



(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 I877144 B

(45)公告日：中華民國 114 (2025) 年 03 月 21 日

(21)申請案號：109107110

(22)申請日：中華民國 109 (2020) 年 03 月 04 日

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

A61K31/675 (2006.01)

A61K35/12 (2015.01)

C12N15/62 (2006.01)

C12N15/86 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2019/03/04 美國

62/813,647

(71)申請人：大學健康網絡 (加拿大) UNIVERSITY HEALTH NETWORK (CA)

加拿大

(72)發明人：平野直人 HIRANO, NAOTO (JP) ; 村田健司 MURATA, KENJI (JP) ; 佐蘇佳代子 SASO, KAYOKO (JP)

(74)代理人：林志剛

(56)參考文獻：

CN 101815785B

WO 2010037395A2

審查人員：張維纓

申請專利範圍項數：12 項 圖式數：9 共 171 頁

(54)名稱

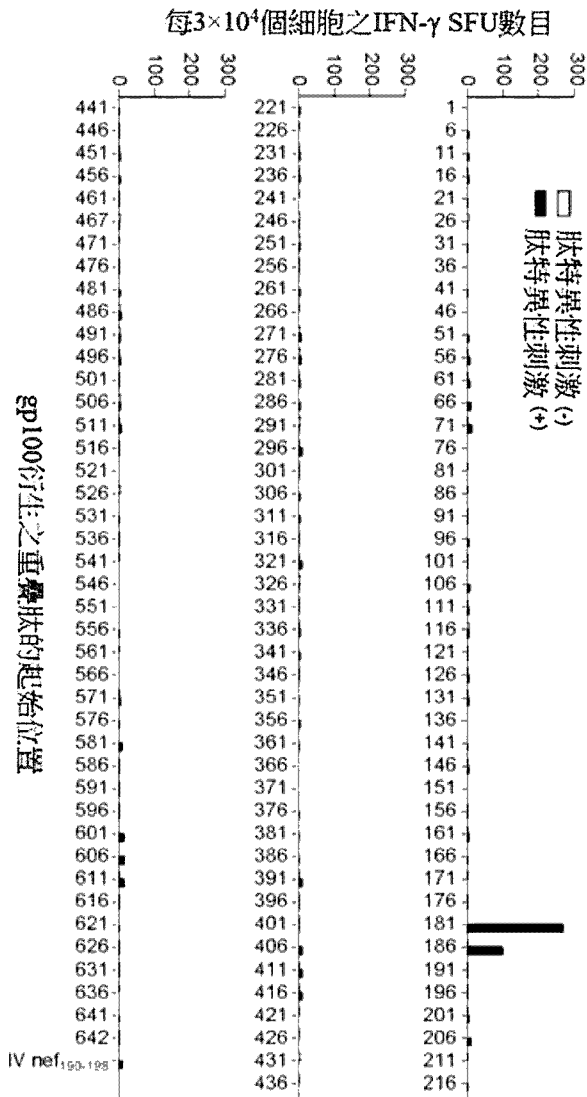
T細胞受體及其使用方法

(57)摘要

本發明係有關能夠結合 gp100 抗原決定基之重組 T 細胞受體及編碼該等重組 T 細胞受體之核酸分子。在一些實施例中，該等核酸分子進一步包含第二核苷酸序列，其中該第二核苷酸序列或由該第二核苷酸序列編碼之多肽抑制內源 TCR 之表現。本發明之其他態樣係有關包含該核酸分子之載體及包含該重組 TCR、該核酸分子或該載體之細胞。本發明之其他態樣係有關其使用之方法。在一些實施例中，該等方法包括治療有需要之個體的癌症。

The present disclosure is directed recombinant T cell receptors capable of binding an gp100 epitope and nucleic acid molecules encoding the same. In some embodiments, the nucleic acid molecules further comprise a second nucleotide sequence, wherein the second nucleotide sequence or the polypeptide encoded by the second nucleotide sequence inhibits the expression of an endogenous TCR. Other aspects of the disclosure are directed to vectors comprising the nucleic acid molecule and cells comprising the recombinant TCR, the nucleic acid molecule, or the vector. Still other aspects of the disclosure are directed to methods of using the same. In some embodiments, the methods comprise treating a cancer in a subject in need thereof.

指定代表圖：



【圖 1】



I877144

公告本

【發明摘要】

【中文發明名稱】

T 細胞受體及其使用方法

【英文發明名稱】

T CELL RECEPTORS AND METHODS OF USE THEREOF

【中文】

本發明係有關能夠結合 gp100 抗原決定基之重組 T 細胞受體及編碼該等重組 T 細胞受體之核酸分子。在一些實施例中，該等核酸分子進一步包含第二核苷酸序列，其中該第二核苷酸序列或由該第二核苷酸序列編碼之多肽抑制內源 TCR 之表現。本發明之其他態樣係有關包含該核酸分子之載體及包含該重組 TCR、該核酸分子或該載體之細胞。本發明之其他態樣係有關其使用之方法。在一些實施例中，該等方法包括治療有需要之個體的癌症。

【英文】

The present disclosure is directed recombinant T cell receptors capable of binding an gp100 epitope and nucleic acid molecules encoding the same. In some embodiments, the nucleic acid molecules further comprise a second nucleotide sequence, wherein the second nucleotide sequence or the polypeptide encoded by the second nucleotide sequence inhibits the expression of an endogenous TCR. Other aspects of the disclosure are directed to vectors comprising the nucleic acid molecule and cells comprising the recombinant TCR, the nucleic acid molecule, or the vector. Still other aspects of the disclosure are directed to methods of using the same. In some embodiments, the methods comprise treating a cancer in a subject in need thereof.

【指定代表圖】第(1)圖。

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

T 細胞受體及其使用方法

【英文發明名稱】

T CELL RECEPTORS AND METHODS OF USE THEREOF

【技術領域】

【0001】本發明提供特異性結合人類 gp100 之重組 T 細胞受體(「TCR」)及其用途。

【先前技術】

【0002】在與包括癌症之多種疾病之鬥爭中免疫療法作為關鍵工具而出現。T 細胞療法處於免疫治療劑發展之最前方，且抗腫瘤 T 細胞之接受性轉移已顯示在癌症患者中誘導臨床反應。雖然許多 T 細胞療法靶向突變之腫瘤抗原，但對於各患者而言絕大多數新抗原並非共同擁有的而為獨特的。

【0003】潛在非突變抗原超出突變抗原數目多個數量級。闡明衍生自共同擁有之抗原的 T 細胞抗原決定基可促進較大群癌症患者輕易可獲得之有效且安全之接受性 T 細胞療法的穩健發展。然而，非突變抗原之絕對數目及 HLA 基因之高多型性可能已妨礙了對非突變抗原之抗腫瘤 T 細胞反應的特異性之綜合分析。

【0004】本發明提供非突變抗原 gp100 之新穎抗原決定基及能夠特異性結合該等抗原決定基之 TCR。此等新穎抗原決定基與特定 HLA 等位基因相關。此等腫瘤反應性 HLA 限制性 gp100 TCR 之使用支持加寬抗 gp100 TCR 基因療法尤其在免疫腫瘤學中之適用性。

【發明內容】

【0005】本發明之某些態樣係有關一種核酸分子，其包含(i)第一核苷酸序列，其編碼特異性結合人類 gp100 之重組 T 細胞受體 (TCR) 或其抗原結合部分 (「抗 gp100 TCR」)；及(ii)第二核苷酸序列，其中第二核苷酸序列或由第二核苷酸序列編碼之多肽抑制內源 TCR 之表現，其中抗 gp100 TCR 與參考 TCR 交叉競爭結合於人類 gp100，該參考 TCR 包含 α 鏈及 β 鏈，且其中 α 鏈包含如 SEQ ID NO: 1 中所列之胺基酸序列且 β 鏈包含如 SEQ ID NO: 2 中所列之胺基酸序列。

【0006】本發明之某些態樣係有關一種核酸分子，其包含(i)第一核苷酸序列，其編碼特異性結合人類 gp100 之重組 T 細胞受體 (TCR) 或其抗原結合部分 (「抗 gp100 TCR」)；及(ii)第二核苷酸序列，其中第二核苷酸序列或由第二核苷酸序列編碼之多肽抑制內源 TCR 之表現，其中抗 gp100 TCR 結合人類 gp100 之與參考 TCR 相同的抗原決定基或重疊的抗原決定基，該參考 TCR 包含 α 鏈及 β 鏈，其中 α 鏈包含如 SEQ ID NO: 1 中所列之胺基酸序列且 β 鏈包含如

SEQ ID NO: 2中所列之胺基酸序列。

【0007】在一些實施例中，抗 gp100 TCR結合於 gp100 之由如 SEQ ID NO: 13中所列之胺基酸序列組成的抗原決定基。在一些實施例中，抗原決定基與 HLA I類分子複合。

【0008】在一些實施例中，HLA I類分子為 HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F或 HLA-G等位基因。在一些實施例中，HLA I類分子為 HLA-C*06等位基因。在一些實施例中，HLA I類分子選自 HLA-C*06:015等位基因、HLA-C*06:02等位基因、HLA-C*06:03等位基因、HLA-C*06:04等位基因、HLA-C*06:05等位基因、HLA-C*06:06等位基因、HLA-C*06:07等位基因及 HLA-C*06:086等位基因。在一些實施例中，HLA I類分子為 HLA-C*06:02等位基因。

【0009】在一些實施例中，抗 gp100 TCR包含 α 鏈及 β 鏈，其中 α 鏈包含含有 α 鏈 CDR1、 α 鏈 CDR2 及 α 鏈 CDR3 之可變區；且其中 β 鏈包含含有 β 鏈 CDR1、 β 鏈 CDR2 及 β 鏈 CDR3 之可變域；其中 α 鏈 CDR3 包含如 SEQ ID NO: 7 中所列之胺基酸序列。在一些實施例中，抗 gp100 TCR 之 β 鏈 CDR3 包含如 SEQ ID NO: 10 中所列之胺基酸序列。

【0010】在一些實施例中，抗 gp100 TCR 包含 α 鏈及 β 鏈，其中 α 鏈包含含有 α 鏈 CDR1、 α 鏈 CDR2 及 α 鏈 CDR3 之可變區；且其中 β 鏈包含含有 β 鏈 CDR1、 β 鏈 CDR2 及 β 鏈 CDR3 之可變域；其中抗 gp100 TCR 之 β 鏈 CDR3 包含如 SEQ

ID NO: 10中所列之胺基酸序列。在一些實施例中，抗 gp100 TCR之 α 鏈CDR3包含如SEQ ID NO: 7中所列之胺基酸序列。

【0011】在一些實施例中，抗 gp100 TCR之 α 鏈CDR1包含如SEQ ID NO: 5中所列之胺基酸序列。在一些實施例中，抗 gp100 TCR之 β 鏈CDR1包含如SEQ ID NO: 8中所列之胺基酸序列。在一些實施例中，抗 gp100 TCR之 α 鏈CDR2包含如SEQ ID NO: 6中所列之胺基酸序列。在一些實施例中，抗 gp100 TCR之 β 鏈CDR2包含如SEQ ID NO: 9中所列之胺基酸序列。

【0012】在一些實施例中，抗 gp100 TCR之 α 鏈可變域包含SEQ ID NO: 1所列之胺基酸序列中存在的可變域之胺基酸序列。在一些實施例中，抗 gp100 TCR之 β 鏈可變域包含SEQ ID NO: 2所列之胺基酸序列中存在的可變域之胺基酸序列。

【0013】在一些實施例中，抗 gp100 TCR之 α 鏈進一步包含恆定區，其中該恆定區不同於 α 鏈之內源恆定區。在一些實施例中，抗 gp100 TCR之 α 鏈進一步包含恆定區，其中 α 鏈恆定區包含與SEQ ID NO: 1所列之胺基酸序列中存在之恆定區具有至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%或至少約99%序列一致性的胺基酸序列。在一些實施例中， α 鏈恆定區包含相對於SEQ ID NO: 1所列之胺基酸序列中存在之恆定區包含至少1個、至少2個、至少3個、至少4個或至少5個胺基酸

取代的胺基酸序列。在一些實施例中，抗 gp100 TCR之 β 鏈進一步包含恆定區，其中該恆定區不同於 β 鏈之內源恆定區。

【0014】在一些實施例中，抗 gp100 TCR之 β 鏈進一步包含恆定區，其中 β 鏈恆定區包含與SEQ ID NO: 2所列之胺基酸序列中存在之恆定區具有至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%或至少約99%序列一致性的胺基酸序列。在一些實施例中， β 鏈恆定區包含相對於SEQ ID NO: 2所列之胺基酸序列中存在之恆定區包含至少1個、至少2個、至少3個、至少4個或至少5個胺基酸取代的胺基酸序列。在一些實施例中，抗 gp100 TCR之 α 鏈包含如SEQ ID NO: 1中所列之胺基酸序列。

【0015】在一些實施例中，抗 gp100 TCR之 β 鏈包含如SEQ ID NO: 2中所列之胺基酸序列。在一些實施例中，第二核苷酸序列為降低內源TCR之表現的一或多個siRNA。

【0016】在一些實施例中，一或多個siRNA與編碼內源TCR之恆定區之核苷酸序列內的目標序列互補。在一些實施例中，一或多個siRNA包含選自由SEQ ID NO: 53-56組成之群的一或多個核苷酸序列。

【0017】在一些實施例中，第二核苷酸序列編碼Cas9。

【0018】在一些實施例中，抗 gp100 TCR包含 α 鏈恆定區、 β 鏈恆定區或兩者；且其中 α 鏈恆定區、 β 鏈恆定區或

兩者包含相對於內源 TCR 之對應胺基酸序列在目標序列內具有至少 1 個、至少 2 個、至少 3 個、至少 4 個或至少 5 個取代的胺基酸序列。

【0019】本發明之某些態樣係有關一種包含本文所揭示之核酸分子的載體。在一些實施例中，載體為病毒載體、哺乳動物載體或細菌載體。在一些實施例中，載體為反轉錄病毒載體。在一些實施例中，載體選自由以下組成之群：腺病毒載體、慢病毒、仙台病毒 (Sendai virus) 載體、桿狀病毒載體、艾司坦巴爾病毒載體 (Epstein Barr viral vector)、乳多空病毒載體、痘瘡病毒載體、單純疱疹病毒載體、雜合載體及腺相關病毒 (AAV) 載體。在一些實施例中，載體為慢病毒。

【0020】本發明之某些態樣係有關一種 T 細胞受體 (TCR) 或其抗原結合部分，其包含本文所揭示之抗 gp100 TCR 之 α 鏈可變域及本文所揭示之抗 gp100 TCR 之 β 鏈可變域。在一些實施例中，特異性結合人類 gp100 之重組 T 細胞受體 (TCR) 或其抗原結合部分 (「抗 gp100 TCR」) 與參考 TCR 交叉競爭結合於人類 gp100；其中參考 TCR 包含 α 鏈及 β 鏈，且其中 α 鏈包含如 SEQ ID NO: 1 中所列之胺基酸序列且 β 鏈包含如 SEQ ID NO: 2 中所列之胺基酸序列；且其中抗 gp100 TCR 包含 α 鏈及 β 鏈，其中 α 鏈包含恆定區，且其中 β 鏈包含恆定區；其中 (i) α 鏈恆定區包含相對於 SEQ ID NO: 1 所列之胺基酸序列中存在之恆定區具有至少 1 個、至少 2 個、至少 3 個、至少 4 個或至少 5 個胺基酸取代的胺基酸序

列，或(ii) β 鏈恆定區包含相對於SEQ ID NO: 2之胺基酸序列中存在之恆定區具有至少1個、至少2個、至少3個、至少4個或至少5個胺基酸取代的胺基酸序列。

【0021】本發明之某些態樣係有關一種特異性結合人類gp100之重組T細胞受體(TCR)或其抗原結合部分(「抗gp100 TCR」)，其結合人類gp100之與參考TCR相同的抗原決定基或重疊的抗原決定基；其中參考TCR包含 α 鏈及 β 鏈，且其中 α 鏈包含如SEQ ID NO: 1中所列之胺基酸序列且 β 鏈包含如SEQ ID NO: 2中所列之胺基酸序列；且其中抗gp100 TCR包含 α 鏈及 β 鏈，其中 α 鏈包含恆定區，且其中 β 鏈包含恆定區；其中(i) α 鏈恆定區包含相對於SEQ ID NO: 1所列之胺基酸序列中存在之恆定區具有至少1個、至少2個、至少3個、至少4個或至少5個胺基酸取代的胺基酸序列，或(ii) β 鏈恆定區包含相對於SEQ ID NO: 2所列之胺基酸序列中存在之恆定區具有至少1個、至少2個、至少3個、至少4個或至少5個胺基酸取代的胺基酸序列。在一些實施例中，抗gp100 TCR結合於gp100之由如SEQ ID NO: 13中所列之胺基酸序列組成的抗原決定基。

【0022】在一些實施例中，抗原決定基與HLA I類分子複合。在一些實施例中，HLA I類分子為HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F或HLA-G等位基因。在一些實施例中，HLA I類分子為HLA-C*06等位基因。在一些實施例中，HLA I類分子選自HLA-C*06:01等位基因、HLA-C*06:02等位基因、HLA-C*06:03等位基因、HLA-C*06:04

等位基因、HLA-C*06:05等位基因、HLA-C*06:06等位基因、HLA-C*06:07等位基因及HLA-C*06:08等位基因。在一些實施例中，HLA I類分子為HLA-C*06:02等位基因。

【0023】在一些實施例中，抗gp100 TCR之 α 鏈包含含有 α 鏈CDR1、 α 鏈CDR2及 α 鏈CDR3之可變域；且其中抗gp100 TCR之 β 鏈包含含有 β 鏈CDR1、 β 鏈CDR2及 β 鏈CDR3之可變域；其中抗gp100之 α 鏈CDR3包含如SEQ ID NO: 7中所列之胺基酸序列。在一些實施例中，抗gp100 TCR之 β 鏈CDR3包含如SEQ ID NO: 10中所列之胺基酸序列。

【0024】在一些實施例中，抗gp100 TCR之 α 鏈包含含有 α 鏈CDR1、 α 鏈CDR2及 α 鏈CDR3之可變域；且其中抗gp100 TCR之 β 鏈包含含有 β 鏈CDR1、 β 鏈CDR2及 β 鏈CDR3之可變域；其中抗gp100 TCR之 β 鏈CDR3包含如SEQ ID NO: 10中所列之胺基酸序列。在一些實施例中，抗gp100 TCR之 α 鏈CDR3包含如SEQ ID NO: 7中所列之胺基酸序列。

【0025】在一些實施例中，抗gp100 TCR之 α 鏈CDR1包含如SEQ ID NO: 5中所列之胺基酸序列。在一些實施例中，抗gp100 TCR之 β 鏈CDR1包含如SEQ ID NO: 8中所列之胺基酸序列。在一些實施例中，抗gp100 TCR之 α 鏈CDR2包含如SEQ ID NO: 6中所列之胺基酸序列。在一些實施例中，抗gp100 TCR之 β 鏈CDR2包含如SEQ ID NO: 9中所列之胺基酸序列。

【0026】在一些實施例中，抗gp100 TCR之 α 鏈可變域

包含 SEQ ID NO: 1 所列之胺基酸序列中存在的可變域之胺基酸序列。在一些實施例中，抗 gp100 TCR 之 β 鏈可變域包含 SEQ ID NO: 2 所列之胺基酸序列中存在的可變域之胺基酸序列。

【0027】 在一些實施例中， α 鏈恆定區包含與 SEQ ID NO: 1 所列之胺基酸序列中存在之恆定區的胺基酸序列具有至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98% 或至少約 99% 序列一致性之胺基酸序列。

【0028】 在一些實施例中， β 鏈恆定區包含與 SEQ ID NO: 2 所列之胺基酸序列中存在之恆定區的胺基酸序列具有至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98% 或至少約 99% 序列一致性之胺基酸序列。

【0029】 在一些實施例中，抗 gp100 TCR 之 α 鏈包含如 SEQ ID NO: 1 中所列之胺基酸序列。在一些實施例中，抗 gp100 TCR 之 β 鏈包含如 SEQ ID NO: 2 中所列之胺基酸序列。

【0030】 本發明之某些態樣係有關一種包含第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域之雙特異性 TCR，其中第一抗原結合結構域包含本文所揭示之 TCR 或其抗原結合部分或本文所揭示之 TCR 或其抗原結合部分。在一些實施例中，第一抗原結合結構域包含單鏈可變片段（「scFv」）。在一些實施例中，第二抗原結合結構域特異

性結合於T細胞表面所表現之蛋白質。在一些實施例中，第二抗原結合結構域特異性結合於CD3。在一些實施例中，第二抗原結合結構域包含scFv。在一些實施例中，第一抗原結合結構域與第二抗原結合結構域藉由共價鍵鍵聯或關聯。在一些實施例中，第一抗原結合結構域與第二抗原結合結構域藉由肽鍵鍵聯。

【0031】本發明之某些態樣係有關一種包含本文所揭示之核酸分子、本文所揭示之載體、本文所揭示之TCR、本文所揭示之重組TCR或本文所揭示之雙特異性TCR的細胞。在一些實施例中，該細胞進一步表現CD3。在一些實施例中，該細胞選自由以下組成之群：T細胞、自然殺手(NK)細胞、自然殺手T(NKT)細胞或ILC細胞。

【0032】本發明之某些態樣係有關一種治療有需要之個體之癌症的方法，該方法包括向個體投與本文所揭示之細胞。在一些實施例中，癌症選自由以下組成之群：黑色素瘤、骨癌、胰臟癌、皮膚癌、頭頸癌、子宮癌、卵巢癌、直腸癌、肛門區癌症、胃癌、睪丸癌、子宮癌、輸卵管癌、子宮內膜癌、子宮頸癌、陰道癌、外陰癌、霍奇金氏病(Hodgkin's Disease)、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、原發性縱隔大B細胞淋巴瘤(PMBC)、彌漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCL)、濾泡性淋巴瘤(FL)、轉型濾泡性淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤(SMZL)、食管癌、小腸癌、內分泌系統癌、甲狀腺癌、副甲狀腺癌、腎上腺癌、軟組織肉瘤、尿道癌、陰莖癌、慢性或急性白血症、急性骨髓性白

血病、慢性骨髓性白血病、急性淋巴母細胞性白血病(ALL) (包括非 T 細胞 ALL)、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、兒童期實體腫瘤、淋巴細胞性淋巴瘤、膀胱癌、腎臟或輸尿管癌、腎盂癌瘤、中樞神經系統(CNS)贅瘤、原發性 CNS 淋巴瘤、腫瘤血管生成、脊柱軸腫瘤、腦幹神經膠質瘤、垂體腺瘤、卡波西氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)、表皮樣癌、鱗狀細胞癌、T 細胞淋巴瘤、環境誘發之癌症(包括由石棉誘發之彼等癌症)、其他 B 細胞惡性腫瘤及該等癌症之組合。

【0033】在一些實施例中，癌症為復發性或難治性的。在一些實施例中，癌症為局部晚期的。在一些實施例中，癌症為晚期的。在一些實施例中，癌症為轉移性的。

【0034】在一些實施例中，細胞係獲自個體。在一些實施例中，細胞係獲自除該個體外之供體。在一些實施例中，個體在投與細胞之前經預處理。在一些實施例中，預處理包括向個體投與化學療法、細胞介素、蛋白質、小分子或其任何組合。在一些實施例中，預處理包括投與介白素。在一些實施例中，預處理包括投與 IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15、IL-21 或其任何組合。在一些實施例中，預處理包括投與選自由以下組成之群的預處理劑：環磷醯胺、氟達拉濱(fludarabine)、維生素 C、AKT 抑制劑、ATRA、雷帕黴素(Rapamycin)或其任何組合。在一些實施例中，預處理包括投與環磷醯胺、氟達拉濱或兩者。

【0035】本發明之某些態樣係有關一種對靶向抗原之

細胞進行工程改造之方法，該方法包括將自需要T細胞療法之個體收集的細胞用本文所揭示之核酸或本文所揭示之載體轉導。在一些實施例中，靶向抗原之細胞進一步表現CD3。在一些實施例中，細胞為T細胞或自然殺手(NK)細胞。

【0036】本發明之某些態樣係有關一種與肽複合之HLA I類分子，其中HLA I類分子包含 $\alpha 1$ 結構域、 $\alpha 2$ 結構域、 $\alpha 3$ 結構域及 $\beta 2m$ ，且其中該肽由如SEQ ID NO: 14中所列之胺基酸序列組成。

【0037】在一些實施例中，HLA I類分子為HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F或HLA-G。在一些實施例中，HLA I類分子為HLA-C。在一些實施例中，HLA I類分子為HLA-C*06等位基因。在一些實施例中，HLA I類分子選自HLA-C*06:01等位基因、HLA-C*06:02等位基因、HLA-C*06:03等位基因、HLA-C*06:04等位基因、HLA-C*06:05等位基因及HLA-C*06:06等位基因。在一些實施例中，HLA I類分子為HLA-C*06:02等位基因。在一些實施例中，HLA I類分子為HLA-C*03:03等位基因。

【0038】在一些實施例中，HLA I類分子為單體。在一些實施例中，HLA I類分子為二聚體。在一些實施例中，HLA I類分子為三聚體。在一些實施例中，HLA I類分子為四聚體。在一些實施例中，HLA I類分子為五聚體。

【0039】本發明之某些態樣係有關一種抗原呈遞細胞(APC)，其包含本文所揭示之HLA I類分子。在一些實施例

中，HLA I類分子在APC之表面表現。

【0040】本發明之某些態樣係有關一種富集獲自人類個體之T細胞之目標群體的方法，該方法包括使T細胞與本文所揭示之HLA I類分子或本文所揭示之APC接觸，其中在接觸之後，相對於接觸之前能夠結合HLA I類分子之T細胞數目，經富集之T細胞群體包含更高數目之能夠結合HLA I類分子的T細胞。

【0041】本發明之某些態樣係有關一種富集獲自人類個體之T細胞之目標群體的方法，該方法包括使T細胞在活體外與肽接觸，其中該肽由如SEQ ID NO: 13中所列之胺基酸序列組成，其中在接觸之後，相對於接觸之前能夠靶向腫瘤細胞之T細胞數目，經富集之T細胞群體包含更高數目之能夠靶向腫瘤細胞的T細胞。

【0042】在一些實施例中，獲自人類個體之T細胞為腫瘤浸潤淋巴細胞(TIL)。

【0043】本發明之某些態樣係有關一種治療有需要之個體之腫瘤的方法，該方法包括向個體投與本文所揭示之經富集之T細胞群體。

【0044】本發明之某些態樣係有關一種增強罹患癌症之個體中細胞毒性T細胞介導之癌細胞靶向的方法，該方法包括向個體投與具有如SEQ ID NO: 13中所列之胺基酸序列的肽。

【0045】本發明之某些態樣係有關一種癌症疫苗，其包含具有如SEQ ID NO: 13中所列之胺基酸序列的肽。

【0046】本發明之某些態樣係有關一種選擇能夠靶向腫瘤細胞之T細胞之方法，該方法包括使經分離之T細胞的群體在活體外與肽接觸，其中該肽由如SEQ ID NO: 11中所列之胺基酸序列組成。在一些實施例中，T細胞為腫瘤浸潤淋巴細胞(TIL)。

【圖式簡單說明】

【0047】[圖1]為說明在用使用重疊肽脈衝處理之人工APC刺激之後黑色素瘤TIL中的C*06:02/gp100 T細胞之數目的柱狀圖。在IFN- γ ELISPOT分析中，採用用使用用於涵蓋gp100之全蛋白的重疊肽脈衝處理之C*06:02-人工APC刺激一次的TIL作為反應細胞。將使用gp100衍生之重疊肽脈衝處理之C*06:02-人工APC用作刺激細胞。在一次受控肽特異性刺激之後，TIL顯示對具有共同擁有之序列₁₈₆VTVYHRRGSRYSYVPL₂₀₀的兩個相鄰肽的陽性反應。(亦參見表5)。

【0048】[圖2A-2D]為黑色素瘤TIL之C*06:02/gp100₁₉₀₋₁₉₈多聚體染色之圖解表示。將TIL用使用gp100₁₉₀HRRGSRYSY₁₉₈肽脈衝處理之C*06:02-人工APC刺激一次。顯示刺激之前(第0天；圖2A及2C)及刺激之後14天(第14天；圖2B及2D)C*06:02/gp100₁₉₀₋₁₉₈ (圖2A-2B)或對照C*06:02/HIV nef₁₂₀₋₁₂₈ (圖2C-2D)多聚體染色的資料。顯示CD8⁺ T細胞中多聚體⁺細胞之百分比。

【0049】[圖3]為說明C*06:02/gp100₁₉₀₋₁₉₈多聚體陽性

黑色素瘤 TIL 之功能評估的柱狀圖。在一次肽特異性刺激之後 TIL 以 C*06:02/gp100₁₉₀₋₁₉₈ 特異性方式產生 IFN- γ 。在 IFN- γ ELISPOT 分析中，採用使用 gp100₁₉₀₋₁₉₈ 肽脈衝處理之 C*06:02-人工 APC 刺激一次的 TIL 作為反應細胞。將使用所指示之肽脈衝處理之 C*06:02-人工 APC 用作刺激細胞。採用 HIV nef₁₂₀₋₁₂₈ 及 gp100₁₉₀₋₁₉₇ 肽作為對照。一式三份進行實驗，且誤差線展示 SD。 $**P < 0.01$ ， $***P < 0.001$ 。

【0050】[圖 4A-4I] 為用在同源多聚體情況下 C*06:02/gp100₁₉₀₋₁₉₈ TCR 基因轉導之 Jurkat 76/CD8 細胞之陽性染色的圖解表示。將用 C*06:02/gp100₁₉₀₋₁₉₈ TCR (圖 4B、4E 及 4H) 轉導之 Jurkat 76/CD8 細胞用 C*06:02/gp100₁₉₀₋₁₉₈ 多聚體 (圖 4B) 染色。採用 C*06:02/HIV nef₁₂₀₋₁₂₈ 多聚體 (圖 4D、4E 及 4F)、C*06:02/未交換多聚體 (圖 4G、4H 及 4I) 及用 C*07:02/MAGE-A1₂₈₉₋₂₉₇ TCR (純系 CL2；圖 4C、4F 及 4I) 轉導及未轉導 (圖 4A、4D 及 4G) 之 Jurkat 76/CD8 細胞作為對照。顯示多聚體⁺ CD8⁺ 細胞之百分比。

【0051】[圖 5A-5D] 為用在同源多聚體情況下 C*06:02/gp100₁₉₀₋₁₉₈ TCR 基因 (圖 5B 及 5D) 轉導之人類原代 T 細胞之陽性染色的圖解表示。將用 C*06:02/gp100₁₉₀₋₁₉₈ TCR 轉導之原代 T 細胞用 C*06:02/gp100₁₉₀₋₁₉₈ (圖 5B) 或 C*06:02/HIV nef₁₂₀₋₁₂₈ 對照多聚體 (圖 5D) 染色。採用未轉導之原代 T 細胞作為陰性對照 (圖 5A 及 5C)。顯示多聚體⁺ CD8⁺ T 細胞之百分比。

【0052】[圖6]為說明用C*06:02/gp100₁₉₀₋₁₉₈ TCR基因轉導之人類原代T細胞與由目標I類分子呈遞之同源肽強烈反應的柱狀圖。在IFN- γ ELISPOT分析中，將用C*06:02/gp100₁₉₀₋₁₉₈ TCR基因轉導之原代T細胞或未轉導之原代T細胞用作反應細胞。採用HLA-裸人工APC或用gp100₁₉₀₋₁₉₈或HIV nef₁₂₀₋₁₂₈肽(對照)脈衝處理之C*06:02-人工APC作為刺激細胞。一式三份進行實驗，且誤差線展示SD。 $**P < 0.01$ ， $***P < 0.001$ 。

【0053】[圖7A]為說明用C*06:02/gp100₁₉₀₋₁₉₈ TCR基因轉導之原代T細胞識別腫瘤細胞的圖解表示。在IFN- γ ELISPOT分析中，採用用C*06:02/gp100₁₉₀₋₁₉₈ TCR基因轉導之原代T細胞或未轉導之原代T細胞作為反應細胞。如[圖7B] (圖7A之圖例)中所指示採用未轉導或用HLA-C*06:02及/或gp100轉導之Malme-3M、SK-MEL-28及A375細胞作為刺激細胞。一式三份進行實驗，且誤差線展示SD。 $**P < 0.01$ ， $***P < 0.001$ 。

【0054】[圖8A-8D]為衍生自內源或經轉導之全長基因之gp100之表現的圖解表示。在用抗gp100 mAb (空心曲線)及同型對照(實心曲線)染色之後，經由細胞內流式細胞術對衍生自內源或經轉導之全長基因之gp100在目標細胞中之表現進行分析。

【0055】[圖9A-9D]為 Δ NGFR在用使用 Δ NGFR標記之全長HLA-C*06:02基因轉導之Malme-3M (圖9A及9B)及SK-MEL-28 (圖9C及9D)目標細胞(圖9B及9D)中之表現的圖解

表示。在用抗 NGFR mAb (空心曲線)及同型對照(實心曲線)染色之後，藉由流式細胞術對 Δ NGFR在用使用 Δ NGFR標記之全長HLA-C*06:02基因轉導之目標細胞中之表面表現進行分析。將單獨 Δ NGFR用作對照(圖9A及9C)。

【實施方式】

相關申請案之交叉引用

【0056】此PCT申請案主張2019年3月4日申請之美國臨時申請案第62/813,647號之優先權權益，該臨時申請案以全文引用之方式併入本文中。

經由EFS-WEB以電子方式提交之序列表之引用

【0057】以電子方式提交之序列表(名稱：4285_005PC01_SequenceListing_ST25.txt，大小：_____位元組；且創建日期：2020年3月__)以全文引用之方式併入本文中。

【0058】本發明係有關特異性結合於gp100上之抗原決定基的TCR或其抗原結合部分、編碼該TCR之核酸分子及包含該TCR或該核酸分子之細胞。本發明之一些態樣係有關治療有需要之個體之癌症的方法，所述方法包括向個體投與細胞。本發明之其他態樣係有關與包含gp100之抗原決定基的肽複合之HLA I類分子。

I. 術語

【0059】為使本發明可更容易理解，首先定義某些術

語。如本申請案中所用，除非本文中以其他方式明確提供，否則以下術語中之每一者應具有下文所闡述之含義。本申請案中闡述了其他定義。

【0060】 應當注意，術語「一個(或種) (a/an)」實體係指一或多個(種)該實體；舉例而言，「一個核苷酸序列」應理解為表示一或多個核苷酸序列。因而，術語「一個(或種) (a/an)」、「一或多個(或種)」及「至少一個(或種)」在本文中可互換使用。

【0061】 此外，「及/或」當在本文中使用时應視為在存在或不存在另一者之情況下特定地揭示兩個指定特徵或組分中之每一者。因此，術語「及/或」當在本文中用於諸如「A及/或B」之片語中時，旨在包括「A及B」、「A或B」、「A」(單獨)以及「B」(單獨)。同樣地，術語「及/或」當用於諸如「A、B及/或C」之片語中時，旨在涵蓋以下態樣中之每一者：A、B及C；A、B或C；A或C；A或B；B或C；A及C；A及B；B及C；A (單獨)；B (單獨)；及C (單獨)。

【0062】 術語「約」在本文中用於指大約、大致、約摸或在.....附近。當術語「約」與一數值範圍結合使用时，其藉由擴大所闡述數值以上及以下之界限來修飾該範圍。一般而言，術語「約」在本文中用於修飾向上或向下(更高或更低)偏差為10%之高於和低於所陳述值的數值。

【0063】 應瞭解，在本文中無論何處使用措辭「包含」描述態樣，均亦提供以術語「由.....組成」及/或「基

本上由 ... 組成」描述之以其他方式類似之態樣。

【0064】除非另外定義，否則本文所用之所有技術及科學術語具有一般熟習本發明相關技術者通常所理解相同之含義。舉例而言，Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 第2版，2002, CRC Press；The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 第3版，1999, Academic Press；及Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, 修訂版, 2000, Oxford University Press為熟習此項技術者提供本發明中所用之許多術語之綜合詞典。

【0065】單位、字首及符號以其國際單位制(Système International de Unites, SI)所接收之形式表示。數值範圍包括界定範圍之數字。除非另外指出，否則核苷酸序列自左至右以5'至3'方向書寫。胺基酸序列自左至右以胺基至羧基方向書寫。本文所提供之標題並非對本發明之各種態樣的限制，可藉由參考說明書作為整體而具有該等標題。因此，下文緊接著所定義之術語藉由整體地參考本說明書而被更完整地定義。

【0066】「投與」係指使用熟習此項技術者已知之各種方法及遞送系統中之任一者以物理方式向個體引入藥劑。用於本文所揭示之調配物之示例性投藥途徑包括靜脈內、肌肉內、皮下、腹膜內、經脊柱或其他非經腸投藥途徑，例如藉由注射或輸注。如本文所用之片語「非經腸投與」意謂除經腸及局部投與外之投與模式，通常藉由注射

進行，且包括但不限於靜脈內、肌肉內、動脈內、鞘內、淋巴管內、病損內、囊內、眶內、心內、真皮內、腹膜內、經氣管、皮下、表皮下、關節內、囊下、蛛網腹下、脊柱內、硬膜外及胸骨內注射及輸注以及活體內電穿孔。在一些實施例中，經由非非經腸途徑(例如經口)投與調配物。其他非非經腸途徑包括經局部、經表皮或經黏膜投藥途徑，例如鼻內、經陰道、經直腸、舌下或經局部投與。亦可例如一次、複數次及/或歷時一或多個延長之時間段進行投與。

【0067】如本文所用，術語「T細胞受體」(TCR)係指能夠特異性地與目標抗原相互作用之異質細胞表面受體。如本文所用，「TCR」包括但不限於天然存在及非天然存在之TCR；全長TCR及其抗原結合部分；嵌合TCR；TCR融合構築體；及合成TCR。在人類中，TCR在T細胞之表面表現，且其負責T細胞識別及抗原呈遞細胞之靶向。抗原呈遞細胞(APC)展示外來蛋白(抗原)之片段與主要組織相容性複合物(MHC；本文中亦稱為與HLA分子，例如HLA 1類分子複合)複合。TCR識別且結合於抗原:HLA複合物且募集CD3 (由T細胞表現)，從而活化TCR。活化之TCR起始下游信號傳導及免疫反應，包括EPC之破壞。

【0068】一般而言，TCR可包含藉由二硫鍵相互連接之兩條鏈， α 鏈及 β 鏈(或不太常見為 γ 鏈及 δ 鏈)。各鏈包含可變域(α 鏈可變域及 β 鏈可變域)及恆定區(α 鏈恆定區及 β 鏈恆定區)。可變域定位於細胞膜遠端，且可變域與抗原相

互作用。恆定區定位於細胞膜近端。TCR可進一步包含跨膜區及短胞質尾部。如本文所用，術語「恆定區」涵蓋跨膜區及胞質尾部(當存在時)以及傳統「恆定區」。

【0069】可變域可進一步再分成穿插有更保守之稱為構架區(FR)之區域的具有高變異性之區域，稱為互補決定區(CDR)。各 α 鏈可變域及 β 鏈可變域包含三個CDR及四個FR：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。各可變域含有與抗原相互作用之結合結構域。雖然各鏈上之三個CDR全部參與抗原結合，但咸信CDR3為主要抗原結合區。CDR1亦與抗原相互作用，而CD2咸信主要識別HLA複合物。

【0070】在未明確陳述之情況下，且除非上下文另外指示，否則術語「TCR」亦包括本文所揭示之任何TCR之抗原結合片段或抗原結合部分，且包括單價及二價片段或部分，及單鏈TCR。術語「TCR」不限於結合於T細胞表面之天然存在之TCR。如本文所用，術語「TCR」進一步指本文所描述之在除T細胞外之細胞(例如如本文所描述天然表現或經修飾以表現CD3之細胞)表面表現之TCR，或本文所描述之擺脫細胞膜之TCR(例如經分離之TCR或可溶性TCR)。

【0071】「抗原結合分子」、「TCR之部分」或「TCR片段」係指TCR之小於整體之任何部分。抗原結合分子可包括抗原互補決定區(CDR)。

【0072】「抗原」係指引起免疫反應或能夠由TCR結

合之任何分子，例如肽。如本文所用，「抗原決定基」係指多肽中引起免疫反應或能夠由TCR結合之部分。免疫反應可涉及抗體產生或特異性免疫機能健全之細胞的活化或兩者。熟習此項技術者將容易理解，包括實際上所有蛋白質或肽之任何大分子均可充當抗原。抗原及/或抗原決定基可內源表現，亦即由基因組DNA表現，或可重組表現。抗原及/或抗原決定基可對某一組織(諸如癌細胞)具特異性，或其可廣泛表現。此外，較大分子之片段可充當抗原。在一個實施例中，抗原為腫瘤抗原。抗原決定基可存在於較長多肽中(例如蛋白質中)，或抗原決定基可作為較長多肽之片段而存在。在一些實施例中，抗原決定基與主要組織相容性複合物(MHC；本文中亦稱為與HLA分子，例如HLA 1類分子複合)複合。

【0073】如本文所用，「gp100」、「醣蛋白100」、「黑素細胞蛋白PMEL」或「ME20M」係指在例如黑色素瘤中具有表現之腫瘤抗原。gp100為分子量為70 KD之661個胺基酸之疏水性醣蛋白(基因庫登錄號NM_006928)。參見例如Eisenberg等人, *Cell Immunol.* 266(1):98-103 (2010)。在活體內，gp100參與黑素體自I期至II期之成熟。如本文所用，gp100不僅指全長規範序列，而且指其變異體及片段。gp100之已知變異體提供於 www.uniprot.org (UniProtKB-P40967；最後存取日期2019年3月1日)。

表 1. gp100 胺基酸序列

SEQ ID NO:	gp100 胺基酸序列
52	MDLVLKRCLLHLAVIGALLAVGATKVPRNQDWLGVSRLRTKAWNRLQLYP EWTEAQRLDCWRGGQVSLKVSNDGPTLIGANASFIALNFPGSQKVLPDG QVIWVNNTIINGSQVWGGQPVYPQETDDACIFPDGGPCPSGSWSQKRSFVY VWKTWGQYWQVLGGPVSGLSIGTGRAMLGHTMEVTVYHRRGSRSYVP LAHSSSAFTITDQVPFSVSVSQLRALDGGNKHFLRNQPLTFALQLHDPSGYL AEADLSYTWDFGDSSGTLISRALVVHTHTYLEPGPVTAQVVLQAAIPLTSCGS SPVPGTTDGHRPTAEAPNTTAGQVPTTEVVGTTPGQAPTAEPSTTSVQVPT TEVISTAPVQMPTAESTGMTPEKVPVSEVMGTTLAEMSTPEATGMTPAEVS VVLSGTTAAQVTTTEWVETTARELPIPEPEGPDASSIMSTESITGSLGPLLDG TATLRLVKRQVPLDCVLYRYGSFSVTLDIVQGIESAEILQAVPSGEGDAFELT VSCQGGLPKEACMEISSPGCQPPAQRCLQPVLPSPACQLVLHQILKGGSGTY CLNVSLADTNSLAVVSTQLIMPGQEAGLGQVPLIVGILLVLMMAVVLASLIYR RRLMKQDFSVPQLPHSSSHWLRLPRIFCSCPIGENSPLLSGQQV

【0074】如本文所用，術語「HLA」係指人類白細胞抗原。HLA基因編碼人類中之主要組織相容性複合物(MHC)蛋白。MHC蛋白在細胞表面表現，且參與免疫反應之活化。HLA I類基因編碼MHC I類分子，其以與自身或非自身蛋白之肽片段(抗原)之複合物形式在細胞表面表現。表現TCR及CD3之T細胞識別抗原:MHC I類複合物且起始免疫反應以靶向及破壞展示非自身蛋白之抗原呈遞細胞。

【0075】如本文所用，「HLA I類分子」或「HLA I類分子」係指編碼MHC I類分子之野生型或變異體HLA I類基因之蛋白質產物。因此，「HLA I類分子」及「MHC I類分子」在本文中可互換使用。

【0076】MHC I類分子包含兩條蛋白質鏈：α鏈及β2-微球蛋白(β2m)鏈。人類β2m由B2M基因編碼。β2m之胺基酸序列闡述於SEQ ID NO: 16中(表2)。MHC I類分子之α鏈由HLA基因複合體編碼。HLA複合物定位於人類染色體6

之短臂上的6p21.3區域內且含有具有多種功能之超過220個基因。HLA基因為高度變異的，具有超過20,000個HLA等位基因及相關等位基因，包括超過15,000個此項技術中已知的HLA I類等位基因，其編碼數千種HLA蛋白質，包括超過10,000種HLA I類蛋白質(參見例如hla.alleles.org，最後訪問日期2019年2月27日)。HLA複合物中存在至少三種編碼MHC I類α鏈蛋白質的基因：HLA-A、HLA-B及HLA-C。此外，HLA-E、HLA-F及HLA-G編碼與MHC I類分子締合之蛋白質。

表 2. 人類 β2m 之胺基酸序列

SEQ ID NO:	序列
16	MSRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLN CYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYY TEFTPTEKDEYACRVNHVTL SQPKIVKWDRDM

【0077】術語「自體」係指任何材料衍生自與隨後再引入所述任何材料之個體相同的個體。舉例而言，自體T細胞療法包括向個體投與自相同個體分離之T細胞。術語「同種異體」係指任何材料衍生自一個個體且接著引入相同物種之另一個體。舉例而言，同種異體T細胞移植包括向個體投與自除該個體外之供體獲得的T細胞。

【0078】「癌症」係指大量以體內異常細胞生長不受控制為特徵之各種疾病。無序細胞分裂及生長導致形成惡性腫瘤，該等惡性腫瘤侵入相鄰組織且亦可通過淋巴系統或血流轉移至身體遠端部分。「癌症」或「癌症組織」可

包括腫瘤。可藉由本發明之方法治療之癌症的實例包括但
不限於免疫系統之癌症，包括淋巴瘤、白血病及其他白細胞
惡性腫瘤。在一些實施例中，本發明之方法可用於減小
腫瘤之腫瘤尺寸，該腫瘤衍生自例如骨癌、腎癌、前列腺
癌、乳腺癌、結腸癌、肺癌、皮膚或眼內惡性黑色素瘤、
胰臟癌、皮膚癌、頭頸癌、皮膚或眼內惡性黑色素瘤、子
宮癌、卵巢癌、直腸癌、肛門區癌症、胃癌、睪丸癌、子
宮癌、輸卵管癌瘤、子宮內膜癌瘤、子宮頸癌瘤、陰道癌
瘤、外陰癌瘤、霍奇金氏病、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、
原發性縱隔大B細胞淋巴瘤(PMBC)、彌漫性大B細胞淋巴
瘤(DLBCL)、濾泡性淋巴瘤(FL)、轉型濾泡性淋巴瘤、脾
邊緣區淋巴瘤(SMZL)、食管癌、小腸癌、內分泌系統
癌、甲狀腺癌、副甲狀腺癌、腎上腺癌、軟組織肉瘤、尿
道癌、陰莖癌、慢性或急性白血病、急性骨髓性白血病
(AML)、慢性骨髓性白血病、急性淋巴母細胞性白血病
(ALL) (包括非T細胞ALL)、慢性淋巴細胞性白血病
(CLL)、兒童期實體腫瘤、淋巴細胞性淋巴瘤、膀胱癌、
腎臟或輸尿管癌、腎盂癌瘤、中樞神經系統(CNS)贅瘤、
原發性CNS淋巴瘤、腫瘤血管生成、脊柱軸腫瘤、腦幹神
經膠質瘤、垂體腺瘤、卡波西氏肉瘤、表皮樣癌、鱗狀細
胞癌、T細胞淋巴瘤、環境誘發之癌症(包括由石棉誘發之
彼等癌症)、其他B細胞惡性腫瘤及該等癌症之組合。特定
癌症可對化學療法或放射療法有反應或癌症可為難治性
的。難治性癌症係指不適合手術干預之癌症，且該癌症最

初對化學療法或放射療法無反應或該癌症隨時間推移變得無反應。

【0079】如本文所用，「抗腫瘤效應」係指可以以下形式存在之生物效應：腫瘤體積減小、腫瘤細胞數目減少、腫瘤細胞增殖減少、轉移數目減少、總存活或無進展存活增加、預期壽命增加或與腫瘤相關之各種生理症狀改善。抗腫瘤效應亦可指預防腫瘤發生，例如疫苗。

【0080】術語「無進展存活」可為縮寫為PFS，其如本文所用係指自治療日至根據經修訂之惡性淋巴瘤IWG反應準則(IWG Response Criteria for Malignant Lymphoma)之疾病進展或因任何原因而死亡之日期的時間。

【0081】「疾病進展」或「進行性疾病」可縮寫為PD，其如本文所用係指與特定疾病相關之一或多種症狀之惡化。舉例而言，罹患癌症之個體的疾病進展可包括一或多處惡性病變之數目或尺寸增加、腫瘤轉移及死亡。

【0082】「反應持續時間」可縮寫為DOR，其如本文所用係指個體首次客觀反應至根據經修訂之惡性淋巴瘤IWG反應準則確認疾病進展或死亡之日期之間的時間段。

【0083】術語「總存活」可縮寫為OS，其定義為自治療日至死亡日之時間。

【0084】如本文所用，「細胞介素」係指一種細胞響應於與特異性抗原接觸而釋放之非抗體蛋白質，其中細胞介素與第二細胞相互作用以介導第二細胞中之反應。細胞介素可由細胞內源表現或向個體投與。細胞介素可由包括

巨噬細胞、B細胞、T細胞及肥大細胞之免疫細胞釋放以擴散免疫反應。細胞介素可在受體細胞中誘導各種反應。細胞介素可包括穩態性細胞介素、趨化因子、促炎性細胞介素、效應子及急性期蛋白。舉例而言，包括介白素(IL) 7及IL-15之穩態性細胞介素促進免疫細胞存活及增殖，且促炎性細胞介素可促成發炎反應。穩態性細胞介素之實例包括但不限於IL-2、IL-4、IL-5、IL-7、IL-10、IL-12p40、IL-12p70、IL-15及干擾素(IFN) γ 。促炎性細胞介素之實例包括但不限於IL-1A、IL-1B、IL-6、IL-13、IL-17A、腫瘤壞死因子(TNF)- α 、TNF- β 、纖維母細胞生長因子(FGF) 2、粒細胞巨噬細胞集落刺激因子(GM-CSF)、可溶性細胞間黏附分子1 (sICAM-1)、可溶性血管黏附分子1 (sVCAM-1)、血管內皮生長因子(VEGF)、VEGF-C、VEGF-D及胎盤生長因子(PLGF)。效應子之實例包括但不限於顆粒酶A、顆粒酶B、可溶性Fas配位體(sFasL)及穿孔素。急性期蛋白之實例包括但不限於C-反應蛋白(CRP)及血清澱粉樣蛋白A (SAA)。

【0085】「趨化因子」為一類介導細胞趨化性或定向運動之細胞介素。趨化因子之實例包括但不限於IL-8、IL-16、伊紅趨素(eotaxin)、伊紅趨素-3、巨噬細胞衍生之趨化因子(MDC或CCL22)、單核細胞趨化蛋白1 (MCP-1或CCL2)、MCP-4、巨噬細胞炎性蛋白1 α (MIP-1 α 、MIP-1a)、MIP-1 β (MIP-1b)、 γ -誘導蛋白10 (IP-10)以及胸腺及活化調控趨化因子(TARC或CCL17)。

【0086】本發明之分析物及細胞介素之其他實例包括但不限於趨化因子(C-C基元)配位體(CCL) 1、CCL5、單核細胞特異性趨化因子3 (MCP3或CCL7)、單核細胞趨化蛋白2 (MCP-2或CCL8)、CCL13、IL-1、IL-3、IL-9、IL-11、IL-12、IL-14、IL-17、IL-20、IL-21、粒細胞集落刺激因子(G-CSF)、白血病抑制因子(LIF)、制瘤素M(OSM)、CD154、淋巴細胞毒素(LT) β 、4-1BB配位體(4-1BBL)、增殖誘導配位體(APRIL)、CD70、CD153、CD178、糖皮質素誘導之TNFR相關配位體(GITRL)、腫瘤壞死因子超家族成員14 (TNFSF14)、OX40L、TNF相關及ApoL相關之白細胞表現之配位體1 (TALL-1)或TNF相關凋亡誘導配位體(TRAIL)。

【0087】藥物或治療劑之「治療有效量」、「有效劑量」、「有效量」或「治療有效劑量」為藥物在單獨或與另一治療劑組合使用時防止個體疾病發作或促成由疾病症狀嚴重程度降低、疾病無症狀期頻率及持續時間增加或防止因疾病折磨而引起損傷或殘疾證實之疾病消退的任何量。治療劑促進疾病消退之能力可使用熟練從業者已知之多種方法來評估，諸如在臨床試驗期間在人類個體中、在預示在人類中之功效的動物模型系統中或藉由分析藥劑在活體外分析中之活性。

【0088】如本文所用之術語「淋巴細胞」包括自然殺手(NK)細胞、T細胞或B細胞。NK細胞為一類代表固有免疫系統之主要組分的細胞毒性(cytotoxic/cell toxic)淋巴細胞。

胞。NK細胞排斥腫瘤及由病毒感染之細胞。其通過凋亡或程式化細胞死亡之過程工作。其被稱為「自然殺手」，因為其不需要進行活化來殺死細胞。T細胞在細胞介導之免疫性(不涉及抗體)中發揮主要作用。T細胞受體(TCR)區分T細胞與其他淋巴細胞類型。免疫系統之特化器官胸腺主要負責T細胞之成熟。存在六種類型之T細胞，亦即：輔助T細胞(例如CD4⁺細胞)、細胞毒性T細胞(亦稱為TC、細胞毒性T淋巴細胞、CTL、T-殺手細胞、細胞溶解性T細胞、CD8⁺ T細胞或殺手T細胞)、記憶T細胞((i)幹細胞樣記憶 T_{SCM} 細胞(如原初細胞)為 CD45RO⁻、CCR7⁺、CD45RA⁺、CD62L⁺ (L-選擇素)、CD27⁺、CD28⁺ 及 IL-7R α ⁺，但其亦表現大量CD95、IL-2R β 、CXCR3及LFA-1，且顯示記憶細胞之許多特有功能特徵)；(ii)中心記憶 T_{CM} 細胞表現L-選擇素及CCR7，其分泌IL-2，但不分泌IFN γ 或IL-4，且(iii)然而，效應記憶 T_{EM}細胞不表現L-選擇素或CCR7，但產生效應子細胞介素，如IFN γ 及IL-4)、調控T細胞(Treg、抑制T細胞或CD4⁺CD25⁺調控T細胞)、自然殺手T細胞(NKT)及 $\gamma\delta$ T細胞。另一方面，B細胞在體液免疫性(涉及抗體)中發揮主要作用。B細胞產生抗體及抗原且發揮抗原呈遞細胞(APC)之作用且在藉由抗原相互作用活化之後變成記憶B細胞。在哺乳動物中，在衍生出B細胞名稱之骨髓中形成不成熟B細胞。

【0089】術語「基因工程改造」或「工程改造」係指對細胞之基因組進行修飾之方法，包括但不限於缺失編碼

或非編碼區或其一部分或插入編碼區或其一部分。在一些實施例中，所修飾之細胞為淋巴細胞，例如T細胞或表現CD3之經修飾細胞，其可獲自患者或供體。細胞可經修飾以表現併入細胞基因組中之外源性構築體，諸如本文所揭示之T細胞受體(TCR)。在一些實施例中，細胞經修飾以表現CD3。

【0090】「免疫反應」係指免疫系統之細胞(例如T淋巴細胞、B淋巴細胞、自然殺手(NK)細胞、巨噬細胞、嗜伊紅白血球、肥大細胞、樹突細胞及嗜中性白血球)及由此等細胞中之任一者或肝臟產生的可溶性大分子(包括Ab、細胞介素及補體)的動作，該動作引起脊椎動物體內之侵入病原體、病原體感染之細胞或組織、癌細胞或其他異常細胞或者自體免疫或病理炎症情況下之正常人類細胞或組織的選擇性靶向、結合、損壞、破壞及/或消除。

【0091】術語「免疫療法」係指藉由包括誘導、增強、抑制或以其他方式改變免疫反應之方法治療罹患疾病或處於感染疾病或遭受疾病復發之風險中的個體。免疫療法之實例包括但不限於T細胞療法。T細胞療法可包括接受性T細胞療法、腫瘤浸潤淋巴細胞(TIL)免疫療法、自體細胞療法、工程改造自體細胞治療(eACT)及同種異體T細胞移植。

【0092】用於本文所描述之免疫療法中之細胞可來自此項技術中已知之任何來源。舉例而言，T細胞可在活體外與造血幹細胞群體區分開，或T細胞可獲自個體。T細胞

可獲自例如外周血單核細胞、骨髓、淋巴結組織、臍帶血、胸腺組織、來自感染位點之組織、腹水、胸膜滲出液、脾臟組織及腫瘤。此外，T細胞可衍生自此項技術中可獲得之一或多個T細胞株。T細胞亦可獲自使用熟練技工已知之諸如FICOLL™分離及/或單采術(apheresis)之任何數目之技術自個體收集的一單位血液。分離用於T細胞療法之T細胞之其他方法揭示於美國專利公開案第2013/0287748號中，該專利公開案以全文引用之方式併入本文中。免疫療法亦可包括向個體投與經修飾之細胞，其中經修飾之細胞表現CD3及本文所揭示之TCR。在一些實施例中，經修飾之細胞不為T細胞。

【0093】如本文所用之「患者」包括罹患癌症(例如淋巴瘤或白血病)之任何人類。術語「個體」及「患者」在本文中可互換使用。

【0094】術語「肽」、「多肽」及「蛋白質」可互換使用，且指包含藉由肽鍵共價鍵聯之胺基酸殘基的化合物。蛋白質或肽一定含有至少兩個胺基酸，且對可包含蛋白質或肽之序列的最大胺基酸數目沒有限制。多肽包括包含藉由肽鍵彼此連接之兩個或更多個胺基酸的任何肽或蛋白質。如本文所用，該術語係指短鏈，其在此項技術中通常亦稱為例如肽、寡肽及寡聚物；與較長鏈，其在此項技術中通常稱為蛋白質，蛋白質存在許多類型。「多肽」包括例如生物活性片段、實質上同源之多肽、寡肽、均二聚體、異二聚體、多肽變異體、經修飾之多肽、衍生物、類

似物、融合蛋白等。多肽包括天然肽、重組肽、合成肽或其組合。

【0095】如本文所用，「刺激」係指由刺激分子與其同源配位體結合誘導之主要反應，其中該結合介導信號轉導事件。「刺激分子」為T細胞上與存在於抗原呈遞細胞上之同源刺激配位體特異性結合之分子，例如T細胞受體(TCR)/CD3複合物。「刺激配位體」為當存在於抗原呈遞細胞(例如aAPC、樹突細胞、B細胞及類似細胞)上時可與T細胞上之刺激分子特異性結合，由此介導由T細胞引起之主要反應，包括但不限於活化、起始免疫反應、增殖及類似反應的配位體。刺激配位體包括但不限於加載有肽之MHC I類分子、抗CD3抗體、超促效劑抗CD28抗體及超促效劑抗CD2抗體。

【0096】術語「處理」及「預處理」在本文中可互換使用且指示準備需要T細胞療法之患者用於適合之情況。如本文所用之處理包括但不限於在T細胞療法之前降低內源淋巴細胞數目、移除細胞介素池(cytokine sink)、增加一或多個穩態性細胞介素或促炎性因子之血清含量、增強處理後投與之T細胞之效應功能、增強抗原呈遞細胞活化及/或可獲得性或其任何組合。在一個實施例中，「處理」包括增加一或多種細胞介素，例如介白素7 (IL-7)、介白素15 (IL-15)、介白素10 (IL-10)、介白素5 (IL-5)、 γ -誘導蛋白10 (IP-10)、介白素8 (IL-8)、單核細胞趨化蛋白1 (MCP-1)、胎盤生長因子(PLGF)、C-反應蛋白(CRP)、可

溶性細胞間黏附分子1 (sICAM-1)、可溶性血管黏附分子1 (sVCAM-1)或其任何組合之血清含量。在另一實施例中，「處理」包括增加IL-7、IL-15、IP-10、MCP-1、PLGF、CRP或其任何組合之血清含量。

【0097】個體之「治療(treatment/treating)」係指對個體進行之任何類型之干預或處理或向個體投與活性劑，目的為逆轉、緩解、改善、抑制、減慢或預防與疾病相關之症狀、併發症或病狀或生物化學標誌的發作、進展、發展、嚴重程度或復發。在一個實施例中，「治療(treatment/treating)」包括部份緩解。在另一實施例中，「治療(treatment/treating)」包括完全緩解。

【0098】替代(例如「或」)之使用應理解為意謂替代物中之一者、兩者或其任何組合。如本文所用，不定冠詞「一個(或種)」應理解為指任何所敘述或列舉之組分中之「一或多個(或種)」。

【0099】術語「約」或「基本上包含」係指特定值或組合物之如由一般熟習此項技術者所確定在可接受誤差範圍內之值或組合物，其將部分取決於如何量測或測定該值或組合物，亦即，量測系統之限制。舉例而言，「約」或「基本上包含」可意謂根據此項技術中之慣例在1個或超過1個標準偏差以內。或者，「約」或「基本上包含」可意謂至多10%之範圍(亦即， $\pm 10\%$)。舉例而言，約3mg可包括2.7 mg與3.3 mg (對於10%)之間的任何數目。此外，特定而言就生物系統或方法而言，該等術語可意謂至多一

個數量級或值之至多5倍。當本申請案及申請專利範圍中提供特定值或組合物時，除非另外說明，否則「約」或「基本上包含」之含義應被假定為在該特定值或組合物之可接受誤差範圍內。

【0100】除非另外指出，否則如本文所描述，任何濃度範圍、百分比範圍、比率範圍或整數範圍應理解為包括在所敘述範圍內之任何整數值及(適當時)其分數(諸如整數之十分之一及百分之一)。

【0101】以下小節中更詳細描述本發明之各種態樣。

II. 本發明之組合物

【0102】本發明係有關特異性結合於gp100上之抗原決定基的T細胞受體(TCR)或其抗原結合部分、編碼該TCR之核酸分子及包含該TCR或該核酸分子之細胞。本發明之一些態樣係有關治療有需要之個體之癌症的方法，該等方法包括向個體投與包含本文所描述之TCR的細胞。本發明之其他態樣係有關一種結合於TCR的gp100之抗原決定基，及與包含gp100之抗原決定基之肽複合的HLA I類分子。

【0103】T細胞受體或TCR為存在於T細胞或T淋巴細胞表面之分子，其負責識別作為結合於主要組織相容性複合物(MHC)分子之肽的抗原之片段。TCR與抗原肽之間的結合具有相對低的親和力且為簡併的：換言之，許多TCR識別相同抗原肽且許多抗原肽由相同TCR識別。

【0104】TCR由兩條不同的蛋白質鏈組成(換言之，其為異二聚體)。在人類中，在95%之T細胞中，TCR由 α 鏈及 β 鏈(分別由TRA及TRB編碼)組成，但在5%之T細胞中，TCR由 γ 及 δ 鏈(分別由TRG及TRD編碼)組成。此比率在個體發育期間及患病狀態(諸如白血病)中發生變化。其在物種間亦不同。在各種物種中已定位4個基因座之直系同源物。各基因座可產生具有恆定區及可變區之多種多肽。

【0105】當TCR與抗原肽及MHC (肽/MHC)接合時，T淋巴細胞通過信號轉導活化，信號轉導為由相關酶、共-受體、特化銜接分子及活化或釋放之轉錄因子介導之一系列生物化學事件。

II.A. 核酸分子

【0106】本發明之某些態樣係有關核酸分子，其包含(i)第一核苷酸序列，其編碼特異性結合人類gp100之重組TCR或其抗原結合部分(「抗gp100 TCR」)；及(ii)第二核苷酸序列，其中第二核苷酸序列或由第二核苷酸序列編碼之多肽抑制內源TCR之表現。在一些實施例中，第二核苷酸序列為非天然存在之序列。在其他實施例中，第二核苷酸序列為合成的。在其他實施例中，第二核苷酸序列包含靶向編碼內源TCR之核苷酸序列的序列。在一些實施例中，抗gp100 TCR與參考TCR交叉競爭結合於人類gp100。在一些實施例中，抗gp100 TCR結合人類gp100之與參考TCR相同之抗原決定基或重疊之抗原決定基。

【0107】 在一些實施例中，參考TCR包含 α 鏈及 β 鏈；其中 α 鏈包含互補決定區1 (CDR1)、CDR2及CDR3；其中 β 鏈包含CDR1、CDR2及CDR3；且其中參考TCR包含SEQ ID NO: 7中所列之 α 鏈CDR3及SEQ ID NO: 10中所列之 β 鏈CDR3。在一些實施例中， α 鏈CDR1、CDR2及CDR3序列存在於SEQ ID NO: 1所列之胺基酸序列中，且參考TCR包含SEQ ID NO: 2所列之胺基酸序列中存在之 β 鏈CDR1、CDR2及CDR3序列。在一些實施例中，參考TCR包含 α 鏈及 β 鏈，其中 α 鏈包含如SEQ ID NO: 1中所列之胺基酸序列且 β 鏈包含如SEQ ID NO: 2中所列之胺基酸序列。

表 3. α 鏈及 β 鏈 TCR 序列

SEQ ID NO:	TCR 鏈	序列
1	α 鏈 (胺基酸)	MKKHLTTFLVILWLYFYRGNKGKNQVEQSPQSLIILEGKN CTLQCNYYTVSPFSNLRWYKQDTGRGPVSLTIMTFSENTK SNGRYTATLDADTKQSSLHITASQLSDSASYICVVRGMD SSYKLIFGSGTRLLVRPDIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVC LFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNS AVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPRESSCDVKLVE KSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS Z
17	α 鏈 (核苷酸)	ATGAAAAAGCATCTGACGACCTTCTTGGTGATTTTGTG GCTTTATTTTATAGGGGGAATGGCAAAAACCAAGTGG AGCAGAGTCCTCAGTCCCTGATCATCCTGGAGGGAAA GAACTGCACTCTTCAATGCAATTATACAGTGAGCCCCT TCAGCAACTTAAGGTGGTATAAGCAAGATACTGGGAG AGGTCCTGTTTCCCTGACAATCATGACTTTCAGTGAGA ACACAAAGTCGAACGGAAGATATACAGCAACTCTGGA TGCAGACACAAAGCAAAGCTCTCTGCACATCACAGCC TCCCAGCTCAGCGATTTCAGCCTCCTACATCTGTGTGGT GAGGGGGATGGATAGCAGCTATAAATTGATCTTCGGGA GTGGGACCAGACTGCTGGTCAGGCCTGATATCCAGAA CCCTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAA TCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGATTTTGA TTCTCAAACAAATGTGTACAAAGTAAGGATTCTGATG TGTATATCACAGACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCT ATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTGGAGCA ACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAA CAGCATTATTCCAGAAGACACCTTCTTCCCCAGCCCAG AAAGTTCCTGTGATGTCAAGCTGGTCGAGAAAAGCTT TGAAACAGATACGAACCTAAACTTTCAAAACCTGTCA GTGATTGGGTTCCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGGCCG GGTTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGGTCCAGC TGA

2	β 鏈 (胺基 酸)	GPGLLHWMALCLLGTGHGDAMVIQNPRYQVTQFGKPV TLSCSQTNLNHNVMYWYQQKSSQAPKLLFHYDCKDFNN EADTPDNFQSRRPNTSFCFLDIRSPGLGDAAMYLCATSS EDSSNQPHFGDGTRLSELEDLNKVFPPEVAVFEPSEAEIS HTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDP QPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRCQVQ FYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVS YQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSAVLMLAMVKKRD FZ
18	β 鏈 (核苷 酸)	ATGGGTCCTGGGCTTCTCCACTGGATGGCCCTTTGTCT CCTTGGAACAGGTCATGGGGATGCCATGGTCATCCAG AACCCAAGATAACCAGGTTACCCAGTTTGGAAGCCAG TGACCCTGAGTTGTTCTCAGACTTTGAACCATAACGTC ATGTACTGGTACCAGCAGAAGTCAAGTCAGGCCCCAA AGCTGCTGTTCCACTACTATGACAAAGATTTTAACAAT GAAGCAGACACCCCTGATAACTTCCAATCCAGGAGGC CGAACACTTCTTTCTGCTTTCTTGACATCCGCTCACCA GGCCTGGGGGACGCAGCCATGTACCTGTGTGCCACCA GCAGTGAGGACAGTAGCAATCAGCCCCAGCATTTTGG TGATGGGACTCGACTCTCCATCCTAGAGGACCTGAAC AAGGTGTTCCCACCCGAGGTCGCTGTGTTTGAGCCAT CAGAAGCAGAGATCTCCCACACCCAAAAGGCCACACT GGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTTCCCTGACCACGTG GAGCTGAGCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCAC AGTGGGGTCAGCACGGACCCGCAGCCCCTCAAGGAG CAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCA GCCGCCTGAGGGTCTCGGCCACCTTCTGGCAGAACCC CCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGG CTCTCGGAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCA AACCCGTCACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGG TAGAGCAGACTGTGGCTTTACCTCGGTGTCCTACCAGC AAGGGGTCCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCCTG CTAGGGAAGGCCACCCTGTATGCTGTGCTGGTCAGCG CCCTTGTGTTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTTC TGA

II.A.1. 由第一核苷酸序列編碼之 TCR

【0108】本發明係有關一種由本文所描述之第一核苷酸序列編碼的 TCR。在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗 gp100 TCR 包含 α 鏈及 β 鏈，其中 α 鏈包含含有 α 鏈

CDR1、 α 鏈 CDR2 及 α 鏈 CDR3 之可變域；且其中 β 鏈 包含含有 β 鏈 CDR1、 β 鏈 CDR2 及 β 鏈 CDR3 之可變域。在一些實施例中，抗 gp100 TCR 包含含有如 SEQ ID NO: 7 (CVVRGMDSSYKLIF) 中所列之胺基酸序列的 α 鏈 CDR3。在一些實施例中，抗 gp100 TCR 包含含有如 SEQ ID NO: 10 (CATSSEDSSNQPQHF) 中所列之胺基酸序列的 β 鏈 CDR3。在一些實施例中， α 鏈 及 / 或 β 鏈 中之非 CDR 區進一步經修飾，例如一個胺基酸、兩個胺基酸、三個胺基酸、四個胺基酸、五個胺基酸或六個胺基酸之取代或突變，由此 α 鏈 及 / 或 β 鏈 不為天然存在的。在一些實施例中，取代或突變可以各種方式改良本文所描述之 TCR，例如結合親和力、結合特異性、穩定性、黏度或其任何組合。

【0109】在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗 gp100 TCR 包含 α 鏈 CDR1，其中抗 gp100 TCR 之 α 鏈 CDR1 包含如 SEQ ID NO: 5 (VSPFSN) 中所列之胺基酸序列。在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗 gp100 TCR 包含 β 鏈 CDR1，其中抗 gp100 TCR 之 β 鏈 CDR1 包含如 SEQ ID NO: 8 (MTFSENT) 中所列之胺基酸序列。

【0110】在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗 gp100 TCR 包含 α 鏈 CDR2，其中抗 gp100 TCR 之 α 鏈 CDR2 包含如 SEQ ID NO: 6 (LNHNV) 中所列之胺基酸序列。在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗 gp100 TCR 包含 β 鏈 CDR2，其中抗 gp100 TCR 之 β 鏈 CDR2 包含如 SEQ ID NO: 9 (YYDKDF) 中所列之胺基酸序列。

【0111】在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗 gp100 TCR 包含與 SEQ ID NO: 1 中所列之 α 鏈胺基酸序列之可變域具有至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99% 或約 100% 序列一致性的 α 鏈可變域。在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗 gp100 TCR 包含與 SEQ ID NO: 1 中所列之 α 鏈胺基酸序列之可變域具有至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98% 或至少約 99% 序列一致性的 α 鏈可變域，其中抗 gp100 TCR 包含含有如 SEQ ID NO: 7 中所列之胺基酸序列的 α 鏈 CDR3。在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗 gp100 TCR 包含 SEQ ID NO: 1 所列之 α 鏈胺基酸序列中存在的 α 鏈可變域。

【0112】在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗 gp100 TCR 包含與 SEQ ID NO: 2 中所列之 β 鏈胺基酸序列之可變域具有至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99% 或約 100% 序列一致性的 β 鏈可變域。在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗 gp100 TCR 包含與 SEQ ID NO: 2 中所列之 β 鏈胺基酸序列之可變域具有至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98% 或至少約 99% 序列一致性的 β 鏈可變域，其中抗 gp100 TCR 包含含有如 SEQ ID NO: 10 中所列之胺基酸序列的 β 鏈 CDR3。在一些實施例中，由第一核苷酸

序列編碼之抗 gp100 TCR 包含 SEQ ID NO: 2 所列之胺基酸序列中存在的 β 鏈可變域。

【0113】 在一些實施例中，由第一核苷酸編碼之抗 gp100 TCR 進一步包含 α 鏈恆定區、 β 鏈恆定區或 α 鏈恆定區與 β 鏈恆定區兩者。在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗 gp100 TCR 包含與 SEQ ID NO: 1 中所列之 α 鏈胺基酸序列之恆定區具有至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、至少約 99% 或約 100% 序列一致性的 α 鏈恆定區。在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗 gp100 TCR 包含與 SEQ ID NO: 1 中所列之 α 鏈胺基酸序列之恆定區具有至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98% 或至少約 99% 序列一致性的 α 鏈恆定區，其中抗 gp100 TCR 包含含有如 SEQ ID NO: 7 中所列之胺基酸序列的 α 鏈 CDR3。在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗 gp100 TCR 包含 SEQ ID NO: 1 所列之 α 鏈胺基酸序列中存在的 α 鏈恆定區。在一些實施例中，由第一核苷酸編碼之抗 gp100 TCR 進一步包含不同於 α 鏈之內源(例如天然存在之)恆定區的 α 恆定區。在一些實施例中， α 鏈恆定區包含相對於 SEQ ID NO: 1 中所列之 α 鏈胺基酸序列之恆定區之胺基酸序列包含至少 1 個、至少 2 個、至少 3 個、至少 4 個或至少 5 個胺基酸取代的胺基酸序列。

【0114】 在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗 gp100 TCR 包含與 SEQ ID NO: 2 中所列之 β 鏈胺基酸序列

之恆定區具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%序列一致性的 β 鏈恆定區。在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗gp100 TCR包含與SEQ ID NO: 2中所列之 β 鏈胺基酸序列之恆定區具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%或至少約99%序列一致性的 β 鏈恆定區，其中該抗gp100 TCR包含含有如SEQ ID NO: 10中所列之胺基酸序列的 β 鏈CDR3。在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗gp100 TCR包含SEQ ID NO: 2所列之胺基酸序列中存在的 β 鏈恆定區。在一些實施例中，由第一核苷酸編碼之抗gp100 TCR進一步包含不同於 β 鏈之內源(例如天然存在之)恆定區的 β 恆定區。在一些實施例中， β 鏈恆定區包含相對於SEQ ID NO: 2中所列之 β 鏈胺基酸序列之恆定區的胺基酸序列包含至少1個、至少2個、至少3個、至少4個或至少5個胺基酸取代的胺基酸序列。

【0115】在某些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗gp100 TCR包含與SEQ ID NO: 1中所列之 α 鏈胺基酸序列具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%序列一致性的 α 鏈。在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗gp100 TCR包含與SEQ ID NO: 1中所列之 α 鏈胺基酸序列具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少

約99%或約100%序列一致性的 α 鏈，其中抗gp100 TCR包含含有如SEQ ID NO: 7中所列之胺基酸序列的 α 鏈CDR3。在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗gp100 TCR包含含有SEQ ID NO: 1中所列之胺基酸序列的 α 鏈。

【0116】在某些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗gp100 TCR包含與SEQ ID NO: 2中所列之 β 鏈胺基酸序列具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%序列一致性的 β 鏈。在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗gp100 TCR包含與SEQ ID NO: 2中所列之 β 鏈胺基酸序列具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%序列一致性的 β 鏈，其中抗gp100 TCR包含含有如SEQ ID NO: 10中所列之胺基酸序列的 β 鏈CDR3。在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗gp100 TCR包含含有SEQ ID NO: 2中所列之胺基酸序列的 β 鏈。

【0117】在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之抗gp100 TCR包含 α 鏈恆定區、 β 鏈恆定區或兩者；且其中 α 鏈恆定區、 β 鏈恆定區或兩者包含相對於內源TCR之對應胺基酸序列在目標序列內具有至少1個、至少2個、至少3個、至少4個或至少5個取代的胺基酸序列。

II.A.2. 抗原決定基

【0118】在一些實施例中，由第一核苷酸序列編碼之

抗 gp100 TCR結合與參考TCR相同之抗原決定基。在一些實施例中，抗 gp100 TCR結合於 gp100之包含 SEQ ID NO: 13 (HRRGSRYSYV)中所列之胺基酸序列的抗原決定基。在一些實施例中，抗 gp100 TCR結合於 gp100之由如 SEQ ID NO: 13中所列之胺基酸序列組成的抗原決定基。在一些實施例中，抗原決定基由 gp100之胺基酸殘基 190-198 (SEQ ID NO: 52)組成，例如「gp100₁₉₀₋₁₉₈」。

【0119】在某些實施例中，抗原決定基與HLA I類分子複合。人類白細胞抗原(HLA)系統(人類中之主要組織相容性複合物[MHC])為免疫系統之重要部分且受定位於染色體6上之基因控制。其編碼經特化以將抗原肽呈遞至T細胞上之T細胞受體(TCR)之細胞表面分子。(亦參見 Overview of the Immune System。)呈遞抗原(Ag)之MHC分子分為2個主要類別：I類MHC分子及II類MHC分子。

【0120】I類MHC分子以跨膜醣蛋白形式存在於所有有核細胞之表面。完整I類分子由結合於 β -2微球蛋白分子之 α 重鏈組成。重鏈由2個肽結合結構域、Ig樣結構域及具有胞質尾部之跨膜區組成。I類分子之重鏈由HLA-A、HLA-B及HLA-C基因座處之基因編碼。表現CD8分子之T細胞與I類MHC分子反應。此等淋巴細胞常常具有細胞毒性功能，此需要其能夠識別任何感染之細胞。因為每個有核細胞均表現I類MHC分子，故所有感染之細胞均可充當CD8 T細胞之抗原呈遞細胞(CD8結合於I類重鏈之非多型部分)。一些I類MHC基因編碼非經典MHC分子，諸如HLA-G

(其可在保護胎兒不受母體免疫反應影響中起作用)及HLA-E (其將肽呈遞至自然殺手[NK]細胞上之某些受體)。

【0121】 在一些實施例中，HLA 1類分子選自HLA-A、HLA-B及HLA-C等位基因。在一些實施例中，HLA 1類分子選自HLA-E、HLA-F及HLA-G等位基因。在某些實施例中，HLA 1類分子為HLA-A等位基因。在某些實施例中，HLA 1類分子為HLA-B等位基因。在某些實施例中，HLA 1類分子為HLA-C等位基因。

【0122】 許多HLA-A、HLA-B及HLA-C等位基因為此項技術中已知的，且已知等位基因中之任一者均可用於本發明中。HLA等位基因之更新列表可在hla.alleles.org/ (最後訪問日期2019年2月27日)獲得。在一些實施例中，HLA 1類分子為選自以下之HLA-C等位基因：HLA-C*01、HLA-C*02、HLA-C*03、HLA-C*04、HLA-C*05、HLA-C*06、HLA-C*07、HLA-C*08、HLA-C*12、HLA-C*14、HLA-C*15、HLA-C*16、HLA-C*17及HLA-C*18。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:01等位基因。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:02等位基因。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:03等位基因。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:04等位基因。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:05等位基因。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:06等位基因。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:07等位基因。在某些實施例中，HLA-C等

位基因為HLA-C*06:08等位基因。

【0123】在某些實施例中，HLA 1類分子為選自由以下組成之群的HLA-C等位基因：HLA-C*06:02:01:01、HLA-C*06:02:01:02、HLA-C*06:02:01:03、HLA-C*06:02:01:04、HLA-C*06:02:01:05、HLA-C*06:02:01:06、HLA-C*06:02:01:07、HLA-C*06:02:01:08、HLA-C*06:02:01:09、HLA-C*06:02:01:10、HLA-C*06:02:01:11、HLA-C*06:02:01:12、HLA-C*06:02:01:13、HLA-C*06:02:01:14、HLA-C*06:02:01:15、HLA-C*06:02:01:16、HLA-C*06:02:01:17、HLA-C*06:02:03、HLA-C*06:02:04、HLA-C*06:02:05、HLA-C*06:02:06、HLA-C*06:02:07、HLA-C*06:02:08、HLA-C*06:02:09、HLA-C*06:02:10、HLA-C*06:02:11、HLA-C*06:02:12、HLA-C*06:02:13、HLA-C*06:02:14、HLA-C*06:02:15、HLA-C*06:02:16、HLA-C*06:02:17、HLA-C*06:02:18、HLA-C*06:02:19、HLA-C*06:02:20、HLA-C*06:02:21、HLA-C*06:02:22、HLA-C*06:02:23、HLA-C*06:02:24、HLA-C*06:02:25、HLA-C*06:02:26、HLA-C*06:02:27、HLA-C*06:02:28、HLA-C*06:02:29、HLA-C*06:02:30、HLA-C*06:02:31、HLA-C*06:02:32、HLA-C*06:02:33、HLA-C*06:02:34、HLA-C*06:02:35、HLA-C*06:02:36、HLA-C*06:02:37、HLA-C*06:02:38、HLA-C*06:02:39、HLA-C*06:02:40、HLA-C*06:02:41、HLA-C*06:02:42、HLA-C*06:02:43、HLA-C*06:02:44、HLA-C*06:02:45、HLA-C*06:02:46、HLA-C*06:02:47、HLA-C*06:02:48、HLA-C*06:02:49、

HLA-C*06:02:50:01、HLA-C*06:02:50:02、HLA-C*06:02:51、
HLA-C*06:02:52、HLA-C*06:02:53、HLA-C*06:02:54、
HLA-C*06:02:55、HLA-C*06:02:56、HLA-C*06:02:57、
HLA-C*06:02:58、HLA-C*06:02:59、HLA-C*06:02:60、
HLA-C*06:02:61、HLA-C*06:02:62、HLA-C*06:02:63、
HLA-C*06:02:64、HLA-C*06:02:65、HLA-C*06:02:66、
HLA-C*06:02:67、HLA-C*06:02:68、HLA-C*06:02:69、
HLA-C*06:02:70及HLA-C*06:02:71。在一些實施例中，
HLA 1類分子為選自由以下組成之群的HLA-C等位基因：
HLA-C*06:03:01、HLA-C*06:03:02、HLA-C*06:04:01、
HLA-C*06:04:02、HLA-C*06:05、HLA-C*06:06、HLA-
C*06:07、HLA-C*06:08、HLA-C*06:09:01、HLA-C*06:09:02、
HLA-C*06:10、HLA-C*06:100、HLA-C*06:101、HLA-
C*06:102:01、HLA-C*06:102:02、HLA-C*06:103、HLA-
C*06:104、HLA-C*06:105、HLA-C*06:106:01、HLA-
C*06:106:02、HLA-C*06:107、HLA-C*06:108、HLA-
C*06:109、HLA-C*06:11、HLA-C*06:110、HLA-C*06:111、
HLA-C*06:112、HLA-C*06:113、HLA-C*06:114、HLA-
C*06:115、HLA-C*06:116、HLA-C*06:117、HLA-C*06:118、
HLA-C*06:119、HLA-C*06:12、HLA-C*06:120、HLA-
C*06:121、HLA-C*06:122、HLA-C*06:123、HLA-C*06:124、
HLA-C*06:125、HLA-C*06:126、HLA-C*06:127:01:01、
HLA-C*06:127:01:02、HLA-C*06:127:02、HLA-C*06:128、
HLA-C*06:129、HLA-C*06:13、HLA-C*06:130、HLA-

C*06:131 、 HLA-C*06:132:01 、 HLA-C*06:132:02 、 HLA-C*06:133 、 HLA-C*06:134 、 HLA-C*06:135 、 HLA-C*06:136 、 HLA-C*06:137 、 HLA-C*06:138 、 HLA-C*06:139 、 HLA-C*06:14 、 HLA-C*06:140 、 HLA-C*06:141 、 HLA-C*06:142 、 HLA-C*06:143 、 HLA-C*06:144 、 HLA-C*06:145 、 HLA-C*06:146 、 HLA-C*06:147 、 HLA-C*06:148 、 HLA-C*06:149 、 HLA-C*06:15 、 HLA-C*06:150 、 HLA-C*06:151 、 HLA-C*06:152 、 HLA-C*06:153 、 HLA-C*06:154 、 HLA-C*06:155:01:01 、 HLA-C*06:155:01:02 、 HLA-C*06:156 、 HLA-C*06:157 、 HLA-C*06:158 、 HLA-C*06:159 、 HLA-C*06:160 、 HLA-C*06:161 、 HLA-C*06:162 、 HLA-C*06:163 、 HLA-C*06:164 、 HLA-C*06:165 、 HLA-C*06:166 、 HLA-C*06:167 、 HLA-C*06:168 、 HLA-C*06:169 、 HLA-C*06:16 、 HLA-C*06:17 、 HLA-C*06:170 、 HLA-C*06:171:01:01 、 HLA-C*06:171:01:02 、 HLA-C*06:172 、 HLA-C*06:173 、 HLA-C*06:174 、 HLA-C*06:175 、 HLA-C*06:176 、 HLA-C*06:177 、 HLA-C*06:178 、 HLA-C*06:179 、 HLA-C*06:18 、 HLA-C*06:180 、 HLA-C*06:181 、 HLA-C*06:182 、 HLA-C*06:183 、 HLA-C*06:184 、 HLA-C*06:185 、 HLA-C*06:186 、 HLA-C*06:187 、 HLA-C*06:188 、 HLA-C*06:189 、 HLA-C*06:19 、 HLA-C*06:190 、 HLA-C*06:191 、 HLA-C*06:192 、 HLA-C*06:193 、 HLA-C*06:194 、 HLA-C*06:195 、 HLA-C*06:196 、 HLA-C*06:197 、 HLA-C*06:198 、 HLA-C*06:199 、 HLA-C*06:20 、 HLA-C*06:200 、 HLA-C*06:201 、 HLA-

C*06:202 、 HLA-C*06:203 、 HLA-C*06:204 、 HLA-C*06:205 、
HLA-C*06:206 、 HLA-C*06:207 、 HLA-C*06:208 、 HLA-
C*06:209 、 HLA-C*06:21 、 HLA-C*06:210 、 HLA-C*06:211 、
HLA-C*06:212 、 HLA-C*06:213 、 HLA-C*06:214 、 HLA-
C*06:215 、 HLA-C*06:216 、 HLA-C*06:217 、 HLA-C*06:218 、
HLA-C*06:219 、 HLA-C*06:22 、 HLA-C*06:220 、 HLA-
C*06:221 、 HLA-C*06:222 、 HLA-C*06:223 、 HLA-C*06:224 、
HLA-C*06:225 、 HLA-C*06:226 、 HLA-C*06:227 、 HLA-
C*06:228 、 HLA-C*06:229 、 HLA-C*06:23 、 HLA-C*06:230 、
HLA-C*06:231 、 HLA-C*06:232 、 HLA-C*06:233 、 HLA-
C*06:234 、 HLA-C*06:235 、 HLA-C*06:236 、 HLA-C*06:237 、
HLA-C*06:238 、 HLA-C*06:239 、 HLA-C*06:24 、 HLA-
C*06:240 、 HLA-C*06:241 、 HLA-C*06:242 、 HLA-C*06:243 、
HLA-C*06:244 、 HLA-C*06:245 、 HLA-C*06:246 、 HLA-
C*06:247 、 HLA-C*06:248 、 HLA-C*06:249 、 HLA-C*06:25 、
HLA-C*06:250 、 HLA-C*06:251 、 HLA-C*06:26 、 HLA-
C*06:27 、 HLA-C*06:28 、 HLA-C*06:29 、 HLA-C*06:30 、 HLA-
C*06:31 、 HLA-C*06:32 、 HLA-C*06:33 、 HLA-C*06:34:01 、
HLA-C*06:34:02 、 HLA-C*06:35 、 HLA-C*06:36 、 HLA-
C*06:37 、 HLA-C*06:38 、 HLA-C*06:39 、 HLA-C*06:40 、
HLA-C*06:41 、 HLA-C*06:42:01 、 HLA-C*06:42:02 、 HLA-
C*06:43:01 、 HLA-C*06:43:02 、 HLA-C*06:44 、 HLA-
C*06:45 、 HLA-C*06:46 、 HLA-C*06:47 、 HLA-C*06:48 、
HLA-C*06:49 、 HLA-C*06:50 、 HLA-C*06:51 、 HLA-C*06:52 、

HLA-C*06:53:01 、 HLA-C*06:53:02 、 HLA-C*06:54 、 HLA-C*06:55 、 HLA-C*06:56 、 HLA-C*06:57 、 HLA-C*06:58 、 HLA-C*06:59 、 HLA-C*06:60 、 HLA-C*06:61 、 HLA-C*06:62 、 HLA-C*06:63 、 HLA-C*06:64 、 HLA-C*06:65 、 HLA-C*06:66 、 HLA-C*06:67 、 HLA-C*06:68 、 HLA-C*06:69 、 HLA-C*06:70:01 、 HLA-C*06:70:02 、 HLA-C*06:71 、 HLA-C*06:72 、 HLA-C*06:73 、 HLA-C*06:74 、 HLA-C*06:75 、 HLA-C*06:76:01 、 HLA-C*06:76:02 、 HLA-C*06:77 、 HLA-C*06:78 、 HLA-C*06:79 、 HLA-C*06:80 、 HLA-C*06:81 、 HLA-C*06:82 、 HLA-C*06:83 、 HLA-C*06:84 、 HLA-C*06:85 、 HLA-C*06:86 、 HLA-C*06:87 、 HLA-C*06:88 、 HLA-C*06:89 、 HLA-C*06:90 、 HLA-C*06:91 、 HLA-C*06:92 、 HLA-C*06:93 、 HLA-C*06:94 、 HLA-C*06:95 、 HLA-C*06:96 、 HLA-C*06:97 、 HLA-C*06:98 、 HLA-C*06:99 。

II.A.3 第二核苷酸序列

【0124】本文所揭示之核酸分子之第二核苷酸序列可為能夠抑制內源TCR之表現的任何序列或可編碼能夠抑制內源TCR之表現的任何多肽。在一些實施例中，第二核苷酸序列為一或多個siRNA。在一些實施例中，一或多個siRNA與編碼內源TCR之恆定區之核苷酸序列內的目標序列互補。在某些實施例中，一或多個siRNA與編碼野生型人類TCR之恆定區之核苷酸序列內的目標序列互補。在一些實施例中，一或多個siRNA與編碼野生型TCR之 α 鏈之恆

定區的核苷酸序列內之目標序列互補。在一些實施例中，一或多個 siRNA 與編碼野生型 TCR 之 β 鏈之恆定區的核苷酸序列內之目標序列互補。在一些實施例中，一或多個 siRNA 包含 (i) 與編碼野生型 TCR 之 α 鏈之恆定區的核苷酸序列內之目標序列互補的一或多個 siRNA 及 (ii) 與編碼野生型 TCR 之 β 鏈之恆定區的核苷酸序列內之目標序列互補的一或多個 siRNA。

【0125】 在一些實施例中，一或多個 siRNA 包含選自由 SEQ ID NO: 53-56 組成之群的核苷酸序列(表 4)。在一些實施例中，核酸分子之第二核苷酸序列編碼一或多個 siRNA，其中該一或多個 siRNA 與編碼野生型 TCR 之 α 鏈之恆定區的核苷酸序列內之目標序列互補，且其中該一或多個 siRNA 包含 SEQ ID NO: 53 及 54 中所列之核酸序列。

表 4. siRNA 序列

SEQ ID NO:	siRNA	序列(核苷酸 1-19 為核糖核苷酸；核苷酸 20-21 為去氧核糖核苷酸)
53	siRNA-TCRa-1	GUAAGGAUUCUGAUGUGUATT
54	siRNA-TCRa-2	UACACAUCAGAAUCCUUA CTT
55	siRNA-TCRb-1	CCACCAUCCUCUAUGAGAUTT
56	siRNA-TCRb-2	AUCUCAUAGAGGAUGGUGGTT

【0126】 在一些實施例中，核酸分子之第二核苷酸序列編碼一或多個 siRNA，其中該一或多個 siRNA 與編碼野生型 TCR 之 β 鏈之恆定區的核苷酸序列內之目標序列互補，且其中該一或多個 siRNA 包含 SEQ ID NO: 55 及 56 中所列之核酸序列。在一些實施例中，核酸分子之第二核苷酸序列編碼一或多個 siRNA，其中該一或多個 siRNA 包含 (i)

與編碼野生型TCR之 α 鏈之恆定區的核苷酸序列內之目標序列互補的一或多個siRNA，其中該一或多個siRNA包含SEQ ID NO: 53及54中所列之核酸序列；及(ii)與編碼野生型TCR之 β 鏈之恆定區的核苷酸序列內之目標序列互補的一或多個siRNA，其中該一或多個siRNA包含SEQ ID NO: 55及56中所列之核酸序列。

【0127】在一些實施例中，核酸分子之第二核苷酸序列包含SEQ ID NO: 53-56。在一些實施例中，第二核苷酸序列包含SEQ ID NO: 53-56，其中SEQ ID NO: 53-56中之一或多者由一或多個不編碼siRNA之核酸隔開。在某些實施例中，該一或多個siRNA選自揭示於美國公開案第2010/0273213 A1號中之siRNA，該公開案以全文引用之方式併入本文中。

【0128】在一些實施例中，核酸分子之第二核苷酸序列編碼蛋白質，其中該蛋白質能夠抑制內源(例如野生型)TCR之表現。在一些實施例中，第二核苷酸序列編碼Cas9。

II.A.3 載體

【0129】本發明之某些態樣係有關包含本文所揭示之核酸分子的載體。在一些實施例中，載體為病毒載體。在一些實施例中，載體為病毒粒子或病毒。在一些實施例中，載體為哺乳動物載體。在一些實施例中，載體為細菌載體。

【0130】在某些實施例中，載體為反轉錄病毒載體。在一些實施例中，載體選自由以下組成之群：腺病毒載體、慢病毒、仙台病毒、桿狀病毒載體、艾司坦巴爾病毒載體、乳多空病毒載體、痘瘡病毒載體、單純疱疹病毒載體及腺相關病毒(AAV)載體。在特定實施例中，載體為AAV載體。在一些實施例中，載體為慢病毒。在特定實施例中，載體為AAV載體。在一些實施例中，載體為仙台病毒。在一些實施例中，載體為雜合載體。可用於本發明中之雜合載體的實例可見於Huang及Kamihira, *Biotechnol. Adv.* 31(2):208-23 (2103)中，該參考文獻以全文引用之方式併入本文中。

II.B. 重組T細胞受體(TCR)

【0131】本發明之某些態樣係有關特異性結合人類gp100之重組T細胞受體(TCR)或其抗原結合部分(「抗gp100 TCR」)。在一些實施例中，抗gp100 TCR由本文所揭示之核酸分子編碼。

【0132】在一些實施例中，抗gp100 TCR與參考TCR交叉競爭結合於人類gp100。在一些實施例中，抗gp100 TCR結合人類gp100之與參考TCR相同之抗原決定基或重疊之抗原決定基。在一些實施例中，參考TCR包含 α 鏈及 β 鏈，且參考TCR之 α 鏈包含如SEQ ID NO: 1中所列之胺基酸序列。在一些實施例中，參考TCR之 β 鏈包含如SEQ ID NO: 2中所列之胺基酸序列。

【0133】 在一些實施例中，抗 gp100 TCR 包含 α 鏈及 β 鏈，其中 α 鏈包含恆定區，且其中 β 鏈包含恆定區；其中 α 鏈恆定區包含相對於包含 SEQ ID NO: 1 中所列之胺基酸序列的 α 鏈之恆定區具有至少 1 個、至少 2 個、至少 3 個、至少 4 個或至少 5 個胺基酸取代的胺基酸序列。在一些實施例中，抗 gp100 TCR 包含 α 鏈及 β 鏈，其中 α 鏈包含恆定區，且其中 β 鏈包含恆定區；其中 β 鏈恆定區包含相對於包含 SEQ ID NO: 2 中所列之胺基酸序列的 β 鏈之恆定區具有至少 1 個、至少 2 個、至少 3 個、至少 4 個或至少 5 個胺基酸取代的胺基酸序列。

【0134】 在一些實施例中，抗 gp100 TCR 包含 α 鏈及 β 鏈，其中 α 鏈包含恆定區，且其中 β 鏈包含恆定區；其中 (i) α 鏈恆定區包含相對於包含 SEQ ID NO: 1 中所列之胺基酸序列的 α 鏈之恆定區具有至少 1 個、至少 2 個、至少 3 個、至少 4 個或至少 5 個胺基酸取代的胺基酸序列；且 (ii) β 鏈恆定區包含相對於包含 SEQ ID NO: 2 中所列之胺基酸序列的 β 鏈之恆定區具有至少 1 個、至少 2 個、至少 3 個、至少 4 個或至少 5 個胺基酸取代的胺基酸序列。

【0135】 在一些實施例中，抗 gp100 TCR 之 α 鏈包含含有 α 鏈 CDR1、 α 鏈 CDR2 及 α 鏈 CDR3 之可變域；且抗 gp100 TCR 之 β 鏈包含含有 β 鏈 CDR1、 β 鏈 CDR2 及 β 鏈 CDR3 之可變域。在一些實施例中，抗 gp100 TCR 包含含有如 SEQ ID NO: 7 中所列之胺基酸序列的 α 鏈 CDR3。在一些實施例中，抗 gp100 TCR 包含含有如 SEQ ID NO: 10 中所列之胺基

酸序列的 β 鏈CDR3。

【0136】在一些實施例中，抗gp100 TCR之 α 鏈CDR1包含如SEQ ID NO: 5中所列之胺基酸序列。在一些實施例中，抗gp100 TCR之 β 鏈CDR1包含如SEQ ID NO: 8中所列之胺基酸序列。

【0137】在一些實施例中，抗gp100 TCR之 α 鏈CDR2包含如SEQ ID NO: 6中所列之胺基酸序列。在一些實施例中，抗gp100 TCR之 β 鏈CDR2包含如SEQ ID NO: 9中所列之胺基酸序列。

【0138】在一些實施例中，抗gp100 TCR包含與SEQ ID NO: 1中所列之 α 鏈胺基酸序列之可變域具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%序列一致性的 α 鏈可變域。在一些實施例中，抗gp100 TCR包含與SEQ ID NO: 1中所列之 α 鏈胺基酸序列之可變域具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%或至少約99%序列一致性的 α 鏈可變域，其中抗gp100 TCR包含含有如SEQ ID NO: 7中所列之胺基酸序列的 α 鏈CDR3。在一些實施例中，抗gp100 TCR包含SEQ ID NO: 1所列之 α 鏈胺基酸序列中存在的 α 鏈可變域。

【0139】在一些實施例中，抗gp100 TCR包含與SEQ ID NO: 2中所列之 β 鏈胺基酸序列之可變域具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約

96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%序列一致性的 β 鏈可變域。在一些實施例中，抗gp100 TCR包含與SEQ ID NO: 2中所列之 β 鏈胺基酸序列之可變域具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%或至少約99%序列一致性的 β 鏈可變域，其中抗gp100 TCR包含含有如SEQ ID NO: 10中所列之胺基酸序列的 β 鏈CDR3。在一些實施例中，抗gp100 TCR包含SEQ ID NO: 2所列之 β 鏈胺基酸序列中存在的 β 鏈可變域。

【0140】在一些實施例中，由第一核苷酸編碼之抗gp100 TCR進一步包含 α 鏈恆定區、 β 鏈恆定區或 α 鏈恆定區與 β 鏈恆定區兩者。在一些實施例中，抗gp100 TCR包含與SEQ ID NO: 1中所列之 α 鏈胺基酸序列之恆定區具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%序列一致性的 α 鏈恆定區。在一些實施例中，抗gp100 TCR包含與SEQ ID NO: 1中所列之 α 鏈胺基酸序列之恆定區具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%或至少約99%序列一致性的 α 鏈恆定區，其中抗gp100 TCR包含含有如SEQ ID NO: 7中所列之胺基酸序列的 α 鏈CDR3。在一些實施例中，抗gp100 TCR包含SEQ ID NO: 1所列之 α 鏈胺基酸序列中存在的 α 鏈恆定區。在一些實施例中，由第一核苷酸編碼之抗gp100 TCR進一步包含不同於 α 鏈之內源(例如天然存在之)

恆定區的 α 恆定區。在一些實施例中， α 鏈恆定區包含相對於SEQ ID NO: 1中所列之 α 鏈胺基酸序列之恆定區的胺基酸序列含有至少1個、至少2個、至少3個、至少4個或至少5個胺基酸取代的胺基酸序列。

【0141】在一些實施例中，抗gp100 TCR包含與SEQ ID NO: 2中所列之 β 鏈胺基酸序列之恆定區具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%序列一致性的 β 鏈恆定區。在一些實施例中，抗gp100 TCR包含與SEQ ID NO: 2中所列之 β 鏈胺基酸序列之恆定區具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%或至少約99%序列一致性的 β 鏈恆定區，其中抗gp100 TCR包含含有如SEQ ID NO: 10中所列之胺基酸序列的 β 鏈CDR3。在一些實施例中，抗gp100 TCR包含SEQ ID NO: 2所列之 β 鏈胺基酸序列中存在的 β 鏈恆定區。在一些實施例中，由第一核苷酸編碼之抗gp100 TCR進一步包含不同於 β 鏈之內源(例如天然存在之)恆定區的 β 恆定區。在一些實施例中， β 鏈恆定區包含相對於SEQ ID NO: 2中所列之 β 鏈胺基酸序列之恆定區的胺基酸序列包含至少1個、至少2個、至少3個、至少4個或至少5個胺基酸取代的胺基酸序列。

【0142】在某些實施例中，抗gp100 TCR包含與SEQ ID NO: 1中所列之 α 鏈胺基酸序列具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約

97%、至少約98%、至少約99%或約100%序列一致性的 α 鏈。在一些實施例中，抗gp100 TCR包含與SEQ ID NO: 1中所列之 α 鏈胺基酸序列具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%序列一致性的 α 鏈，其中抗gp100 TCR包含含有如SEQ ID NO: 7中所列之胺基酸序列的 α 鏈CDR3。在一些實施例中，抗gp100 TCR包含含有SEQ ID NO: 1中所列之胺基酸序列的 α 鏈。

【0143】在某些實施例中，抗gp100 TCR包含與SEQ ID NO: 2中所列之 β 鏈胺基酸序列具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%序列一致性的 β 鏈。在一些實施例中，抗gp100 TCR包含與SEQ ID NO: 2中所列之 β 鏈胺基酸序列具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%序列一致性的 β 鏈，其中抗gp100 TCR包含含有如SEQ ID NO: 10中所列之胺基酸序列的 β 鏈CDR3。在一些實施例中，抗gp100 TCR包含含有SEQ ID NO: 2中所列之胺基酸序列的 β 鏈。

【0144】在一些實施例中，抗gp100 TCR包含 α 鏈恆定區、 β 鏈恆定區或兩者；且其中 α 鏈恆定區、 β 鏈恆定區或兩者包含相對於內源TCR之對應胺基酸序列在目標序列內具有至少1個、至少2個、至少3個、至少4個或至少5個取代的胺基酸序列。

II.B.2. 抗原決定基

【0145】在一些實施例中，抗 gp100 TCR與參考TCR結合相同之抗原決定基。在一些實施例中，抗 gp100 TCR結合於 gp100之包含SEQ ID NO: 13中所列之胺基酸序列的抗原決定基。在一些實施例中，抗 gp100 TCR結合於 gp100之由如SEQ ID NO: 13中所列之胺基酸序列組成的抗原決定基。在一些實施例中，抗原決定基由 gp100之胺基酸殘基190-198 (SEQ ID NO: 52)組成，例如「gp100₁₉₀₋₁₉₈」。

【0146】在某些實施例中，抗原決定基與HLA I類分子複合。在一些實施例中，HLA I類分子選自HLA-A、HLA-B及HLA-C等位基因。在一些實施例中，HLA I類分子選自HLA-E、HLA-F及HLA-G等位基因。在某些實施例中，HLA I類分子為HLA-A等位基因。在某些實施例中，HLA I類分子為HLA-B等位基因。在某些實施例中，HLA I類分子為HLA-C等位基因。

【0147】許多HLA-A、HLA-B及HLA-C等位基因為此項技術中已知的，且已知等位基因中之任一者均可用於本發明中。HLA等位基因之更新列表可在hla.alleles.org/ (最後訪問日期2019年2月27日)獲得。在一些實施例中，HLA I類分子為選自以下之HLA-C等位基因：HLA-C*01、HLA-C*02、HLA-C*03、HLA-C*04、HLA-C*05、HLA-C*06、HLA-C*07、HLA-C*08、HLA-C*12、HLA-C*14、HLA-C*15、HLA-C*16、HLA-C*17及HLA-C*18。在某些實施

例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:01等位基因。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:02等位基因。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:03等位基因。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:04等位基因。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:05等位基因。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:06等位基因。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:07等位基因。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:08等位基因。

【0148】在某些實施例中，HLA 1類分子為選自由以下組成之群的HLA-C等位基因：HLA-C*06:02:01:01、HLA-C*06:02:01:02、HLA-C*06:02:01:03、HLA-C*06:02:01:04、HLA-C*06:02:01:05、HLA-C*06:02:01:06、HLA-C*06:02:01:07、HLA-C*06:02:01:08、HLA-C*06:02:01:09、HLA-C*06:02:01:10、HLA-C*06:02:01:11、HLA-C*06:02:01:12、HLA-C*06:02:01:13、HLA-C*06:02:01:14、HLA-C*06:02:01:15、HLA-C*06:02:01:16、HLA-C*06:02:01:17、HLA-C*06:02:03、HLA-C*06:02:04、HLA-C*06:02:05、HLA-C*06:02:06、HLA-C*06:02:07、HLA-C*06:02:08、HLA-C*06:02:09、HLA-C*06:02:10、HLA-C*06:02:11、HLA-C*06:02:12、HLA-C*06:02:13、HLA-C*06:02:14、HLA-C*06:02:15、HLA-C*06:02:16、HLA-C*06:02:17、HLA-C*06:02:18、HLA-C*06:02:19、HLA-C*06:02:20、HLA-C*06:02:21、HLA-C*06:02:22、HLA-C*06:02:23、HLA-C*06:02:24、HLA-C*06:02:25、HLA-

C*06:02:26 、 HLA-C*06:02:27 、 HLA-C*06:02:28 、 HLA-C*06:02:29 、 HLA-C*06:02:30 、 HLA-C*06:02:31 、 HLA-C*06:02:32 、 HLA-C*06:02:33 、 HLA-C*06:02:34 、 HLA-C*06:02:35 、 HLA-C*06:02:36 、 HLA-C*06:02:37 、 HLA-C*06:02:38 、 HLA-C*06:02:39 、 HLA-C*06:02:40 、 HLA-C*06:02:41 、 HLA-C*06:02:42 、 HLA-C*06:02:43 、 HLA-C*06:02:44 、 HLA-C*06:02:45 、 HLA-C*06:02:46 、 HLA-C*06:02:47 、 HLA-C*06:02:48 、 HLA-C*06:02:49 、 HLA-C*06:02:50:01 、 HLA-C*06:02:50:02 、 HLA-C*06:02:51 、 HLA-C*06:02:52 、 HLA-C*06:02:53 、 HLA-C*06:02:54 、 HLA-C*06:02:55 、 HLA-C*06:02:56 、 HLA-C*06:02:57 、 HLA-C*06:02:58 、 HLA-C*06:02:59 、 HLA-C*06:02:60 、 HLA-C*06:02:61 、 HLA-C*06:02:62 、 HLA-C*06:02:63 、 HLA-C*06:02:64 、 HLA-C*06:02:65 、 HLA-C*06:02:66 、 HLA-C*06:02:67 、 HLA-C*06:02:68 、 HLA-C*06:02:69 、 HLA-C*06:02:70 及 HLA-C*06:02:71 。 在 一 些 實 施 例 中 ， HLA 1 類 分 子 為 選 自 由 以 下 組 成 之 群 的 HLA-C 等 位 基 因 ： HLA-C*06:03:01 、 HLA-C*06:03:02 、 HLA-C*06:04:01 、 HLA-C*06:04:02 、 HLA-C*06:05 、 HLA-C*06:06 、 HLA-C*06:07 、 HLA-C*06:08 、 HLA-C*06:09:01 、 HLA-C*06:09:02 、 HLA-C*06:10 、 HLA-C*06:100 、 HLA-C*06:101 、 HLA-C*06:102:01 、 HLA-C*06:102:02 、 HLA-C*06:103 、 HLA-C*06:104 、 HLA-C*06:105 、 HLA-C*06:106:01 、 HLA-C*06:106:02 、 HLA-C*06:107 、 HLA-C*06:108 、 HLA-

C*06:109、HLA-C*06:11、HLA-C*06:110、HLA-C*06:111、
HLA-C*06:112、HLA-C*06:113、HLA-C*06:114、HLA-
C*06:115、HLA-C*06:116、HLA-C*06:117、HLA-C*06:118、
HLA-C*06:119、HLA-C*06:12、HLA-C*06:120、HLA-
C*06:121、HLA-C*06:122、HLA-C*06:123、HLA-C*06:124、
HLA-C*06:125、HLA-C*06:126、HLA-C*06:127:01:01、
HLA-C*06:127:01:02、HLA-C*06:127:02、HLA-C*06:128、
HLA-C*06:129、HLA-C*06:13、HLA-C*06:130、HLA-
C*06:131、HLA-C*06:132:01、HLA-C*06:132:02、HLA-
C*06:133、HLA-C*06:134、HLA-C*06:135、HLA-C*06:136、
HLA-C*06:137、HLA-C*06:138、HLA-C*06:139、HLA-
C*06:14、HLA-C*06:140、HLA-C*06:141、HLA-C*06:142、
HLA-C*06:143、HLA-C*06:144、HLA-C*06:145、HLA-
C*06:146、HLA-C*06:147、HLA-C*06:148、HLA-C*06:149、
HLA-C*06:15、HLA-C*06:150、HLA-C*06:151、HLA-
C*06:152、HLA-C*06:153、HLA-C*06:154、HLA-
C*06:155:01:01、HLA-C*06:155:01:02、HLA-C*06:156、
HLA-C*06:157、HLA-C*06:158、HLA-C*06:159、HLA-
C*06:160、HLA-C*06:161、HLA-C*06:162、HLA-C*06:163、
HLA-C*06:164、HLA-C*06:165、HLA-C*06:166、HLA-
C*06:167、HLA-C*06:168、HLA-C*06:169、HLA-C*06:16、
HLA-C*06:17、HLA-C*06:170、HLA-C*06:171:01:01、
HLA-C*06:171:01:02、HLA-C*06:172、HLA-C*06:173、
HLA-C*06:174、HLA-C*06:175、HLA-C*06:176、HLA-

C*06:177 、 HLA-C*06:178 、 HLA-C*06:179 、 HLA-C*06:18 、
HLA-C*06:180 、 HLA-C*06:181 、 HLA-C*06:182 、 HLA-
C*06:183 、 HLA-C*06:184 、 HLA-C*06:185 、 HLA-C*06:186 、
HLA-C*06:187 、 HLA-C*06:188 、 HLA-C*06:189 、 HLA-
C*06:19 、 HLA-C*06:190 、 HLA-C*06:191 、 HLA-C*06:192 、
HLA-C*06:193 、 HLA-C*06:194 、 HLA-C*06:195 、 HLA-
C*06:196 、 HLA-C*06:197 、 HLA-C*06:198 、 HLA-C*06:199 、
HLA-C*06:20 、 HLA-C*06:200 、 HLA-C*06:201 、 HLA-
C*06:202 、 HLA-C*06:203 、 HLA-C*06:204 、 HLA-C*06:205 、
HLA-C*06:206 、 HLA-C*06:207 、 HLA-C*06:208 、 HLA-
C*06:209 、 HLA-C*06:21 、 HLA-C*06:210 、 HLA-C*06:211 、
HLA-C*06:212 、 HLA-C*06:213 、 HLA-C*06:214 、 HLA-
C*06:215 、 HLA-C*06:216 、 HLA-C*06:217 、 HLA-C*06:218 、
HLA-C*06:219 、 HLA-C*06:22 、 HLA-C*06:220 、 HLA-
C*06:221 、 HLA-C*06:222 、 HLA-C*06:223 、 HLA-C*06:224 、
HLA-C*06:225 、 HLA-C*06:226 、 HLA-C*06:227 、 HLA-
C*06:228 、 HLA-C*06:229 、 HLA-C*06:23 、 HLA-C*06:230 、
HLA-C*06:231 、 HLA-C*06:232 、 HLA-C*06:233 、 HLA-
C*06:234 、 HLA-C*06:235 、 HLA-C*06:236 、 HLA-C*06:237 、
HLA-C*06:238 、 HLA-C*06:239 、 HLA-C*06:24 、 HLA-
C*06:240 、 HLA-C*06:241 、 HLA-C*06:242 、 HLA-C*06:243 、
HLA-C*06:244 、 HLA-C*06:245 、 HLA-C*06:246 、 HLA-
C*06:247 、 HLA-C*06:248 、 HLA-C*06:249 、 HLA-C*06:25 、
HLA-C*06:250 、 HLA-C*06:251 、 HLA-C*06:26 、 HLA-

C*06:27、HLA-C*06:28、HLA-C*06:29、HLA-C*06:30、HLA-C*06:31、HLA-C*06:32、HLA-C*06:33、HLA-C*06:34:01、HLA-C*06:34:02、HLA-C*06:35、HLA-C*06:36、HLA-C*06:37、HLA-C*06:38、HLA-C*06:39、HLA-C*06:40、HLA-C*06:41、HLA-C*06:42:01、HLA-C*06:42:02、HLA-C*06:43:01、HLA-C*06:43:02、HLA-C*06:44、HLA-C*06:45、HLA-C*06:46、HLA-C*06:47、HLA-C*06:48、HLA-C*06:49、HLA-C*06:50、HLA-C*06:51、HLA-C*06:52、HLA-C*06:53:01、HLA-C*06:53:02、HLA-C*06:54、HLA-C*06:55、HLA-C*06:56、HLA-C*06:57、HLA-C*06:58、HLA-C*06:59、HLA-C*06:60、HLA-C*06:61、HLA-C*06:62、HLA-C*06:63、HLA-C*06:64、HLA-C*06:65、HLA-C*06:66、HLA-C*06:67、HLA-C*06:68、HLA-C*06:69、HLA-C*06:70:01、HLA-C*06:70:02、HLA-C*06:71、HLA-C*06:72、HLA-C*06:73、HLA-C*06:74、HLA-C*06:75、HLA-C*06:76:01、HLA-C*06:76:02、HLA-C*06:77、HLA-C*06:78、HLA-C*06:79、HLA-C*06:80、HLA-C*06:81、HLA-C*06:82、HLA-C*06:83、HLA-C*06:84、HLA-C*06:85、HLA-C*06:86、HLA-C*06:87、HLA-C*06:88、HLA-C*06:89、HLA-C*06:90、HLA-C*06:91、HLA-C*06:92、HLA-C*06:93、HLA-C*06:94、HLA-C*06:95、HLA-C*06:96、HLA-C*06:97、HLA-C*06:98、HLA-C*06:99。

II.B.3. 雙特異性 T 細胞受體 (TCR)

【0149】本發明之某些態樣係有關一種包含第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域之雙特異性TCR，其中第一抗原結合結構域包含本文所揭示之TCR或其抗原結合部分。在一些實施例中，第一抗原結合結構域包含單鏈可變片段(「scFv」)。

【0150】在一些實施例中，第二抗原結合結構域特異性結合於T細胞表面所表現之蛋白質。T細胞表面表現之任何蛋白質均可由本文所揭示之雙特異性抗體靶向。在某些實施例中，T細胞表面所表現之蛋白質不由其他細胞表現。在一些實施例中，T細胞表面所表現之蛋白質在一或多種其他人類免疫細胞之表面表現。在一些實施例中，T細胞表面所表現之蛋白質在一或多種其他人類免疫細胞之表面表現，但其不在人類非免疫細胞之表面表現。在一些實施例中，第二抗原結合結構域特異性結合於T細胞表面所表現之選自以下之蛋白質：CD3、CD2、CD5、CD6、CD8、CD11a (LFA-1 α)、CD43、CD45及CD53。在某些實施例中，第二抗原結合結構域特異性結合於CD3。在一些實施例中，第二抗原結合結構域包含scFv。

【0151】在一些實施例中，第一抗原結合結構域與第二抗原結合結構域藉由共價鍵鍵聯或關聯。在一些實施例中，第一抗原結合結構域與第二抗原結合結構域藉由肽鍵鍵聯。

II.C. 表現TCR之細胞

【0152】本發明之某些態樣係有關包含本文所揭示之核酸分子、本文所揭示之載體、本文所揭示之重組TCR、本文所揭示之雙特異性TCR或其任何組合的細胞。任何細胞均可用於本發明中。

【0153】在某些實施例中，細胞表現CD3。CD3表現可為天然存在的，例如CD3自由細胞內源表現之核酸序列表現。舉例而言，T細胞及自然殺手(NK)細胞天然地表現CD3。因此，在一些實施例中，細胞為T細胞或自然殺手細胞。在某些實施例中，細胞為選自自然殺手T (NKT)細胞及先天淋巴樣細胞(ILC)之T細胞。

【0154】在一些實施例中，T細胞係分離自人類個體。在一些實施例中，人類個體為將最終接受T細胞療法之相同個體。在其他實施例中，個體為供體個體，其中供體個體不為將接受T細胞療法之相同個體。

【0155】在一些實施例中，細胞為不天然地表現CD3之細胞，其中細胞已經修飾以表現CD3。在一些實施例中，細胞包含編碼CD3之轉殖基因，其中轉殖基因由細胞表現。在一些實施例中，細胞包含編碼活化細胞之內源CD3表現之蛋白質的轉殖基因。在一些實施例中，細胞包含編碼抑制細胞中之CD3表現抑制劑的蛋白質或siRNA之轉殖基因。在一些實施例中，轉殖基因併入細胞之基因組。在一些實施例中，轉殖基因未併入細胞之基因組。

【0156】在一些實施例中，經修飾以表現CD3之細胞係分離自人類個體。在一些實施例中，人類個體為將最終

接受細胞療法之相同個體。在其他實施例中，個體為供體個體，其中供體個體不為將接受細胞療法之相同個體。

II.D. HLA I類分子

【0157】本發明之某些態樣係有關一種與肽複合之HLA I類分子，其中該肽包含SEQ ID NO: 13中所列之胺基酸序列。在一些實施例中，該肽由SEQ ID NO: 13中所列之胺基酸序列組成。

【0158】在一些實施例中，HLA I類分子為HLA-A、HLA-B或HLA-C。在一些實施例中，HLA I類分子為HLA-E、HLA-F或HLA-G。在一些實施例中，HLA I類分子為選自以下之HLA-C等位基因：HLA-C*01、HLA-C*02、HLA-C*03、HLA-C*04、HLA-C*05、HLA-C*06、HLA-C*07、HLA-C*08、HLA-C*12、HLA-C*14、HLA-C*15、HLA-C*16、HLA-C*17及HLA-C*18。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:01等位基因。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:02等位基因。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:03等位基因。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:04等位基因。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:05等位基因。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:06等位基因。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:07等位基因。在某些實施例中，HLA-C等位基因為HLA-C*06:08等位基因。在一些實施例中，HLA等位基因為本

文所揭示之任何HLA等位基因，例如同上。

【0159】在一些實施例中，HLA I類分子包含 α 鏈及 β 2m。在一些實施例中， α 鏈包含 α 1結構域、 α 2結構域、 α 3結構域。在一些實施例中， β 2m包含與SEQ ID NO: 16中所列之胺基酸序列具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%序列一致性的胺基酸序列。在一些實施例中， α 鏈之序列選自在hla.alleles.org (最後訪問日期2019年2月27日)可獲得之HLA蛋白質序列中的任一者。

【0160】在一些實施例中，HLA I類分子為單體。在一些實施例中，HLA I類分子為二聚體。在一些實施例中，HLA I類分子為多聚體。在一些實施例中，HLA I類分子為三聚體。在一些實施例中，HLA I類分子為四聚體。在一些實施例中，HLA I類分子為五聚體。

【0161】本發明之某些態樣係有關包含本文所揭示之任何HLA I類分子的抗原呈遞細胞(APC)。在某些實施例中，APC表現APC表面之HLA I類分子。在某些實施例中，APC包含超過一個本文所揭示之HLA I類分子。

II.D. 疫苗

【0162】本發明之某些態樣一種癌症疫苗，其包含含有如SEQ ID NO: 13中所列之胺基酸序列的肽。在一些實施例中，癌症疫苗包含由SEQ ID NO: 13中所列之胺基酸

序列組成的肽。在一些實施例中，疫苗進一步包含一或多種賦形劑。在一些實施例中，疫苗進一步包含一或多種其他肽。在一些實施例中，該一或多種其他肽包含一或多個其他抗原決定基。

III. 本發明之方法

【0163】本發明之某些態樣係有關治療有需要之個體之癌症的方法。本發明之其他態樣係有關對靶向抗原之細胞進行工程改造的方法。本發明之其他態樣係有關富集獲自人類個體之T細胞之目標群體的方法。

III.A. 治療癌症之方法

【0164】本發明之某些態樣係有關治療有需要之個體之癌症的方法，該等方法包括向個體投與本文所揭示之核酸分子、本文所揭示之重組TCR、本文所揭示之雙特異性TCR、本文所揭示之抗原決定基或本文所揭示之HLA I類分子或者包含以上中之任一者的載體或細胞。

【0165】在一些實施例中，癌症選自黑色素瘤、骨癌、腎癌、前列腺癌、乳腺癌、結腸癌、肺癌、皮膚或眼內惡性黑色素瘤、胰臟癌、皮膚癌、頭頸癌、子宮癌、卵巢癌、直腸癌、肛門區癌、胃癌、睪丸癌、子宮癌、輸卵管癌瘤、子宮內膜癌瘤、子宮頸癌瘤、陰道癌瘤、外陰癌瘤、霍奇金氏病、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、原發性縱隔大B細胞淋巴瘤(PMBC)、彌漫性大B細胞淋巴瘤

(DLBCL)、濾泡性淋巴瘤(FL)、轉型濾泡性淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤(SMZL)、食管癌、小腸癌、內分泌系統癌、甲狀腺癌、副甲狀腺癌、腎上腺癌、軟組織肉瘤、尿道癌、陰莖癌、慢性或急性白血症、急性骨髓性白血症(AML)、慢性骨髓性白血症、急性淋巴母細胞性白血症(ALL) (包括非 T 細胞 ALL)、慢性淋巴細胞性白血症(CLL)、兒童期實體腫瘤、淋巴細胞性淋巴瘤、膀胱癌、腎臟或輸尿管癌、腎盂癌、中樞神經系統(CNS)贅瘤、原發性 CNS 淋巴瘤、腫瘤血管生成、脊柱軸腫瘤、腦幹神經膠質瘤、垂體腺瘤、卡波西氏肉瘤、表皮樣癌、鱗狀細胞癌、T 細胞淋巴瘤、環境誘發之癌症(包括由石棉誘發之彼等癌症)、其他 B 細胞惡性腫瘤及該等癌症之組合。在一些實施例中，癌症黑色素瘤。

【0166】 在一些實施例中，癌症為復發的。在一些實施例中，癌症為難治性的。在一些實施例中，癌症為晚期的。在一些實施例中，癌症為轉移性的。

【0167】 在一些實施例中，本文所揭示之方法治療個體之癌症。在一些實施例中，本文所揭示之方法降低一或多種癌症症狀之嚴重程度。在一些實施例中，本文所揭示之方法減小衍生自癌症之腫瘤的尺寸或數目。在一些實施例中，相對於未提供本文所揭示之方法的個體，本文所揭示之方法增加個體之總存活。在一些實施例中，相對於未提供本文所揭示之方法的個體，本文所揭示之方法增加個體之無進展存活。在一些實施例中，本文所揭示之方法在

個體中引起部分反應。在一些實施例中，本文所揭示之方法在個體中引起完全反應。

【0168】在一些實施例中，本文所揭示之方法包括治療有需要之個體的癌症，包括向個體投與本文所描述之細胞，其中該細胞包含本文所揭示之核酸分子、本文所揭示之載體、本文所揭示之重組TCR及/或本文所揭示之雙特異性抗體。在一些實施例中，細胞為T細胞。在一些實施例中，細胞為經修飾以表現CD3之細胞。

【0169】在一些實施例中，細胞(例如T細胞)係獲自個體。在一些實施例中，細胞(例如T細胞)係獲自除該個體外之供體。

【0170】在一些實施例中，個體在投與細胞之前經預處理。預處理可包含有助於T細胞功能及/或存活之任何物質。在一些實施例中，預處理包括向個體投與化學療法、細胞介素、蛋白質、小分子或其任何組合。在一些實施例中，預處理包括投與介白素。在一些實施例中，預處理包括投與IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15、IL-21或其任何組合。在一些實施例中，預處理包括投與環磷醯胺、氟達拉濱或兩者。在一些實施例中，預處理包括投與維生素C、AKT抑制劑、ATRA (vesanoid，維甲酸)、雷帕黴素或其任何組合。

III.B. 對靶向抗原之細胞進行工程改造之方法

【0171】本發明之某些態樣係有關對靶向抗原之細胞

進行工程改造之方法。在一些實施例中，抗原為gp100抗原。在一些實施例中，該方法包括用本文所揭示之核酸分子或本文所揭示之載體轉導細胞。細胞可為本文所描述之任何細胞。在一些實施例中，細胞為本文所描述之T細胞。在一些實施例中，細胞為如本文所描述經修飾以表現CD3之細胞。在一些實施例中，細胞(例如T細胞)係獲自需要T細胞療法之個體。在一些實施例中，細胞係獲自除需要T細胞療法之個體外的供體。在一些實施例中，細胞為T細胞或自然殺手細胞。

III.C. 富集T細胞之目標群體之方法

【0172】本發明之某些態樣係有關富集獲自人類個體之T細胞之目標群體的方法。在一些實施例中，該方法包括使T細胞與本文所揭示之HLA I類分子接觸。在一些實施例中，該方法包括使T細胞與本文所揭示之APC接觸。在一些實施例中，在接觸之後，相對於接觸之前能夠結合HLA I類分子之T細胞數目，經富集之T細胞群體包含較高數目之能夠結合HLA I類分子的T細胞。

【0173】在一些實施例中，該方法包括使T細胞在活體外與肽接觸，其中該肽包含SEQ ID NO: 13中所列之胺基酸序列。在一些實施例中，該方法包括使T細胞在活體外與肽接觸，其中該肽由SEQ ID NO: 13中所列之胺基酸序列組成。在一些實施例中，在接觸之後，相對於接觸之前能夠結合HLA I類分子之T細胞數目，經富集之T細胞群

體包含較高數目之能夠結合HLA I類分子的T細胞。

【0174】本發明之一些態樣係有關一種選擇能夠靶向腫瘤細胞之T細胞的方法。在一些實施例中，該方法包括使經分離T細胞之群體在活體外與肽接觸，其中該肽由如SEQ ID NO: 13中所列之胺基酸序列組成。在一些實施例中，T細胞係獲自人類個體。

【0175】獲自人類個體之T細胞可為本文所揭示之任何T細胞。在一些實施例中，獲自人類個體之T細胞為腫瘤浸潤淋巴細胞(TIL)。

【0176】在一些實施例中，該方法進一步包括向人類個體投與經富集之T細胞。在一些實施例中，如本文所描述，個體在接受T細胞之前經預處理。

【0177】本文所描述之各種態樣、實施例及選擇全部可以任何及所有變化型式組合。

【0178】本說明書中提及之所有出版物、專利以及專利申請案以引用之方式併入本文中，所達到之程度如同特定地且個別地指示各個別出版物、專利或專利申請案以引用之方式併入一般。

【0179】在已總體上描述了本發明之情況下，可通過參考本文所提供之實例獲得進一步理解。此等實例僅用於說明之目的且不在具限制性。

實例

實例1

【0180】自轉移性黑色素瘤患者分離 TIL，接著在活體外進行多純系擴增，且針對 HLA-C*06:02 等位基因檢驗其 gp100 抗原特異性。已將使用肽/HLA (pHLA) 多聚體之基於結構之分析與功能分析的組合用於量測 Ag-特異性 T 細胞反應。

【0181】由於 pHLA 多聚體產生需要使用具有已知確切序列之肽，故使用基於 pHLA 多聚體之策略針對新抗原決定基肽進行高通量篩選為不直接或實際的。除使用 pHLA 多聚體之基於結構之分析外，亦可應用功能分析來測定 T 細胞之抗原特異性。吾人使用人工抗原呈遞細胞 (APC) 進行功能分析，該等人工抗原呈遞細胞可處理和加工較長之肽且作為刺激細胞經由 I 類分子呈遞抗原決定基肽。使用用於涵蓋 gp100 之全蛋白的重疊肽 (表 5) 對 C*06:02-人工 APC 進行脈衝處理且在細胞介素 ELISPOT 分析中用作刺激劑。在用使用 gp100 衍生之重疊肽脈衝處理之 C*06:02-人工 APC 進行一次受控刺激之後，在 IFN- γ ELISPOT 分析中，C*06:02⁺黑色素瘤 TIL 顯示對具有共同擁有之序列₁₈₆VTVYHRRGSRSYVPL₂₀₀之兩個相鄰肽的陽性反應 (圖 1)。使用一系列突變體缺失肽，吾人確定了由 C*06:02 分子呈遞之最低需求肽抗原決定基₁₉₀HRRGSRSYV₁₉₈。吾人鑑定了 HLA-C*06:02/gp100₁₉₀₋₁₉₈ T 細胞，該等 T 細胞佔多純系擴增之 TIL 中的 CD8⁺ T 細胞之 1.2% (圖 2)。根據 ELISPOT 分析，多聚體陽性 T 細胞以 HLA 限制性肽特異性方式分泌可偵測之 IFN- γ (圖 3)。

表 5. gp100 重疊肽.

位置	肽序列	SEQ ID NO	位置	肽序列	SEQ ID NO
1	MDLVLRCLLHLAVIGALLA	64	326	QVPTTEVVGTTPGQAPTAEP	129
6	KRCLLHLAVIGALLAVGATK	65	331	EVVGTTTPGQAPTAEPSGTTS	130
11	HLAVIGALLAVGATKVPRNQ	66	336	TPGQAPTAEPSGTTSVQVPT	131
16	GALLAVGATKVPRNQDWLGV	67	341	PTAEPSGTTSVQVPTTEVIS	132
21	VGATKVPRNQDWLGVSRQLR	68	346	SGTTSVQVPTTEVISTAPVQ	133
26	VPRNQDWLGVSRQLRTKAWN	69	351	VQVPTTEVISTAPVQMPTAE	134
31	DWLGVSRQLRTKAWNRLYP	70	356	TEVISTAPVQMPTAESTGMT	135
36	SRQLRTKAWNRLYPEWTEA	71	361	TAPVQMPTAESTGMTPEKVP	136
41	TKAWNRLYPEWTEAQRLDC	72	366	MPTAESTGMTPEKVPVSEVM	137
46	RQLYPEWTEAQRLDCWRGGQ	73	371	STGMTPEKVPVSEVMGTTLA	138
51	EWTEAQRLDCWRGGQVSLKV	74	376	PEKVPVSEVMGTTLAEMSTP	139
56	QRLDCWRGGQVSLKVSNDGP	75	381	VSEVMGTTLAEMSTPEATGM	140
61	WRGGQVSLKVSNDGPTLIGA	76	386	GTTLAEMSTPEATGMTPAEV	141
66	VSLKVSNDGPTLIGANASFS	77	391	EMSTPEATGMTPAEVSIVVL	142
71	SNDGPTLIGANASFSIALNF	78	396	EATGMTPAEVSIVVLSGTTA	143
76	TLIGANASFSIALNFPGSQK	79	401	TPAEVSIVVLSGTTAAQVTT	144
81	NASFSIALNFPGSQKVLDPG	80	406	SIVVLSGTTAAQVTTTEWVE	145
86	IALNFPGSQKVLDPGQVIWV	81	411	SGTTAAQVTTTEWVETTARE	146
91	PGSQKVLDPGQVIWVNNTII	82	416	AQVTTTEWVETTARELPIPE	147
96	VLPDGQVIWVNNTIINGSQV	83	421	TEWVETTARELPIPEPEGPD	148
101	QVIWVNNTIINGSQVWGGQP	84	426	TTARELPIPEPEGPDASSIM	149
106	NNTIINGSQVWGGQPVYPQE	85	431	LPIPEPEGPDASSIMSTESI	150
111	NGSQVWGGQPVYPQETDDAC	86	436	PEGPDASSIMSTESITGSLG	151
116	WGGQPVYPQETDDACIFPDG	87	441	ASSIMSTESITGSLGPLLDG	152
121	VYPQETDDACIFPDGGPCPS	88	446	STESITGSLGPLLDGTATLR	153
126	TDDACIFPDGGPCPSGWSQ	89	451	TGSLGPLLDGTATLRLVKRQ	154
131	IFPDGGPCPSGWSQKRSFV	90	456	PLLDGTATLRLVKRQVPLDC	155
136	GPCPSGWSQKRSFVYVWKT	91	461	TATLRLVKRQVPLDCVLYRY	156
141	GWSQKRSFVYVWKTWGQYW	92	466	LVKRQVPLDCVLYRYGSFSV	157
146	KRSFVYVWKTWGQYWQVLGG	93	471	VPLDCVLYRYGSFSVTLDIV	158
151	YVWKTWGQYWQVLGGPVSGL	94	476	VLYRYGSFSVTLDIVQGIES	159
156	WGQYWQVLGGPVSGLSIGTG	95	481	GSFSVTLDIVQGIESAEILQ	160
161	QVLGGPVSGLSIGTGGRAMLG	96	486	TLDIVQGIESAEILQAVPSG	161
166	PVSGLSIGTGGRAMLGHTME	97	491	QGIESAEILQAVPSGEGDAF	162
171	SIGTGGRAMLGHTMEVTYH	98	496	AEILQAVPSGEGDAFELTVS	163
176	RAMLGHTMEVTYHRRGSR	99	501	AVPSGEGDAFELTVSCQGGL	164
181	THTMEVTYHRRGSRSYVPL	100	506	EGDAFELTVSCQGGLPKEAC	165
186	VTYHRRGSRSYVPLAHSSS	101	511	ELTVSCQGGLPKEACMEISS	166
191	RRGSRSYVPLAHSSSAFTIT	102	516	CQGGLPKEACMEISSPGCQP	167
196	SYVPLAHSSSAFTITDQVPF	103	521	PKEACMEISSPGCQPPAQL	168

201	AHSSSAFTITDQVPFSVSVS	104	526	MEISSPGCQPPAQRLCQPVL	169
206	AFTITDQVPFSVSVSQLRAL	105	531	PGCQPPAQRLCQPVLPSPAC	170
211	DQVPFSVSVSQLRALDGGNK	106	536	PAQRLCQPVLPSPACQLVLH	171
216	SVSVSQLRALDGGNKHFLRN	107	541	CQPVLPSPACQLVLHQILKG	172
221	QLRALDGGNKHFLRNQPLTF	108	546	PSPACQLVLHQILKGSGTY	173
226	DGGNKHFLRNQPLTFALQLH	109	551	QLVLHQILKGSGTYCLNVS	174
231	HFLRNQPLTFALQLHDPSGY	110	556	QILKGSGTYCLNVSLADTN	175
236	QPLTFALQLHDPSGYLAED	111	561	GSGTYCLNVSLADTNSLAVV	176
241	ALQLHDPSGYLAEDLSYTW	112	566	CLNVSLADTNSLAVVSTQLI	177
246	DPSGYLAEDLSYTWDFGDS	113	571	LADTNSLAVVSTQLIMPGQE	178
251	LAEADLSYTWDFGDSSGTLI	114	576	SLAVVSTQLIMPGQEAGLGQ	179
256	LSYTWDFGDSSGTLISRALV	115	581	STQLIMPGQEAGLGQVPLIV	180
261	DFGDSSGTLISRALVVTHTY	116	586	MPGQEAGLGQVPLIVGILLV	181
266	SGTLISRALVVTHTYLEPGP	117	591	AGLGQVPLIVGILLVLMMAVV	182
271	SRALVVTHTYLEPGPVTAQV	118	596	VPLIVGILLVLMMAVVLASLI	183
276	VTHTYLEPGPVTAQVVLQAA	119	601	GILLVLMMAVVLASLIYRRRL	184
281	LEPGPVTAQVVLQAAIPLTS	120	606	LMAVVLASLIYRRRLMKQDF	185
286	VTQVVLQAAIPLTSCGSSP	121	611	LASLIYRRRLMKQDFSVLPQ	186
291	VLQAAIPLTSCGSSPVP GTT	122	616	YRRRLMKQDFSVLPQLPHSSS	187
296	IPLTSCGSSPVP GTTDGHRP	123	621	MKQDFSVLPQLPHSSSHWLRL	188
301	CGSSPVP GTTDGHRPTAEAP	124	626	SVLPQLPHSSSHWLRLPRIFC	189
306	VP GTTDGHRPTAEAPNTTAG	125	631	PHSSSHWLRLPRIFCSCPIG	190
311	DGHRPTAEAPNTTAGQVPTT	126	636	HWLRLPRIFCSCPIGENSPL	191
316	TAEAPNTTAGQVPTTEVVGT	127	641	PRIFCSCPIGENSPLL SGQQ	192
321	NTTAGQVPTTEVVGTTPGQA	128	642	RIFCSCPIGENSPLL SGQQV	193

【0182】收集多聚體陽性抗腫瘤T細胞且對其TCR基因進行分子選殖(圖4，SEQ ID NO: 1及2)。藉由TCR重構T細胞之多聚體染色及ELISPOT分析來驗證經選殖TCR之抗原特異性及功能反應性。當基於原代T細胞重構時，C*06:02/gp100₁₉₀₋₁₉₈ TCR轉導之T細胞在同源多聚體情況下成功染色(圖5)且與由表面C*06:02分子呈遞之gp100₁₉₀₋₁₉₈肽強烈反應(圖6)。重要的是，此等細胞能夠識別天然表現gp100基因之C*06:02匹配且未經肽脈衝處理之腫瘤細胞(圖7)。雖然Malme-3M與SK-MEL-28黑色素瘤細胞株均針對C*06:02為陰性的，但其內源地表現gp100基因。當C*06:02分子異位表現時，兩種黑色素瘤細胞株均由

C*06:02/gp100₁₉₀₋₁₉₈ TCR轉導之T細胞成功識別。此外，缺乏gp100之內源表現的A375黑色素瘤細胞在全長gp100基因經轉導時變得對C*06:02/gp100₁₉₀₋₁₉₈ TCR轉導之T細胞具反應性(圖7-9)。此等結果清楚地證實C*06:02/gp100₁₉₀₋₁₉₈ TCR轉導之T細胞充分熱衷於識別腫瘤細胞且經選殖之C*06:02/gp100₁₉₀₋₁₉₈ TCR為腫瘤反應性的。

【0183】 gp100為有前景且在雙特異性T細胞銜接器(BiTE)療法中充分研究之共同擁有之抗原之一，且在患有轉移性葡萄膜黑色素瘤之患者中使用IMCgp100進行靶向gp100之臨床試驗，IMCgp100為包含稠合至scFv抗CD3之識別gp100抗原之可溶性TCR的雙特異性生物劑，從而在HLA-A*02:01分子之情形中重定向表現gp100之黑色素瘤細胞的T細胞溶解。新選殖之腫瘤反應性C*06:02限制性gp100 TCR基因的使用可將靶向gp100之BiTE療法之適用性加寬至HLA-A*02:01陽性癌症患者以外。

方法

細胞樣品

【0184】 在機構審查委員會批准之後自健康供體獲得外周血樣品。經由密度梯度離心(Ficoll-Paque PLUS；GE Healthcare)獲得單核細胞。K562為具有缺陷型HLA表現之紅白血病細胞株。Jurkat 76為缺乏TCR及CD8表現之T細胞白血病細胞株。使Malme-3M細胞株在補充有20% FBS及50 µg/ml慶大黴素(gentamicin)之IMDM中生長。使SK-MEL-

28及A375細胞株在補充有10% FBS及50 µg/ml慶大黴素(Invitrogen)之DMEM中生長。將K562、T2及Jurkat 76細胞株在補充有10% FBS及50 µg/ml慶大黴素之RPMI 1640中培養。使分離自轉移性黑色素瘤患者之TIL在活體外生長。

肽

【0185】將合成肽在DMSO中溶解至50 µg/ml。所用之肽為用於涵蓋gp100之全蛋白(表1)的20聚體重疊肽以及06:02限制性gp100₁₉₀₋₁₉₈ (HRRGSRSYV; SEQ ID NO: 13)、gp100₁₉₀₋₁₉₇ (HRRGSRSY; SEQ ID NO: 194)及HIV nef₁₂₀₋₁₂₈ (YFPDWQNYT; SEQ ID NO: 63)肽。使用gp100₁₉₀₋₁₉₇及HIV nef₁₂₀₋₁₂₈肽作為陰性對照。

基因

【0186】使HLA-C*06:02基因經由內部核糖體進入位點與截短型式之人類神經生長因子受體(ΔNGFR)稠合。使用抗NGFR單株抗體(mAb)分離ΔNGFR轉導之細胞。使用SMARTer RACE cDNA擴增套組(Takara Bio)藉由cDNA末端5'-快速擴增(RACE) PCR對TCR基因進行選殖。將5'-RACE PCR產物選殖至反轉錄病毒載體中且測序。將所有基因選殖至pMX反轉錄病毒載體中且使用基於293GPG細胞之反轉錄病毒系統轉導。

轉染體

【0187】用個別TCR α 及TCR β 基因轉導Jurkat 76/CD8細胞。使用CD3微珠粒(Miltenyi Biotec)將Jurkat 76/CD8衍生之TCR轉染體純化(>95%純度)。先前已報道基於K562之人工APC個別地將各種HLA I類基因表現為單一HLA等位基因與CD80及CD83結合(Butler及Hirano, *Immunol. Rev.* 257:191-209 (2014) ; Hirano 等人, *Clin. Cancer Res.* 12:2967-75 (2006))。使用PG13衍生之反轉錄病毒上清液將TCR基因轉導至人類原代T細胞中。使用TransIT293(Mirus Bio)將TCR基因轉染至293GPG細胞株中。用全長gp100基因反轉錄病毒轉導Gp100⁻ A375細胞以產生A375/gp100。在用抗gp100 mAb (純系7E3 ; LifeSpan Biosciences)染色之後藉由流式細胞術評估經轉導之gp100的表現。用HLA-C*06:02反轉錄病毒轉導HLA-C*06:02⁻ Malme-3M及SK-MEL-28細胞以產生Malme-3M/C*06:02及SK-MEL-28/C*06:02細胞。用如上文所描述之 Δ NGFR基因標記HLA-C*06:02基因, 且將 Δ NGFR⁺細胞純化(>95%純度)且用於後續實驗中。反轉錄病毒轉導單獨的 Δ NGFR基因作為對照。

流式細胞術及細胞分選

【0188】將細胞表面分子用PC5綴合之抗CD8 mAb (純系B9.11 ; Beckman Coulter)、FITC綴合之抗NGFR (純系ME20.4 ; Biolegend)及APC/Cy7綴合之抗CD3 (純系UCHT1 ; Biolegend)染色。用活/死可固定水性死細胞染色

套組(LIVE/DEAD Fixable Aqua Dead Cell Stain kit, Life Technologies)辯別死細胞。對於細胞內染色，將細胞固定且藉由使用 Cytofix/Cytoperm 套組(BD Biosciences)透性化。用流式細胞術(BD Biosciences)分析經染色之細胞，且使用FlowJo (Tree Star)進行資料分析。使用FACS Aria II (BD Bioscience)進行細胞分選。

細胞介素ELISPOT分析

【 0189 】 進行 IFN- γ ELISPOT 分析。將 PVDF 板 (Millipore, Bedford, MA)用捕獲mAb (1-D1K; MABTECH, Mariemont, OH)包被，且在存在或不存在肽之情況下將T細胞與每孔 2×10^4 個目標細胞一起在37°C下孵育20-24小時。隨後將板洗滌且與生物素綴合之偵測mAb (7-B6-1; MABTECH)一起孵育。接著添加HRP綴合之SA (Jackson ImmunoResearch)，且使IFN- γ 點顯影。藉由用冷自來水充分沖洗使反應停止。掃描ELISPOT板且使用免疫墨點讀板儀及免疫墨點5.0版軟體 (Cellular Technology Limited, Shaker Heights, OH)計數。

CD8⁺ TIL以HLA限制性肽特異性方式擴增

【 0190 】 使用CD8⁺ T細胞分離套組(Miltenyi Biotec)通過負磁選將CD8⁺ TIL純化。用10 μ g/mL gp100肽將C*06:02-人工APC脈衝處理6小時。接著將人工APC在200 Gy下照射，洗滌且以20:1之效應子與靶標(E:T)比率添加

至 TIL 中。從第二天開始，每三天一次將 10 IU/ml IL-2 (Novartis)、10 ng/ml IL-15 (Peprotech) 及 30 ng/ml IL-21 (Peprotech) 添加至培養物中。

用經選殖之 TCR 轉導之原代 CD8⁺ T 細胞的擴增

【0191】使用全 T 細胞分離套組 (Miltenyi Biotec) 通過負磁選將 CD3⁺ T 細胞純化。以 20:1 之 E:T 比率用經 200 Gy 照射之人工 APC/mOKT3 刺激經純化之 T 細胞。從第二天開始，經由連續 3 天在 32°C 下在 1,000 g 下離心 1 小時用經選殖之 TCR 基因反轉錄病毒轉導經活化之 T 細胞。在第二天，將 100 IU/ml IL-2 及 10 ng/ml IL-15 添加至 TCR 轉導之 T 細胞中。每 2-3 天補充一次培養基。

基於人類細胞之 pHLA 多聚體之製備

【0192】將親和力成熟之 HLA I 類基因工程改造以帶有在 $\alpha 2$ 結構域之位置 115 的代替 Gln (Q) 殘基的 Glu (E) 殘基及替代 HLA I 類 $\alpha 3$ 結構域的小鼠 K^b 基因衍生之 $\alpha 3$ 結構域。藉由使親和力成熟之 HLA I 類基因之細胞外結構域依次與 Gly-Ser (GS) 柔性接頭及 6x His 標籤融合，吾人產生了可溶性 HLA 類別 I^{Q115E}-K^b 基因。使用基於 293GPG 細胞之反轉錄病毒系統用各種可溶性 HLA 類別 I^{Q115E}-K^b 基因以及 $\beta 2m$ 基因個別地轉導 HEK293T 細胞。使異位表現可溶性親和力成熟之類別 I^{Q115E}-K^b 之穩定 HEK293T 細胞生長至匯合，且接著更換培養基。四十八小時後，收穫條件培養基且即刻使

用或冷凍直至使用。將由HEK293T轉染體產生之含有可溶性HLA類別I^{Q115E}-K^b之上清液與100-1000 µg/ml之相關I類限制性肽在37℃下混合隔夜用於活體外肽交換。以2:1莫耳比使用綴合至諸如藻紅素(PE)之螢光染料的抗His mAb (純系AD1.1.10; Abcam)將加載有肽之可溶性單聚類別I^{Q115E}-K^b二聚化，在室溫下持續2小時或在4℃下隔夜。分別使用抗全I類mAb (純系W6/32，內部)及抗His標籤生物素化mAb (純系AD1.1.10，R&D systems)作為捕獲及偵測Ab藉由特異性ELISA量測功能性可溶性HLA類別I^{Q115E}-K^b分子之濃度。

pHLA 多聚體染色

【0193】在存在50 nM達沙替尼(dasatinib) (LC laboratories)之情況下，將T細胞(1×10^5)在37℃下孵育30分鐘。接著將細胞洗滌且與5-10 µg/ml之多聚體一起在室溫下孵育30分鐘，且在4℃下添加R-藻紅素綴合之AffiniPure Fab片段山羊抗小鼠IgG1 (Jackson ImmunoResearch Laboratories)持續15分鐘。接著，將細胞洗滌三次且在4℃下與抗CD8 mAb共染色15分鐘。最後使用活/死可固定死細胞染色套組辯別死細胞。

統計分析

【0194】使用GraphPad Prism 5.0e進行統計分析。為確定兩個組之給定變數是否顯著不同，吾人使用韋爾奇氏

t 檢 驗 (Welch's t test) (雙 側) 進 行 分 析 。 P 值 < 0.05 被 視 為 顯 著 的 。

【序列表】

<110> 加拿大商大學健康網絡 (UNIVERSITY HEALTH NETWORK)

<120> T 細胞受體及其使用方法

<140> TW 109107110

<141> 2020-03-04

<150> US 62/813,647

<151> 2019-03-04

<160> 194

<170> PatentIn 3.5 版

<210> 1

<211> 276

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> α 鏈胺基酸序列

<400> 1

Met Lys Lys His Leu Thr Thr Phe Leu Val Ile Leu Trp Leu Tyr Phe
1 5 10 15

Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Gln Val Glu Gln Ser Pro Gln Ser Leu
20 25 30

Ile Ile Leu Glu Gly Lys Asn Cys Thr Leu Gln Cys Asn Tyr Thr Val
35 40 45

Ser Pro Phe Ser Asn Leu Arg Trp Tyr Lys Gln Asp Thr Gly Arg Gly
50 55 60

Pro Val Ser Leu Thr Ile Met Thr Phe Ser Glu Asn Thr Lys Ser Asn
65 70 75 80

Gly Arg Tyr Thr Ala Thr Leu Asp Ala Asp Thr Lys Gln Ser Ser Leu
85 90 95

His Ile Thr Ala Ser Gln Leu Ser Asp Ser Ala Ser Tyr Ile Cys Val
100 105 110

Val Arg Gly Met Asp Ser Ser Tyr Lys Leu Ile Phe Gly Ser Gly Thr
115 120 125

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

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

Asp Phe Asp Ser Gln Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val
165 170 175

Tyr Ile Thr Asp Lys Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys
180 185 190

Ser Asn Ser Ala Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala
195 200 205

Asn Ala Phe Asn Asn Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser
210 215 220

Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr
225 230 235 240

Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile
245 250 255

Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu
260 265 270

Trp Ser Ser Glx
275

<210> 2
<211> 310
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> β 鏈胺基酸序列

<400> 2

Gly Pro Gly Leu Leu His Trp Met Ala Leu Cys Leu Leu Gly Thr Gly
1 5 10 15

His Gly Asp Ala Met Val Ile Gln Asn Pro Arg Tyr Gln Val Thr Gln
20 25 30

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

Val Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Gln Ala Pro Lys Leu Leu
50 55 60

Phe His Tyr Tyr Asp Lys Asp Phe Asn Asn Glu Ala Asp Thr Pro Asp
65 70 75 80

Asn Phe Gln Ser Arg Arg Pro Asn Thr Ser Phe Cys Phe Leu Asp Ile
85 90 95

Arg Ser Pro Gly Leu Gly Asp Ala Ala Met Tyr Leu Cys Ala Thr Ser

100					105					110						
Ser	Glu	Asp	Ser	Ser	Asn	Gln	Pro	Gln	His	Phe	Gly	Asp	Gly	Thr	Arg	
115					120					125						
Leu	Ser	Ile	Leu	Glu	Asp	Leu	Asn	Lys	Val	Phe	Pro	Pro	Glu	Val	Ala	
130					135					140						
Val	Phe	Glu	Pro	Ser	Glu	Ala	Glu	Ile	Ser	His	Thr	Gln	Lys	Ala	Thr	
145					150					155					160	
Leu	Val	Cys	Leu	Ala	Thr	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	Pro	Leu	Lys	Glu	Gln	Pro	Ala	Leu	Asn	Asp	Ser	Arg	Tyr	Cys	Leu	
195					200					205						
Ser	Ser	Arg	Leu	Arg	Val	Ser	Ala	Thr	Phe	Trp	Gln	Asn	Pro	Arg	Asn	
210					215					220						
His	Phe	Arg	Cys	Gln	Val	Gln	Phe	Tyr	Gly	Leu	Ser	Glu	Asn	Asp	Glu	
225					230					235					240	
Trp	Thr	Gln	Asp	Arg	Ala	Lys	Pro	Val	Thr	Gln	Ile	Val	Ser	Ala	Glu	
245					250					255						
Ala	Trp	Gly	Arg	Ala	Asp	Cys	Gly	Phe	Thr	Ser	Val	Ser	Tyr	Gln	Gln	
260					265					270						
Gly	Val	Leu	Ser	Ala	Thr	Ile	Leu	Tyr	Glu	Ile	Leu	Leu	Gly	Lys	Ala	

275

280

285

Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val

290295300

Lys Arg Lys Asp Phe Glx

305310

<210> 3

<400> 3
000

<210> 4

<400> 4
000

<210> 5
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> α CDR1

<400> 5

Val Ser Pro Phe Ser Asn

15

<210> 6
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> α CDR2

<400> 6

Leu Asn His Asn Val
1 5

<210> 7
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> α CDR3

<400> 7

Cys Val Val Arg Gly Met Asp Ser Ser Tyr Lys Leu Ile Phe
1 5 10

<210> 8
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> β CDR1

<400> 8

Met Thr Phe Ser Glu Asn Thr
1 5

<210> 9
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> β CDR2

<400> 9

Tyr Tyr Asp Lys Asp Phe

15

<210> 10
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> β CDR3

<400> 10

Cys Ala Thr Ser Ser Glu Asp Ser Ser Asn Gln Pro Gln His Phe
15105

<210> 11

<400> 11
000

<210> 12

<400> 12
000

<210> 13
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 13

His Arg Arg Gly Ser Arg Ser Tyr Val
15

<210> 14

<400> 14

000

<210> 15

<400> 15

000

<210> 16

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> B2m 胺基酸序列

<400> 16

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg
20 25 30

His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser
35 40 45

Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu
50 55 60

Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp
65 70 75 80

Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp
85 90 95

Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile
100 105 110

Val Lys Trp Asp Arg Asp Met
115

<210> 17
<211> 828
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> α 鏈核苷酸序列

<400> 17
atgaaaaagc atctgacgac cttcttggtg attttgtggc tttattttta tagggggaat 60

ggcaaaaacc aagtggagca gagtctcag tccctgatca tcctggaggg aaagaactgc 120

actcttcaat gcaattatac agtgagcccc ttcagcaact taaggtggta taagcaagat 180

actgggagag gtctgttttc cctgacaatc atgactttca gtgagaacac aaagtcgaac 240

ggaagatata cagcaactct ggatgcagac acaaagcaaa gctctctgca catcacagcc 300

tcccagctca gcgattcagc ctctacatc tgtgtggtga gggggatgga tagcagctat 360

aaattgatct tcgggagtgg gaccagactg ctggtcaggc ctgatatcca gaacctgac 420

cctgccgtgt accagctgag agactctaaa tccagtgaca agtctgtctg cctattcacc 480

gattttgatt ctcaaacaaa tgtgtcacia agtaaggatt ctgatgtgta tatcacagac 540

aaaactgtgc tagacatgag gtctatggac ttcaagagca acagtgctgt ggccctggagc 600

aacaaatctg actttgcatg tgcaaacgcc ttcaacaaca gcattattcc agaagacacc 660

ttcttcccca gcccgaaaag ttctgtgat gtcaagctgg tcgagaaaag ctttgaaaca 720

gatacgaacc taaactttca aaacctgtca gtgattgggt tccgaatcct cctcctgaaa 780

gtggccgggt ttaatctgct catgacgctg cggtctgtgt ccagctga 828

<210> 18

<211> 933
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> β 鏈核苷酸序列

<400> 18
atgggtcctg ggctttctcca ctggatggcc ctttgtctcc ttggaacagg tcatggggat 60

gccatggtca tccagaacct aagataccag gttacccagt ttggaaagcc agtgaccctg 120

agttgttctc agactttgaa ccataacgtc atgtactggt accagcagaa gtcaagtcag 180

gccccaaagc tgctgttcca ctactatgac aaagatttta acaatgaagc agacaccct 240

gataacttcc aatccaggag gccgaacact tctttctgct ttcttgacat ccgctcacca 300

ggcctggggg acgcagccat gtacctgtgt gccaccagca gtgaggacag tagcaatcag 360

ccccagcatt ttggtgatgg gactcgactc tccatcctag aggacctgaa caaggtgttc 420

ccacccgagg tcgctgtgtt tgagccatca gaagcagaga tctcccacac ccaaaggcc 480

aactgggtgt gcctggccac aggtctcttc cctgaccacg tggagctgag ctggtgggtg 540

aatgggaagg aggtgcacag tggggtcagc acggaccgc agccctcaa ggagcagccc 600

gccctcaatg actccagata ctgcctgagc agccgcctga gggctctggc caccttctgg 660

cagaaccccc gcaaccatt ccgctgtcaa gtccagttct acgggctctc ggagaatgac 720

gagtggacct aggatagggc caaacccgtc acccagatcg tcagcgccga ggccctggggt 780

agagcagact gtggctttac ctcggtgtcc taccagcaag gggctctgtc tgccaccatc 840

ctctatgaga tcttgctagg gaaggccacc ctgtatgctg tgctggtcag cgcccttgtg 900

ttgatggcca tggtaagag aaaggatttc tga 933

<210> 19

<400> 19

000	
<210>	20
<400>	20
000	
<210>	21
<400>	21
000	
<210>	22
<400>	22
000	
<210>	23
<400>	23
000	
<210>	24
<400>	24
000	
<210>	25
<400>	25
000	
<210>	26
<400>	26
000	
<210>	27
<400>	27
000	
<210>	28

<400> 000	28
<210>	29
<400> 000	29
<210>	30
<400> 000	30
<210>	31
<400> 000	31
<210>	32
<400> 000	32
<210>	33
<400> 000	33
<210>	34
<400> 000	34
<210>	35
<400> 000	35
<210>	36
<400> 000	36
<210>	37

<400> 000	37
<210>	38
<400> 000	38
<210>	39
<400> 000	39
<210>	40
<400> 000	40
<210>	41
<400> 000	41
<210>	42
<400> 000	42
<210>	43
<400> 000	43
<210>	44
<400> 000	44
<210>	45
<400> 000	45

<210> 46

<400> 46
000

<210> 47

<400> 47
000

<210> 48

<400> 48
000

<210> 49

<400> 49
000

<210> 50

<400> 50
000

<210> 51

<400> 51
000

<210> 52

<211> 661

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 52

Met Asp Leu Val Leu Lys Arg Cys Leu Leu His Leu Ala Val Ile Gly
1 5 10 15

Ala Leu Leu Ala Val Gly Ala Thr Lys Val Pro Arg Asn Gln Asp Trp
20 25 30

Leu Gly Val Ser Arg Gln Leu Arg Thr Lys Ala Trp Asn Arg Gln Leu
35 40 45

Tyr Pro Glu Trp Thr Glu Ala Gln Arg Leu Asp Cys Trp Arg Gly Gly
50 55 60

Gln Val Ser Leu Lys Val Ser Asn Asp Gly Pro Thr Leu Ile Gly Ala
65 70 75 80

Asn Ala Ser Phe Ser Ile Ala Leu Asn Phe Pro Gly Ser Gln Lys Val
85 90 95

Leu Pro Asp Gly Gln Val Ile Trp Val Asn Asn Thr Ile Ile Asn Gly
100 105 110

Ser Gln Val Trp Gly Gly Gln Pro Val Tyr Pro Gln Glu Thr Asp Asp
115 120 125

Ala Cys Ile Phe Pro Asp Gly Gly Pro Cys Pro Ser Gly Ser Trp Ser
130 135 140

Gln Lys Arg Ser Phe Val Tyr Val Trp Lys Thr Trp Gly Gln Tyr Trp
145 150 155 160

Gln Val Leu Gly Gly Pro Val Ser Gly Leu Ser Ile Gly Thr Gly Arg
165 170 175

Ala Met Leu Gly Thr His Thr Met Glu Val Thr Val Tyr His Arg Arg
180 185 190

Gly Ser Arg Ser Tyr Val Pro Leu Ala His Ser Ser Ser Ala Phe Thr
195 200 205

Ile Thr Asp Gln Val Pro Phe Ser Val Ser Val Ser Gln Leu Arg Ala
210 215 220

Leu Asp Gly Gly Asn Lys His Phe Leu Arg Asn Gln Pro Leu Thr Phe
225 230 235 240

Ala Leu Gln Leu His Asp Pro Ser Gly Tyr Leu Ala Glu Ala Asp Leu
245 250 255

Ser Tyr Thr Trp Asp Phe Gly Asp Ser Ser Gly Thr Leu Ile Ser Arg
260 265 270

Ala Leu Val Val Thr His Thr Tyr Leu Glu Pro Gly Pro Val Thr Ala
275 280 285

Gln Val Val Leu Gln Ala Ala Ile Pro Leu Thr Ser Cys Gly Ser Ser
290 295 300

Pro Val Pro Gly Thr Thr Asp Gly His Arg Pro Thr Ala Glu Ala Pro
305 310 315 320

Asn Thr Thr Ala Gly Gln Val Pro Thr Thr Glu Val Val Gly Thr Thr
325 330 335

Pro Gly Gln Ala Pro Thr Ala Glu Pro Ser Gly Thr Thr Ser Val Gln
340 345 350

Val Pro Thr Thr Glu Val Ile Ser Thr Ala Pro Val Gln Met Pro Thr
355 360 365

Ala Glu Ser Thr Gly Met Thr Pro Glu Lys Val Pro Val Ser Glu Val
370 375 380

Met Gly Thr Thr Leu Ala Glu Met Ser Thr Pro Glu Ala Thr Gly Met
385 390 395 400

Thr Pro Ala Glu Val Ser Ile Val Val Leu Ser Gly Thr Thr Ala Ala
405 410 415

Gln Val Thr Thr Thr Glu Trp Val Glu Thr Thr Ala Arg Glu Leu Pro
420 425 430

Ile Pro Glu Pro Glu Gly Pro Asp Ala Ser Ser Ile Met Ser Thr Glu
435 440 445

Ser Ile Thr Gly Ser Leu Gly Pro Leu Leu Asp Gly Thr Ala Thr Leu
450 455 460

Arg Leu Val Lys Arg Gln Val Pro Leu Asp Cys Val Leu Tyr Arg Tyr
465 470 475 480

Gly Ser Phe Ser Val Thr Leu Asp Ile Val Gln Gly Ile Glu Ser Ala
485 490 495

Glu Ile Leu Gln Ala Val Pro Ser Gly Glu Gly Asp Ala Phe Glu Leu
500 505 510

Thr Val Ser Cys Gln Gly Gly Leu Pro Lys Glu Ala Cys Met Glu Ile
515 520 525

Ser Ser Pro Gly Cys Gln Pro Pro Ala Gln Arg Leu Cys Gln Pro Val
530 535 540

Leu Pro Ser Pro Ala Cys Gln Leu Val Leu His Gln Ile Leu Lys Gly
545 550 555 560

Gly Ser Gly Thr Tyr Cys Leu Asn Val Ser Leu Ala Asp Thr Asn Ser
565 570 575

Leu Ala Val Val Ser Thr Gln Leu Ile Met Pro Gly Gln Glu Ala Gly
580 585 590

Leu Gly Gln Val Pro Leu Ile Val Gly Ile Leu Leu Val Leu Met Ala
595 600 605

Val Val Leu Ala Ser Leu Ile Tyr Arg Arg Arg Leu Met Lys Gln Asp
610 615 620

Phe Ser Val Pro Gln Leu Pro His Ser Ser Ser His Trp Leu Arg Leu
625 630 635 640

Pro Arg Ile Phe Cys Ser Cys Pro Ile Gly Glu Asn Ser Pro Leu Leu
645 650 655

Ser Gly Gln Gln Val
660

- <210> 53
- <211> 21
- <212> DNA
- <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> siRNA-TCRa-1

<400> 53
guaaggauuc ugauguguat t

<210> 54
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> sirNA-TCRa-2

<400> 54
uacacaucag aauccuuact t 21

<210> 55
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> sirNA-TCRb-1

<400> 55
ccaccauccu cuaugagaut t 21

<210> 56
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> sirNA-TCRb-2

<400> 56
aucucauaga ggaugguggt t 21

<210> 57

<400> 57
000

<210> 58

<400> 58

000

<210> 59

<400> 59
000

<210> 60

<400> 60
000

<210> 61

<400> 61
000

<210> 62
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> MAGE-A1289-297

<400> 62

Arg Val Arg Phe Phe Pro Ser Leu
1 5

<210> 63
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> HIV nef120-128

<400> 63

Tyr Phe Pro Asp Trp Gln Asn Tyr Thr
1 5

<210> 64
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 64

Met Asp Leu Val Leu Lys Arg Cys Leu Leu His Leu Ala Val Ile Gly
1 5 10 15

Ala Leu Leu Ala
20

<210> 65
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 65

Lys Arg Cys Leu Leu His Leu Ala Val Ile Gly Ala Leu Leu Ala Val
1 5 10 15

Gly Ala Thr Lys
20

<210> 66
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 66

His Leu Ala Val Ile Gly Ala Leu Leu Ala Val Gly Ala Thr Lys Val
1 5 10 15

Pro Arg Asn Gln
20

<210> 67
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 67

Gly Ala Leu Leu Ala Val Gly Ala Thr Lys Val Pro Arg Asn Gln Asp
1 5 10 15

Trp Leu Gly Val
20

<210> 68
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 68

Val Gly Ala Thr Lys Val Pro Arg Asn Gln Asp Trp Leu Gly Val Ser
1 5 10 15

Arg Gln Leu Arg

20

<210> 69
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 69

Val Pro Arg Asn Gln Asp Trp Leu Gly Val Ser Arg Gln Leu Arg Thr
1 5 10 15

Lys Ala Trp Asn
 20

<210> 70
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 70

Asp Trp Leu Gly Val Ser Arg Gln Leu Arg Thr Lys Ala Trp Asn Arg
1 5 10 15

Gln Leu Tyr Pro
 20

<210> 71
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 71

Ser Arg Gln Leu Arg Thr Lys Ala Trp Asn Arg Gln Leu Tyr Pro Glu
1 5 10 15

Trp Thr Glu Ala
 20

<210> 72
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 72

Thr Lys Ala Trp Asn Arg Gln Leu Tyr Pro Glu Trp Thr Glu Ala Gln
1 5 10 15

Arg Leu Asp Cys
 20

<210> 73
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 73

Arg Gln Leu Tyr Pro Glu Trp Thr Glu Ala Gln Arg Leu Asp Cys Trp
1 5 10 15

Arg Gly Gly Gln
20

<210> 74
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 74

Glu Trp Thr Glu Ala Gln Arg Leu Asp Cys Trp Arg Gly Gly Gln Val
1 5 10 15

Ser Leu Lys Val
20

<210> 75
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 75

Gln Arg Leu Asp Cys Trp Arg Gly Gly Gln Val Ser Leu Lys Val Ser
1 5 10 15

Asn Asp Gly Pro
20

<210> 76
<211> 20
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 76

Trp Arg Gly Gly Gln Val Ser Leu Lys Val Ser Asn Asp Gly Pro Thr
1 5 10 15

Leu Ile Gly Ala
20

<210> 77
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 77

Val Ser Leu Lys Val Ser Asn Asp Gly Pro Thr Leu Ile Gly Ala Asn
1 5 10 15

Ala Ser Phe Ser
20

<210> 78
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 78

Ser Asn Asp Gly Pro Thr Leu Ile Gly Ala Asn Ala Ser Phe Ser Ile

151051

Ala Leu Asn Phe

20

<210> 79

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 79

Thr Leu Ile Gly Ala Asn Ala Ser Phe Ser Ile Ala Leu Asn Phe Pro

151051

Gly Ser Gln Lys

20

<210> 80

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 80

Asn Ala Ser Phe Ser Ile Ala Leu Asn Phe Pro Gly Ser Gln Lys Val

151051

Leu Pro Asp Gly

20

<210> 81

<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 81

Ile Ala Leu Asn Phe Pro Gly Ser Gln Lys Val Leu Pro Asp Gly Gln
1 5 10 15

Val Ile Trp Val
20

<210> 82
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 82

Pro Gly Ser Gln Lys Val Leu Pro Asp Gly Gln Val Ile Trp Val Asn
1 5 10 15

Asn Thr Ile Ile
20

<210> 83
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 83

Val Leu Pro Asp Gly Gln Val Ile Trp Val Asn Asn Thr Ile Ile Asn
1 5 10 15

Gly Ser Gln Val
 20

<210> 84
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 84

Gln Val Ile Trp Val Asn Asn Thr Ile Ile Asn Gly Ser Gln Val Trp
1 5 10 15

Gly Gly Gln Pro
 20

<210> 85
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 85

Asn Asn Thr Ile Ile Asn Gly Ser Gln Val Trp Gly Gly Gln Pro Val
1 5 10 15

Tyr Pro Gln Glu
 20

<210> 86
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 86

Asn Gly Ser Gln Val Trp Gly Gly Gln Pro Val Tyr Pro Gln Glu Thr
1 5 10 15

Asp Asp Ala Cys
 20

<210> 87
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 87

Trp Gly Gly Gln Pro Val Tyr Pro Gln Glu Thr Asp Asp Ala Cys Ile
1 5 10 15

Phe Pro Asp Gly
 20

<210> 88
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 88

Val Tyr Pro Gln Glu Thr Asp Asp Ala Cys Ile Phe Pro Asp Gly Gly
1 5 10 15

Pro Cys Pro Ser
20

<210> 89
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 89

Thr Asp Asp Ala Cys Ile Phe Pro Asp Gly Gly Pro Cys Pro Ser Gly
1 5 10 15

Ser Trp Ser Gln
20

<210> 90
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 90

Ile Phe Pro Asp Gly Gly Pro Cys Pro Ser Gly Ser Trp Ser Gln Lys
1 5 10 15

Arg Ser Phe Val

20

<210> 91
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 91

Gly Pro Cys Pro Ser Gly Ser Trp Ser Gln Lys Arg Ser Phe Val Tyr
1 5 10 15

Val Trp Lys Thr
20

<210> 92
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 92

Gly Ser Trp Ser Gln Lys Arg Ser Phe Val Tyr Val Trp Lys Thr Trp
1 5 10 15

Gly Gln Tyr Trp
20

<210> 93
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 93

Lys Arg Ser Phe Val Tyr Val Trp Lys Thr Trp Gly Gln Tyr Trp Gln
1 5 10 15

Val Leu Gly Gly
20

<210> 94
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 94

Tyr Val Trp Lys Thr Trp Gly Gln Tyr Trp Gln Val Leu Gly Gly Pro
1 5 10 15

Val Ser Gly Leu
20

<210> 95
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 95

Trp Gly Gln Tyr Trp Gln Val Leu Gly Gly Pro Val Ser Gly Leu Ser
1 5 10 15

Ile Gly Thr Gly
20

- <210> 96
- <211> 20
- <212> PRT
- <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 96

Gln Val Leu Gly Gly Pro Val Ser Gly Leu Ser Ile Gly Thr Gly Arg
1 5 10 15

Ala Met Leu Gly
20

- <210> 97
- <211> 20
- <212> PRT
- <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 97

Pro Val Ser Gly Leu Ser Ile Gly Thr Gly Arg Ala Met Leu Gly Thr
1 5 10 15

His Thr Met Glu
20

- <210> 98
- <211> 20
- <212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 98

Ser Ile Gly Thr Gly Arg Ala Met Leu Gly Thr His Thr Met Glu Val
1 5 10 15

Thr Val Tyr His
20

<210> 99

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 99

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

Arg Gly Ser Arg
20

<210> 100

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 100

Thr His Thr Met Glu Val Thr Val Tyr His Arg Arg Gly Ser Arg Ser

151051

Tyr Val Pro Leu

20

<210> 101

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 101

Val Thr Val Tyr His Arg Arg Gly Ser Arg Ser Tyr Val Pro Leu Ala

151051

His Ser Ser Ser

20

<210> 102

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 102

Arg Arg Gly Ser Arg Ser Tyr Val Pro Leu Ala His Ser Ser Ser Ala

151051

Phe Thr Ile Thr

20

<210> 103

<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 103

Ser Tyr Val Pro Leu Ala His Ser Ser Ser Ala Phe Thr Ile Thr Asp
1 5 10 15

Gln Val Pro Phe
20

<210> 104
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 104

Ala His Ser Ser Ser Ala Phe Thr Ile Thr Asp Gln Val Pro Phe Ser
1 5 10 15

Val Ser Val Ser
20

<210> 105
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 105

1133248248-0

<210> 108
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 108

Gln Leu Arg Ala Leu Asp Gly Gly Asn Lys His Phe Leu Arg Asn Gln
1 5 10 15

Pro Leu Thr Phe
20

<210> 109
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 109

Asp Gly Gly Asn Lys His Phe Leu Arg Asn Gln Pro Leu Thr Phe Ala
1 5 10 15

Leu Gln Leu His
20

<210> 110
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 110

His Phe Leu Arg Asn Gln Pro Leu Thr Phe Ala Leu Gln Leu His Asp
1 5 10 15

Pro Ser Gly Tyr
20

<210> 111
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 111

Gln Pro Leu Thr Phe Ala Leu Gln Leu His Asp Pro Ser Gly Tyr Leu
1 5 10 15

Ala Glu Ala Asp
20

<210> 112
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 112

Ala Leu Gln Leu His Asp Pro Ser Gly Tyr Leu Ala Glu Ala Asp Leu
1 5 10 15

Ser Tyr Thr Trp

20

<210> 113
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 113

Asp Pro Ser Gly Tyr Leu Ala Glu Ala Asp Leu Ser Tyr Thr Trp Asp
1 5 10 15

Phe Gly Asp Ser
20

<210> 114
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 114

Leu Ala Glu Ala Asp Leu Ser Tyr Thr Trp Asp Phe Gly Asp Ser Ser
1 5 10 15

Gly Thr Leu Ile
20

<210> 115
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 115

Leu Ser Tyr Thr Trp Asp Phe Gly Asp Ser Ser Gly Thr Leu Ile Ser
1 5 10 15

Arg Ala Leu Val
20

<210> 116
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 116

Asp Phe Gly Asp Ser Ser Gly Thr Leu Ile Ser Arg Ala Leu Val Val
1 5 10 15

Thr His Thr Tyr
20

<210> 117
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 117

Ser Gly Thr Leu Ile Ser Arg Ala Leu Val Val Thr His Thr Tyr Leu
1 5 10 15

Glu Pro Gly Pro
20

<210> 118
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 118

Ser Arg Ala Leu Val Val Thr His Thr Tyr Leu Glu Pro Gly Pro Val
1 5 10 15

Thr Ala Gln Val
20

<210> 119
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 119

Val Thr His Thr Tyr Leu Glu Pro Gly Pro Val Thr Ala Gln Val Val
1 5 10 15

Leu Gln Ala Ala
20

<210> 120
<211> 20
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 120

Leu Glu Pro Gly Pro Val Thr Ala Gln Val Val Leu Gln Ala Ala Ile
1 5 10 15

Pro Leu Thr Ser
20

<210> 121

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 121

Val Thr Ala Gln Val Val Leu Gln Ala Ala Ile Pro Leu Thr Ser Cys
1 5 10 15

Gly Ser Ser Pro
20

<210> 122

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 122

Val Leu Gln Ala Ala Ile Pro Leu Thr Ser Cys Gly Ser Ser Pro Val

151051

Pro Gly Thr Thr
20

<210> 123
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 123

Ile Pro Leu Thr Ser Cys Gly Ser Ser Pro Val Pro Gly Thr Thr Asp
151051

Gly His Arg Pro
20

<210> 124
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 124

Cys Gly Ser Ser Pro Val Pro Gly Thr Thr Asp Gly His Arg Pro Thr
151051

Ala Glu Ala Pro
20

<210> 125

<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 125

Val Pro Gly Thr Thr Asp Gly His Arg Pro Thr Ala Glu Ala Pro Asn
1 5 10 15

Thr Thr Ala Gly
20

<210> 126
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 126

Asp Gly His Arg Pro Thr Ala Glu Ala Pro Asn Thr Thr Ala Gly Gln
1 5 10 15

Val Pro Thr Thr
20

<210> 127
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 127

Thr Ala Glu Ala Pro Asn Thr Thr Ala Gly Gln Val Pro Thr Thr Glu
1 5 10 15

Val Val Gly Thr
20

<210> 128
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 128

Asn Thr Thr Ala Gly Gln Val Pro Thr Thr Glu Val Val Gly Thr Thr
1 5 10 15

Pro Gly Gln Ala
20

<210> 129
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 129

Gln Val Pro Thr Thr Glu Val Val Gly Thr Thr Pro Gly Gln Ala Pro
1 5 10 15

Thr Ala Glu Pro
20

<210> 130
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 130

Glu Val Val Gly Thr Thr Pro Gly Gln Ala Pro Thr Ala Glu Pro Ser
1 5 10 15

Gly Thr Thr Ser
20

<210> 131
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 131

Thr Pro Gly Gln Ala Pro Thr Ala Glu Pro Ser Gly Thr Thr Ser Val
1 5 10 15

Gln Val Pro Thr
20

<210> 132
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 132

Pro Thr Ala Glu Pro Ser Gly Thr Thr Ser Val Gln Val Pro Thr Thr
1 5 10 15

Glu Val Ile Ser
20

<210> 133
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 133

Ser Gly Thr Thr Ser Val Gln Val Pro Thr Thr Glu Val Ile Ser Thr
1 5 10 15

Ala Pro Val Gln
20

<210> 134
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 134

Val Gln Val Pro Thr Thr Glu Val Ile Ser Thr Ala Pro Val Gln Met
1 5 10 15

Pro Thr Ala Glu

20

<210> 135
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 135

Thr Glu Val Ile Ser Thr Ala Pro Val Gln Met Pro Thr Ala Glu Ser
1 5 10 15

Thr Gly Met Thr
 20

<210> 136
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 136

Thr Ala Pro Val Gln Met Pro Thr Ala Glu Ser Thr Gly Met Thr Pro
1 5 10 15

Glu Lys Val Pro
 20

<210> 137
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 137

Met Pro Thr Ala Glu Ser Thr Gly Met Thr Pro Glu Lys Val Pro Val
1 5 10 15

Ser Glu Val Met
 20

<210> 138
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 138

Ser Thr Gly Met Thr Pro Glu Lys Val Pro Val Ser Glu Val Met Gly
1 5 10 15

Thr Thr Leu Ala
 20

<210> 139
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 139

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

Met Ser Thr Pro
20

<210> 140
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 140

Val Ser Glu Val Met Gly Thr Thr Leu Ala Glu Met Ser Thr Pro Glu
1 5 10 15

Ala Thr Gly Met
20

<210> 141
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 141

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

Pro Ala Glu Val
20

<210> 142
<211> 20
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 142

Glu Met Ser Thr Pro Glu Ala Thr Gly Met Thr Pro Ala Glu Val Ser
1 5 10 15

Ile Val Val Leu
20

<210> 143

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 143

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

Gly Thr Thr Ala
20

<210> 144

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 144

Thr Pro Ala Glu Val Ser Ile Val Val Leu Ser Gly Thr Thr Ala Ala

151051

Gln Val Thr Thr

20

<210> 145

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 145

Ser Ile Val Val Leu Ser Gly Thr Thr Ala Ala Gln Val Thr Thr Thr

151051

Glu Trp Val Glu

20

<210> 146

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 146

Ser Gly Thr Thr Ala Ala Gln Val Thr Thr Thr Glu Trp Val Glu Thr

151051

Thr Ala Arg Glu

20

<210> 147

<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 147

Ala Gln Val Thr Thr Thr Glu Trp Val Glu Thr Thr Ala Arg Glu Leu
1 5 10 15

Pro Ile Pro Glu
20

<210> 148
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 148

Thr Glu Trp Val Glu Thr Thr Ala Arg Glu Leu Pro Ile Pro Glu Pro
1 5 10 15

Glu Gly Pro Asp
20

<210> 149
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 149

Thr Thr Ala Arg Glu Leu Pro Ile Pro Glu Pro Glu Gly Pro Asp Ala
1 5 10 15

Ser Ser Ile Met
 20

<210> 150
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 150

Leu Pro Ile Pro Glu Pro Glu Gly Pro Asp Ala Ser Ser Ile Met Ser
1 5 10 15

Thr Glu Ser Ile
 20

<210> 151
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 151

Pro Glu Gly Pro Asp Ala Ser Ser Ile Met Ser Thr Glu Ser Ile Thr
1 5 10 15

Gly Ser Leu Gly
 20

<210> 152
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 152

Ala Ser Ser Ile Met Ser Thr Glu Ser Ile Thr Gly Ser Leu Gly Pro
1 5 10 15

Leu Leu Asp Gly
20

<210> 153
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 153

Ser Thr Glu Ser Ile Thr Gly Ser Leu Gly Pro Leu Leu Asp Gly Thr
1 5 10 15

Ala Thr Leu Arg
20

<210> 154
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 154

Thr Gly Ser Leu Gly Pro Leu Leu Asp Gly Thr Ala Thr Leu Arg Leu
1 5 10 15

Val Lys Arg Gln
20

<210> 155
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 155

Pro Leu Leu Asp Gly Thr Ala Thr Leu Arg Leu Val Lys Arg Gln Val
1 5 10 15

Pro Leu Asp Cys
20

<210> 156
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 156

Thr Ala Thr Leu Arg Leu Val Lys Arg Gln Val Pro Leu Asp Cys Val
1 5 10 15

Leu Tyr Arg Tyr

20

<210> 157
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 157

Leu Val Lys Arg Gln Val Pro Leu Asp Cys Val Leu Tyr Arg Tyr Gly
1 5 10 15

Ser Phe Ser Val
 20

<210> 158
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 158

Val Pro Leu Asp Cys Val Leu Tyr Arg Tyr Gly Ser Phe Ser Val Thr
1 5 10 15

Leu Asp Ile Val
 20

<210> 159
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 159

Val Leu Tyr Arg Tyr Gly Ser Phe Ser Val Thr Leu Asp Ile Val Gln
1 5 10 15

Gly Ile Glu Ser
 20

<210> 160
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 160

Gly Ser Phe Ser Val Thr Leu Asp Ile Val Gln Gly Ile Glu Ser Ala
1 5 10 15

Glu Ile Leu Gln
 20

<210> 161
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 161

Thr Leu Asp Ile Val Gln Gly Ile Glu Ser Ala Glu Ile Leu Gln Ala
1 5 10 15

Val Pro Ser Gly
20

<210> 162
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 162

Gln Gly Ile Glu Ser Ala Glu Ile Leu Gln Ala Val Pro Ser Gly Glu
1 5 10 15

Gly Asp Ala Phe
20

<210> 163
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 163

Ala Glu Ile Leu Gln Ala Val Pro Ser Gly Glu Gly Asp Ala Phe Glu
1 5 10 15

Leu Thr Val Ser
20

<210> 164
<211> 20
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 164

Ala Val Pro Ser Gly Glu Gly Asp Ala Phe Glu Leu Thr Val Ser Cys
1 5 10 15

Gln Gly Gly Leu
20

<210> 165

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 165

Glu Gly Asp Ala Phe Glu Leu Thr Val Ser Cys Gln Gly Gly Leu Pro
1 5 10 15

Lys Glu Ala Cys
20

<210> 166

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 166

Glu Leu Thr Val Ser Cys Gln Gly Gly Leu Pro Lys Glu Ala Cys Met

151051

Glu Ile Ser Ser
20

<210> 167
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 167

Cys Gln Gly Gly Leu Pro Lys Glu Ala Cys Met Glu Ile Ser Ser Pro
151051

Gly Cys Gln Pro
20

<210> 168
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 168

Pro Lys Glu Ala Cys Met Glu Ile Ser Ser Pro Gly Cys Gln Pro Pro
151051

Ala Gln Arg Leu
20

<210> 169

<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 169

Met Glu Ile Ser Ser Pro Gly Cys Gln Pro Pro Ala Gln Arg Leu Cys
1 5 10 15

Gln Pro Val Leu
20

<210> 170
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 170

Pro Gly Cys Gln Pro Pro Ala Gln Arg Leu Cys Gln Pro Val Leu Pro
1 5 10 15

Ser Pro Ala Cys
20

<210> 171
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 171

Pro Ala Gln Arg Leu Cys Gln Pro Val Leu Pro Ser Pro Ala Cys Gln
1 5 10 15

Leu Val Leu His
 20

<210> 172
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 172

Cys Gln Pro Val Leu Pro Ser Pro Ala Cys Gln Leu Val Leu His Gln
1 5 10 15

Ile Leu Lys Gly
 20

<210> 173
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 173

Pro Ser Pro Ala Cys Gln Leu Val Leu His Gln Ile Leu Lys Gly Gly
1 5 10 15

Ser Gly Thr Tyr
 20

<210> 174
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 174

Gln Leu Val Leu His Gln Ile Leu Lys Gly Gly Ser Gly Thr Tyr Cys
1 5 10 15

Leu Asn Val Ser
20

<210> 175
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 175

Gln Ile Leu Lys Gly Gly Ser Gly Thr Tyr Cys Leu Asn Val Ser Leu
1 5 10 15

Ala Asp Thr Asn
20

<210> 176
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 176

Gly Ser Gly Thr Tyr Cys Leu Asn Val Ser Leu Ala Asp Thr Asn Ser
1 5 10 15

Leu Ala Val Val
20

<210> 177
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 177

Cys Leu Asn Val Ser Leu Ala Asp Thr Asn Ser Leu Ala Val Val Ser
1 5 10 15

Thr Gln Leu Ile
20

<210> 178
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 178

Leu Ala Asp Thr Asn Ser Leu Ala Val Val Ser Thr Gln Leu Ile Met
1 5 10 15

Pro Gly Gln Glu

20

<210> 179
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 179

Ser Leu Ala Val Val Ser Thr Gln Leu Ile Met Pro Gly Gln Glu Ala
1 5 10 15

Gly Leu Gly Gln
20

<210> 180
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 180

Ser Thr Gln Leu Ile Met Pro Gly Gln Glu Ala Gly Leu Gly Gln Val
1 5 10 15

Pro Leu Ile Val
20

<210> 181
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 181

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

Ile Leu Leu Val
20

<210> 182
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 182

Ala Gly Leu Gly Gln Val Pro Leu Ile Val Gly Ile Leu Leu Val Leu
1 5 10 15

Met Ala Val Val
20

<210> 183
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 183

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

Ala Ser Leu Ile
20

<210> 184
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 184

Gly Ile Leu Leu Val Leu Met Ala Val Val Leu Ala Ser Leu Ile Tyr
1 5 10 15

Arg Arg Arg Leu
20

<210> 185
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 185

Leu Met Ala Val Val Leu Ala Ser Leu Ile Tyr Arg Arg Arg Leu Met
1 5 10 15

Lys Gln Asp Phe
20

<210> 186
<211> 20
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 186

Leu Ala Ser Leu Ile Tyr Arg Arg Arg Leu Met Lys Gln Asp Phe Ser
1 5 10 15

Val Pro Gln Leu
20

<210> 187

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 187

Tyr Arg Arg Arg Leu Met Lys Gln Asp Phe Ser Val Pro Gln Leu Pro
1 5 10 15

His Ser Ser Ser
20

<210> 188

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成肽

<400> 188

Met Lys Gln Asp Phe Ser Val Pro Gln Leu Pro His Ser Ser Ser His

1 5 10 15

Trp Leu Arg Leu
20

<210> 189
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 189

Ser Val Pro Gln Leu Pro His Ser Ser Ser His Trp Leu Arg Leu Pro
1 5 10 15

Arg Ile Phe Cys
20

<210> 190
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 190

Pro His Ser Ser Ser His Trp Leu Arg Leu Pro Arg Ile Phe Cys Ser
1 5 10 15

Cys Pro Ile Gly
20

<210> 191

<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 191

His Trp Leu Arg Leu Pro Arg Ile Phe Cys Ser Cys Pro Ile Gly Glu
1 5 10 15

Asn Ser Pro Leu
20

<210> 192
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 192

Pro Arg Ile Phe Cys Ser Cys Pro Ile Gly Glu Asn Ser Pro Leu Leu
1 5 10 15

Ser Gly Gln Gln
20

<210> 193
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成肽

<400> 193

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種核酸分子，其包含：

(i)第一核苷酸序列，其編碼特異性結合由如 SEQ ID NO: 13中所列之胺基酸序列組成的人類 gp100的抗原決定基之重組 T細胞受體 (TCR)或其抗原結合部分(「抗 gp100 TCR」)，其中該抗原決定基與 HLA I類分子 HLA-C*06等位基因複合，其中該抗 gp100 TCR包含 α 鏈及 β 鏈，其中該 α 鏈包含可變域且該 α 鏈包含之可變域包含 α 鏈 CDR1、 α 鏈 CDR2及 α 鏈 CDR3，且其中該 β 鏈包含可變域且該 β 鏈包含之可變域包含 β 鏈 CDR1、 β 鏈 CDR2及 β 鏈 CDR3，且其中：

(1)該抗 gp100 TCR之該 β 鏈 CDR3包含如 SEQ ID NO: 10中所列之胺基酸序列；

(2)該抗 gp100 TCR之該 β 鏈 CDR2包含如 SEQ ID NO: 9中所列之胺基酸序列；

(3)該抗 gp100 TCR之該 β 鏈 CDR1包含如 SEQ ID NO: 6中所列之胺基酸序列；

(4)該抗 gp100 TCR之該 α 鏈 CDR3包含如 SEQ ID NO: 7中所列之胺基酸序列；

(5)該抗 gp100 TCR之該 α 鏈 CDR2包含如 SEQ ID NO: 8中所列之胺基酸序列；且

(6)該抗 gp100 TCR之該 α 鏈 CDR1包含如 SEQ ID NO: 5中所列之胺基酸序列；及

(ii)第二核苷酸序列，其中該第二核苷酸序列或由該第二核苷酸序列編碼之多肽抑制內源 TCR之表現。

【請求項2】如請求項1之核酸分子，其中該HLA I類分子HLA-C*06等位基因選自HLA-C*06:01等位基因、HLA-C*06:02等位基因、HLA-C*06:03等位基因、HLA-C*06:04等位基因、HLA-C*06:05等位基因、HLA-C*06:06等位基因、HLA-C*06:07等位基因及HLA-C*06:08等位基因。

【請求項3】如請求項1之核酸分子，其中

(i)該抗gp100 TCR之該 α 鏈可變域包含SEQ ID NO: 1所列之胺基酸序列中存在之可變域的胺基酸序列；

(ii)該抗gp100 TCR之該 β 鏈可變域包含SEQ ID NO: 2所列之胺基酸序列中存在之可變域的胺基酸序列；或

(iii)該(i)和(ii)兩者。

【請求項4】如請求項3之核酸分子，其中該抗gp100 TCR之該 α 鏈進一步包含恆定區，其中該 α 鏈恆定區包含與SEQ ID NO: 1所列之胺基酸序列中存在之恆定區具有至少85%序列一致性的胺基酸序列。

【請求項5】如請求項3之核酸分子，其中該抗gp100 TCR之該 β 鏈進一步包含恆定區，其中該 β 鏈恆定區包含與SEQ ID NO: 2所列之胺基酸序列中存在之恆定區具有至少85%序列一致性的胺基酸序列。

【請求項6】如請求項1至5中任一項之核酸分子，其中

(i)該抗gp100 TCR之該 α 鏈包含如SEQ ID NO: 1中所列之胺基酸序列；

(ii)該抗 gp100 TCR之該 β 鏈包含如 SEQ ID NO: 2 中所列之胺基酸序列；或

(iii)該 (i)和(ii)兩者。

【請求項 7】如請求項 1至 5中任一項之核酸分子，其中該第二核苷酸序列

(i)為降低內源 TCR之表現的一或多個 siRNA，其中該一或多個 siRNA與編碼該等內源 TCR之恆定區之核苷酸序列內的目標序列互補；

(ii)編碼 Cas9；或

(iii)該 (i)和(ii)兩者。

【請求項 8】如請求項 7之核酸分子，其中該一或多個 siRNA包含選自由 SEQ ID NO: 53-56組成之群的一或多個核苷酸序列。

【請求項 9】一種載體，其包含如請求項 1至 8中任一項之核酸分子。

【請求項 10】一種細胞，其包含如請求項 1至 8中任一項之核酸分子或如請求項 9之載體。

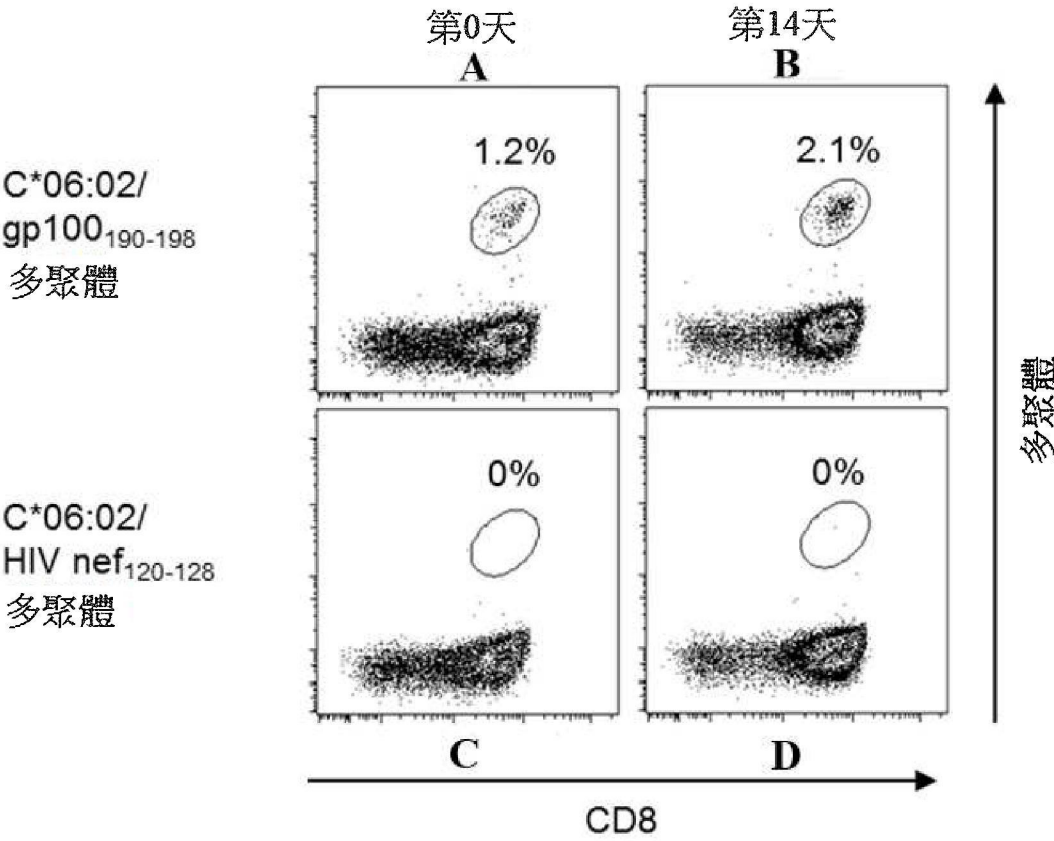
【請求項 11】如請求項 10之細胞，其中該細胞選自由以下組成之群：T細胞、自然殺手(NK)細胞、自然殺手 T(NKT)細胞及 ILC細胞。

【請求項 12】一種如請求項 10或 11之細胞於製造藥物之用途，該藥物係用於治療有需要之個體之癌症。

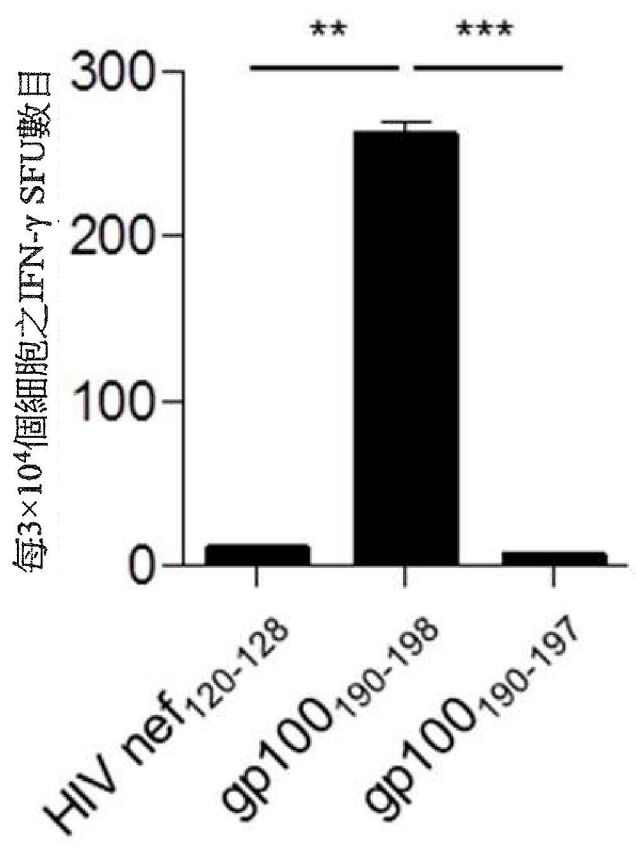
【發明圖式】



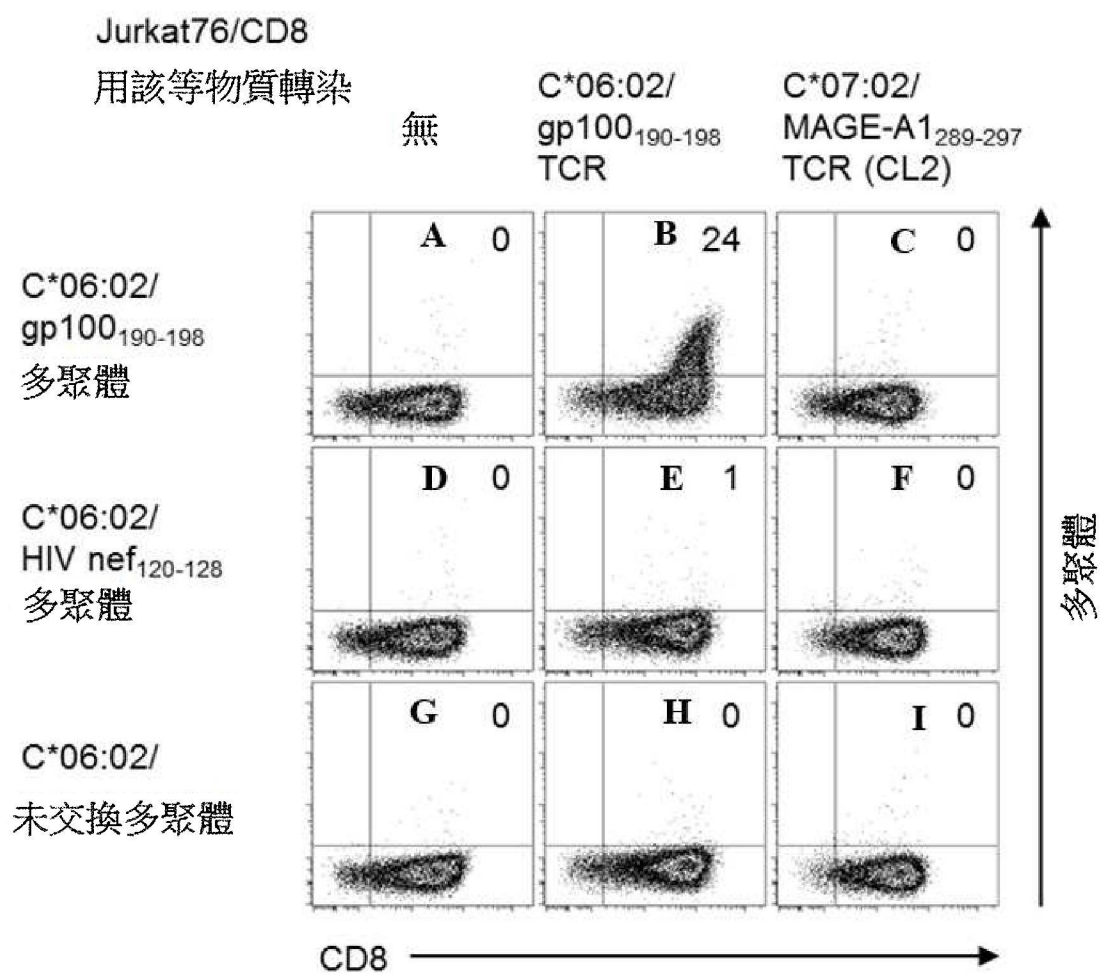
【圖 1】



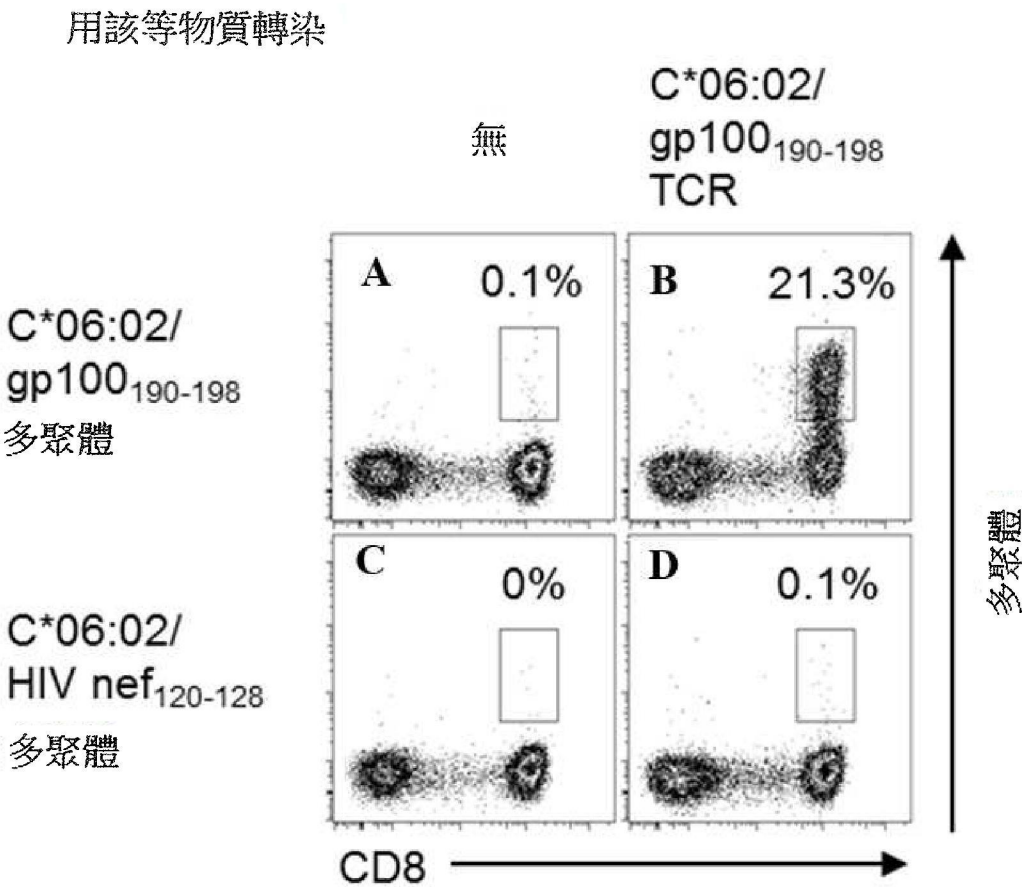
【圖 2】



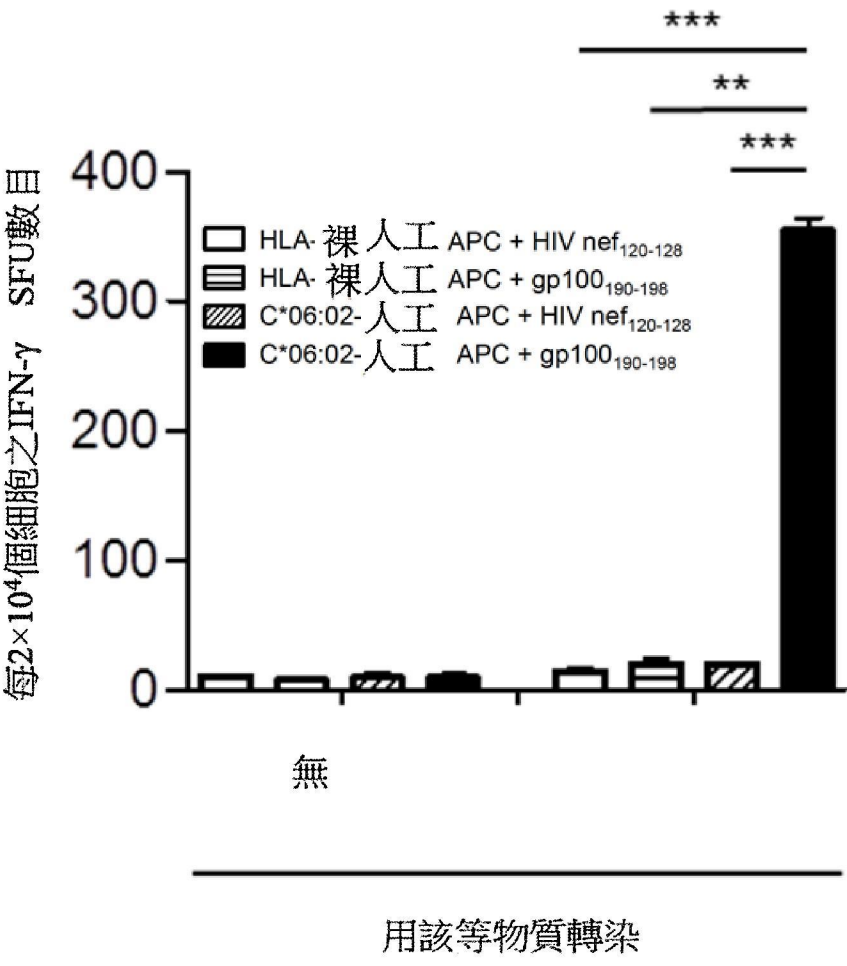
【圖 3】



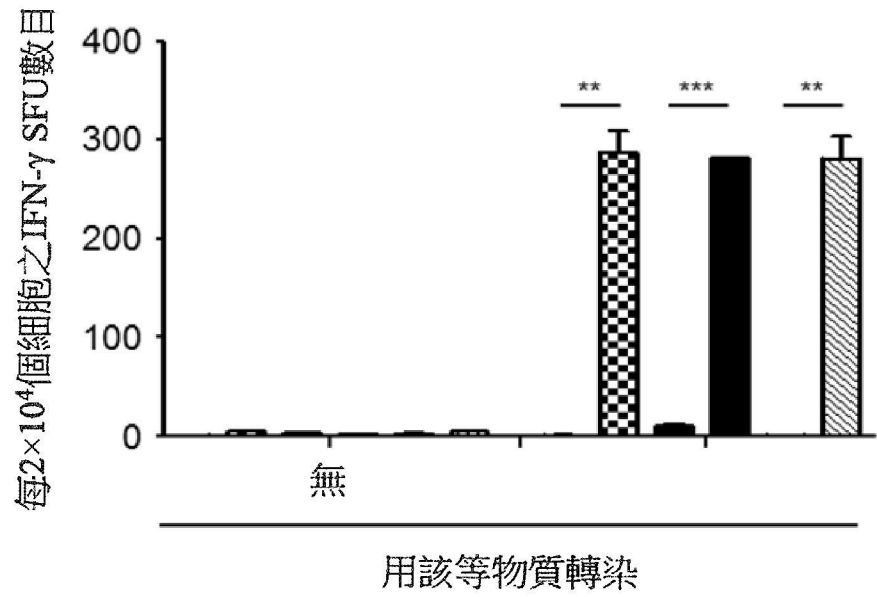
【圖 4】



【圖 5】



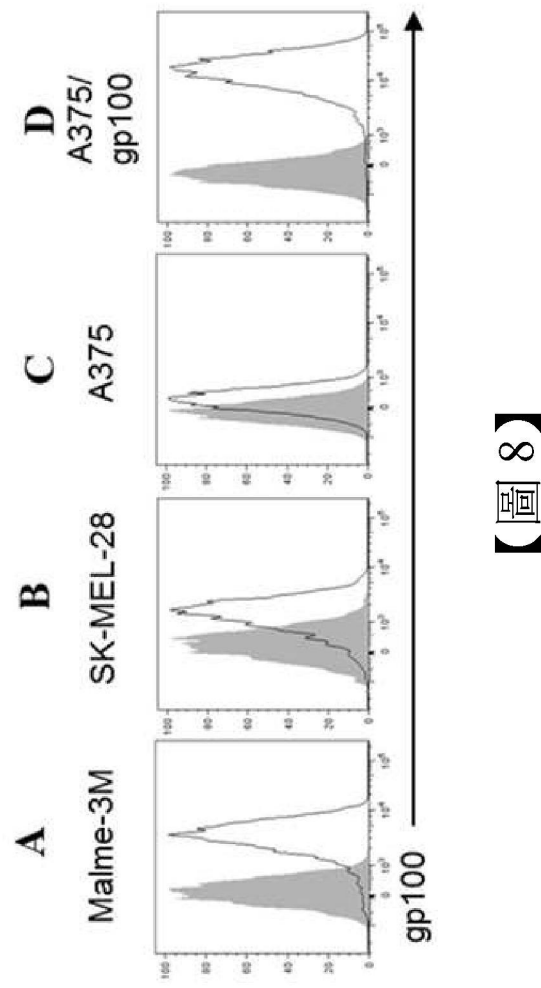
【圖 6】



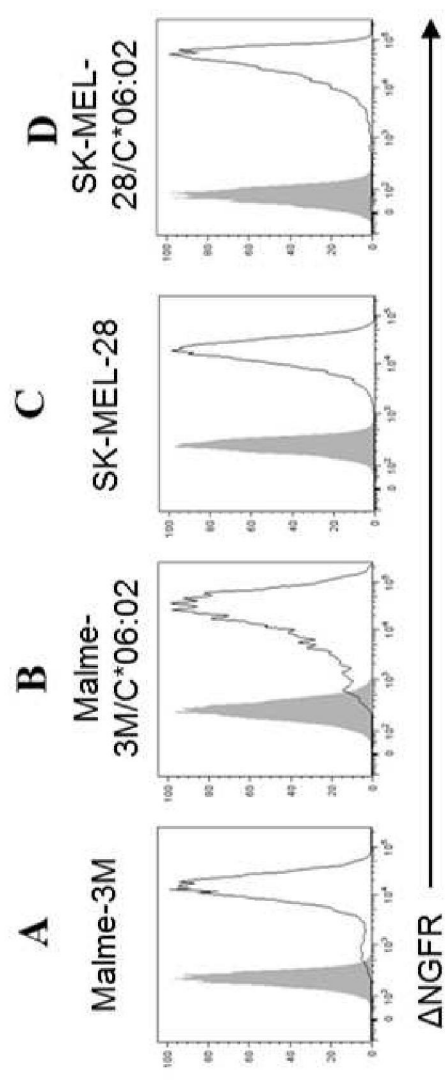
【圖 7A】

	C*06:02	gp100
Malme-3M	-	+
Malme-3M/C*06:02	+	+
SK-MEL-28	-	+
SK-MEL-28/C*06:02	+	+
A375	+	-
A375/gp100	+	+

【圖 7B】



【圖 8】



【圖 9】