys；

(c)包括SEQ ID NO: 36之胺基酸序列之第一多肽鏈，其中：

(i) SEQ ID NO: 36之位置180之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 36之位置244之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 36之位置246之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 36之位置247之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(d)包括SEQ ID NO: 37之胺基酸序列之第二多肽鏈，其中SEQ ID NO: 37之位置194之X係Ser或Cys；

(e) 包括SEQ ID NO: 34之胺基酸21-268之胺基酸序列之第一多肽

鏈，其中：

(i) SEQ ID NO: 34之位置179之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 34之位置243之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 34之位置245之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 34之位置246之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(f) 包括SEQ ID NO: 35之胺基酸17-305之胺基酸序列之第二多肽鏈，其中SEQ ID NO: 35之位置189之X係Ser或Cys；

(g) 包括SEQ ID NO: 36之胺基酸23-269之胺基酸序列之第一多肽鏈，其中：

(i) SEQ ID NO: 36之位置180之X係Thr或Cys；

(ii) SEQ ID NO: 36之位置244之X係Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(iii) SEQ ID NO: 36之位置246之X係Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe或Trp；及

(iv) SEQ ID NO: 36之位置247之X係Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met或Trp；

(h) 包括SEQ ID NO: 37之胺基酸22-310之胺基酸序列之第二多肽鏈，其中SEQ ID NO: 37之位置194之X係Ser或Cys；或

(i) (a)及(b)二者；(a)及(f)二者；(b)及(e)二者；(e)及(f)二者；(c)及(d)二者；(c)及(h)二者；(d)及(g)二者或(g)及(h)二者。

【請求項27】

一種經分離或純化之核酸，其包括編碼如請求項1至12中任一項之TCR、如請求項13至19中任一項之多肽或如請求項20至26中任一項之蛋白之核苷酸序列。

【請求項28】

一種重組表現載體，其包括如請求項27之核酸。

【請求項29】

一種經分離或純化之宿主細胞，其包括如請求項28之重組表現載體。

【請求項30】

一種經分離或純化之細胞群體，其包括如請求項29之宿主細胞。

【請求項31】

一種醫藥組合物，其包括(a)如請求項1至12中任一項之TCR、如請求項13至19中任一項之多肽、如請求項20至26中任一項之蛋白、如請求項27之核酸、如請求項28之重組表現載體、如請求項29之宿主細胞或如請求項30之細胞群體；及(b)醫藥上可接受之載劑。

【請求項32】

一種檢測哺乳動物中癌症存在之方法，該方法包括：

(a)使包括該癌症之細胞之試樣與以下接觸：如請求項1至12中任一項之TCR、如請求項13至19中任一項之多肽、如請求項20至26中任一項之蛋白、如請求項27之核酸、如請求項28之重組表現載體、如請求項29之宿主細胞、如請求項30之細胞群體或如請求項31之醫藥組合物，由此形成複合物；及

(b)檢測該複合物，

其中該複合物之檢測指示該哺乳動物中癌症之存在。

【請求項33】

如請求項32之方法，其中該癌症表現突變人類RAS胺基酸序列，其中該突變人類RAS胺基酸序列係突變人類KRAS、突變人類HRAS或突變人類NRAS胺基酸序列。

【請求項34】

如請求項33之方法，其中該突變人類RAS胺基酸序列包括取代位置12之甘胺酸之野生型人類KRAS、野生型人類HRAS或野生型人類NRAS胺基酸序列，其中位置12係藉由分別參照該野生型人類KRAS、野生型人類HRAS或野生型人類NRAS胺基酸序列來定義。

【請求項35】

如請求項34之方法，其中該取代係使用纈胺酸或半胱胺酸取代位置12之甘胺酸。

【請求項36】

如請求項32至35中任一項之方法，其中該突變人類RAS胺基酸序列係突變人類Kirsten大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(KRAS)胺基酸序列。

【請求項37】

如請求項32至35中任一項之方法，其中該突變人類Ras胺基酸序列係突變人類神經母細胞瘤大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(NRAS)胺基酸序列。

【請求項38】

如請求項32至35中任一項之方法，其中該突變人類RAS胺基酸序列

係突變人類Harvey大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(HRAS)胺基酸序列。

【請求項39】

如請求項32至35中任一項之方法，其中該癌症係胰臟癌、結腸直腸癌、肺癌、子宮內膜癌、卵巢癌或前列腺癌。

【請求項40】

一種如請求項1至12中任一項之TCR、如請求項13至19中任一項之多肽、如請求項20至26中任一項之蛋白、如請求項27之核酸、如請求項28之重組表現載體、如請求項29之宿主細胞、如請求項30之細胞群體或如請求項31之醫藥組合物之用途，其用以製造用於治療或預防哺乳動物之癌症之藥劑。

【請求項41】

如請求項40之用途，其中該癌症表現突變人類RAS胺基酸序列，其中該突變人類RAS胺基酸序列係突變人類KRAS、突變人類HRAS或突變人類NRAS胺基酸序列。

【請求項42】

如請求項41之用途，其中該突變人類RAS胺基酸序列包括取代位置12之甘胺酸之野生型人類KRAS、野生型人類HRAS或野生型人類NRAS胺基酸序列，其中位置12係藉由分別參照該野生型人類KRAS、野生型人類HRAS或野生型人類NRAS胺基酸序列來定義。

【請求項43】

如請求項42之用途，其中該取代係使用纈胺酸或半胱胺酸取代位置12之甘胺酸。

【請求項44】

如請求項40至43中任一項之用途，其中該突變人類RAS胺基酸序列係突變人類Kirsten大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(KRAS)胺基酸序列。

【請求項45】

如請求項40至43中任一項之用途，其中該突變人類Ras胺基酸序列係突變人類神經母細胞瘤大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(NRAS)胺基酸序列。

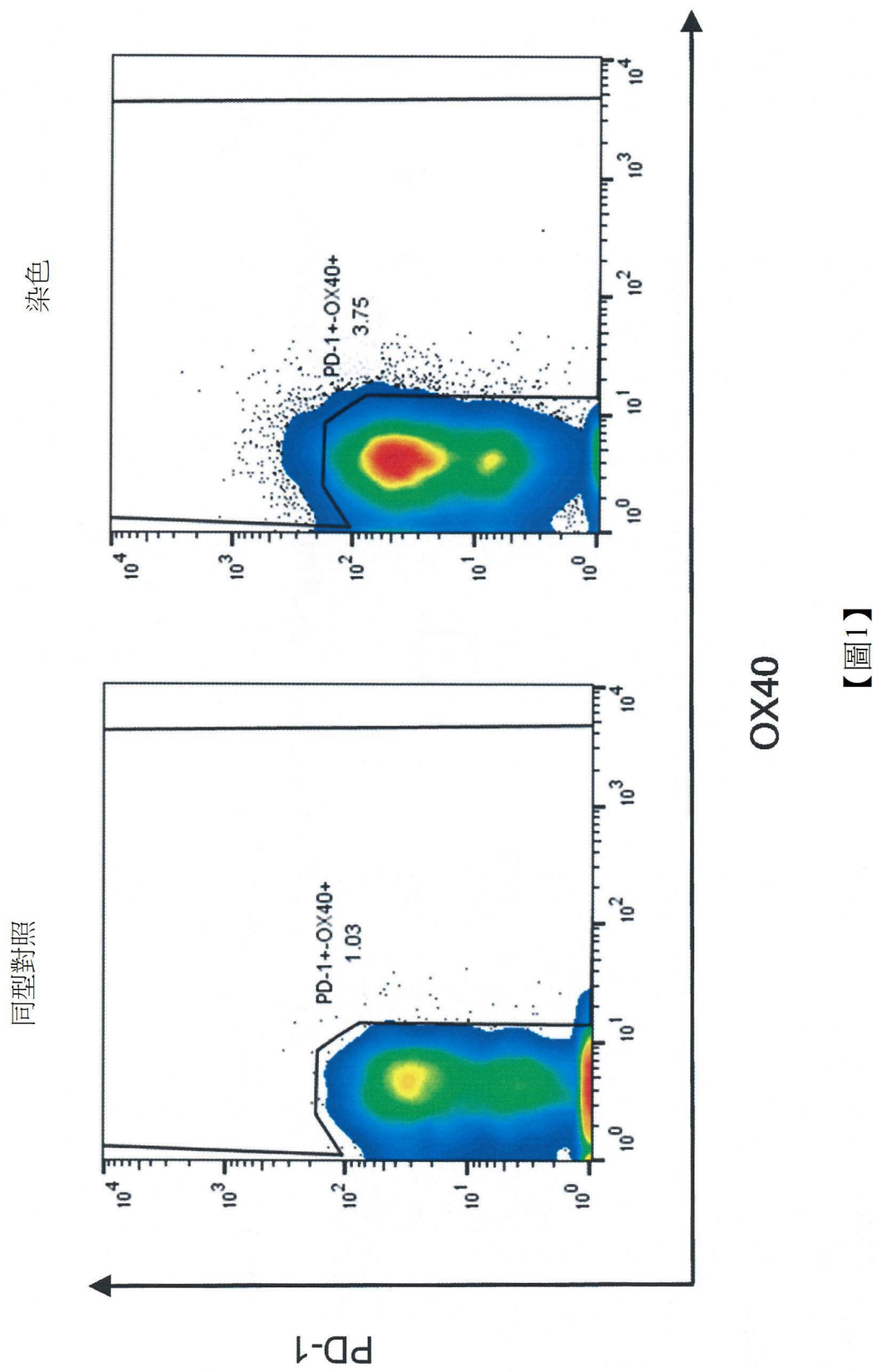
【請求項46】

如請求項40至43中任一項之用途，其中該突變人類RAS胺基酸序列係突變人類Harvey大鼠肉瘤病毒致癌基因同系物(HRAS)胺基酸序列。

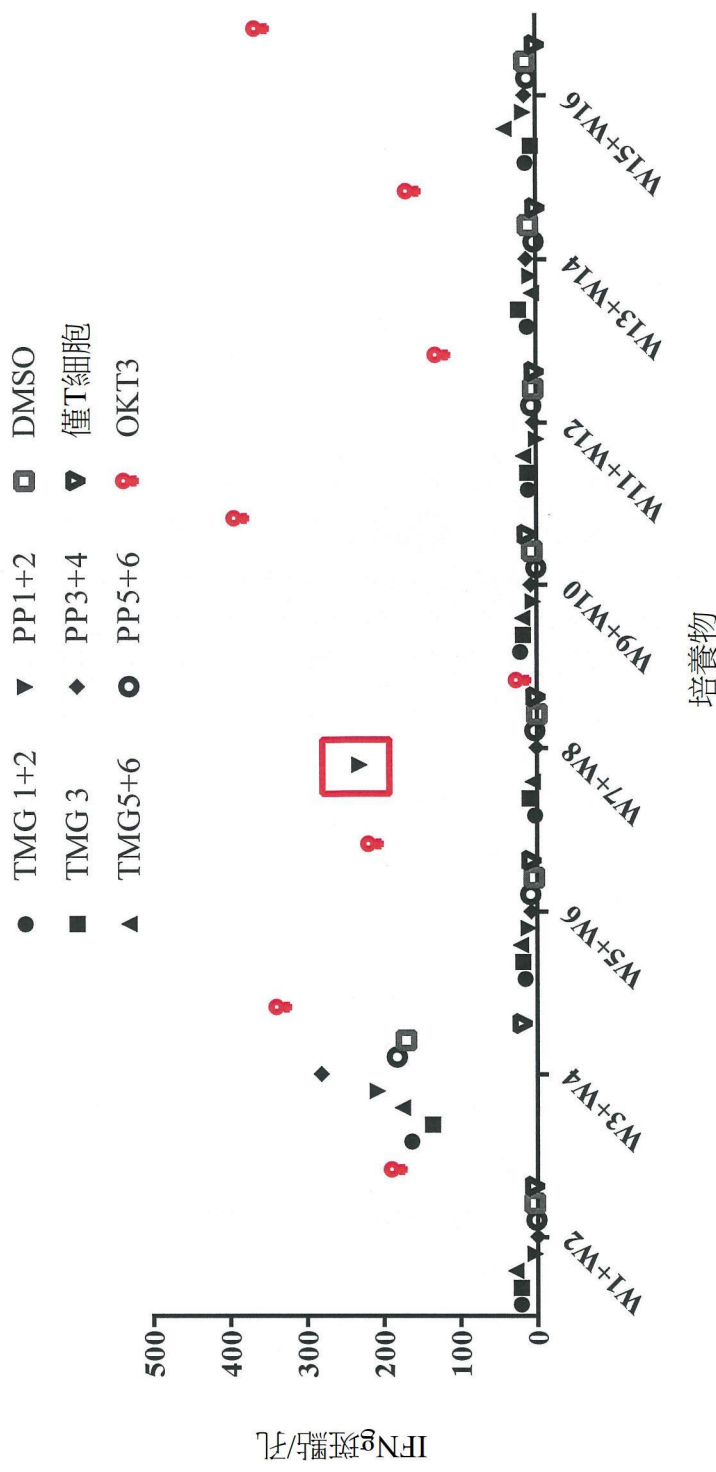
【請求項47】

如請求項40至43中任一項之用途，其中該癌症係胰臟癌、結腸直腸癌、肺癌、子宮內膜癌、卵巢癌或前列腺癌。

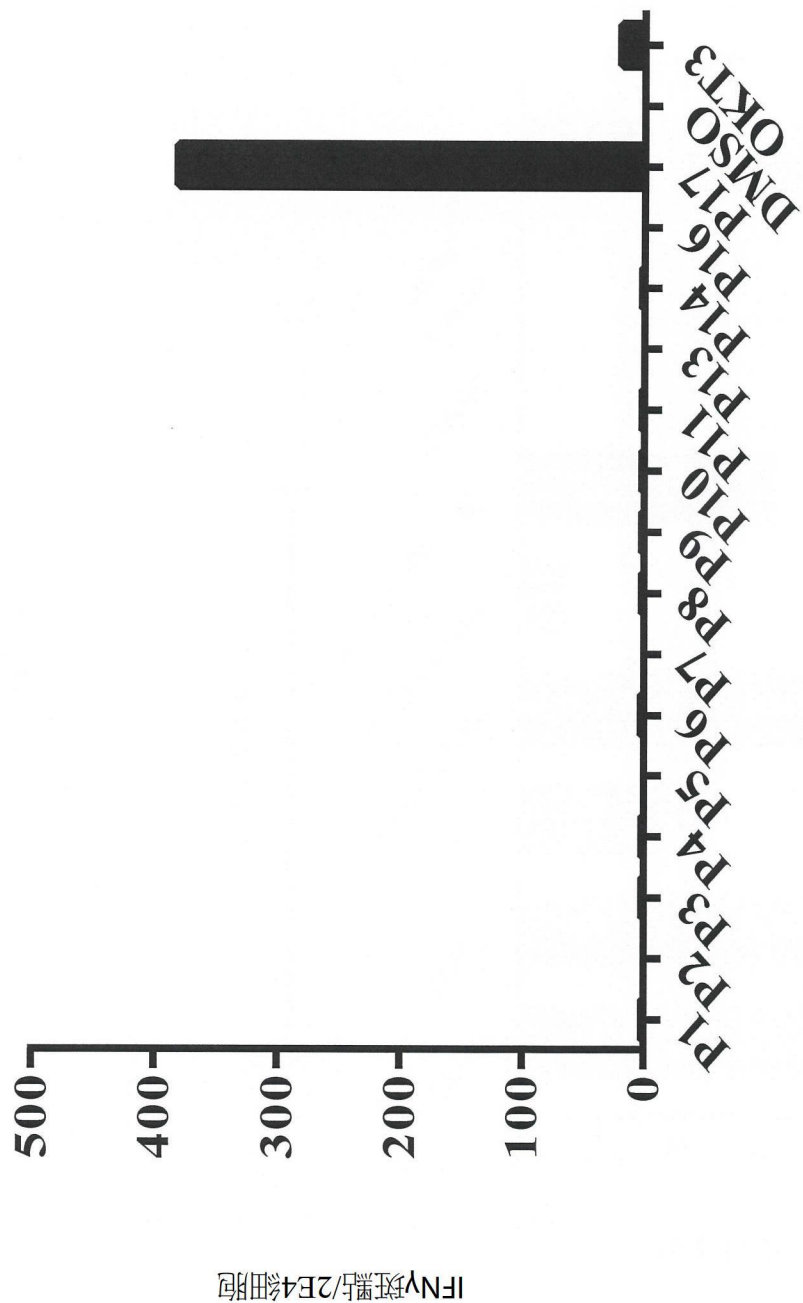
【發明圖式】



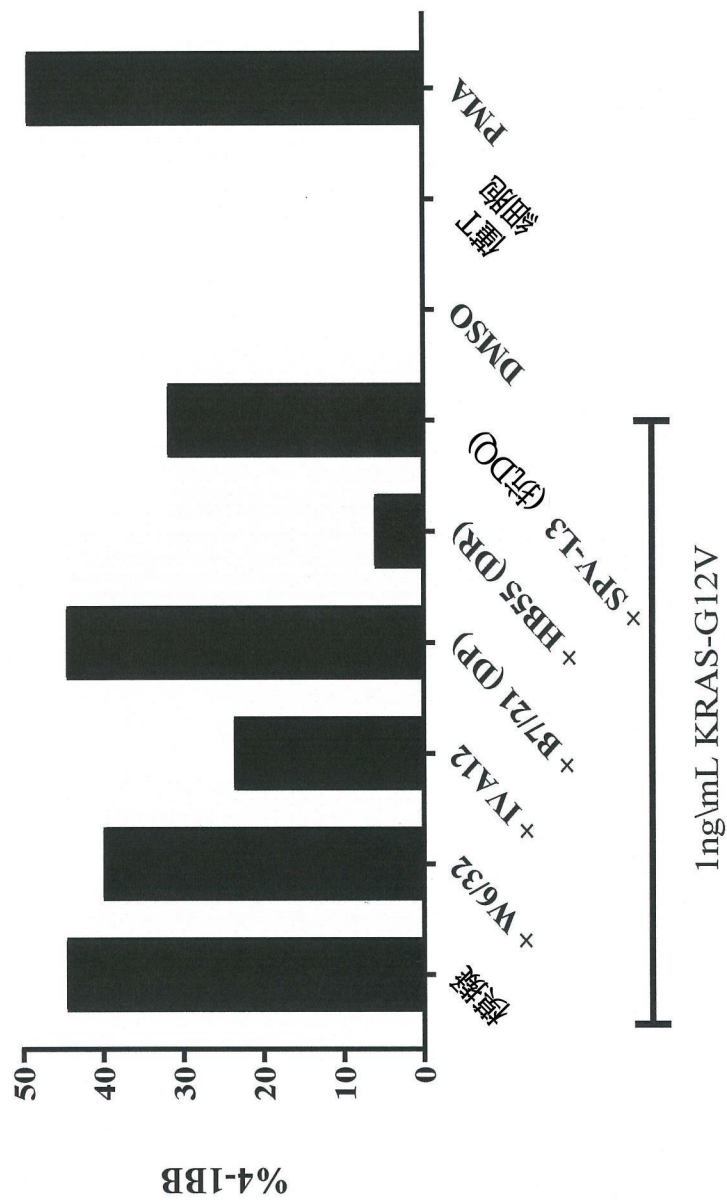
【圖1】



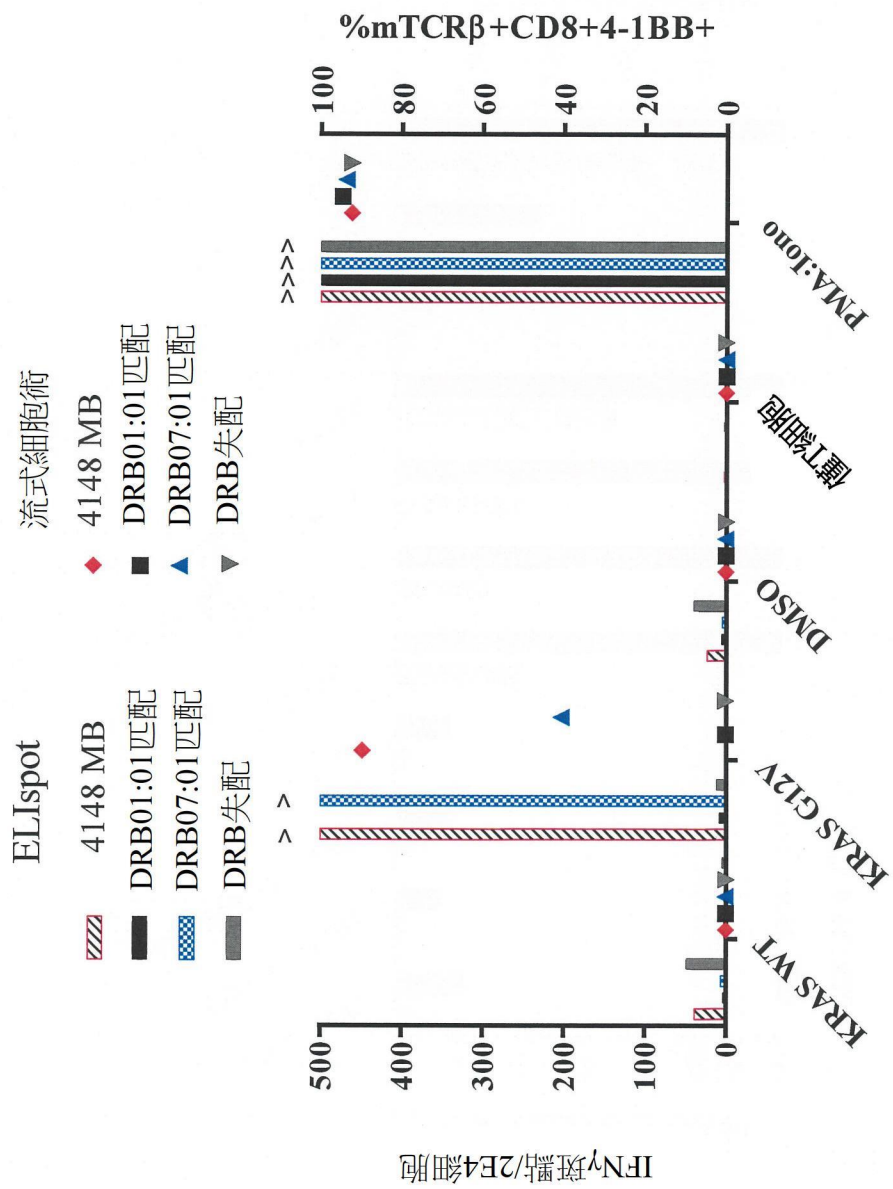
【圖2】



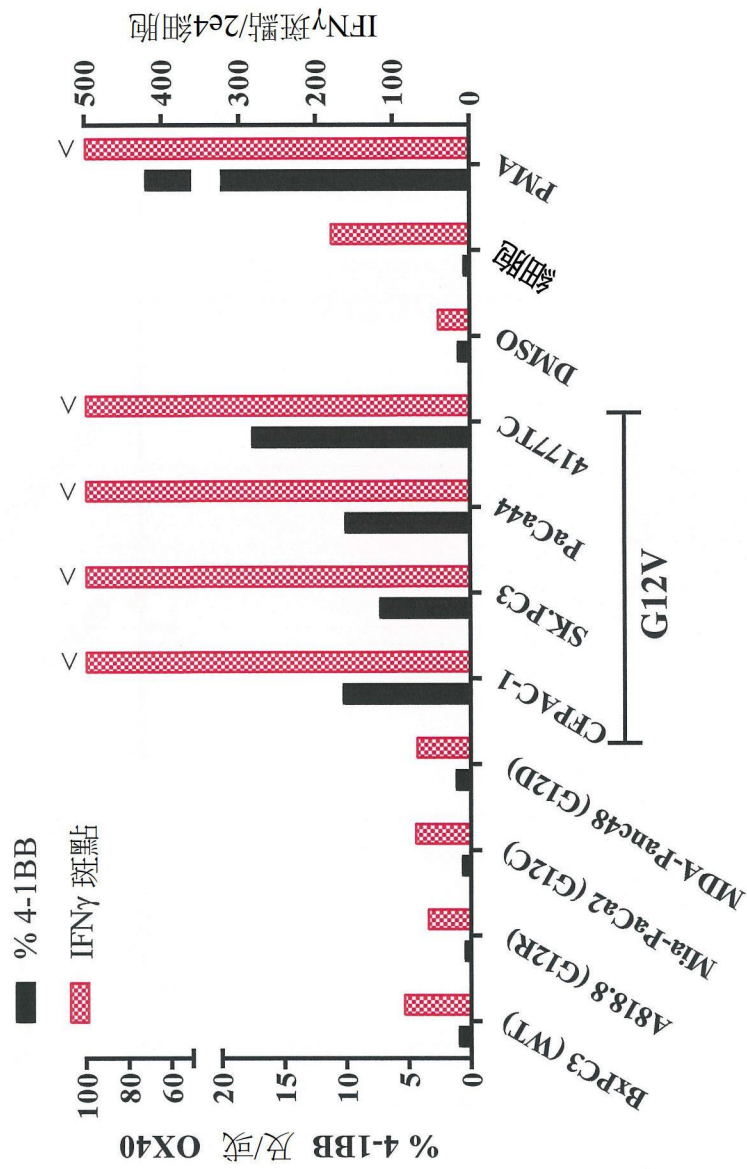
【圖3】



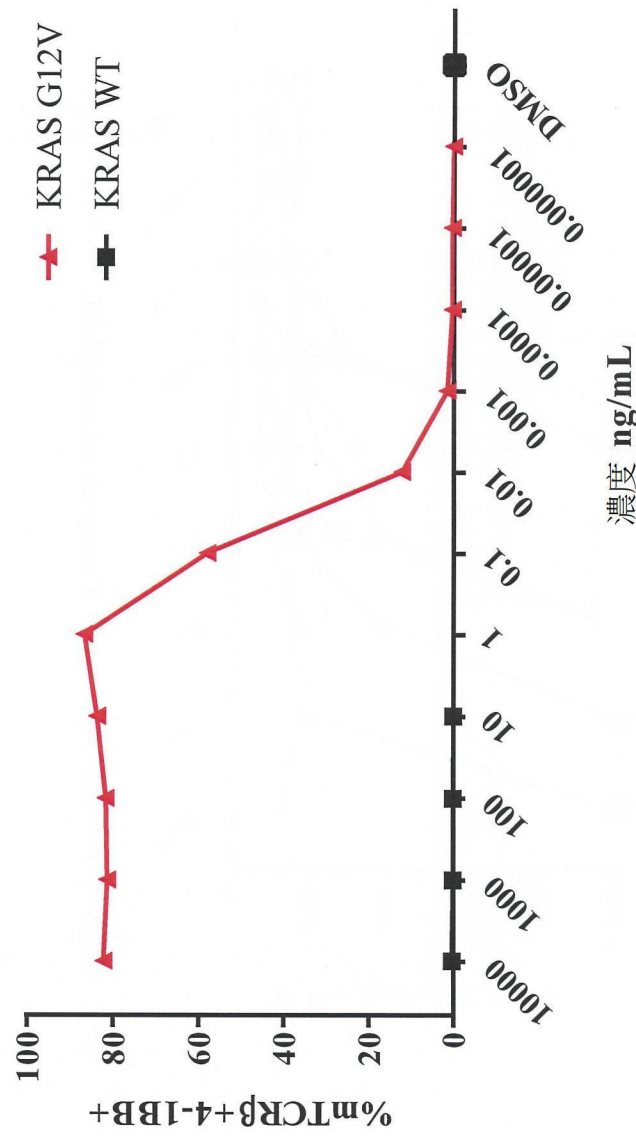
【圖4】



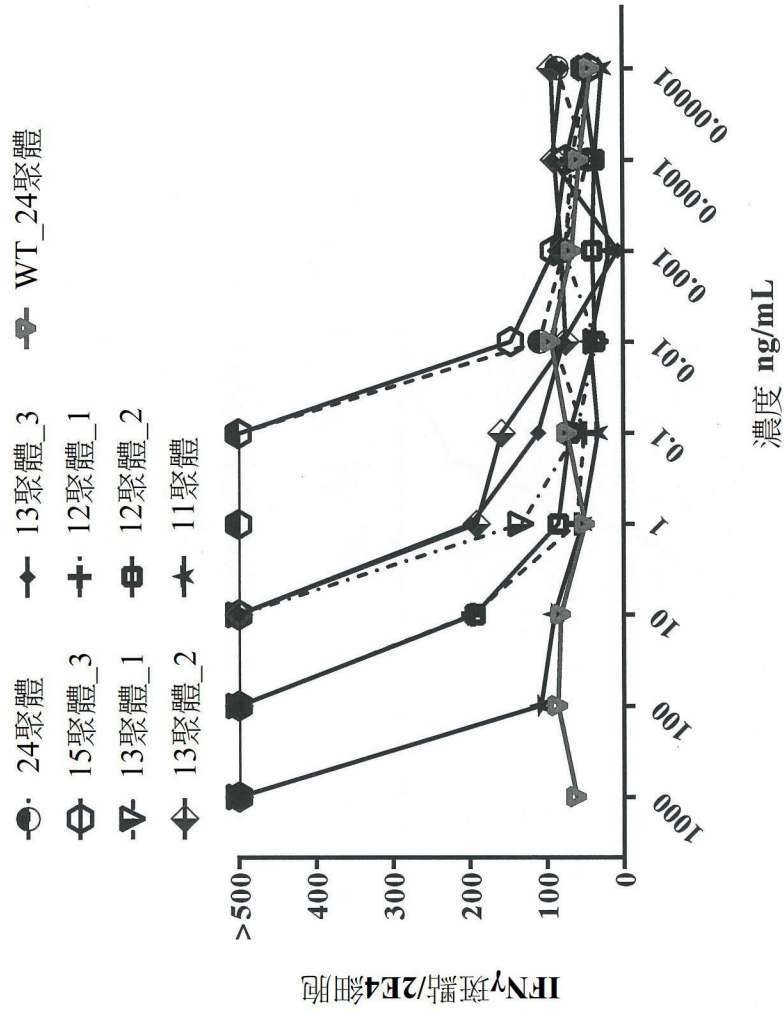
【圖5】



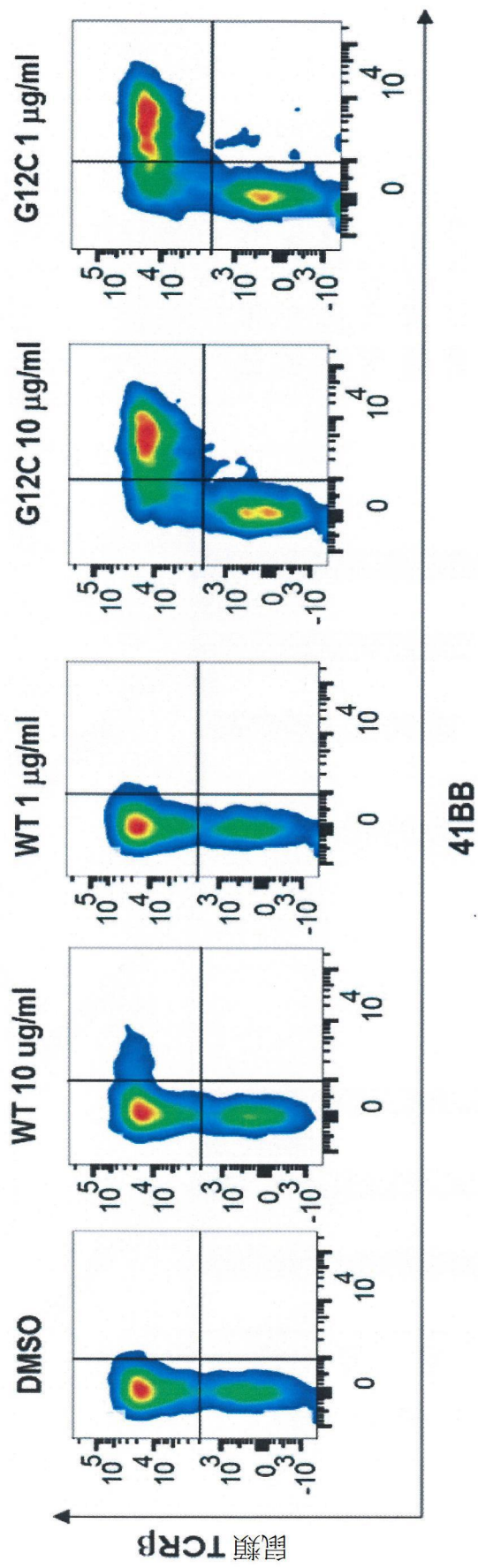
【圖6】



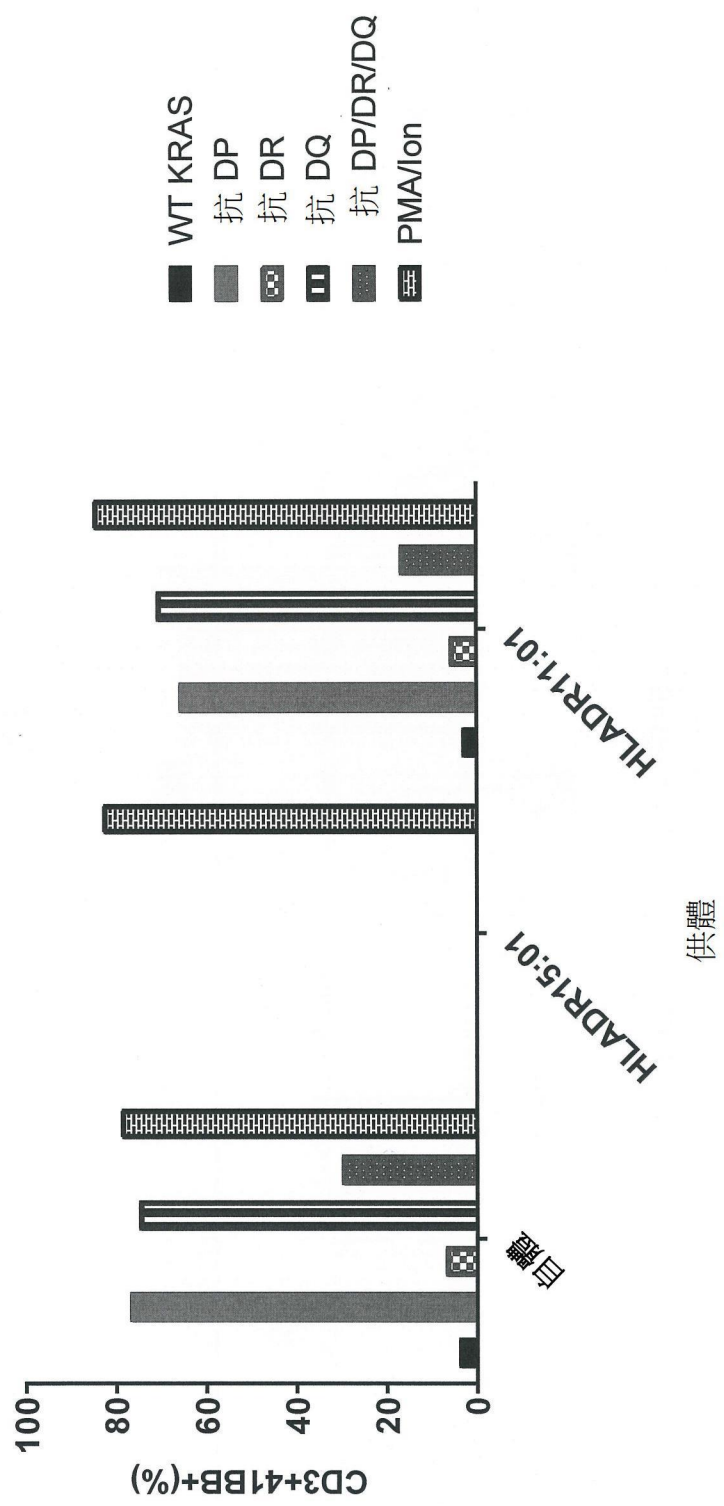
【圖7】



【圖8】



【圖9】



【圖10】