



MD/EP 3500593 T2 2021.12.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3500593 (13) T2

(51) Int. Cl: C07K 14/725 (2006.01.01)
C07K 14/78 (2006.01.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

| | |
|--|--|
| <p>(21) Numărul de depozit: e 2019 0706</p> <p>(22) Data de depozit: 2017.07.04</p> <p>(96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 17739220.6, 2017.07.04</p> <p>(97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3500593, 2019.06.26</p> <p>(31) Numărul cererii prioritare: 102016115246; 201662376059 P; 201662376632 P</p> <p>(32) Data de depozit a cererii prioritare: 2016.08.17; 2016.08.17; 2016.08.18</p> <p>(33) Țara cererii prioritare: DE; US; US</p> | <p>(49) Data publicării traducerii fascicului de brevet european validat: BOPI nr. 12/2021, 2021.12.31</p> <p>(80) Data publicării mențiunii acordării de către OEB: EPB nr. 34/2021, 2021.08.25</p> <p>(82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 07/2019, 2019.07.31</p> |
| <p>(71) Solicitant: IMMATICS BIOTECHNOLOGIES GMBH, DE</p> <p>(72) Inventatori: ALTEN Leonie, DE; MAURER Dominik, DE; WALTER Steffen, US; BUNK Sebastian, DE</p> <p>(73) Titular: IMMATICS BIOTECHNOLOGIES GMBH, DE</p> <p>(74) Mandatar autorizat: FOCȘA Valentin</p> | |

(54) Receptori de celule T și imunoterapie cu utilizarea acestora

(57) Rezumat:

1

Prezenta invenție se referă la construcții de recunoaștere antigenică împotriva antigenilor COL6A3. Invenția furnizează în special molecule noi bazate pe receptori de celule T (TCR) care sunt selective și specifice pentru antigenul COL6A3 exprimat în tumori. TCR-ul în conformitate cu invenția și fragmentele de legare la antigenul COL6A3 derivate din acestea sunt utile pentru diagnosticarea, tratarea și prevenirea bolilor canceroase care exprimă COL6A3. Mai sunt

2

furnizați acizi nucleici care codifică construcțiile care recunosc antigenul în conformitate cu invenția, vectori care cuprind acești acizi nucleici, celule recombinante care exprimă construcțiile care recunosc antigenul și compoziții farmaceutice care cuprind compuși invenției.

Secvențe: 74
Revendicări: 15
Figuri: 12

MD/EP 3500593 T2 2021.12.31

(54) T cell receptors and immune therapy using the same**(57) Abstract:**

1

The present invention pertains to antigen recognizing constructs against COL6A3 antigens. The invention in particular provides novel T cell receptor (TCR) based molecules which are selective and specific for the tumor expressed antigen COL6A3. The TCR of the invention, and COL6A3 antigen binding fragments derived therefrom, are of use for the diagnosis, treatment and prevention of COL6A3 expressing cancerous diseases.

2

Further provided are nucleic acids encoding the antigen recognizing constructs of the invention, vectors comprising these nucleic acids, recombinant cells expressing the antigen recognizing constructs and pharmaceutical compositions comprising the compounds of the invention.

Sequences: 74

Claims: 15

Fig.: 12

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)**

DOMENIUL INVENȚIEI

5

Prezenta invenție se referă la construcții de recunoaștere antigenică împotriva antigenilor COL6A3. Invenția furnizează în special molecule noi bazate pe receptori de celule T (TCR) care sunt selective și specifice pentru antigenul COL6A3 exprimat în tumori. TCR-ul în conformitate cu invenția și fragmentele de legare la antigenul COL6A3 derivate din acestea sunt utile pentru diagnosticarea, tratarea și prevenirea bolilor canceroase care exprimă COL6A3. Mai sunt furnizați acizi nucleici care codifică construcțiile care recunosc antigenul în conformitate cu invenția, vectori care cuprind acești acizi nucleici, celule recombinante care exprimă construcțiile care recunosc antigenul și compoziții farmaceutice care cuprind compușii invenției.

15

DESCRIERE

Colagenii sunt o superfamilie de proteine care joacă un rol în menținerea integrității diferitelor țesuturi. Colagenii sunt proteine ale matricei extracelulare și au un domeniu triplu elicoidal ca element structural comun. Colagenul VI este o componentă structurală majoră a microfibrilelor. Unitatea structurală de bază a colagenului VI este un heterotrimer al lanțurilor de colagen alfa 1(VI), alfa 2(VI) și alfa 3(VI). Lanțurile alfa 1(VI) și alfa 2(VI) sunt codificate de genele COL6A1 și, respectiv, COL6A2. Proteina codificată de gena COL6A3 este subunitatea alfa 3 a colagenului de tip VI (lanțul de colagen alfa 3(VI)) (Bertini et al., 2002 Eur. J. Paediatr. Neurol 6:193-8). Expriarea genei COL6A3 s-a dovedit anterior a fi asociată cu progresia cancerului de glandă mamară și a fost crescută în cancerul de colon (Smith MJ, et al. "Analysis of differential gene expression in colorectal cancer and stroma using fluorescence-activated cell sorting purification" British journal of cancer. 2009;100:1452-1464; Tilman G et al "Human periostin gene expression in normal tissues, tumors and melanoma: evidences for periostin production by both stromal and melanoma cells" Mol Cancer. 2007;6:80) și ca marker de prognostic al carcinomului colorectal (Qiao J et al. "Stroma derived COL6A3 is a potential prognosis marker of colorectal carcinoma revealed by quantitative proteomics" Oncotarget. 2015 Oct 6; 6(30): 29929-29946). Gena COL6A3 este localizată în 2q37 în genomul uman și conține 44 de exoni. Proteina COL6A3 are 3177 de aminoacizi și conține 12 domenii de factor Von Willebrand de tip A (vWA), un domeniu de fibronectină de tip 3 și un domeniu al familiei BPTI/Kunitz de inhibitori ai serinei proteazei (KU). WO 2011/113819 A2 descrie epitopi peptidici citotoxici ai celulelor T (CTL) asociați tumorii, cum ar fi peptidele antigenice COL6A3, și TCR-uri care recunosc epitopii peptidici menționați.

35

Imunoterapia bazată pe celule T țintește epitopi peptidici derivați din proteine asociate tumorii sau specifice tumorii, care sunt prezentate de molecule ale complexului major de histocompatibilitate (MHC). Acești antigeni asociați tumorii (TAA) pot fi molecule derivate din toate categoriile de proteine, cum ar fi enzimele, receptorii, factorii de transcripție etc. care sunt exprimate și care, comparativ cu celulele nemodificate cu aceeași origine, sunt, de obicei, reglate în sens crescător în celulele respectivei tumori.

40

Elemente specifice ale răspunsului imunitar celular sunt capabile de a recunoaște și distruge în mod specific celulele tumorale. Izolarea celulelor T din populațiile celulare care infiltrază tumorile sau din sângele periferic sugerează că aceste celule au un rol important în reacția imunitară naturală împotriva cancerului. În special celulele T CD8-pozitive capabile să recunoască moleculele de clasă I ale peptidelor purtătoare ale complexului major de histocompatibilitate (MHC), care includ, de obicei, 8 până la 10 resturi aminoacidice derivate din proteine sau produse ribozomale defectuoase (DRIP-uri) localizați în citozol, joacă un rol important în acest răspuns. Moleculele MHC umane sunt desemnate și ca antigeni leucocitari umani (HLA).

50

Un TCR este o proteină heterodimerică de suprafață celulară din superfamilia imunoglobulinei, care este asociată cu proteine invariante ale complexului CD3 implicate în medierea transducției semnalului. TCR-urile există în formele $\alpha\beta$ și $\gamma\delta$, care sunt similare din punct de vedere structural, dar au locații anatomice și, probabil, funcții destul de distincte. Porțiunea extracelulară a β TCR heterodimeric nativ constă din două polipeptide, fiecare dintre acestea având un domeniu constant proximal membranei și un domeniu variabil distal membranei. Fiecare dintre domeniile constante și variabile include o legătură disulfurică intra-lanț. Domeniile variabile conțin bucle extrem de polimorfe analoge regiunilor de determinanțe a complementarității (CDR-uri) ale anticorpilor. Utilizarea terapiei genice cu TCR-uri depășește o serie de obstacole actuale. Terapia permite echiparea celulelor T proprii ale pacienților cu specificități dorite și generarea unui număr suficient de celule T într-o perioadă scurtă de timp, evitându-

60

se epuizarea lor. TCR-ul va fi transdus în celule T cu memorie centrală sau celule T cu caracteristici ale celulelor stem, fapt care pot asigura persistență și funcționare mai bune la transfer. Celulele T modificate cu TCR vor fi perfuzate pacienților cu cancer care sunt limfopenici prin chimioterapie sau iradiere, permițând grefarea eficientă, dar inhibând supresia imunitară.

Deși s-au făcut progrese în dezvoltarea de medicamente cu orientare moleculară pentru terapia cancerului, rămâne o necesitate în domeniu de a se dezvolta noi agenți anticancer care ținesc în mod specific molecule foarte specifice celulelor canceroase. Prezenta descriere răspunde acestei nevoi prin furnizarea de noi TCR-uri COL6A3, construcții TCR recombinante respective, acizi nucleici, vectori și celule-gază care se leagă în mod specific de epitopul (epitopii) COL6A3, așa cum sunt prezentate; și metode de utilizare a acestor molecule în tratarea cancerului.

Obiectul invenției este rezolvat într-un prim aspect printr-o construcție de recunoaștere a antigenului, așa cum este definit în revendicările însoțitoare.

Antigenul care recunoaște construcția cuprinde o secvență de domeniu CDR1, una CDR2 și una CDR3. În domeniul variabil, CDR1 și CDR2 se găsesc în regiunea variabilă (V) a unui lanț polipeptidic, iar CDR3 include o parte din regiunile V, toate cu regiuni de diversitate (D) și de îmbinare (J). CDR3 este cel mai variabil și principalul CDR responsabil pentru recunoașterea specifică și selectivă a unui antigen. Secvențele CDR1 și CDR2 pot fi selectate dintr-o secvență CDR a unei alele cu lanț variabil uman.

TCR-urile heterodimerice alfa-beta native au un lanț alfa și un lanț beta. Fiecare lanț cuprinde regiuni variabile, de îmbinare și constante, iar lanțul beta conține, de asemenea, o regiune de diversitate scurtă între regiunea variabilă și regiunea de îmbinare, însă această regiune de diversitate este adesea considerată ca făcând parte din regiunea de îmbinare. Fiecare regiune variabilă cuprinde trei CDR-uri (regiuni determinante de complementaritate) incorporate într-o secvență-cadru, una fiind regiunea hipervariabilă numită CDR3. Există mai multe tipuri de regiuni variabile ale lanțului alfa ($V\alpha$) și mai multe tipuri de regiuni variabile ale lanțului beta ($V\beta$) distinse prin cadrul lor, secvențele CDR1 și CDR2, și printr-o secvență CDR3 definită parțial. Tipurile $V\alpha$ sunt desemnate în nomenclatura IGT printr-un număr TRAV unic, iar tipurile $V\beta$ sunt menționate printr-un număr TRBV unic.

Prin urmare, construcția de recunoaștere a antigenului în conformitate cu invenția cuprinde secvențe CDR1, CDR2 și CDR3 într-o combinație furnizată în Tabelul 1 de mai jos, care afișează alela respectivă a lanțului variabil împreună cu secvența CDR3. Prin urmare, sunt preferate construcțiile care recunosc antigenul care cuprind, toate cele trei secvențe CDR – CDR1, CDR2 și CDR3. De preferință, o construcție de recunoaștere a antigenului în conformitate cu invenția cuprinde secvențele CDR1–CDR3 respective ale unei regiuni variabile TCR individuale a invenției descrise în prezentul document.

Termenul „specificitate” sau „specificitate a antigenului” sau „specific pentru” un antigen dat, așa cum este utilizat în prezentul document, înseamnă posibilitatea de legare specifică a construcției de recunoaștere a antigenului la antigenul menționat, preferabil un antigen COL6A3, mai preferabil cu aviditate ridicată, atunci când antigenul respectiv este de HLA, preferabil HLA A2. De exemplu, un TCR, drept construcție de recunoaștere a antigenului, poate fi considerat a avea „specificitate antigenică” pentru antigeni COL6A3 dacă celulele T care exprimă TCR-ul și sunt contactate cu un HLA prezentator de COL6A3 secretă cel puțin aproximativ 200 pg/ml sau mai mult (de exemplu, 250 pg/ml sau mai mult, 300 pg/ml sau mai mult, 400 pg/ml sau mai mult, 500 pg/ml sau mai mult, 600 pg/ml sau mai mult, 700 pg/ml sau mai mult, 1000 pg/ml sau mai mult, 2000 pg/ml sau mai mult, 2500 pg/ml sau mai mult, 5000 pg/ml sau mai mult) de interferon γ (IFN- γ) la co-cultură cu celule-țintă pulsate cu o concentrație mică de antigen COL6A3, cum ar fi epitopii COL6A3 și antigenii furnizați mai jos în prezentul document (de exemplu, aproximativ 10–11 mol/l, 10–10 mol/l, 10–9 mol/l, 10–8 mol/l, 10–7 mol/l, 10–6 mol/l, 10–5 mol/l). Alternativ sau suplimentar, un TCR poate fi considerat a avea „specificitate antigenică” pentru COL6A3 dacă celulele T care exprimă TCR-ul secretă cel puțin de două ori mai mult IFN- γ decăt nivelul de fond netransdus de IFN- γ la co-cultură cu celule-țintă pulsate cu o concentrație scăzută de antigeni COL6A3. O astfel de „specificitate” descrisă mai sus poate fi – de exemplu – analizată cu un ELISA.

Construcția care recunoaște antigenul se leagă în mod selectiv la un antigen COL6A3 având secvența aminoacidică arătată în SEQ ID NO: 58.

Termenul „selectivitate” sau „recunoaștere/legare selectivă” se referă la proprietatea unei construcții de recunoaștere a antigenului, cum ar fi un TCR sau anticorp, de a recunoaște sau de a se lega selectiv preferabil doar la un singur epitop specific și, preferabil, nu prezintă sau nu prezintă substanțial

reactivitate încrucișată cu un alt epitop. Preferabil, „selectivitate” sau „recunoaștere/legare selectivă” înseamnă că construcția de recunoaștere a antigenului (de exemplu, un TCR) recunoaște sau se leagă selectiv preferabil doar la un singur epitop specific și, preferabil, nu prezintă sau nu prezintă substanțial reactivitate încrucișată cu un alt epitop, unde epitopul respectiv este unic pentru o proteină, astfel încât construcția de recunoaștere a antigenului să nu prezinte sau să nu prezinte substanțial reactivitate încrucișată cu un alt epitop și o altă proteină.

Construcția de recunoaștere a antigenului în conformitate cu invenția este preferabil selectat dintr-un anticorp sau un derivat ori un fragment al acestuia sau un receptor de celule T (TCR) ori un derivat sau un fragment al acestuia. Un derivat sau fragment al unui anticorp sau TCR în conformitate cu invenția va păstra capacitatea de legare/recunoaștere a antigenului a moleculei-părinte, în special specificitatea și/sau selectivitatea acesteia, după cum sa explicat mai sus. O astfel de funcționalitate de legare poate fi reținută prin prezența unei regiuni CDR3 așa cum este definită în prezentul document.

Intr-o concretizare a invenției, TCR-urile inovatoare sunt capabile să recunoască antigeni COL6A3 într-o manieră dependentă de clasa I a complexului major de histocompatibilitate (MHC). Termenul „manieră dependentă de MHC de clasă I”, așa cum este utilizat aici, înseamnă că TCR-ul determină un răspuns imun la legarea la antigeni COL6A3 în contextul unei molecule MHC de clasă I. Molecula MHC de clasă I poate fi orice moleculă MHC de clasă I cunoscută în domeniu, de exemplu, molecula HLA-A. Intr-o concretizare preferată a invenției, molecula MHC de clasă I este o moleculă HLA-A2.

Invenția furnizează atât construcții de recunoaștere a antigenului cu lanț unic, cât și construcții de recunoaștere a lanțului dublu.

Invenția oferă în special un TCR drept construcție de recunoaștere a antigenului sau un fragment ori un derivat al acestuia. TCR-ul este de preferință de tip uman, care este înțeles ca fiind generat dintr-un locus TCR uman și, prin urmare, cuprinzând secvențe TCR umane. Mai mult, TCR-ul în conformitate cu invenția poate fi caracterizat prin faptul că este de origine umană și recunoaște în mod specific un antigen COL6A3.

O altă concretizare a invenției furnizează suplimentar sau alternativ construcția de recunoaștere a antigenului din invenție, care induce un răspuns imun, preferabil în care răspunsul imun este caracterizat printr-o creștere a nivelurilor de interferon (IFN) γ .

TCR-urile în conformitate cu invenția pot fi furnizate sub formă de construcții cu lanț unic sau, alternativ, cu lanț dublu compuse atât din lanțul α și β , cât și din lanțul γ și δ .

Construcția care recunoaște antigenul descrisă în prezentul document pot cuprinde un lanț TCR α sau γ ; și/sau un lanț TCR β sau δ ; în care lanțul TCR α sau γ cuprinde un CDR3 având cel puțin 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% sau 100% identitate de secvență cu o secvență aminoacidică selectată din SEQ ID NO: 3, 15 și 27 și/sau în care lanțul TCR β sau δ cuprinde un CDR3 având cel puțin 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% sau 100% identitate de secvență cu o secvență aminoacidică selectată din SEQ ID NO: 9, 21 și 33.

Cel mai preferabil, în unele concretizări suplimentare, în care descrierea se referă la construcții care recunosc antigenul cuprinzând una, două sau toate regiunile CDR1 la CDR3 ale lanțurilor TCR descrise (a se vedea Tabelul 1), astfel de construcții care recunosc antigenul pot fi preferate, care cuprind secvența CDR respectivă având trei, două și, preferabil, doar un resturi aminoacidic modificat. Un rest aminoacidic modificat poate fi selectat dintr-o inserție, o deleție sau o substituție de aminoacizi. Cel mai preferabil este ca cei trei, doi, preferabil un rest aminoacidic modificat să fie primul sau ultimul rest aminoacidic din secvența CDR respectivă. Dacă modificarea este o substituție, atunci este preferabil în unele concretizări ca substituția să fie o substituție conservatoare de aminoacizi.

În cazul în care construcția de recunoaștere a antigenului în conformitate cu invenția este compusă din cel puțin două lanțuri de aminoacizi, cum ar fi un TCR cu lanț dublu sau un fragment de legare a antigenului acestuia, constructul de recunoaștere a antigenului poate cuprinde într-un prim lanț polipeptidic secvența de aminoacizi în conformitate cu SEQ ID NO: 3 și, într-un al doilea lanț polipeptidic, secvența aminoacidică în conformitate cu SEQ ID NO: 9, sau, într-un al doilea lanț polipeptidic, secvența aminoacidică în conformitate cu SEQ ID NO: 15 și, într-un al doilea lanț polipeptidic, secvența aminoacidică în conformitate cu SEQ ID NO: 21, sau, într-un al doilea lanț polipeptidic, secvența aminoacidică în conformitate cu SEQ ID NO: 27 și, într-un al doilea lanț

polipeptidic, secvența aminoacidică în conformitate cu SEQ ID NO: 33. Oricare dintre TCR-urile cu lanț dublu menționate anterior sau fragmente de legare la antigen ale acestora sunt TCR-uri preferate în conformitate cu prezenta invenție. În unele concretizări, CDR3-ul TCR-ului cu lanț dublu al invenției poate avea mutație. Mutațiile secvențelor CDR3 ale SEQ ID NO: 9–28 furnizate de mai sus includ, de preferință, o substituție, o deleție, o adăugare sau o inserție de cel mult trei, preferabil două și cel mai preferabil nu mai mult de un rest aminoacidic. În unele concretizări, primul lanț polipeptidic poate fi un lanț TCR α sau γ , iar al doilea lanț polipeptidic poate fi un lanț TCR β sau δ . Este preferată combinația unui TCR $\alpha\beta$ sau $\gamma\delta$.

10 TCR-ul, sau fragmentul de legare la antigen al acestuia este, în unele concretizări, compus dintr-un lanț TCR α și un lanț TCR β sau un lanț γ și δ . Un astfel de TCR cu lanț dublu cuprinde în fiecare lanț regiuni variabile, iar regiunile variabile cuprind fiecare câte o secvență CDR1, o secvență CDR2 și o secvență CDR3. TCR-urile cuprind secvențele CDR1 la CDR3, așa cum sunt cuprinse în secvența de aminoacizi cu lanț variabil din SEQ ID NO: 4 și SEQ ID NO: 10 (R4P1D10) sau SEQ ID NO: 16 și SEQ ID NO: 22 (R4P3F9) sau SEQ ID NO: 28 și SEQ ID NO: 34 (R4P3H3).

15 Unele concretizări ale invenției se referă la un TCR sau un fragment al acestuia, compus dintr-un lanț TCR α și un lanț TCR β , în care TCR-ul menționat cuprinde secvențele de regiune variabilă având cel puțin 50%, 60%, 70%, 80%, 90 %, 95%, 98%, 99% sau, de preferință, 100% identitate de secvență cu secvența aminoacidică selectată din lanțul α și β conform SEQ ID NO: 4 și, respectiv, 10 sau 16 și, respectiv, 22 sau 28 și, respectiv, 34.

20 TCR-urile inovatoare pot cuprinde în plus o regiune constantă derivată de la orice specie adecvată, cum ar fi orice mamifer, de exemplu, om, șobolan, maimuță, iepure, măgar sau șoarece. Într-o concretizare a invenției, TCR-urile inovatoare cuprind în plus o regiune constantă umană. În unele concretizări preferate, regiunea constantă a TCR în conformitate cu invenția poate fi ușor modificată, de exemplu, prin introducerea de secvențe heterologe, preferabil secvențe murine, care pot crește exprimarea și stabilitatea TCR.

25 Unele concretizări ale invenției se referă la un TCR sau un fragment al acestuia, compus dintr-un lanț TCR α și un lanț TCR β , în care TCR-ul menționat cuprinde regiunea constantă având cel puțin 50%, 60%, 70%, 80%, 90 %, 95%, 98%, 99% sau, de preferință, 100% identitate de secvență cu o secvență aminoacidică selectată din lanțul α și β conform SEQ ID NO: 5 și, respectiv, 11 sau 17 și, respectiv, 23 sau 29 și, respectiv, 35.

30 Lanțul TCR α sau γ descris în prezentul document poate cuprinde în plus un CDR1 având cel puțin 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% sau 100% identitate de secvență cu o secvență aminoacidică selectată din SEQ ID NO: 1, 13 și 25; și/sau un CDR2 având cel puțin 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% sau 100% identitate de secvență cu o secvență aminoacidică selectată din SEQ ID NO: 2, 14 și 26.

35 Lanțul TCR β sau δ poate cuprinde în plus un CDR1 având cel puțin 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% sau 100% identitate de secvență cu o secvență aminoacidică selectată din SEQ ID NO: 7, 19 și 31; și/sau un CDR2 având cel puțin 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% sau 100% identitate de secvență cu o secvență aminoacidică selectată din SEQ ID NO: 8, 20 și 32.

40 Construcția de recunoaștere a antigenului poate cuprinde într-o altă concretizare un fragment de legare a unui TCR și unde respectivul fragment de legare cuprinde de la CDR1 la CDR3 selectate din secvențele de la CDR1 la CDR3 având secvențele aminoacidice de SEQ ID NO: 1, 2, 3 sau 7, 8, 9 ori 13, 14, 15 sau 19, 20, 21 ori 25, 26, 27 sau 31, 32, 33.

45 În alte concretizări ale invenției, construcția de recunoaștere a antigenului, așa cum este descrisă mai sus în prezentul document, este un TCR sau un fragment al acestuia compus din cel puțin o secvență de lanț TCR α și o secvență de lanț TCR β , în care secvența de lanț TCR α cuprinde secvențele de la CDR1 la CDR3 având secvențele aminoacidice de SEQ ID NO: 1–3 și secvența menționată de lanț TCR β cuprinde secvențele de la CDR1 la CDR3 având secvențele aminoacidice de SEQ ID NO: 7–9; sau în care secvența menționată de lanț TCR α cuprinde secvențele de la CDR1 la CDR3 având secvențele aminoacidice de SEQ ID NO: 13–15 și secvența menționată de lanț TCR β cuprinde secvențele de la CDR1 la CDR3 având secvențele aminoacidice de SEQ ID NO: 19–21; sau în care secvența menționată de lanț TCR α cuprinde secvențele de la CDR1 la CDR3 având secvențele aminoacidice de SEQ ID NO:

25–27 și secvența menționată de lanț TCR β cuprinde secvențele de la CDR1 la CDR3 având secvențele aminoacidice de SEQ ID NO: 31–33.

5 În alte concretizări ale invenției, construcția de recunoaștere a antigenului, așa cum este descrisă anterior în prezentul document, este un TCR, sau un fragment al acestuia, cuprinzând cel puțin o secvență de lanț TCR α și o secvență de lanț TCR β , în care secvența de lanț TCR α menționată include o secvență de regiune variabilă având secvența aminoacidică din SEQ ID NO: 4, și în care respectiva secvență de lanț TCR β cuprinde o secvență de regiune variabilă având secvența aminoacidică din SEQ ID NO: 10; sau în care respectiva secvență de lanț TCR α cuprinde o secvență de regiune variabilă având secvența aminoacidică din SEQ ID NO: 16 și în care respectiva secvență de lanț TCR β cuprinde o secvență de regiune variabilă având secvența aminoacidică din SEQ ID NO: 22; sau în care respectiva secvență de lanț TCR α cuprinde o secvență de regiune variabilă având secvența aminoacidică din SEQ ID NO: 28 și în care respectiva secvență de lanț TCR β cuprinde o secvență de regiune variabilă având secvența aminoacidică din SEQ ID NO: 34.

15 În alte concretizări ale invenției, construcția de recunoaștere a antigenului, așa cum este descrisă anterior în prezentul document, este un TCR sau un fragment al acestuia, cuprinzând în plus o regiune constantă TCR având cel puțin 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% sau 100% identitate de secvență cu o secvență aminoacidică selectată din SEQ ID NO: 5, 11, 17, 23, 29 și 35, preferabil în care TCR-ul este compus din cel puțin o secvență de lanț TCR α și o secvență de lanț TCR β , în care secvența de lanț TCR α cuprinde o regiune constantă având cel puțin 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% sau 100% identitate de secvență cu o secvență aminoacidică selectată din SEQ ID NO: 5, 17 și 29.

25 Sunt descrise, de asemenea, construcții de recunoaștere a antigenului, așa cum sunt descrise anterior în prezentul document, cuprinzând un prim lanț TCR având cel puțin 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% sau 100% identitate de secvență cu secvența aminoacidică selectată din SEQ ID NO: 6 și un al doilea lanț TCR având cel puțin 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% sau 100% identitate de secvență cu secvența aminoacidică selectată din SEQ ID NO: 12. Invenția furnizează, de asemenea, TCR-uri cuprinzând un prim lanț TCR având cel puțin 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% sau 100% identitate de secvență cu secvența aminoacidică selectată din SEQ ID NO: 18 și un al doilea lanț TCR având cel puțin 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% sau 100% identitate de secvență cu secvența aminoacidică selectată din SEQ ID NO: 24. În alte concretizări, invenția furnizează construcții de recunoaștere a antigenului care sunt TCR-uri și cuprind un prim lanț TCR având cel puțin 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% sau 100% identitate de secvență cu secvența aminoacidică selectată din SEQ ID NO: 30 și un al doilea lanț TCR având cel puțin 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% sau 100% identitate de secvență cu secvența aminoacidică selectată din SEQ ID NO: 36.

40 Așa cum este utilizat în prezentul document, termenul „murin” sau „uman”, atunci când se referă la o construcție de recunoaștere a antigenului, ori un TCR sau orice componentă a unui TCR descrisă în prezentul document (de exemplu, regiunea de determinare a complementarității (CDR), regiunea variabilă, regiunea constantă, lanțul α și/sau lanțul β) înseamnă un TCR (sau o componentă a acestuia) care este derivat de la șoarece sau, respectiv, un locus TCR nerearanjat de om.

45 Intr-o concretizare a invenției, sunt furnizate TCR-uri himerice, în care lanțurile TCR au inclus secvențe de la mai multe specii. Preferabil, un TCR în conformitate cu invenția poate cuprinde un lanț α cuprinzând o regiune variabilă umană a unui lanț α și, de exemplu, o regiune constantă murină a unui lanț TCR α murin.

50 Intr-una dintre concretizări, TCR-ul din invenție este un TCR uman cuprinzând regiuni variabile umane în conformitate cu variantele de mai sus și regiuni constante umane.

55 TCR-ul din invenție poate fi furnizat ca un TCR cu lanț unic (scTCR). Un scTCR poate cuprinde o polipeptidă a unei regiuni variabile a unui prim lanț TCR (de exemplu, un lanț alfa) și o polipeptidă a unui întreg lanț TCR (de lungime completă) (de exemplu, un lanț beta) sau viceversa. Mai mult, scTCR-ul poate cuprinde opțional unul sau mai mulți linkeri care unește două lanțuri simple, așa cum este descris în prezentul document. De asemenea, este furnizat un astfel de scTCR al invenției care este fuzionat cu o citokină umană, cum ar fi IL-2, IL-7 sau IL-15.

60 Construcția de recunoaștere a antigenului în conformitate cu invenția poate fi furnizat și sub forma unui complex multimeric cuprinzând cel puțin două molecule scTCR, în care moleculele scTCR

menționate sunt fiecare fuzionate la cel puțin un fragment de biotină și în care scTCR-urile respective sunt interconectate prin interacțiuni biotină-streptavidină pentru a se permite formarea complexului multimeric menționat. Abordări similare pentru generarea TCR-ului multimeric sunt, de asemenea, posibile și incluse în această descriere. De asemenea, sunt furnizate complexe multimerice de ordin superior cuprinzând mai mult de două scTCR-uri în conformitate cu invenția.

Un TCR este un fragment având cel puțin un domeniu variabil TCR alfa sau gamma și/sau TCR beta sau delta. În general, acestea cuprind atât un domeniu variabil TCR alfa, cât și un domeniu variabil TCR beta. Ele pot fi heterodimeri $\alpha\beta$ sau pot fi în format cu lanț unic. Pentru utilizare în terapia adoptivă, un TCR heterodimeric $\alpha\beta$ poate fi, de exemplu, transfectat ca lanțuri de lungime completă având atât domenii citoplasmice, cât și domenii transmembranare. Dacă se dorește, poate fi prezentă o legătură disulfurică introdusă între resturile domeniilor constante respective.

Intr-o concretizare preferată, construcția de recunoaștere a antigenului este un TCR uman sau un fragment ori un derivat al acestuia. Un TCR uman sau un fragment ori un derivat al acestuia este un TCR, care cuprinde peste 50% din secvența TCR umană corespunzătoare. Preferabil, doar o mică parte a secvenței TCR este de origine artificială sau derivată de la alte specii. Se cunoaște, totuși, că TCR-urile himerice, de exemplu derivate din origine umană cu secvențe murine în domenii constante, sunt avantajoase. În mod special preferate sunt, prin urmare, TCR-uri în conformitate cu prezenta invenție care conțin secvențe murine în partea extracelulară a domeniilor lor constante.

Astfel, este preferabil, de asemenea, ca o construcție de recunoaștere a antigenului inovatoare să fie capabilă să-și recunoască antigenul într-un mod dependent de antigenul leucocitar uman (HLA), de preferință într-un mod dependent de HLA-A02. În contextul prezentei invenții, termenul „mod dependent de HLA” înseamnă că o construcție de recunoaștere a antigenului se leagă de antigen numai în cazul în care peptida antigenică este prezentată de HLA-ul menționat.

Construcția de recunoaștere a antigenului în conformitate cu invenția, într-un exemplu de concretizare, induce de preferință un răspuns imun, preferabil în care răspunsul imun este caracterizat prin creșterea nivelurilor de interferon (IFN) γ .

De asemenea, în prezentul document este descrisă o polipeptidă care cuprinde o porțiune funcțională a oricăruia dintre TCR-uri (sau variante funcționale ale acestora) descrise în prezentul document, de exemplu, pentru oricare dintre TCR-urile selectate dintre R4P1D10, R4P3F9 și R4P3H3, așa cum se specifică în secțiunea de exemple și Tabelul 1. Termenul „polipeptidă”, așa cum este utilizat în prezentul document, include oligopeptide și se referă la un singur lanț aminoacidic conectat prin una sau mai multe legături peptidice. În ceea ce privește polipeptidele, porțiunea funcțională poate fi orice porțiune care conține aminoacizi adiacenți ai TCR-ului (sau ai variantei funcționale a acestuia) din care face parte, cu condiția ca porțiunea funcțională să se lege în mod specific la un antigen COL6A3, preferabil așa cum este descris în prezentul document în Tabelul 2 și peptidele A1–A9 (SEQ ID NO: 59-67). Termenul „porțiune funcțională”, atunci când este utilizat referitor la un TCR (sau o variantă funcțională a acestuia), se referă la orice parte sau fragment al TCR-ului (sau al variantei funcționale a acestuia) în conformitate cu invenția, care parte sau fragment păstrează activitatea biologică a TCR-ului (sau a variantei funcționale a acestuia) din care face parte (TCR-ul părinte sau varianta funcțională părinte a acestuia). Porțiunile funcționale cuprind, de exemplu, acele părți ale unui TCR (sau ale variantei funcționale a acestuia) care păstrează capacitatea de a se lega în mod specific la un antigen COL6A3 (într-un mod dependent de HLA-A2) sau de a detecta, a trata sau a preveni cancerul într-o măsură similară, în aceeași măsură sau într-o măsură mai mare, ca TCR părinte (sau varianta funcțională a acestuia). Referitor la TCR-ul părinte (sau varianta funcțională a acestuia), porțiunea funcțională poate cuprinde, de exemplu, aproximativ 10%, 25%, 30%, 50%, 68%, 80%, 90%, 95% sau mai mult din secvențele variabile ale TCR-ului părinte (sau ale variantei funcționale a acestuia).

Porțiunea funcțională poate cuprinde aminoacizi suplimentari la capătul amino sau carboxi al porțiunii ori la ambele capete, în care aminoacizii suplimentari nu se găsesc în secvența aminoacidică a TCR-ului părinte sau a variantei funcționale a acestuia. De dorit, aminoacizii suplimentari nu interferează cu funcția biologică a porțiunii funcționale, de exemplu, legându-se în mod specific de antigeni COL6A3 și/sau având capacitatea de a detecta cancerul, de a trata sau preveni cancerul, etc. Mai de dorit, aminoacizii suplimentari sporesc activitatea biologică în comparație cu activitatea biologică a TCR-ului părinte sau a variantei funcționale a acestuia.

Polipeptida poate cuprinde o porțiune funcțională a uneia sau ambelor lanțuri α și β ale TCR-urilor sau variante funcționale ale acestora în conformitate cu invenția, cum ar fi o porțiune funcțională care cuprinde unul dintre mai multe CDR1, CDR2 și (preferabil) CDR3 ale regiunii (regiunilor) variabile a(le) lanțului α și/sau ale lanțului β al unui TCR sau a al unei variante funcționale a acestuia în conformitate cu invenția. Polipeptida poate cuprinde o porțiune funcțională care cuprinde secvența aminoacidică de SEQ ID NO: 3, 9, 15, 21, 27 și 33 (CDR3 al regiunilor variabile ale TCR-ului în conformitate cu invenția) sau o combinație a acestora. Polipeptida poate cuprinde, de exemplu, regiunea variabilă a TCR-ului inovator sau varianta funcțională a acestuia cuprinzând o combinație a regiunilor CDR prezentate mai sus. În acest sens, polipeptida poate cuprinde secvența aminoacidică a oricăreia dintre SEQ ID NO: 4, 10, 16, 22, 28 și 34 (regiunile variabile ale unui lanț α sau β al TCR-ului în conformitate cu invenția).

În unele cazuri, construcția din invenție poate cuprinde unul sau două lanțuri polipeptidice cuprinzând o secvență în conformitate cu oricare dintre SEQ ID NO: 1–36 (secvențe CDR, regiuni constante și variabile și secvențe de lungime completă) sau fragmente funcționale ale acestora și cuprind în plus alte secvențe aminoacidice, de exemplu, o secvență de aminoacizi care codifică o imunoglobulină sau o porțiune a acesteia; atunci proteina inovatoare poate fi o proteină de fuziune. În acest sens, invenția furnizează, de asemenea, o proteină de fuziune care cuprinde cel puțin una dintre polipeptidele inovatoare descrise în prezentul document împreună cu cel puțin o altă polipeptidă. Cealaltă polipeptidă poate exista ca polipeptidă separată a proteinei de fuziune sau poate exista ca polipeptidă care este exprimată în cadru (în tandem) cu una dintre polipeptidele inovatoare descrise în prezentul document. Cealaltă polipeptidă poate include orice moleculă peptidică sau proteinacee ori o porțiune a acesteia, incluzând, dar fără a se limita la o imunoglobulină, CD3, CD4, CD8, o moleculă MHC, o moleculă CD1, de exemplu, CD1a, CD1b, CD1c, CD1d etc.

Proteina de fuziune poate cuprinde una sau mai multe copii ale polipeptidei din invenție și/sau una sau mai multe copii ale celeilalte polipeptide. De exemplu, proteina de fuziune poate cuprinde 1, 2, 3, 4, 5 sau mai multe copii ale polipeptidei inovatoare și/sau ale celeilalte polipeptide. Metodele adecvate de producere a proteinelor de fuziune sunt cunoscute în domeniu și includ, de exemplu, metode recombinante. În unele concretizări ale invenției, TCR-urile (și porțiunile funcționale și variantele funcționale ale acestora), polipeptidele și proteinele din invenție pot fi exprimate ca o singură proteină cuprinzând o peptidă linker care leagă lanțul α și lanțul β și care leagă lanțul γ și lanțul δ . În acest sens, TCR-urile (și variantele funcționale și porțiunile funcționale ale acestora), polipeptidele și proteinele în conformitate cu invenția cuprind secvențele aminoacidice ale regiunilor variabile ale TCR-ului în conformitate cu invenția și pot cuprinde în plus o peptidă linker. Peptida linker poate facilita în mod avantajos exprimarea unui TCR recombinant (incluzând porțiuni funcționale și variante funcționale ale acestora), a unei polipeptide recombinante și/sau a unei proteine recombinante într-o celulă-gazdă. Peptida linker poate cuprinde orice secvență aminoacidică adecvată. Secvențele linker pentru construcții TCR cu lanț unic sunt bine cunoscute în domeniu. O astfel de construcție cu lanț unic poate cuprinde în plus una sau două secvențe de domeniu constant. La exprimarea construcției incluzând peptida linker de către o celulă-gazdă, peptida linker poate fi, de asemenea, clivată, rezultând lanțuri α și β separate și lanțuri γ și δ separate.

Așa cum s-a menționat deja mai sus, funcționalitatea de legare a TCR-ului în conformitate cu invenția poate fi furnizată în cadrul unui anticorp. Termenul „anticorp”, în diferitele sale forme gramaticale, este utilizat în prezentul document pentru a se referi la molecule de imunoglobulină și porțiuni active imunologice de molecule de imunoglobulină, adică molecule care conțin un situs de legare la antigen sau un paratop. Astfel de molecule sunt, de asemenea, denumite „fragmente de legare la antigen” ale moleculelor de imunoglobulină. Invenția furnizează și un anticorp sau o porțiune de legare la antigen a acestuia care se leagă în mod specific la antigenii descriși în prezentul document. Anticorpul poate fi orice tip de imunoglobulină cunoscut în domeniu. De exemplu, anticorpul poate fi de orice izotip, de exemplu, IgA, IgD, IgE, IgG, IgM etc. Anticorpul poate fi monoclonal sau policlonal. Anticorpul poate fi un anticorp natural, de exemplu, un anticorp izolat și/sau purificat de la un mamifer, de exemplu, șoarece, iepure, capră, cal, găină, hamster, om etc. Alternativ, anticorpul poate fi un anticorp proiectat, de exemplu, un anticorp umanizat sau un anticorp himeric. Anticorpul poate fi sub formă monomerică sau polimerică.

De asemenea, în prezentul document sunt descrise porțiuni de legare la antigen ale oricăreia dintre anticorpii descriși în prezentul document. Porțiunea de legare la antigen poate fi orice porțiune care are cel puțin un situs de legare la antigen, cum ar fi Fab, F(ab')₂, dsFv, sFv, diacorpi și triacorpi. Se poate genera un fragment de anticorp cu fragment de regiune variabilă cu un singur lanț (sFv), care constă dintr-un fragment Fab trunchiat cuprinzând domeniul variabil (V) al unui lanț greu de anticorp legat la un

domeniu V al unui lanț ușor de anticorp printr-o peptidă sintetică, folosindu-se tehnici de rutină de tehnologie cu ADN recombinant. În mod similar, pot fi preparate fragmente de regiune variabilă stabilizate cu disulfură (dsFv) prin tehnologie cu ADN recombinant; cu toate acestea, fragmentele de anticorp din invenție nu se limitează la aceste tipuri exemplare de fragmente de anticorp. De asemenea, anticorpul sau porțiunea de legare la antigen a acestuia poate fi modificată pentru a cuprinde un marcaj detectabil, cum ar fi, de exemplu, un radioizotop, un fluorofor (de exemplu, izotiocianat de fluoresceină (FITC), ficoeritrină (PE)), o enzimă (de exemplu, fosfatază alcalină, peroxidază de hrean) și particule de elemente (de exemplu, particule de aur). În unele cazuri, secvența TCR CDR3 poate fi ușor modificată, dar de preferință cu nu mai mult de 3 resturi aminoacidice, preferabil doar două și cel mai preferabil o singură poziție de aminoacid, în comparație cu secvențele CDR3 furnizate în SEQ ID NO: 3, 9, 15, 21, 27 și 33. De preferință, anticorpii cuprind CDR3, de preferință toate regiunile CDR1 până la CDR3 în combinație, așa cum este indicat pentru TCR-ul invenției în Tabelul 1.

Metode adecvate de fabricare a anticorpilor sunt cunoscute în domeniu. De exemplu, metodele standard de hibridom sunt descrise în, de exemplu, Kohler and Milstein, Eur. J. Immunol, 5, 51 1-519 (1976), Harlow and Lane (eds.), Antibodies: A Laboratory Manual, CSH Press (1988), and C.A. Janeway et al. (eds.), Immunobiology, 8 Ed., Garland Publishing, New York, NY (201 1)). Alternatively, other methods, such as EBV-hybridoma methods (Haskard and Archer, J. Immunol. Methods, 74(2), 361-67 (1984), and Roder et al, Methods Enzymol, 121, 140-67 (1986)), iar sisteme de exprimare a vectorilor bacteriofagi (vezi, de exemplu, Huse et al., Science, 246, 1275-81 (1989)) sunt cunoscute în domeniu. De asemenea, metodele de producere a anticorpilor la animale neumane sunt descrise, de exemplu, în brevetele SUA cu numerele 5.545.806, 5.569.825 și 5.714.352 și în cererea de brevet SUA cu numărul 2002/0197266.

Unele concretizări ale invenției se referă, de asemenea, la TCR-uri sau la fragmente funcționale și polipeptide ale acestora care sunt TCR-uri solubile. În sensul prezentului document, termenul „receptor de celule T solubil” se referă la variantele trunchiate heterodimerice ale TCR-urilor native, care cuprind porțiuni extracelulare ale lanțului α și lanțului β ale TCR-ului, legate printr-o legătură disulfidică, dar cărora le lipsesc domeniile transmembranar și citosolic ale proteinei native. Termenii „secvență a lanțului α al receptorului de celule T solubil și secvență a lanțului β al receptorului de celule T solubilă” se referă la secvențele lanțului α și lanțului β ale TCR care nu au domeniile transmembranar și citosolic. Secvența (aminoacid sau acid nucleic) a lanțului α și a lanțurilor β ale TCR-ului solubil poate fi identică cu secvențele corespunzătoare dintr-un TCR nativ sau poate cuprinde secvențe variante ale lanțului α și ale lanțului β ale TCR solubil, în comparație cu secvențele corespunzătoare ale TCR-ului nativ. Termenul „receptor de celule T solubil”, așa cum este utilizat în prezentul document, cuprinde TCR-uri solubile cu secvențe de lanț α și lanț β ale TCR-urilor solubile, variante sau non-variante. Variațiile pot fi în regiunile variabile sau constante ale secvențelor lanțului α și lanțului β ale TCR-ului solubil și pot include, fără a se limita la acestea, mutații de deleție, inserție și substituție de aminoacizi, precum și modificări ale secvenței de acid nucleic, care nu modifică secvența de aminoacizi. TCR-ul solubil al invenției păstrează în orice caz funcționalitatea de legare a moleculelor lor părinte.

Problema de mai sus este rezolvată în continuare printr-un acid nucleic care codifică pentru o construcție de recunoaștere a antigenului din invenție. Acidul nucleic, de preferință, (a) are o catenă care codifică pentru o construcție de recunoaștere a antigenului conform invenției; (b) are o catenă complementară catenei de la (a); sau (c) are o catenă care se hibridizează în condiții stricte cu o moleculă descrisă la (a) sau (b). Condițiile stricte sunt cunoscute de către specialiștii în domeniu, în special din Sambrook et al, „Molecular Cloning”. În plus, acidul nucleic are, în mod opțional, secvențe suplimentare, care sunt necesare pentru exprimarea secvenței de acid nucleic corespunzătoare proteinei, în special pentru exprimarea într-o celulă de mamifer/umană. Acidul nucleic utilizat poate fi conținut într-un vector adecvat pentru a permite exprimarea secvenței de acid nucleic corespunzătoare peptidei într-o celulă. Cu toate acestea, acizii nucleici pot fi, de asemenea, utilizați pentru a transforma o celulă prezentatoare de antigen, care poate să nu se limiteze la celulele prezentatoare de antigen clasice, cum ar fi celulele dendritice, astfel încât acestea să producă ele însele proteinele corespunzătoare pe suprafața lor celulară.

Prin „acid nucleic”, așa cum este utilizat în prezentul document, se înțelege „polinucleotidă”, „oligonucleotidă” și „moleculă de acid nucleic” și, în general, un polimer de ADN sau ARN, care poate fi monocatenar sau bicatenar, sintetizat sau obținut (de exemplu, izolat și/sau purificat) din surse naturale, care poate conține nucleotide naturale, nenaturale sau modificate și care poate conține o legătură internucleotidică naturală, nenaturală sau modificată, cum ar fi o legătură fosfoamidat sau o legătură fosforotioat, în locul fosfodiesterului care se găsește între nucleotidele unei oligonucleotide nemodificate.

De preferință, acizii nucleici în conformitate cu invenția sunt recombinanți. În sensul prezentului document, termenul „recombinat” se referă la (i) moleculele care sunt construite în afara celulelor vii prin alăturarea unor segmente de acid nucleic natural sau sintetic la molecule de acid nucleic care se pot replica într-o celulă vie sau (ii) moleculele care rezultă din replicarea celor descrise la punctul (i) de mai sus. În scopul prezentului document, replicarea poate fi o replicare *in vitro* sau o replicare *in vivo*. Acidul nucleic poate cuprinde orice secvență de nucleotide care codifică oricare dintre TCR-uri, polipeptide sau proteine, sau porțiuni funcționale sau variante funcționale ale acestora descrise în prezentul document.

Mai mult, invenția oferă un vector care cuprinde un acid nucleic în conformitate cu invenția, așa cum este descris mai sus. Este de dorit ca vectorul să fie un vector de exprimare sau un vector de exprimare recombinant. Termenul „vector de exprimare recombinant” se referă, în contextul prezentei invenții, la o construcție de acid nucleic care permite exprimarea unui ARNm, a unei proteine sau a unei polipeptide într-o celulă-gazdă adecvată. Vectorul de exprimare recombinant al invenției poate fi orice vector de exprimare recombinant adecvat și poate fi utilizat pentru a transforma sau transfecta orice gazdă adecvată. Printre vectorii adecvați se numără cei concepuți pentru propagare și expansiune sau pentru exprimare sau ambele, cum ar fi plasmidele și virusii. Exemple de vectori de exprimare animalii includ pEUK-Cl, pMAM și pMAMneo. De preferință, vectorul de exprimare recombinant este un vector viral, de exemplu, un vector retroviral. Vectorul de exprimare recombinant cuprinde secvențe de reglare, cum ar fi codonii de inițiere și terminare a transcripției și a translației, care sunt specifice tipului de celulă-gazdă (de exemplu, bacterie, ciupercă, plantă sau animal), în care urmează să fie introdus vectorul și în care se poate realiza exprimarea acidului nucleic al invenției. În plus, vectorul invenției poate include una sau mai multe gene marker, care permit selectarea gazdelor transformate sau transfectate. Vectorul de exprimare recombinant poate cuprinde un promotor nativ sau normativ legat în mod operațional de secvența nucleotidică care codifică construcțiile invenției sau de secvența nucleotidică, care este complementară sau care se hibridizează cu secvența nucleotidică care codifică construcțiile invenției. Selecția de promotori include, de exemplu, promotori puternici, slabi, inductibili, specifici pentru țesut și specifici pentru dezvoltare. Promotorul poate fi un promotor neviral sau un promotor viral. Vectorii de exprimare recombinanți din invenție pot fi concepuți fie pentru exprimare tranzitorie, fie pentru exprimare stabilă, fie pentru ambele. De asemenea, vectorii de exprimare recombinanți pot fi realizați pentru exprimare constitutivă sau pentru exprimare inductibilă.

Invenția se referă, de asemenea, la o celulă-gazdă care cuprinde o construcție de recunoaștere a antigenului în conformitate cu invenția. În mod specific, celula-gazdă a invenției cuprinde un acid nucleic sau un vector, așa cum este descris mai sus. Celula-gazdă poate fi o celulă eucariotă, de exemplu, o plantă, un animal, o ciupercă sau o algă, sau poate fi o celulă procariotă, de exemplu, o bacterie sau un protozoar. Celula-gazdă poate fi o celulă cultivată sau o celulă primară, adică o celulă izolată direct dintr-un organism, de exemplu, un om. Celula-gazdă poate fi o celulă aderentă sau o celulă în suspensie, adică o celulă care crește în suspensie. În scopul producerii unui TCR, a unei polipeptide sau a unei proteine recombinante, celula-gazdă este de preferință o celulă de mamifer. Cel mai preferabil, celula-gazdă este o celulă umană. Deși celula-gazdă poate fi de orice tip de celulă, poate proveni din orice tip de țesut și poate fi în orice stadiu de dezvoltare, celula-gazdă este, de preferință, o leucocită din sângele periferic (PBL) sau o celulă mononucleară din sângele periferic (PBMC). Cel mai preferabil, celula-gazdă este o celulă T. Celula T poate fi orice celulă T, cum ar fi o celulă T cultivată, de exemplu, o celulă T primară, sau o celulă T dintr-o linie de celule T cultivate, de exemplu, Jurkat, SupT1 etc. ori celulă T obținută de la un mamifer, de preferință o celulă T sau un precursor de celulă T de la un pacient uman. În cazul în care este obținută de la un mamifer, celula T poate fi obținută din numeroase surse, inclusiv, dar fără a se limita la sânge, măduvă osoasă, ganglioni limfatici, timus sau alte țesuturi sau fluide. Celulele T pot fi, de asemenea, îmbogățite sau purificate. Preferabil, celula T este o celulă umană. Mai preferabil, celula T este o celulă T izolată de la un om. Celula T poate fi orice tip de celulă T și poate fi în orice stadiu de dezvoltare, inclusiv, dar fără a se limita la celule T CD4-pozitive și/sau CD8-pozitive, celule T helper CD4-pozitive, de exemplu, celule Th1 și Th2, celule T CD8-pozitive (de exemplu, celule T citotoxice), celule infiltrate în tumori (TIL-uri), celule T cu memorie, celule T naive și altele asemenea. Preferabil, celula T este o celulă T CD8-pozitivă sau o celulă T CD4-pozitivă.

Preferabil, celula-gazdă în conformitate cu invenția este un limfocit, de preferință un limfocit T, cum ar fi o celulă T CD4-pozitivă sau CD8-pozitivă. Celula-gazdă este, de asemenea, de preferință, o celulă T reactivă la tumori, specifică pentru celulele tumorale care exprimă COL6A3.

Un alt aspect al prezentei invenții se referă la construcțiile de recunoaștere a antigenului, la acizii nucleici, la vectori, la compozițiile farmaceutice și/sau la celula-gazdă ale invenției pentru utilizare în

medicină. Utilizarea în medicină, într-o concretizare preferată, include utilizarea în diagnosticarea, prevenirea și/sau tratarea unei boli tumorale, cum ar fi o boală tumorală malignă sau benignă. Boala tumorală este, de exemplu, o boală tumorală caracterizată prin exprimarea COL6A3, într-un cancer sau într-o celulă tumorală a respectivei boli tumorale.

5

In ceea ce privește aplicațiile medicale menționate mai sus ale construcțiilor de recunoaștere a antigenului și a altor materiale derivate din acestea, cancerul care trebuie tratat și/sau diagnosticat poate fi orice cancer, inclusiv oricare dintre cancer limfocitic acut, leucemie mieloidă acută, rabdomiosarcom alveolar, cancer osos, cancer cerebral, cancer de glandă mamară, cancer anal, de canal anal sau anorectal, cancer ocular, cancer de cale biliară intrahepatică, cancer de articulații, cancer de gât, de vezică biliară sau de pleură, cancer de nas, de cavitate nazală sau de ureche medie, cancer de cavitate bucală, cancer vaginal, cancer vulvar, leucemie limfocitară cronică, cancer mieloid cronic, cancer de colon, cancer esofagian, cancer de col uterin, tumoră carcinoidă gastrointestinală, gliom, limfom Hodgkin, cancer hipofaringian, cancer de rinichi, cancer laringian, cancer hepatic, cancer pulmonar, mezoteliom malign, melanom, mielom multiplu, cancer nazofaringian, limfom non-Hodgkin, cancer orofaringian, cancer ovarian, cancer penian, cancer de pancreas, de peritoneu, de oment și cancer mezenteric, cancer faringian, cancer de prostată, cancer rectal, cancer renal, cancer de piele, cancer de intestin subțire, cancer de țesuturi moi, cancer de stomac, cancer testicular, cancer tiroidian, cancer uterin, cancer de ureter și cancer de vezică urinară. Un cancer preferat este cancerul de col uterin, cancerul orofaringian, cancerul anal, cancerul canalului anal, cancerul anorectal, cancerul vaginal, cancerul vulvar sau cancerul penian. Un cancer deosebit de preferat este un cancer COL6A3-pozitiv, inclusiv cancerul gastrointestinal și cancerul gastric.

25

Construcțiile, proteinele, anticorpii TCR, polipeptidele și acizii nucleici ai invenției sunt în special destinate utilizării în imunoterapie, de preferință, în terapia adoptivă cu celule T. Administrarea compușilor invenției poate implica, de exemplu, perfuzarea de celule T ale invenției în pacientul respectiv. De preferință, aceste celule T sunt celule T autologe ale pacientului și sunt transduse *in vitro* cu un acid nucleic sau o construcție de recunoaștere a antigenului din prezenta invenție.

30

WO 2016/011210 descrie celule modificate pentru terapie adoptivă, inclusiv celule NK și celule T, compoziții care conțin aceste celule și metode de administrare a acestora la subiecți. Celulele pot conține receptori antigenici modificați genetic care se leagă în mod specific de antigeni, cum ar fi receptorii himerici de antigen (CAR) și receptorii costimulatori.

35

Obiectivul invenției este rezolvat, de asemenea, printr-o metodă de fabricare a unei linii celulare care exprimă o construcție care recunoaște antigenul specific COL6A3, care cuprinde

a. Furnizarea unei celule-gazdă adecvate,

b. Furnizarea unei construcții genetice care cuprinde o secvență codificatoare care codifică pentru o construcție de recunoaștere a antigenului conform invenției prezentate în prezentul document,

40

c. Introducerea în respectiva celulă-gazdă adecvată a respectivei construcții genetice și

d. Exprimarea construcției genetice de către respectiva celulă-gazdă adecvată.

45

Metoda poate cuprinde, de asemenea, o etapă de prezentare la suprafața celulară a construcției de recunoaștere a antigenului respectiv pe celula-gazdă adecvată.

50

În alte forme de realizare preferate, construcția genetică este o construcție de exprimare care cuprinde o secvență promotoare legată în mod operațional de respectiva secvență de codificare.

55

De preferință, respectiva construcție de recunoaștere a antigenului este de origine mamiferă, de preferință de origine umană. Celula-gazdă preferată potrivită pentru utilizare în metoda invenției este o celulă de mamifer, cum ar fi o celulă umană, în special un limfocit T uman. Celulele T destinate utilizării în cadrul invenției sunt descrise în detaliu mai sus.

55

Invenția cuprinde, de asemenea, forme de realizare în care construcția de recunoaștere a antigenului este un TCR modificat, în care modificarea respectivă constă în adăugarea de domenii funcționale, cum ar fi un marcaj sau o substanță activă din punct de vedere terapeutic. În plus, sunt incluse TCR-uri care au domenii alternative, cum ar fi un domeniu alternativ de ancorare în membrană în locul regiunii transmembranare endogene.

Este de dorit ca sistemul de transfectare pentru introducerea construcției genetice în respectiva celulă-gază adecvată să fie un sistem de vectori retrovirali. Astfel de sisteme sunt bine cunoscute de către specialiștii în domeniu.

5 De asemenea, prezenta invenție cuprinde, într-una dintre concretizări, etapa suplimentară a metodei de izolare și purificare a construcției de recunoaștere a antigenului din celulă și, opțional, reconstituirea fragmentelor de construcție de recunoaștere a antigenului translatate într-o celulă T.

10 De asemenea, este prezentată aici o celulă T obținută sau care poate fi obținută printr-o metodă de producere a unui receptor de celule T (TCR), care este specific pentru celulele tumorale și are o aviditate ridicată, așa cum este descris mai sus. O astfel de celulă T este în funcție de celula-gază utilizată în metoda invenției, de exemplu, o celulă T umană sau non-umană, de preferință un TCR uman.

15 TCR-urile, polipeptidele, proteinele (inclusiv variantele funcționale ale acestora), acizii nucleici, vectorii de exprimare recombinanți, celulele-gază (inclusiv populațiile acestora) și anticorpii (inclusiv porțiunile de legare la antigen ale acestora) pot fi izolați și/sau purificați. Termenul „izolat”, astfel cum este utilizat în prezentul document, înseamnă că a fost îndepărtat din mediul său natural. Termenul „purificat”, astfel cum este utilizat în prezentul document, înseamnă că a crescut în puritate, unde „puritate” este un termen relativ și nu trebuie interpretat în mod necesar ca puritate absolută. De exemplu, puritatea poate fi de cel puțin aproximativ 50%, poate fi mai mare de 60%, 70%, 80%, 90%, 95% sau poate fi de 100%.

25 Construcțiile de recunoaștere a antigenului, TCR-urile, polipeptidele, proteinele (inclusiv variantele funcționale ale acestora), acizii nucleici, vectorii de exprimare recombinanți, celulele-gază (inclusiv populațiile acestora) și anticorpii (inclusiv porțiunile de legare la antigen din acestea), toate acestea fiind denumite în continuare în mod colectiv „materiale TCR”, pot fi formulate într-o compoziție, cum ar fi o compoziție farmaceutică. În acest sens, este prezentată o compoziție farmaceutică care cuprinde oricare dintre construcțiile de recunoaștere a antigenului, TCR-urile, polipeptidele, proteinele, porțiunile funcționale, variantele funcționale, acizii nucleici, vectorii de exprimare, celulele-gază
30 (inclusiv populațiile acestora) și anticorpii (inclusiv porțiunile de legare la antigen) descrise în prezentul document și un purtător, excipient și/sau stabilizator acceptabil din punct de vedere farmaceutic. Compozițiile farmaceutice care conțin oricare dintre materialele TCR pot cuprinde mai mult de un material TCR, de exemplu, o polipeptidă și un acid nucleic, sau două sau mai multe TCR-uri diferite (inclusiv porțiuni funcționale și variante funcționale ale acestora). Alternativ, compoziția farmaceutică
35 poate cuprinde un material TCR în combinație cu alt (alți) agent (agenți) sau medicament(e) farmaceutic activ(e), cum ar fi agenții chimioterapeutici, de exemplu, asparaginază, busulfan, carboplatină, cisplatină, daunorubicin, doxorubicină, fluorouracil, gemcitabină, hidroxiuree, metotrexat, paclitaxel, rituximab, vinblastină, vincristină etc. De preferință, purtătorul este un purtător acceptabil din punct de vedere farmaceutic. În ceea ce privește compozițiile farmaceutice, purtătorul poate fi oricare dintre cei utilizați în
40 mod convențional pentru materialul TCR în cauză. Astfel de purtători acceptați din punct de vedere farmaceutic sunt bine cunoscuți de specialiștii în domeniu și sunt ușor disponibili publicului. Este de preferat ca purtătorul acceptabil din punct de vedere farmaceutic să fie unul care nu are efecte secundare dăunătoare sau toxicitate în condițiile de utilizare.

45 Astfel, este furnizată, de asemenea, o compoziție farmaceutică, care cuprinde oricare dintre produsele descrise aici ale invenției și materialele TCR ale invenției, în special orice proteine, acizi nucleici sau celule-gază. Într-o concretizare preferată, compoziția farmaceutică este destinată imunoterapiei, de preferință terapiei celulare adoptive.

50 De preferință, materialul TCR este administrat prin injectare, de exemplu, intravenos. Atunci când materialul TCR este o celulă-gază care exprimă TCR-ul din invenție (sau o variantă funcțională a acestuia), purtătorul acceptabil din punct de vedere farmaceutic pentru celulele pentru injectare poate include orice purtător izotonic, cum ar fi, de exemplu, soluție salină normală (aproximativ 0,5 %). 90% p/v de NaCl în apă, aproximativ 300 mOsm/l NaCl în apă sau aproximativ 9,0 g NaCl pe litru de apă),
55 soluție de electrolit NORMOSOL R (Abbott, Chicago, IL), PLASMA-LYTE A (Baxter, Deerfield, IL), aproximativ 5% dextroză în apă sau lactat Ringer. Într-o concretizare, purtătorul acceptabil din punct de vedere farmaceutic este suplimentat cu albumină serică umană.

60 Cantitatea sau doza (de exemplu, numărul de celule atunci când materialul TCR constă din una sau mai multe celule) de material TCR administrat poate fi suficientă pentru a afecta, de exemplu, un răspuns terapeutic sau profilactic, la subiect sau la animal într-un interval de timp rezonabil. De exemplu, doza de

material TCR ar trebui să fie suficientă pentru a se lega de un antigen de cancer sau pentru a detecta, trata sau preveni cancerul într-o perioadă de aproximativ 2 ore sau mai mult, de exemplu, între 12 și 24 de ore sau mai mult, de la momentul administrării. În anumite concretizări, perioada de timp poate fi chiar mai lungă. Doza va fi determinată de eficacitatea materialului TCR respectiv și de starea animalului (de exemplu, a omului), precum și de greutatea corporală a animalului (de exemplu, a omului) care urmează să fie tratat.

Se are în vedere faptul că compozițiile farmaceutice, TCR-urile (inclusiv variantele funcționale ale acestora), polipeptidele, proteinele, acizii nucleici, vectorii de expresie recombinantă, celulele-gazdă sau populațiile de celule pot fi utilizate în metodele de tratare sau de prevenire a cancerului sau a premalignității COL6A3- pozitive. Se consideră că TCR-urile (și variantele funcționale ale acestora) se leagă în mod specific de antigenul COL6A3, astfel încât TCR-ul (sau polipeptida sau proteina înrudită din invenție și variantele funcționale ale acesteia), atunci când este exprimată de o celulă, este capabilă să medieze un răspuns imunitar împotriva unei celule-țintă care exprimă antigeni COL6A3. În acest sens, este prezentată o metodă de tratare sau de prevenire a unei afecțiuni, în special a cancerului, la un mamifer, care constă în administrarea mamiferului respectiv a oricăreia dintre compozițiile farmaceutice, construcțiile de recunoaștere a antigenului, în special TCR-uri (și variantele funcționale ale acestora), polipeptidele sau proteinele descrise aici, a oricărui acid nucleic sau vector de exprimare recombinant care cuprinde o secvență de nucleotide care codifică oricare dintre TCR-uri (și variantele funcționale ale acestora), polipeptidele, proteinele descrise în prezentul document sau orice celulă-gazdă sau populație de celule-gazdă care cuprinde un vector recombinant, care codifică oricare dintre construcțiile invenției (și variantele funcționale ale acestora), polipeptidele sau proteinele descrise în prezentul document, într-o cantitate eficace pentru a trata sau preveni afecțiunea la mamifer, în care afecțiunea este cancerul, de preferință cancerul COL6A3- pozitiv.

Exemple de purtători sau diluanți acceptabili din punct de vedere farmaceutic utile în prezenta invenție includ stabilizatori precum SPGA, carbohidrați (de exemplu, sorbitol, manitol, amidon, zaharoză, glucoză, dextran), proteine precum albumina sau cazeina, agenți care conțin proteine precum serul bovin sau laptele degresat și tamponi (de exemplu, tampon fosfat).

Termenii „a trata” și „a preveni”, precum și cuvintele derivate din aceștia, așa cum sunt utilizate în prezentul document, nu implică în mod necesar un tratament sau o prevenire 100% sau completă. Mai degrabă, există diferite grade de tratament sau de prevenire pe care o persoană cu experiență obișnuită în domeniu le recunoaște ca având un potențial beneficiu sau efect terapeutic. În acest sens, metodele din invenție pot furniza orice cantitate de orice nivel de tratament sau de prevenire a unei afecțiuni la un mamifer. În plus, tratamentul sau prevenirea asigurată prin metoda din invenție poate include tratarea sau prevenirea uneia sau mai multor afecțiuni sau simptome ale afecțiunii, de exemplu, cancerul, care este tratată sau prevenită. De exemplu, tratamentul sau prevenirea poate include promovarea regresiei unei tumori. De asemenea, în sensul prezentului document, „prevenirea” poate cuprinde întârzierea apariției afecțiunii sau a unui simptom sau a unei afecțiuni a acestuia.

De asemenea, este prezentată aici o metodă de tratare a cancerului care cuprinde administrarea unui TCR, a unui acid nucleic sau a unei celule-gazdă din prezenta descriere în combinație cu cel puțin un agent chimioterapeutic și/sau radioterapie.

De asemenea, este prezentată aici o metodă de tratare a cancerului la un subiect care are nevoie de aceasta, care cuprinde:

- a) izolarea unei celule de la respectivul subiect;
- b) transformarea celulei cu cel puțin un vector care codifică o construcție de recunoaștere a antigenului din prezenta invenție pentru a produce o celulă transformată;
- c) extinderea celulei transformate pentru a produce o pluralitate de celule transformate; și
- d) administrarea pluralității de celule transformate la respectivul subiect.

De asemenea, este prezentată aici o metodă de tratare a cancerului la un subiect care are nevoie de aceasta, care cuprinde:

- a) izolarea unei celule de la un donator sănătos;
- b) transformarea celulei cu un vector care codifică o construcție de recunoaștere a antigenului din prezenta invenție pentru a produce o celulă transformată;
- c) extinderea celulei transformate pentru a produce o pluralitate de celule transformate; și
- d) administrarea pluralității de celule transformate la respectivul subiect.

De asemenea, este prezentată aici o metodă de detectare a cancerului într-o probă biologică, care cuprinde:

a) punerea în contact a probei biologice cu o construcție de recunoaștere a antigenului din prezenta descriere;

5 b) detectarea legării construcției de recunoaștere a antigenului la proba biologică.

Metoda de detectare a cancerului poate fi efectuată *in vitro*, *in vivo* sau *in situ*.

10 De asemenea, este prezentată aici o metodă de detectare a prezenței unei afecțiuni la un mamifer. Metoda cuprinde (i) punerea în contact a unei probe care cuprinde una sau mai multe celule de la mamifer cu oricare dintre TCR-uri (și variantele funcționale ale acestora), polipeptide, proteine, acizi nucleici, vectori de exprimare recombinanți, celule-gazdă, populații de celule, anticorpi sau porțiuni de legare la antigen din aceștia ori compoziții farmaceutice descrise în prezentul document, formând astfel un complex, și detectarea complexului, în care detectarea complexului indică prezența afecțiunii la mamifer, 15 în care afecțiunea este cancerul, cum ar fi o tumoră malignă COL6A3-pozitivă.

20 În ceea ce privește metoda de detectare a unei afecțiuni la un mamifer, proba de celule poate fi o probă care cuprinde celule întregi, lizate ale acestora sau o fracțiune din lizate de celule întregi, de exemplu, o fracțiune nucleară sau citoplasmatică, o fracțiune de proteine întregi sau o fracțiune de acid nucleic.

25 În scopul metodei de detectare, contactul poate avea loc *in vitro* sau *in vivo* în ceea ce privește mamiferul. De preferință, punerea în contact se face *in vitro*.

30 De asemenea, detectarea complexului poate avea loc prin orice număr de moduri cunoscute în domeniu. De exemplu, construcțiile de recunoaștere a antigenului (și variantele funcționale ale acestora), polipeptidele, proteinele, acizii nucleici, vectorii de exprimare recombinanți, celulele-gazdă, populațiile de celule, sau anticorpii ori TCR-urile sau porțiunile de legare la antigen din acestea, descrise în prezentul document, pot fi marcate cu un marcaj detectabil, cum ar fi, de exemplu, un radioizotop, un fluorofor (de exemplu izotiocianat de fluoresceină (FITC), ficoeritrină (PE)), o enzimă (de exemplu, fosfatază alcalină, peroxidază de hrean) și particule de elemente (de exemplu, particule de aur).

35 În scopul metodelor, în care se administrează celule-gazdă sau populații de celule, celulele pot fi celule alogene sau autologe pentru mamifer. De preferință, celulele sunt autologe pentru mamifer.

40 În ceea ce privește aplicațiile medicale menționate mai sus ale materialului TCR, cancerul care trebuie tratat și/sau diagnosticat poate fi orice cancer, inclusiv oricare dintre cancer limfocitic acut, leucemie mieloidă acută, rhabdomiosarcom alveolar, cancer osos, cancer cerebral, cancer de glandă mamară, cancer anal, de canal anal sau anorectal, cancer ocular, cancer de cale biliară intrahepatică, cancer de articulații, cancer de gât, de vezică biliară sau de pleură, cancer de nas, de cavitate nazală sau de ureche medie, cancer de cavitate bucală, cancer vaginal, cancer vulvar, leucemie limfocitară cronică, cancer mieloid cronic, cancer de colon, cancer esofagian, cancer de col uterin, tumoră carcinoidă gastrointestinală, gliom, limfom Hodgkin, cancer hipofaringian, cancer de rinichi, cancer laringian, cancer hepatic, cancer pulmonar, mezoteliom malign, melanom, mielom multiplu, cancer nazofaringian, 45 limfom non-Hodgkin, cancer orofaringian, cancer ovarian, cancer penian, cancer de pancreas, de peritoneu, de oment și cancer mezenteric, cancer faringian, cancer de prostată, cancer rectal, cancer renal, cancer de piele, cancer de intestin subțire, cancer de țesuturi moi, cancer de stomac, cancer testicular, cancer tiroidian, cancer uterin, cancer de ureter și cancer de vezică urinară. Un cancer preferat este cancerul de col uterin, cancerul orofaringian, cancerul anal, cancerul canalului anal, cancerul anorectal, cancerul vaginal, cancerul vulvar sau cancerul penian. Un cancer deosebit de preferat este un cancer COL6A3-pozitiv, cum ar fi cancerul gastrointestinal sau cancerul gastric. 50

55 În general, în prezentul document este prezentată o metodă de tratare a unui subiect care suferă de o tumoră sau de o boală tumorală, care cuprinde administrarea de construcții de recunoaștere a antigenului, acizi nucleici, vectori, compoziții farmaceutice și/sau celule-gazdă, astfel cum sunt prezentate în prezenta invenție. De preferință, subiectul este un subiect care are nevoie de un astfel de tratament. În concretizările preferate, subiectul este un mamifer, de preferință un pacient uman, care suferă de o tumoră sau o boală tumorală care este COL6A3-pozitivă.

Prezenta invenție va fi descrisă în continuare în exemplele de mai jos, cu referire la figurile și secvențele care însoțesc prezenta invenție, cu toate acestea, fără a fi limitată la acestea. În figuri și secvențe:

5 **Figura 1:** Eliberarea de IFN γ (axa din stanga) și colorația tetramerică HLA-A*02/COL6A3-002 (axa din dreapta) a celulelor T CD8+ primare umane de la un donator electroporat cu ARN de lanț alfa și, respectiv, beta al TCR-ului R4P1D10 (Tabelul 1), după co-incubarea cu celule-țintă K562-A2 (vezi Hirano N. et al; Blood. 2006 Feb 15;107(4):1528-36) încărcate cu peptida COL6A3-002 (SEQ ID NO:58), diverse variante de substituție COL6A3-002 cu alanină sau glicină în pozițiile 1-9 din (SEQ ID NO: 59-67) sau peptida de control NYESO1-001 (SEQ ID NO: 68).

15 **Figura 2:** Eliberarea de IFN γ (axa din stanga) și colorarea tetramerului HLA-A*02/COL6A3-002 (axa din dreapta) a celulelor T CD8+ primare umane de la un donator electroporat cu ARN de lanț alfa și, respectiv, de lanț beta al TCR-ului R4P1D10 (Tabelul 1), după co-incubarea cu celule-țintă K562-A2 încărcate cu peptida COL6A3-002 (SEQ ID NO: 58), peptida omologă, dar fără legătură, AGRN-001, CLASP-001, COL6A1-001, COL6A2-001, COL6A3-006, COL6A3-008, COL6A3-014, VWA2-001, VWF-001 (SEQ ID NO: 49-57) sau peptida de control NYESO1-001 (SEQ ID NO: 68). Celulele T CD8+ numai electroporate (Numai E) servesc drept control.

20 **Figura 3:** Colorarea tetramerilor HLA-A*02/COL6A3-002 și, respectiv, a tetramerilor HLA-A*02/NYESO1-001 din celulele J.RT3-T3.5 electroporate cu ARN de lanț alfa și de lanț beta al TCR-ului R4P1D10 sau al TCR-ului de control 1G4 specific NYESO1-001 (Tabelul 1). Celulele J.RT3-T3.5 electroporate simulat servesc drept control.

25 **Figura 4:** Colorarea tetramerilor HLA-A*02/COL6A3-002 și, respectiv, a tetramerilor HLA-A*02/NYESO1-001 din celulele SUP-T1 electroporate cu ARN de lanț alfa și de lanț beta al TCR-ului R4P1D10 sau al TCR-ului de control 1G4 specific NYESO1-001 (Tabelul 1). Celulele SUP-T1 electroporate simulat servesc drept control.

30 **Figura 5:** Colorarea tetramerilor HLA-A*02/COL6A3-002 și, respectiv, a tetramerilor HLA-A*02/NYESO1-001 din celulele T CD8+ primare umane de la un donator electroporate cu ARN de lanț alfa și de lanț beta al TCR-ului R4P1D10 sau al TCR-ului de control 1G4 specific NYESO1-001 (Tabelul 1). Celulele T CD8+ electroporate simulat servesc drept control.

35 **Figura 6:** Eliberarea de IFN γ a celulelor T CD8+ primare umane de la un donator electroporat cu ARN de lanț alfa și, respectiv, de lanț beta al TCR-ului R4P3F9 (Tabelul 1), după co-incubarea cu celule-țintă K562-A2 încărcate cu peptida COL6A3-002 (SEQ ID NO: 58), diferite variante de substituție cu alanină sau glicină COL6A3-002 la pozițiile 1-9 din (SEQ ID NO: 9-67) sau peptida de control NYESO1-001 (SEQ ID NO: 68).

40 **Figura 7:** Eliberarea de IFN γ a celulelor T CD8+ primare umane de la un donator electroporat cu ARN de lanț alfa și, respectiv, de lanț beta al TCR-ului R4P3F9 (Tabelul 1), după co-incubarea cu celule-țintă K562-A2 încărcate cu peptida COL6A3-002 (SEQ ID NO: 58), peptida omologă, dar fără legătură, AGRN-001, CLASP-001, COL6A1-001, COL6A2-001, COL6A3-006, COL6A3-008, COL6A3-014, VWA2-001, VWF-001 (SEQ ID NO: 49-57) sau peptida de control NYESO1-001 (SEQ ID NO: 68). Celulele T CD8+ electroporate simulat (Numai E) servesc drept control.

45 **Figura 8:** Colorarea tetramerilor HLA-A*02/COL6A3-002 și, respectiv, a tetramerilor HLA-A*02/NYESO1-001 din celulele J.RT3-T3.5 electroporate cu ARN de lanț alfa și de lanț beta al TCR-ului R4P3F9 sau al TCR-ului de control 1G4 specific NYESO1-001 (Tabelul 1). Celulele J.RT3-T3.5 electroporate simulat servesc drept control.

50 **Figura 9:** Colorarea tetramerilor HLA-A*02/COL6A3-002 și, respectiv, a tetramerilor HLA-A*02/NYESO1-001 din celulele SUP-T1 electroporate cu ARN de lanț alfa și de lanț beta al TCR-ului R4P3F9 sau al TCR-ului de control 1G4 specific NYESO1-001 (Tabelul 1). Celulele SUP-T1 electroporate simulat servesc drept control.

55 **Figura 10:** Eliberarea de IFN γ a celulelor T CD8+ primare umane de la un donator electroporat cu ARN de lanț alfa și, respectiv, de lanț beta al TCR-ului R4P3H3 (Tabelul 1), după co-incubarea cu celule-țintă K562-A2 încărcate cu peptida COL6A3-002 (SEQ ID NO: 58), diferite variante

60

de substituție cu alanină sau glicină COL6A3-002 la pozițiile 1-9 din (SEQ ID NO: 9-67) sau peptida de control NYESO1-001 (SEQ ID NO: 68).

5 **Figura 11:** Eliberarea de IFN γ a celulelor T CD8+ primare umane de la un donator electroporat cu ARN de lanț alfa și, respectiv, de lanț beta al TCR-ului R4P3H3 (Tabelul 1), după co-
incubarea cu celule-țintă K562-A2 încărcate cu peptida COL6A3-002 (SEQ ID NO: 58), peptida omologă, dar fără legătură, AGRN-001, CLASP-001, COL6A1-001, COL6A2-001, COL6A3-006, COL6A3-008, COL6A3-014, VWA2-001, VWF-001 (SEQ ID NO: 49-57) sau peptida de control NYESO1-001 (SEQ ID NO: 68). Celulele T CD8+ electroporate simulat (Numai E) servesc drept
10 control.

15 **Figura 12:** Colorarea tetramerilor HLA-A*02/COL6A3-002 și, respectiv, a tetramerilor HLA-A*02/NYESO1-001 din celulele SUP-T1 electroporate cu ARN de lanț alfa și de lanț beta al TCR-ului R4P3H3 sau al TCR-ului de control 1G4 specific NYESO1-001 (Tabelul 1). Celulele SUP-T1 electroporate simulat servesc drept control.

Tabelul 1: Secvențe TCR ale invenției

| SEQ ID NO: | TCR | Lanț | Regiune | Secvență |
|------------|---------|------|------------------|--|
| 1 | R4P1D10 | alfa | CDR1 | DRGSQS |
| 2 | R4P1D10 | alfa | CDR2 | IY |
| 3 | R4P1D10 | alfa | CDR3 | CAVNFHDKIIF |
| 4 | R4P1D10 | alfa | domeniu variabil | MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKEVE QNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRGSQSFF WYRQYSGKSPELIMFIYSNGDKEDGRFT AQLNKASQYVSLLRDSQPDSATYLCA VN |
| 5 | R4P1D10 | alfa | domeniu constant | NIQNPDAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDF DSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSM DFKNSA VAWSNKSDFACANAFNNSIIP EDTFFPSPESCDVKLVEKSFETDTNLNF QNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWS S |
| 6 | R4P1D10 | alfa | lungime completă | MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKEVE QNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRGSQSFF WYRQYSGKSPELIMFIYSNGDKEDGRFT AQLNKASQYVSLLRDSQPDSATYLCA VNFHDKIIFGKGTRLHILPNIQNPDAVY QLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSK DSDVYITDKTVLDMRSMDFKNSAVA WSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPES SCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLVIGFRI LLKLVAGFNLLMTLRLWSS |
| 7 | R4P1D10 | beta | CDR1 | SGDLS |
| 8 | R4P1D10 | beta | CDR2 | YNGEE |
| 9 | R4P1D10 | beta | CDR3 | CASSVASAYGYTF |
| 10 | R4P1D10 | beta | domeniu variabil | MGFRLCCVAFCLLGAGPVDSGVTQTP KHLITATGQRVTLRCSRSGDLSVYWY QQSLDQGLQFLIHYNGEERAKGNILER FSAQQFPLHSELNLSSELGDSALYFC ASSV |
| 11 | R4P1D10 | beta | domeniu constant | EDLNKVFPEVAVFEPSEAEISHTQKAT LVCLATGFFPDHVELSWVWNGKEVHS GVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRV SATFWQNPRNHFRQVQFYGLSENDEW TQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSV SYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVS ALVLMAMVKKDF |

| | | | | |
|----|---------|------|------------------|---|
| 12 | R4P1D10 | beta | lungime completă | MGFRLLCCVAFCLLGAGPVDSGVTQTP KHLITATGQRVTLRCSRSGDLSVYWY QQSLDQGLQFLIHYYNGEERAKGNILER FSAQQFPDLHSELNLSLELGDSALYFC ASSVASAYGYTFGSGTRLTVVEDLNKV FPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATG FFPDHVELSWWWNGKEVHSGVSTDPQP LKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQN PRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKP VTQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVL SATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAM VKRKDF |
| 13 | R4P3F9 | alfa | CDR1 | DRGSQS |
| 14 | R4P3F9 | alfa | CDR2 | IY |
| 15 | R4P3F9 | alfa | CDR3 | CAAYSGAGSYQLTF |
| 16 | R4P3F9 | alfa | domeniu variabil | MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKEVE QNSGPLSVPEGAIASLNCTYSRGSQSFF WYRQYSGKSPELIMFIYSNGDKEDGRFT AQLNKASQYVSLLRDSQPSDSATYLCA |
| 17 | R4P3F9 | alfa | domeniu constant | NIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDF DSQTNVSQSKSDVYITDKTVLDMRSM DFKNSNAVAWSNKSDFACANAFNNSIIP EDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLF QNLSVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWS S |
| 18 | R4P3F9 | alfa | lungime completă | MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKEVE QNSGPLSVPEGAIASLNCTYSRGSQSFF WYRQYSGKSPELIMFIYSNGDKEDGRFT AQLNKASQYVSLLRDSQPSDSATYLCA AYSGAGSYQLTFGKGTKLSVIPNIQNP PAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNV SQSKSDVYITDKTVLDMRSMDFKNS NAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFF PSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNL SVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS |
| 19 | R4P3F9 | beta | CDR1 | SGDLS |
| 20 | R4P3F9 | beta | CDR2 | YNGEE |
| 21 | R4P3F9 | beta | CDR3 | CASSVESSYGYTF |
| 22 | R4P3F9 | beta | domeniu variabil | MGFRLLCCVAFCLLGAGPVDSGVTQTP KHLITATGQRVTLRCSRSGDLSVYWY QQSLDQGLQFLIHYYNGEERAKGNILER FSAQQFPDLHSELNLSLELGDSALYFC ASSV |
| 23 | R4P3F9 | beta | domeniu constant | EDLNKVPPEVAVFEPSEAEISHTQKAT LVCLATGFFPDHVELSWWWNGKEVHS GVSTDPQLKEQPALNDSRYCLSSRLRV SATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEW TQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSV SYQQGVL SATILYEILLGKATLYAVLVS ALVLMAMVKRKDF |
| 24 | R4P3F9 | beta | lungime completă | MGFRLLCCVAFCLLGAGPVDSGVTQTP KHLITATGQRVTLRCSRSGDLSVYWY QQSLDQGLQFLIQYYNGEERAKGNILER FSAQQFPDLHSELNLSLELGDSALYFC ASSVESSYGYTFGSGTRLTVVEDLNKVF PPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGF FPDHVELSWWWNGKEVHSGVSTDPQL KEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNP |

| | | | | |
|----|--------|------|------------------|--|
| | | | | RNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKP VTQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLS SATILYEILLGKATLYAVLVSAVLVMAM VKRKDF |
| 25 | R4P3H3 | alfa | CDR1 | DRGSQS |
| 26 | R4P3H3 | alfa | CDR2 | IY |
| 27 | R4P3H3 | alfa | CDR3 | CAVKAGNQFYF |
| 28 | R4P3H3 | alfa | domeniu variabil | MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKEVE QNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRGSQSFF WYRQYSGKSPELIMFIYSNGDKEDGRFT AQLNKASQYVSLLRDSQPSDSATYLCA V |
| 29 | R4P3H3 | alfa | domeniu constant | NIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDF DSQTNVSQSKSDVYITDKTVLDMRSM DFKNSA VAWSNKSDFACANAFNNSIIP EDTFFPSPESCDVKLVEKSFETDTNLF QNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWS S |
| 30 | R4P3H3 | alfa | lungime completă | MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKEVE QNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRGSQSFF WYRQYSGKSPELIMFIYSNGDKEDGRFT AQLNKASQYVSLLRDSQPSDSATYLCA VKAGNQFYFGTGTSLTVIPNIQNPDPAV YQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQS KSDVYITDKTVLDMRSMDFKNSAVA WSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPES SCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRI LLKLVAGFNLLMTLRLWSS |
| 31 | R4P3H3 | beta | CDR1 | SGHVS |
| 32 | R4P3H3 | beta | CDR2 | FQNEAQ |
| 33 | R4P3H3 | beta | CDR3 | CASSLLTSGGDNEQFF |
| 34 | R4P3H3 | beta | domeniu variabil | MGTRLLCWVVLGFLGTDHTGAGVSQSP RYKVAKRQDVALRCDPISGHVSLFWY QQALGQGPEFLTYFQNEAQLDKSGLPS DRFFAERPEGSVSTLKIQRTOQEDSAVY LCASSL |
| 35 | R4P3H3 | beta | domeniu constant | EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKAT LVCLATGFYPDHVELSWVWNGKEVHS GVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRV SATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEW TQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSE SYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSA ALVLMAMVKRKDSRG |
| 36 | R4P3H3 | beta | lungime completă | MGTRLLCWVVLGFLGTDHTGAGVSQSP RYKVAKRQDVALRCDPISGHVSLFWY QQALGQGPEFLTYFQNEAQLDKSGLPS DRFFAERPEGSVSTLKIQRTOQEDSAVY LCASSLLTSGGDNEQFFGPGTRLTVLED LKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLV CLATGFYPDHVELSWVWNGKEVHSGV STDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSA TFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWT QDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSES YQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSA LVLMAMVKRKDSRG |
| 37 | IG4 | alfa | CDR1 | DSAIYN |
| 38 | IG4 | alfa | CDR2 | IQS |

| | | | | |
|----|-----|------|------------------|---|
| 39 | 1G4 | alfa | CDR3 | CAVRPTSGGSYIPTF |
| 40 | 1G4 | alfa | domeniu variabil | METLLGLLILWLQLQWVSSKQEVTPA ALSVPEGENLVLNCSFTDSAIYNLQWFR QDPGKGLTSLLLIQSSQREQTSGRLNAS LDKSSGRSTLYIAASQPGDSATYLCAVR |
| 41 | 1G4 | alfa | domeniu constant | YIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDF DSQTNVSQSKSDVYITDKTVLDMRSM DFKNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIP EDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLF QNLSVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWS S |
| 42 | 1G4 | alfa | lungime completă | METLLGLLILWLQLQWVSSKQEVTPA ALSVPEGENLVLNCSFTDSAIYNLQWFR QDPGKGLTSLLLIQSSQREQTSGRLNAS LDKSSGRSTLYIAASQPGDSATYLCAVR PTSGGSYIPTFGRGTSLIVHPYIQNPDPV YQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQ SKSDVYITDKTVLDMRSMDFKNSAV AWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPE SSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLSVIGF RILLKLVAGFNLLMTLRLWSS |
| 43 | 1G4 | beta | CDR1 | MNHEY |
| 44 | 1G4 | beta | CDR2 | SVGAGI |
| 45 | 1G4 | beta | CDR3 | CASSYVGNTGELFF |
| 46 | 1G4 | beta | domeniu variabil | MSIGLLCCAALSLLWAGPVNAGVTQTP KFQVLKTGQSMTLQCAQDMNHEYMS WYRQDPGMGLRLIHYSVGAGITDQGEV PNGYNVSRSTTEDFPLRLLSAAPSQTSV YFCASSY |
| 47 | 1G4 | beta | domeniu constant | EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKAT LVCLATGFYPDHVELSWVNGKEVHS GVSTDPQLKEQPALNDSRYCLSSRLRV SATFWQNPРНHFCQVQFYGLSENDEW TQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSE SYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVS ALVLMAMVKRKDSRG |
| 48 | 1G4 | beta | lungime completă | MSIGLLCCAALSLLWAGPVNAGVTQTP KFQVLKTGQSMTLQCAQDMNHEYMS WYRQDPGMGLRLIHYSVGAGITDQGEV PNGYNVSRSTTEDFPLRLLSAAPSQTSV YFCASSYVGNTGELFFGEGSRLTVLEDL KNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVC LATGFYPDHVELSWVNGKEVHSGVS TDPQLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSAT FWQNPРНHFCQVQFYGLSENDEWTQ DRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSESY QQGVLSATILYEILLGKATLYAVLSAL VLMAMVKRKDSRG |

Tabelul 2: Secvențe peptidice

| Cod peptidă | Secvență | SEQ ID NO: |
|-------------|-----------|------------|
| AGRN-001 | ALLDGRVQL | 49 |
| CLASP1-001 | RLLDGAFKL | 50 |
| COL6A1-001 | ILLDGSASV | 51 |

| | | |
|------------|------------|----|
| COL6A2-001 | FLLDGSERL | 52 |
| COL6A3-006 | FLFDGSANLV | 53 |
| COL6A3-008 | FLFDGSANL | 54 |
| COL6A3-014 | FLLDGSEGV | 55 |
| VWA2-001 | FLLDGSNSV | 56 |
| VWF-001 | FLLDGSSRL | 57 |
| COL6A3-002 | FLLDGSANV | 58 |
| A1 | ALLDGSANV | 59 |
| A2 | FALDGSANV | 60 |
| A3 | FLADGSANV | 61 |
| A4 | FLLAGSANV | 62 |
| A5 | FLLDASANV | 63 |
| A6 | FLLDGAANV | 64 |
| A7 | FLLDGSGNV | 65 |
| A8 | FLLDGSAAV | 66 |
| A9 | FLLDGSANA | 67 |
| NYESO1-001 | SLLMWITQV | 68 |

EXEMPLE

5 Intr-un aspect, se utilizează medii alo-reactive pentru a evita auto-toleranța și pentru a produce celule T cu o aviditate mai mare în comparație cu celulele T derivate din medii autologe, adică de la pacienți. Exemple de astfel de setări includ generarea *in vitro* de celule T reactive alo-HLA, specifice peptidelor (Sadovnikova *et al.* 1998; Savage *et al.* 2004; Wilde *et al.* 2012) și imunizarea șoarecilor transgenici pentru MHC uman sau TCR uman (Stanislawski *et al.* 2001; Li *et al.* 2010).

10 Pentru a izola celule T cu aviditate ridicată din mediul alo-reactiv, se utilizează PBMC-uri de la donatori sănătoși HLA-A*02-negativi, după obținerea consimțământului informat. Monomerii de clasă I HLA-A*02 biotinilați recombinanți și tetramerii fluorescenți A2 care conțin COL6A3-002 sunt obținuți de la MBLI (Woburn, MA). PBMC-urile sunt incubate cu anti-CD20SA diluat în soluție salină tamponată cu fosfat (PBS) timp de 1 oră la temperatura camerei, spălate și incubate cu monomerii HLA-A*02/COL6A3-002 biotinilați timp de 30 de minute la temperatura camerei, spălate și plasate la 3x10⁶ celule/godeu în plăci cu 24 de godeuri în RPMI cu 10% ser AB uman. Interleukina 7 (IL-7; R&D Systems, Minneapolis, MN) a fost adăugată în ziua 1 la 10 ng/ml, iar IL-2 (Chiron, Harefield, Regatul Unit) a fost adăugată la 10 U/ml în ziua 4. Pe o perioadă de 5 săptămâni, celulele au fost restimulate săptămânal cu PBMC-uri proaspete, amestecate cu celule respondente într-un raport de 1:1 și plasate la 20 3x10⁶/godeu în plăci cu 24 de godeuri.

25 Pentru a se obține celule T cu aviditate crescută, aproximativ 10⁶ PBMC-uri cu tetramer-ficoeritrină (PE) HLA-A*02/COL6A3-002 (obținut de la MBLI) au fost incubate timp de 30 de minute la 37°C, urmat de izotiocianat de fluoresceină (FITC) anti-CD8/alofizocianină (APC) timp de 20 de minute la 4°C, urmat de sortare celulară activată prin fluorescență. Celulele tetramer-pozitive sortate au fost expandate în plăci cu 24 de godeuri folosindu-se, pentru fiecare godeu, 2x10⁵ celule sortate, 2x10⁶ PBMC-uri A2-negative iradiate ca celule de nutriție, 2x10⁴ granule CD3/CD28/ml (Dyna, Oslo, Norvegia) și IL-2 (1000 U/ml). Celulele T cu aviditate ridicată, astfel obținute, au fost apoi folosite pentru a identifica și izola TCR-uri folosindu-se tehnici cunoscute în domeniu, cum ar fi tehnica monocelulară 5'

RACE (Rapid Amplification of cDNA Ends). ADN-urile TCR non-redundante au fost apoi analizate pentru determinarea secvențelor de aminoacizi/ADN și clonarea în vectori de exprimare.

5 Trei TCR-uri specifice COL6A3-002 (R4P1D10, R4P3F9 și R4P3H3, vezi Tabelul 2), fiecare codificand lanțurile TCR-alfa și TCR-beta specifice tumorilor, au fost izolate și amplificate din celulele T ale donatorilor sănătoși. Celulele de la donatori sănătoși au fost stimulate *in vitro* conform unei metode descrise anterior. (Walter et al., 2003 J Immunol., Nov 15;171(10):4974-8). Prezentarea peptidelor COL6A3 a fost realizată așa cum a fost descris anterior (Hirano N. et al; Blood. 2006 Feb 15;107(4):1528-36). Celulele specifice țintei au fost sortate monocelular utilizându-se multimeri HLA-A*02 și apoi au fost utilizate pentru izolarea ulterioară a TCR-urilor. Secvențele TCR au fost izolate prin 10 5' RACE prin metode standard descrise, de exemplu, in „Molecular Cloning, a laboratory manual, fourth edition” de Green și Sambrook. Regiunile variabile alfa și beta ale TCR-urilor R4P1D10, R4P3F9 și R4P3H3 au fost secvențiate și clonate pentru o caracterizare funcțională ulterioară. R4P1D10 și R4P3H3 provin de la donatori HLA-A*02 pozitivi, iar R4P3F9 provine de la un donator HLA-A*02 negativ 15 (context alo-reactiv).

Tabelul 3: Afinitatea SPR a TCR-urilor COL6A3-002 și NYESO1-001

| TCR | Constanta de disociere la echilibru (K_D) pentru complexul HLA-A02/COL6A3-002 în μM | Constanta de disociere la echilibru (K_D) pentru complexul HLA-A02/NYESO1-001 în μM |
|---------|--|--|
| R4P1D10 | 16 | fără legare |
| R4P3F9 | 62 | fără legare |
| R4P3H3 | 102 | fără legare |
| 1G4 | fără legare | 7 |

20 **Exemplul 1: R4P1D10 receptor de celule T**

Lanțurile alfa și beta ale TCR R4P1D10 au fost clonate așa cum s-a descris anterior, de exemplu, așa cum este descris în U.S. 8.519.00. TCR-ul R4P1D10 este restricționat față de COL6A3-002 HLA-A2-prezentat (vezi Tabelul 3 de mai sus).

25 **Tabelul 4: Caracteristici ale lanțului alfa R4P1D10:**

| Start | Stop | Descriere | Secvență |
|-------|------|--------------------------|--|
| 1 | 21 | Segment L (TRAV12-2) | MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQ (SEQ ID NO: 69) |
| 1 | 113 | Lanț V (TRAV12-2) | MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQKQKEVEQNSGPLSVPEG AIASLNCTYSDRGSQFFWYRQYSGKSPELIMFIYSNGD KEDGRFTAQLNKASQYVSLLRDSQPSDSATYLCAVN |
| 48 | 53 | CDR1 | DRGSQS |
| 71 | 72 | CDR2 | IY |
| 110 | 120 | CDR3 | CAVNFHDKIIF |
| 116 | 130 | Segment J (TRAJ30) | DKIIFGKGRHLHLP |
| 131 | 272 | Regiune constantă (TRAC) | NIQNPDPVAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSK DSDVYITDKTVLDMRSMDFKSN SAVAWSNKSDFACAN AFNNSIIPEDTFFPSPPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNL VIGFRILLK VAGFNLLMTLRLWSS |

Tabelul 5: Caracteristici ale lanțului beta R4P1D10:

| Start | Stop | Descriere | Secvență |
|-------|------|-------------------|---|
| 1 | 19 | Segment L (TRBV9) | MGFRLCCVAFCLLGAGPV (SEQ ID NO: 70) |
| 1 | 114 | Lanț V (TRBV9) | MGFRLCCVAFCLLGAGPVDSGVVTQTPKHLITATGQRV TLRCSRSGDLSVYWYQQSLDQGLQFLIHYNGEERA KGNILERFSAQQFPDLHSELNLSSLELGDALYFCASSV |
| 46 | 50 | CDR1 | SGDLS |
| 68 | 73 | CDR2 | YYNGEE |

| | | | |
|-----|-----|---------------------------|---|
| 110 | 122 | CDR3 | CASSVASAYGYTF |
| 118 | 131 | Lanț J (TRBJ1-2) | YGYTFGSGTRLTVV |
| 132 | 308 | Regiune constantă (TRBC1) | EDLNKVFPEVAVFEPEAEISHTQKATLVCLATGFFPD HVELSWVWNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCL SSRLRVSATFWQNP RNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDR AKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEI LLGKATLYAVLV SALVLMAMVVKRKF |

R4PID10 recunoaște în mod specific COL6A3-002, deoarece celulele T CD8+ primare umane care reexprimă acest TCR eliberează IFN γ la co-incubarea cu celule-țintă HLA-A*02+ și, respectiv, tetrameri HLA-A*02 de legare, încărcate fie cu peptida COL6A3-002, fie cu variante de substituție cu alanină și glicină ale COL6A3-002 (figura 1) sau cu diferite peptide care prezintă un grad ridicat de similaritate de secvență cu COL6A3-002 (Figura 2). Peptida NYESO1-001 este utilizată drept control negativ.

Reexprimarea R4PID10 conduce la legarea selectivă a tetramerului HLA-A*02/COL6A3-002, dar nu și a tetramerului HLA-A*02/NYESO1-001 în celulele Jurkat J.RT3-T3.5 (Figura 3), celulele SUP-T1 (Figura 4) și în celulele T CD8+ primare umane (Figura 5). Pentru fiecare tip de celule, reexprimarea TCR 1G4 specific NYESO1-001 și exprimarea simulată sunt folosite drept control.

Analiza de legare SPR (Surface Plasmon Resonance) pentru R4PID10, exprimat ca TCR solubil în conformitate cu o metodă descrisă anterior (Willcox BE et al., 1999 Protein Sci., Nov;8(11):2418-23), și complexul HLA-A*02/COL6A3-002 relevă o afinitate de $K_D = 102 \mu\text{M}$ (Tabelul 3). Datele de legare SPR pentru 1G4 TCR și HLA-A*02/NYESO1-001 sunt utilizate drept control.

Exemplul 2: Receptor de celule T R4P3F9

Lanțurile alfa și beta ale TCR R4P3F9 au fost clonate așa cum s-a descris anterior, de exemplu, așa cum este descris în U.S. 8.519.00. TCR-ul R4P3F9 este restricționat față de COL6A3-002 HLA-A2-prezentat (vezi Tabelul 3 de mai sus).

Tabelul 6: Caracteristici ale lanțului alfa R4P3F9

| Start | Stop | Descriere | Secvență |
|-------|------|--------------------------|--|
| 1 | 21 | Segment L (TRAV12-2) | MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQ (SEQ ID NO: 71) |
| 1 | 111 | Lanț V (TRAV12-2) | MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKEVEQNSGPLSVPEG AIASLNCTYSDRGSQSFFWYRQYSGKSPELIMFIYSNGD KEDGRFTAQLNKASQYVSLLRDSQPSDSATYLCA |
| 48 | 53 | CDR1 | DRGSQS |
| 71 | 72 | CDR2 | IY |
| 110 | 123 | CDR3 | CAAYSGAGSYQLTF |
| 113 | 133 | Segment J (TRAJ28) | YSGAGSYQLTFGKGTKLSVIP |
| 134 | 274 | Regiune constantă (TRAC) | NIQNPDPVAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSK DSDVYITDKTVLDMRSMDFKSN SAVAWSNKSDFACAN AFNNSIIPEDTFFPSPESCDVKLVEKSFETDTNLFQNL VIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS |

Tabelul 7: Caracteristici ale lanțului beta R4P3F9

| Start | Stop | Descriere | Secvență |
|-------|------|----------------------|--|
| 1 | 19 | Segment L (TRBV9) | MGFRLCCVAFCLLGAGPV (SEQ ID NO: 72) |
| 1 | 114 | Lanț V (TRBV9) | MGFRLCCVAFCLLGAGPVDSGVTQTPKHLITATGQRV TLRCSRSGDLSVYWYQQSLDQGLQFLIHYNGEERA KGNILERFSAQQFPDLHSELNLSSLELGDALYFCASSV |
| 46 | 50 | CDR1 | SGDLS |
| 68 | 73 | CDR2 | YYNGEE |
| 110 | 122 | CDR3 | CASSVESSYGYTF |
| 118 | 131 | Lanț J (TRBJ1-2) | YGYTFGSGTRLTVV |

| | | | |
|-----|-----|---------------------------|---|
| 132 | 308 | Regiune constantă (TRBC1) | EDLNKVFPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPD HVELSWVWNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCL SSRLRVSATFWQPNRNFRCQVQFYGLSENDEWTQDR AKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEI LLGKATLYAVLVSALVLMAMVKKRDF |
|-----|-----|---------------------------|---|

R4P3F9 recunoaște în mod specific COL6A3-002, deoarece celulele T CD8+ primare umane care reexprimă acest TCR eliberează IFN γ la co-incubarea cu celule-țintă HLA-A*02+, respectiv, încărcate fie cu peptida COL6A3-002, fie cu variante de substituție cu alanină și glicină ale COL6A3-002 (Figura 6),
5 fie cu diferite peptide care prezintă un grad ridicat de similaritate de secvență cu COL6A3-002 (Figura 7). Peptida NYESO1-001 este utilizată drept control negativ.

Reexprimarea R4P3F9 conduce la legarea selectivă a tetramerului HLA-A*02/COL6A3-002, dar nu și a tetramerului HLA-A*02/NYESO1-001 în celulele Jurkat J.RT3-T3.5 (Figura 8) și în celulele SUP-T1 (Figura 9). Pentru fiecare tip de celule, reexprimarea TCR 1G4 specific NYESO1-001 și exprimarea simulată sunt folosite drept control.

Analiza de legare SPR pentru R4P3F9, exprimat ca TCR solubil în conformitate cu o metodă descrisă anterior (Willcox BE et al., 1999 Protein Sci., Nov;8(11):2418-23), și complexul HLA-A*02/COL6A3-002 relevă o afinitate de $K_D = 62 \mu\text{M}$ (Tabelul 3). Datele de legare SPR pentru 1G4 TCR și HLA-A*02/NYESO1-001 sunt utilizate drept control.

Exemplul 3: Receptor de celule T R4P3H3

Lanțurile alfa și beta ale TCR R4P3H3 au fost clonate așa cum s-a descris anterior, de exemplu, așa cum este descris în U.S. 8.519.00, care este încorporat prin prezenta prin referință în întregime. TCR-ul R4P3H3H3 este restricționat față de COL6A3-002 HLA-A2-prezentat (vezi Tabelul 3 de mai sus).

Tabelul 8: Caracteristici ale lanțului alfa R4P3H3

| Start | Stop | Descriere | Secvență |
|-------|------|--------------------------|---|
| 1 | 21 | Segment L (TRAV12-2) | MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQ (SEQ ID NO: 73) |
| 1 | 112 | Lanț V (TRAV12-2) | MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKEVEQNSGPLSVPEGAI ASLNCTYSDRGSQSFFWYRQYSGKSPELIMFIYSNGDKED GRFTAQLNKASQYVSLLRDSQPSDSATYLCVAV |
| 48 | 53 | CDR1 | DRGSQS |
| 71 | 72 | CDR2 | IY |
| 110 | 120 | CDR3 | CAVKAGNQFYF |
| 115 | 130 | Segment J (TRAJ49) | GNQFYFGTGTSLTVIP |
| 131 | 271 | Regiune constantă (TRAC) | NIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDS DVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFN NSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGF RILLKLVAGFNLLMTLRLWSS |

Tabelul 9: Caracteristici ale lanțului beta R4P3H3

| Start | Stop | Descriere | Secvență |
|-------|------|---------------------------|--|
| 1 | 19 | Segment L (TRBV7-8) | MGTRLLCWVVLGFLGTDHT (SEQ ID NO: 74) |
| 1 | 115 | Lanț V (TRBV7-8) | MGTRLLCWVVLGFLGTDHTGAGVSQSPRYKVAKRQ DVALRCDPISGHVSLFWYQQALGQGPEFLTYFQNEAQL DKSGLPSDRFFAERPEGSVSTLKIQRQTQEDSAVYLCAS SL |
| 46 | 50 | CDR1 | SGHVS |
| 68 | 73 | CDR2 | FQNEAQ |
| 111 | 126 | CDR3 | CASSLLTSGGDNEQFF |
| 122 | 135 | Lanț J (TRBJ2-1) | NEQFFGPGTRLTVL |
| 136 | 314 | Regiune constantă (TRBC2) | EDLNKVFPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPD HVELSWVWNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCL SSRLRVSATFWQPNRNFRCQVQFYGLSENDEWTQDR |

| | | | |
|--|--|--|---|
| | | | AKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEIL LGKATLYAVLVSAALVLMAMVKKRDSRG |
|--|--|--|---|

R4P3H3 recunoaște în mod specific COL6A3-002, deoarece celulele T CD8+ primare umane care reexprimă acest TCR eliberează IFN γ la co-incubarea cu celule-țintă HLA-A*02+, respectiv, încărcate fie cu peptida COL6A3-002, fie cu variante de substituție cu alanină și glicină ale COL6A3-002 (figura 10) sau cu diferite peptide care prezintă un grad ridicat de similaritate de secvență cu COL6A3-002 (Figura 11). Peptida NYESO1-001 este utilizată drept control negativ.

5

10

Reexprimarea R4P3H3 conduce la legarea selectivă a tetramerului HLA-A*02/COL6A3-002, dar nu și a tetramerului HLA-A*02/NYESO1-001 în celulele SUP-T1 (Figura 12). Reexprimarea TCR 1G4 specific NYESO1-001 și exprimarea simulată sunt folosite drept control.

15

Analiza de legare SPR pentru R4P3H3, exprimat ca TCR solubil în conformitate cu o metodă descrisă anterior (Willcox BE et al., 1999 Protein Sci., Nov;8(11):2418-23), și complexul HLA-A*02/COL6A3-002 relevă o afinitate de $K_D = 102 \mu\text{M}$ (Tabelul 3). Datele de legare SPR pentru 1G4 TCR și HLA-A*02/NYESO1-001 sunt utilizate drept control.

LISTARE SECVENȚE

<110> Immatics Biotechnologies GmbH

<120> RECEPTORI DE CELULE T ȘI IMUNOTERAPIE CU UTILIZAREA ACESTORA

<130> I32978WO

<150> DE 102016115246.3

<151> 2016-08-17

<150> US 62/376,059

<151> 2016-08-17

<150> US 62/376,632

<151> 2016-08-18

<160> 74

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Asp Arg Gly Ser Gln Ser

1 5

<210> 2

<211> 2

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Ile Tyr

1

<210> 3
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 3

Cys Ala Val Asn Phe His Asp Lys Ile Ile Phe
1 5 10

<210> 4
<211> 113
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Lys Ser Leu Arg Val Leu Leu Val Ile Leu Trp Leu Gln Leu Ser
1 5 10 15

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

Ser Val Pro Glu Gly Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys Thr Tyr Ser Asp
 35 40 45

Arg Gly Ser Gln Ser Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser
 50 55 60

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

Arg Phe Thr Ala Gln Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Val Ser Leu Leu
 85 90 95

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

Asn

<210> 5
<211> 141
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 5

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

MD/EP 3500593 T2 2021.12.31

27

Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr
20 25 30

Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Thr
35 40 45

Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala
50 55 60

Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser
65 70 75 80

Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp
85 90 95

Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe
100 105 110

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

Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
130 135 140

<210> 6
<211> 271
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 6

Met Lys Ser Leu Arg Val Leu Leu Val Ile Leu Trp Leu Gln Leu Ser
1 5 10 15

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

Ser Val Pro Glu Gly Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys Thr Tyr Ser Asp
35 40 45

Arg Gly Ser Gln Ser Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser
50 55 60

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

Arg Phe Thr Ala Gln Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Val Ser Leu Leu

MD/EP 3500593 T2 2021.12.31

28

85 90 95

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

Asn Phe His Asp Lys Ile Ile Phe Gly Lys Gly Thr Arg Leu His Ile
115 120 125

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

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

Gln Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp
165 170 175

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

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

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

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

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

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

<210> 7
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 7

Ser Gly Asp Leu Ser
1 5

<210> 8
<211> 6
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Tyr Tyr Asn Gly Glu Glu
1 5

<210> 9

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Cys Ala Ser Ser Val Ala Ser Ala Tyr Gly Tyr Thr Phe
1 5 10

<210> 10

<211> 114

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Met Gly Phe Arg Leu Leu Cys Cys Val Ala Phe Cys Leu Leu Gly Ala
1 5 10 15

Gly Pro Val Asp Ser Gly Val Thr Gln Thr Pro Lys His Leu Ile Thr
20 25 30

Ala Thr Gly Gln Arg Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Arg Ser Gly Asp
35 40 45

Leu Ser Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Ser Leu Asp Gln Gly Leu Gln Phe
50 55 60

Leu Ile His Tyr Tyr Asn Gly Glu Glu Arg Ala Lys Gly Asn Ile Leu
65 70 75 80

Glu Arg Phe Ser Ala Gln Gln Phe Pro Asp Leu His Ser Glu Leu Asn
85 90 95

Leu Ser Ser Leu Glu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Phe Cys Ala Ser
100 105 110

Ser Val

<210> 11

<211> 177

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro
1 5 10 15

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

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

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

Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu
65 70 75 80

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

Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp
 100 105 110

Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg
 115 120 125

Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser
 130 135 140

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

Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp
 165 170 175

Phe

<210> 12

<211> 308

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Met Gly Phe Arg Leu Leu Cys Cys Val Ala Phe Cys Leu Leu Gly Ala
1 5 10 15

MD/EP 3500593 T2 2021.12.31

31

Gly Pro Val Asp Ser Gly Val Thr Gln Thr Pro Lys His Leu Ile Thr
20 25 30

Ala Thr Gly Gln Arg Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Arg Ser Gly Asp
35 40 45

Leu Ser Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Ser Leu Asp Gln Gly Leu Gln Phe
50 55 60

Leu Ile His Tyr Tyr Asn Gly Glu Glu Arg Ala Lys Gly Asn Ile Leu
65 70 75 80

Glu Arg Phe Ser Ala Gln Gln Phe Pro Asp Leu His Ser Glu Leu Asn
85 90 95

Leu Ser Ser Leu Glu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Phe Cys Ala Ser
100 105 110

Ser Val Ala Ser Ala Tyr Gly Tyr Thr Phe Gly Ser Gly Thr Arg Leu
115 120 125

Thr Val Val Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val
130 135 140

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

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

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

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

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

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

Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala
245 250 255

Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly
260 265 270

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

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

Arg Lys Asp Phe
305

<210> 13
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 13

Asp Arg Gly Ser Gln Ser
1 5

<210> 14
<211> 2
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 14

Ile Tyr
1

<210> 15
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 15

Cys Ala Ala Tyr Ser Gly Ala Gly Ser Tyr Gln Leu Thr Phe
1 5 10

<210> 16
<211> 111
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 16

Met Lys Ser Leu Arg Val Leu Leu Val Ile Leu Trp Leu Gln Leu Ser
1 5 10 15

MD/EP 3500593 T2 2021.12.31

33

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

Ser Val Pro Glu Gly Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys Thr Tyr Ser Asp
35 40 45

Arg Gly Ser Gln Ser Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser
50 55 60

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

Arg Phe Thr Ala Gln Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Val Ser Leu Leu
85 90 95

Ile Arg Asp Ser Gln Pro Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala
100 105 110

<210> 17
<211> 141
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 17

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

Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr
20 25 30

Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Thr
35 40 45

Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala
50 55 60

Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser
65 70 75 80

Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp
85 90 95

Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe
100 105 110

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

Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
 130 135 140

<210> 18
 <211> 274
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 18

Met Lys Ser Leu Arg Val Leu Leu Val Ile Leu Trp Leu Gln Leu Ser
 1 5 10 15

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

Ser Val Pro Glu Gly Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys Thr Tyr Ser Asp
 35 40 45

Arg Gly Ser Gln Ser Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser
 50 55 60

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

Arg Phe Thr Ala Gln Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Val Ser Leu Leu
 85 90 95

Ile Arg Asp Ser Gln Pro Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Ala
 100 105 110

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

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

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

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

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

MD/EP 3500593 T2 2021.12.31

35

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

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

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

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

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

Ser Ser

<210> 19
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 19

Ser Gly Asp Leu Ser
1 5

<210> 20
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 20

Tyr Tyr Asn Gly Glu Glu
1 5

<210> 21
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 21

Cys Ala Ser Ser Val Glu Ser Ser Tyr Gly Tyr Thr Phe
1 5 10

<210> 22
<211> 114
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 22

Met Gly Phe Arg Leu Leu Cys Cys Val Ala Phe Cys Leu Leu Gly Ala
 1 5 10 15

Gly Pro Val Asp Ser Gly Val Thr Gln Thr Pro Lys His Leu Ile Thr
 20 25 30

Ala Thr Gly Gln Arg Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Arg Ser Gly Asp
 35 40 45

Leu Ser Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Ser Leu Asp Gln Gly Leu Gln Phe
 50 55 60

Leu Ile His Tyr Tyr Asn Gly Glu Glu Arg Ala Lys Gly Asn Ile Leu
 65 70 75 80

Glu Arg Phe Ser Ala Gln Gln Phe Pro Asp Leu His Ser Glu Leu Asn
 85 90 95

Leu Ser Ser Leu Glu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Phe Cys Ala Ser
 100 105 110

Ser Val

<210> 23

<211> 177

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro
 1 5 10 15

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

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

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

Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu
 65 70 75 80

MD/EP 3500593 T2 2021.12.31

37

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

Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp
100 105 110

Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg
115 120 125

Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser
130 135 140

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

Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp
165 170 175

Phe

<210> 24

<211> 308

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Met Gly Phe Arg Leu Leu Cys Cys Val Ala Phe Cys Leu Leu Gly Ala
1 5 10 15

Gly Pro Val Asp Ser Gly Val Thr Gln Thr Pro Lys His Leu Ile Thr
20 25 30

Ala Thr Gly Gln Arg Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Arg Ser Gly Asp
35 40 45

Leu Ser Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Ser Leu Asp Gln Gly Leu Gln Phe
50 55 60

Leu Ile Gln Tyr Tyr Asn Gly Glu Glu Arg Ala Lys Gly Asn Ile Leu
65 70 75 80

Glu Arg Phe Ser Ala Gln Gln Phe Pro Asp Leu His Ser Glu Leu Asn
85 90 95

Leu Ser Ser Leu Glu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Phe Cys Ala Ser

MD/EP 3500593 T2 2021.12.31

38

100 105 110

Ser Val Glu Ser Ser Tyr Gly Tyr Thr Phe Gly Ser Gly Thr Arg Leu
115 120 125

Thr Val Val Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val
130 135 140

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

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

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

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

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

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

Thr Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala
245 250 255

Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly
260 265 270

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

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

Arg Lys Asp Phe
305

<210> 25

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Asp Arg Gly Ser Gln Ser
1 5

<210> 26
<211> 2
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 26

Ile Tyr
1

<210> 27
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 27

Cys Ala Val Lys Ala Gly Asn Gln Phe Tyr Phe
1 5 10

<210> 28
<211> 112
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 28

Met Lys Ser Leu Arg Val Leu Leu Val Ile Leu Trp Leu Gln Leu Ser
1 5 10 15

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

Ser Val Pro Glu Gly Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys Thr Tyr Ser Asp
35 40 45

Arg Gly Ser Gln Ser Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser
50 55 60

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

Arg Phe Thr Ala Gln Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Val Ser Leu Leu
85 90 95

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

<210> 29
 <211> 141
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 29

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

Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr
 20 25 30

Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Thr
 35 40 45

Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala
 50 55 60

Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser
 65 70 75 80

Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp
 85 90 95

Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe
 100 105 110

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

Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
 130 135 140

<210> 30
 <211> 271
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 30

Met Lys Ser Leu Arg Val Leu Leu Val Ile Leu Trp Leu Gln Leu Ser
 1 5 10 15

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

Ser Val Pro Glu Gly Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys Thr Tyr Ser Asp
 35 40 45

MD/EP 3500593 T2 2021.12.31

41

Arg Gly Ser Gln Ser Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser
50 55 60

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

Arg Phe Thr Ala Gln Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Val Ser Leu Leu
85 90 95

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

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

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

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

Gln Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp
165 170 175

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

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

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

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

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

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

<210> 31
<211> 5
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

Ser Gly His Val Ser
1 5

<210> 32

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

Phe Gln Asn Glu Ala Gln
1 5

<210> 33

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

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

<210> 34

<211> 115

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

Met Gly Thr Arg Leu Leu Cys Trp Val Val Leu Gly Phe Leu Gly Thr
1 5 10 15

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

Lys Arg Gly Gln Asp Val Ala Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser Gly His
35 40 45

Val Ser Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe
50 55 60

Leu Thr Tyr Phe Gln Asn Glu Ala Gln Leu Asp Lys Ser Gly Leu Pro
65 70 75 80

Ser Asp Arg Phe Phe Ala Glu Arg Pro Glu Gly Ser Val Ser Thr Leu
85 90 95

MD/EP 3500593 T2 2021.12.31

43

Lys Ile Gln Arg Thr Gln Gln Glu Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala
100 105 110

Ser Ser Leu
115

<210> 35
<211> 179
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 35

Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro
1 5 10 15

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

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

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

Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu
65 70 75 80

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

Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp
100 105 110

Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg
115 120 125

Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser
130 135 140

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

Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp
165 170 175

Ser Arg Gly

<210> 36
 <211> 314
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 36

Met Gly Thr Arg Leu Leu Cys Trp Val Val Leu Gly Phe Leu Gly Thr
 1 5 10 15

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

Lys Arg Gly Gln Asp Val Ala Leu Arg Cys Asp Pro Ile Ser Gly His
 35 40 45

Val Ser Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Glu Phe
 50 55 60

Leu Thr Tyr Phe Gln Asn Glu Ala Gln Leu Asp Lys Ser Gly Leu Pro
 65 70 75 80

Ser Asp Arg Phe Phe Ala Glu Arg Pro Glu Gly Ser Val Ser Thr Leu
 85 90 95

Lys Ile Gln Arg Thr Gln Gln Glu Asp Ser Ala Val Tyr Leu Cys Ala
 100 105 110

Ser Ser Leu Leu Thr Ser Gly Gly Asp Asn Glu Gln Phe Phe Gly Pro
 115 120 125

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

Glu Val Ala Val Phe Glu Pro Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln
 145 150 155 160

Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His Val
 165 170 175

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

Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg
 195 200 205

MD/EP 3500593 T2 2021.12.31

45

Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn
210 215 220

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

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

Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser
260 265 270

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

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

Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Ser Arg Gly
305 310

<210> 37
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 37

Asp Ser Ala Ile Tyr Asn
1 5

<210> 38
<211> 3
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 38

Ile Gln Ser
1

<210> 39
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 39

Cys Ala Val Arg Pro Thr Ser Gly Gly Ser Tyr Ile Pro Thr Phe
1 5 10 15

<210> 40
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 40

Met Glu Thr Leu Leu Gly Leu Leu Ile Leu Trp Leu Gln Leu Gln Trp
 1 5 10 15

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

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

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

Ser Leu Leu Leu Ile Gln Ser Ser Gln Arg Glu Gln Thr Ser Gly Arg
 65 70 75 80

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

Ala Ala Ser Gln Pro Gly Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Arg
 100 105 110

<210> 41
 <211> 141
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 41

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

Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr
 20 25 30

Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Thr
 35 40 45

Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala
 50 55 60

Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser
 65 70 75 80

MD/EP 3500593 T2 2021.12.31

47

Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp
85 90 95

Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe
100 105 110

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

Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
130 135 140

<210> 42
<211> 274
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 42

Met Glu Thr Leu Leu Gly Leu Leu Ile Leu Trp Leu Gln Leu Gln Trp
1 5 10 15

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

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

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

Ser Leu Leu Leu Ile Gln Ser Ser Gln Arg Glu Gln Thr Ser Gly Arg
65 70 75 80

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

Ala Ala Ser Gln Pro Gly Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Arg
100 105 110

Pro Thr Ser Gly Gly Ser Tyr Ile Pro Thr Phe Gly Arg Gly Thr Ser
115 120 125

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

Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp

MD/EP 3500593 T2 2021.12.31

48

145 150 155 160

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

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

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

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

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

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

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

Ser Ser

<210> 43
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 43

Met Asn His Glu Tyr
1 5

<210> 44
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 44

Ser Val Gly Ala Gly Ile
1 5

<210> 45
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 45

Cys Ala Ser Ser Tyr Val Gly Asn Thr Gly Glu Leu Phe Phe
 1 5 10

<210> 46

<211> 114

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 46

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

Gly Pro Val Asn Ala Gly Val Thr Gln Thr Pro Lys Phe Gln Val Leu
 20 25 30

Lys Thr Gly Gln Ser Met Thr Leu Gln Cys Ala Gln Asp Met Asn His
 35 40 45

Glu Tyr Met Ser Trp Tyr Arg Gln Asp Pro Gly Met Gly Leu Arg Leu
 50 55 60

Ile His Tyr Ser Val Gly Ala Gly Ile Thr Asp Gln Gly Glu Val Pro
 65 70 75 80

Asn Gly Tyr Asn Val Ser Arg Ser Thr Thr Glu Asp Phe Pro Leu Arg
 85 90 95

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

Ser Tyr

<210> 47

<211> 179

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 47

Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro
 1 5 10 15

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

MD/EP 3500593 T2 2021.12.31

50

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

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

Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu
65 70 75 80

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

Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp
100 105 110

Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg
115 120 125

Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser
130 135 140

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

Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp
165 170 175

Ser Arg Gly

<210> 48
<211> 311
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 48

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

Gly Pro Val Asn Ala Gly Val Thr Gln Thr Pro Lys Phe Gln Val Leu
20 25 30

Lys Thr Gly Gln Ser Met Thr Leu Gln Cys Ala Gln Asp Met Asn His
35 40 45

Glu Tyr Met Ser Trp Tyr Arg Gln Asp Pro Gly Met Gly Leu Arg Leu
50 55 60

MD/EP 3500593 T2 2021.12.31

51

Ile His Tyr Ser Val Gly Ala Gly Ile Thr Asp Gln Gly Glu Val Pro
65 70 75 80

Asn Gly Tyr Asn Val Ser Arg Ser Thr Thr Glu Asp Phe Pro Leu Arg
85 90 95

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

Ser Tyr Val Gly Asn Thr Gly Glu Leu Phe Phe Gly Glu Gly Ser Arg
115 120 125

Leu Thr Val Leu Glu Asp Leu Lys Asn 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 Tyr 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 Glu 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
290 295 300

Lys Arg Lys Asp Ser Arg Gly
305 310

<210> 49
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 49

Ala Leu Leu Asp Gly Arg Val Gln Leu
1 5

<210> 50
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 50

Arg Leu Leu Asp Gly Ala Phe Lys Leu
1 5

<210> 51
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 51

Ile Leu Leu Asp Gly Ser Ala Ser Val
1 5

<210> 52
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 52

Phe Leu Leu Asp Gly Ser Glu Arg Leu
1 5

<210> 53
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 53

Phe Leu Phe Asp Gly Ser Ala Asn Leu Val
1 5 10

<210> 54

<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 54

Phe Leu Phe Asp Gly Ser Ala Asn Leu
1 5

<210> 55
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 55

Phe Leu Leu Asp Gly Ser Glu Gly Val
1 5

<210> 56
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 56

Phe Leu Leu Asp Gly Ser Asn Ser Val
1 5

<210> 57
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 57

Phe Leu Leu Asp Gly Ser Ser Arg Leu
1 5

<210> 58
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 58

Phe Leu Leu Asp Gly Ser Ala Asn Val
1 5

<210> 59
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 59

Ala Leu Leu Asp Gly Ser Ala Asn Val
1 5

<210> 60
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 60

Phe Ala Leu Asp Gly Ser Ala Asn Val
1 5

<210> 61
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 61

Phe Leu Ala Asp Gly Ser Ala Asn Val
1 5

<210> 62
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 62

Phe Leu Leu Ala Gly Ser Ala Asn Val
1 5

<210> 63
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 63

Phe Leu Leu Asp Ala Ser Ala Asn Val
1 5

<210> 64
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 64

Phe Leu Leu Asp Gly Ala Ala Asn Val
1 5

<210> 65
<211> 9

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 65

Phe Leu Leu Asp Gly Ser Gly Asn Val
1 5

<210> 66
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 66

Phe Leu Leu Asp Gly Ser Ala Ala Val
1 5

<210> 67
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 67

Phe Leu Leu Asp Gly Ser Ala Asn Ala
1 5

<210> 68
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 68

Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Val
1 5

<210> 69
<211> 21
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 69

Met Lys Ser Leu Arg Val Leu Leu Val Ile Leu Trp Leu Gln Leu Ser
1 5 10 15

Trp Val Trp Ser Gln
20

<210> 70
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 70

Met Gly Phe Arg Leu Leu Cys Cys Val Ala Phe Cys Leu Leu Gly Ala
1 5 10 15

Gly Pro Val

<210> 71

<211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 71

Met Lys Ser Leu Arg Val Leu Leu Val Ile Leu Trp Leu Gln Leu Ser
1 5 10 15

Trp Val Trp Ser Gln
20

<210> 72

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

Met Gly Phe Arg Leu Leu Cys Cys Val Ala Phe Cys Leu Leu Gly Ala
1 5 10 15

Gly Pro Val

<210> 73

<211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 73

Met Lys Ser Leu Arg Val Leu Leu Val Ile Leu Trp Leu Gln Leu Ser
1 5 10 15

Trp Val Trp Ser Gln
20

<210> 74

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 74

Met Gly Thr Arg Leu Leu Cys Trp Val Val Leu Gly Phe Leu Gly Thr
 1 5 10 15

Asp His Thr

(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:

- DATABASE EMBL [Online] 30 July 2015 (2015-07-30), "Homo sapiens (human) partial T cell receptor alpha chain V-J-region", XP002774327, retrieved from EBI accession no. EMBL:BAS03272 Database accession no. BAS03272
- WO-A2-2011/113819
- DATABASE EMBL [Online] 30 July 2015 (2015-07-30), "Homo sapiens (human) partial T cell receptor beta chain V-D-J-region", XP002774328, retrieved from EBI accession no. EMBL:BAS04242 Database accession no. BAS04242
- US-B1- 9 228 007
- DATABASE EMBL [Online] 30 July 2015 (2015-07-30), "Homo sapiens (human) partial T cell receptor alpha chain V-J-region", XP002774329, retrieved from EBI accession no. EMBL:BAS03375 Database accession no. BAS03375
- DATABASE EMBL [Online] 30 July 2015 (2015-07-30), "Homo sapiens (human) partial T cell receptor beta chain V-D-J-region", XP002774330, retrieved from EBI accession no. EMBL:BAS04067 Database accession no. BAS04067
- DATABASE EMBL [Online] 20 September 2002 (2002-09-20), "Homo sapiens clone SCO1 T-cell receptor alpha mRNA, partial cds.", XP002774331, retrieved from EBI accession no. EMBL:AF532840 Database accession no. AF532840
- DATABASE EMBL [Online] 4 March 2000 (2000-03-04), "Homo sapiens (human) partial T-cell receptor beta", XP002774332, retrieved from EBI accession no. EMBL:AAD15181 Database accession no. AAD15181
- PIEPENBRINK KURT H ET AL: "The basis for limited specificity and MHC restriction in a T cell receptor interface.", NATURE COMMUNICATIONS 2013, vol. 4, 2013, page 1948, ISSN: 2041-1723
- STADINSKI BRIAN D ET AL: "Effect of CDR3 Sequences and Distal V Gene Residues in Regulating TCR-MHC Contacts and Ligand Specificity", JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 192, no. 12, 15 June 2014 (2014-06-15), pages 6071-6082, ISSN: 0022-1767(print)

(57) Revendicări:

1. O construcție de recunoaștere a antigenului care se leagă în mod specific și/sau selectiv de o peptidă antigenică COL6A3 având secvența de aminoacizi prezentată în SEQ ID NO: 58, în care respectiva construcție de recunoaștere a antigenului cuprinde regiunile determinante complementare (CDR)

(i) secvențele CDR1, CDR2 și CDR3 care au secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 și, respectiv, SEQ ID NO: 3 și secvențele CDR1, CDR2 și CDR3 care au secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8 și, respectiv, SEQ ID NO: 9 sau

(ii) secvențele CDR1, CDR2 și CDR3 care au secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14 și, respectiv, SEQ ID NO: 15 și secvențele CDR1, CDR2 și CDR3 care au secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 și, respectiv, SEQ ID NO: 21 sau

(iii) secvențele CDR1, CDR2 și CDR3 care au secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26 și, respectiv, SEQ ID NO: 27 și secvențele CDR1, CDR2 și CDR3 care au secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32 și, respectiv, SEQ ID NO: 33;

în care respectiva construcție de recunoaștere a antigenului cuprinde secvențele respective de aminoacizi CDR cu cel mult unul, doi sau trei aminoacizi modificați, în care aminoacidul modificat este selectat dintre o inserție, o deleție sau o substituție de aminoacizi.

2. O construcție de recunoaștere a antigenului care cuprinde un receptor de celule T (TCR) sau un fragment al acestuia care se leagă în mod specific și/sau selectiv de o peptidă antigenică COL6A3 având secvența de aminoacizi prezentată în SEQ ID NO: 58, în care respectiva construcție de recunoaștere a antigenului cuprinde regiunile determinante complementare (CDR)

(i) secvențele CDR1 și CDR3 care au secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 1 și SEQ ID NO: 3 și secvențele CDR1 și CDR3 care au secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 7 și SEQ ID NO: 9 sau

(ii) secvențele CDR1 și CDR3 care au secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 13 și SEQ ID NO: 15 și secvențele CDR1 și CDR3 care au secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 19 și SEQ ID NO: 21 sau

(iii) secvențele CDR1 și CDR3 care au secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 25 și SEQ ID NO: 27 și secvențele CDR1 și CDR3 care au secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 31 și SEQ ID NO: 33;

în care respectiva construcție de recunoaștere a antigenului cuprinde secvențele respective de aminoacizi CDR cu cel mult unul, doi sau trei aminoacizi modificați, în care aminoacidul modificat este selectat dintre o inserție, o deleție sau o substituție de aminoacizi.

3. Construcția de recunoaștere a antigenului în conformitate cu Revendicarea 2,

în care respectiva construcție de recunoaștere a antigenului mai cuprinde CDR2 având secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 2 și CDR2 având secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 8 sau

CDR2 având secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 14 și CDR2 având secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 20 sau

CDR2 având secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 26 și CDR2 având secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 32.

4. Construcția de recunoaștere a antigenului în conformitate cu una dintre Revendicările 1 sau 3, în care construcția de recunoaștere a antigenului este un anticorp, un derivat sau un fragment al acestuia, sau un receptor de celule T (TCR), un derivat sau un fragment al acestuia; sau construcția de recunoaștere a antigenului din Revendicarea 2, în care construcția de recunoaștere a antigenului este un TCR, un derivat sau un fragment al acestuia.

5. Construcția de recunoaștere a antigenului în conformitate cu Revendicarea 4, în care respectiva construcție de recunoaștere a antigenului este un TCR cu un singur lanț (scTCR).

6. Construcția de recunoaștere a antigenului în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1-5, care este un TCR sau un fragment al acestuia compus dintr-o regiune de lanț variabil TCR alfa și o regiune de lanț variabil TCR beta,

(i) în care regiunea de lanț variabil TCR alfa menționată cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 4 sau o secvență de aminoacizi care are cel puțin 50% identitate cu secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 4 și în care regiunea de lanț variabil TCR alfa cuprinde secvențele CDR1, CDR2 și CDR3 din SEQ ID NO: 1, 2 și 3 și

în care regiunea de lanț variabil TCR beta menționată cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 10 sau o secvență de aminoacizi care are o identitate de cel puțin 50% cu secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 10 și în care regiunea lanțului variabil TCR beta cuprinde secvențele CDR1, CDR2 și CDR3 din SEQ ID NO: 7, 8 și 9 sau

(ii) în care regiunea de lanț variabil TCR alfa menționată cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 16 sau o secvență de aminoacizi care are cel puțin 50% identitate cu secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 16 și în care regiunea de lanț variabil TCR alfa cuprinde secvențele CDR1, CDR2 și CDR3 din SEQ ID NO: 13, 14 și 15 și

în care regiunea de lanț variabil TCR beta menționată cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 22 sau o secvență de aminoacizi care are o identitate de cel puțin 50% cu secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 22 și în care regiunea lanțului variabil TCR beta cuprinde secvențele CDR1, CDR2 și CDR3 din SEQ ID NO: 19, 20 și 21 sau

(iii) în care regiunea de lanț variabil TCR alfa menționată cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 28 sau o secvență de aminoacizi care are cel puțin 50% identitate cu secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 28 și în care regiunea de lanț variabil TCR alfa cuprinde secvențele CDR1, CDR2 și CDR3 din SEQ ID NO: 25, 26 și 27 și

in care regiunea de lanț variabil TCR beta menționată cuprinde secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 34 sau o secvență de aminoacizi care are o identitate de cel puțin 50% cu secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 34 și în care regiunea lanțului variabil TCR beta cuprinde secvențele CDR1, CDR2 și CDR3 din SEQ ID NO: 31, 32 și 33.

7. Construcția de recunoaștere a antigenului în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1-5, in care respectiva construcție de recunoaștere a antigenului este un TCR și respectivul TCR cuprinde un lanț TCR α și un lanț TCR β sau un lanț γ și un lanț δ .

8. Construcția de recunoaștere a antigenului în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1-7, in care construcția de recunoaștere a antigenului este un TCR sau un fragment al acestuia, compus dintr-un lanț TCR α și un lanț TCR β , in care TCR-ul mai cuprinde regiunea constantă care are o identitate de secvență de cel puțin 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% sau 100% cu o secvență de aminoacizi selectată din grupul format din lanțul α și β conform SEQ ID NO: 5 și 11, lanțul α și β conform SEQ ID NO: 17 și 23 și lanțul α și β conform SEQ ID NO: 29 și 35.

9. Un acid nucleic care codifică pentru o construcție de recunoaștere a antigenului conform uneia dintre Revendicările 1-8.

10. Un vector cuprinzand un acid nucleic in conformitate cu Revendicarea 9.

11. O celulă-gazdă care cuprinde o construcție de recunoaștere a antigenului în conformitate cu una dintre Revendicările 1-8 sau un acid nucleic in conformitate cu Revendicarea 9 sau un vector in conformitate cu Revendicarea 10; in mod opțional, celula-gazdă este un limfocit, de preferință un limfocit T sau un progenitor de limfocite T, mai preferabil o celulă T CD4-pozitivă sau CD8-pozitivă.

12. O compoziție farmaceutică care cuprinde construcția de recunoaștere a antigenului în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1-8 sau acidul nucleic in conformitate cu Revendicarea 9 sau vectorul in conformitate cu Revendicarea 10 sau celula-gazdă în conformitate cu Revendicarea 11 și un suport, stabilizator și/sau excipient acceptabil din punct de vedere farmaceutic.

13. Construcția de recunoaștere a antigenului în conformitate cu una dintre Revendicările 1-8 sau un acid nucleic in conformitate cu Revendicarea 9 sau un vector in conformitate cu Revendicarea 10 sau o celulă-gazdă în conformitate cu Revendicarea 11 sau compoziția farmaceutică în conformitate cu Revendicarea 12 pentru utilizare în medicină, opțional pentru utilizare în diagnosticarea, prevenirea și/sau tratarea unei boli proliferative.

14. O metodă de fabricare a unei linii celulare care exprimă o construcție care recunoaște antigenul specific COL6A3, care cuprinde

- a. furnizarea unei celule-gazdă adecvate,
- b. furnizarea unei construcții genetice care cuprinde o secvență codificatoare care codifică construcția de recunoaștere a antigenului în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1-8,
- c. introducerea în respectiva celulă-gazdă adecvată a respectivei construcții genetice,
- d. exprimarea construcției genetice de către respectiva celulă-gazdă adecvată.

15. Metoda in conformitate cu Revendicarea 14, care mai cuprinde izolarea și purificarea construcției de recunoaștere a antigenului din celula-gazdă adecvată și, opțional, reconstituirea construcției de recunoaștere a antigenului într-o celulă T.

Figura 1:

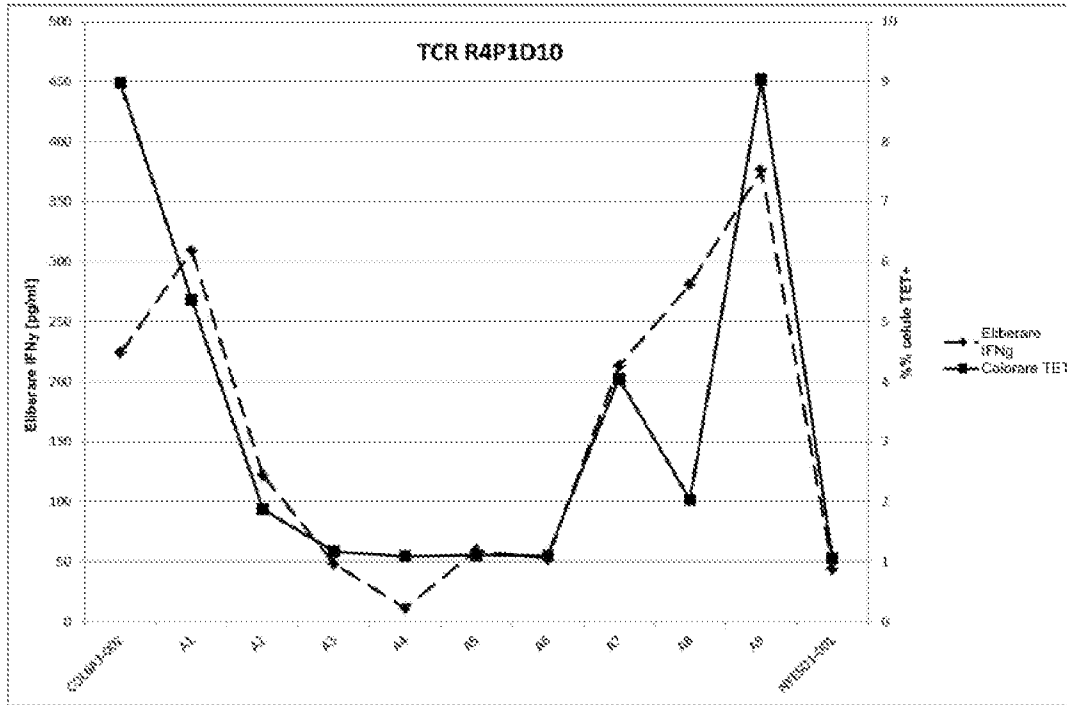


Figura 2:

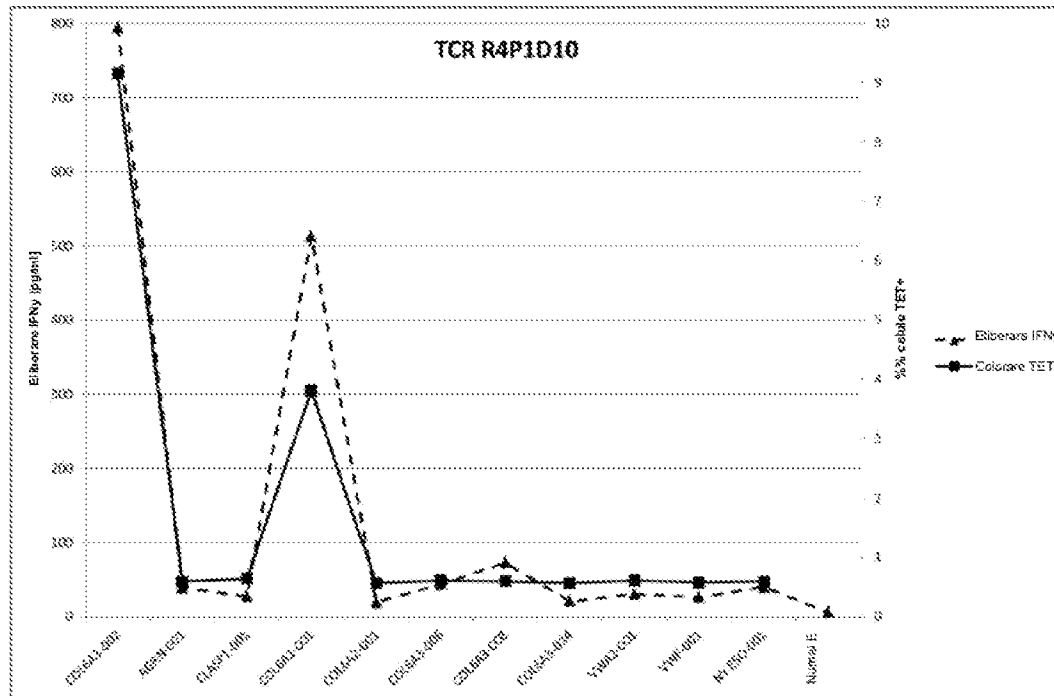


Figura 3:

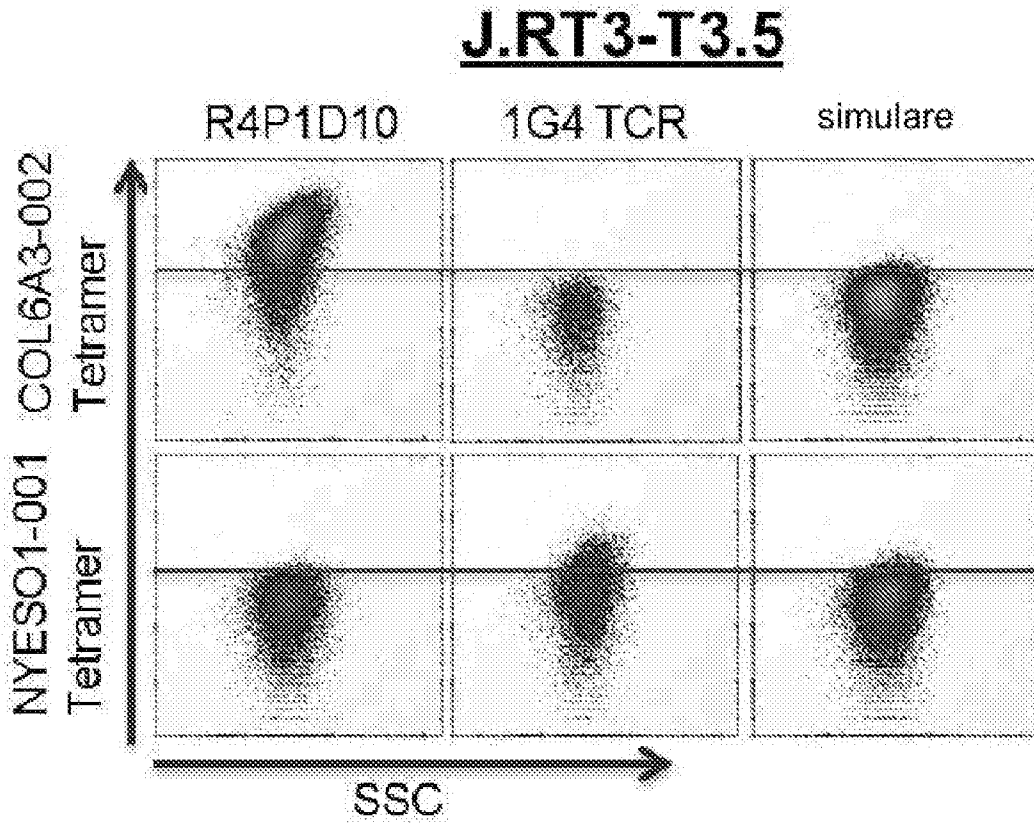


Figura 4:

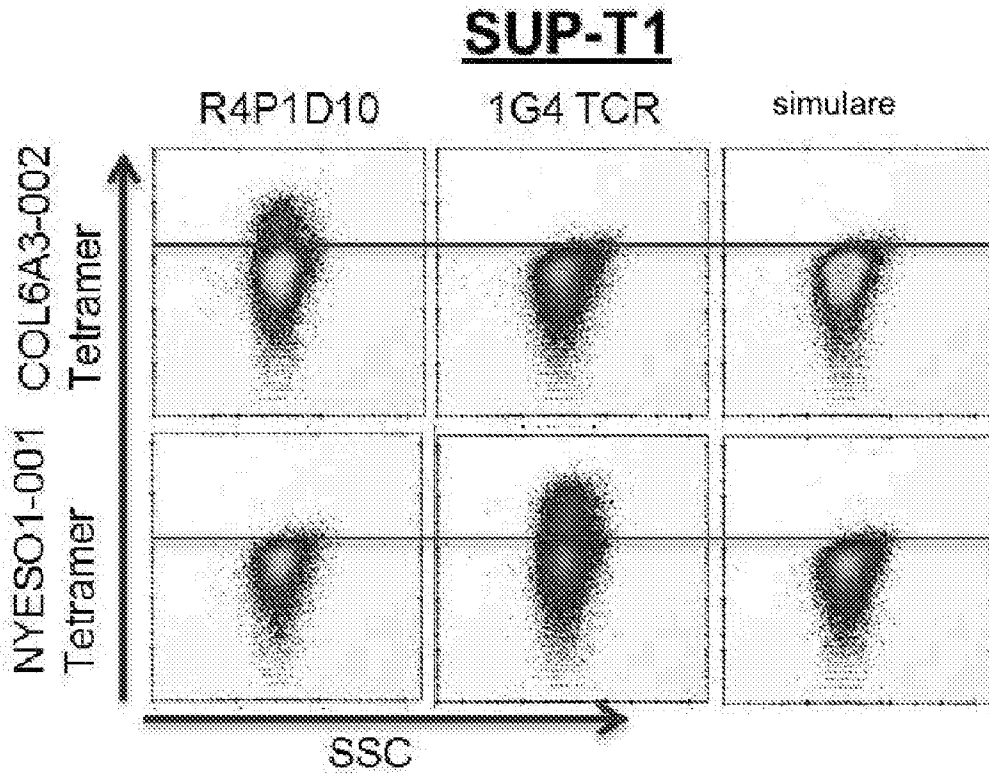


Figura 5:

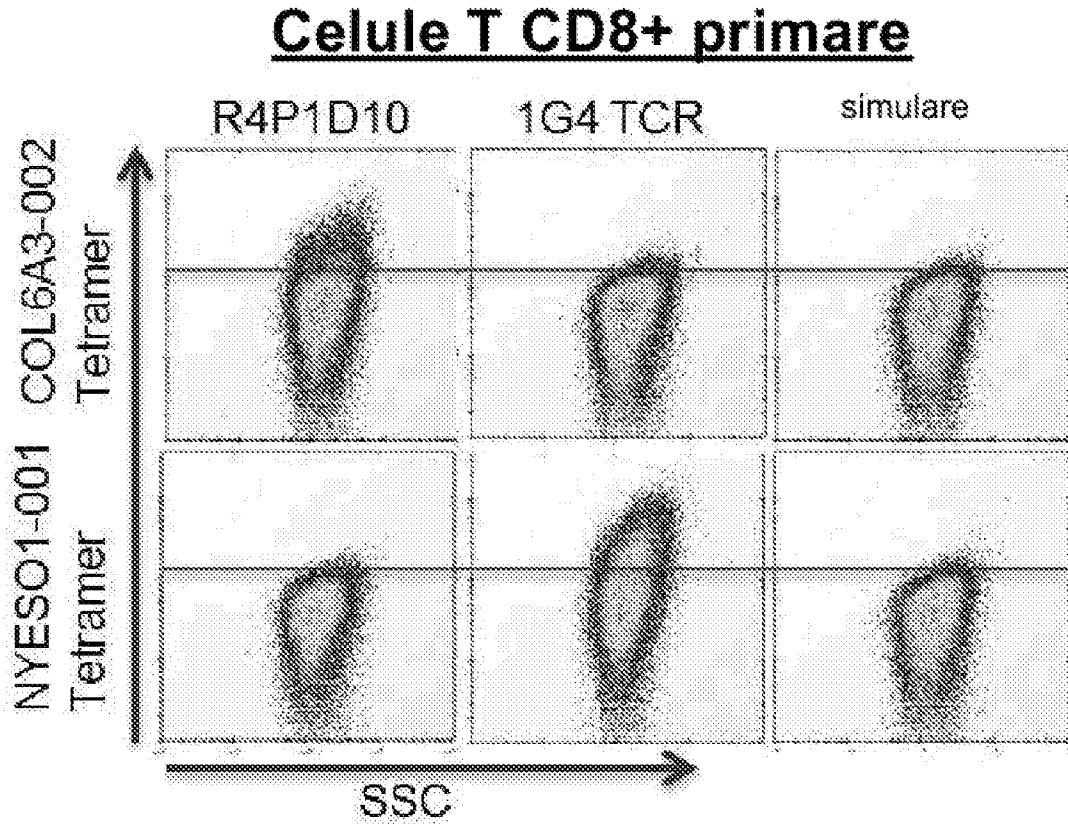


Figura 6:

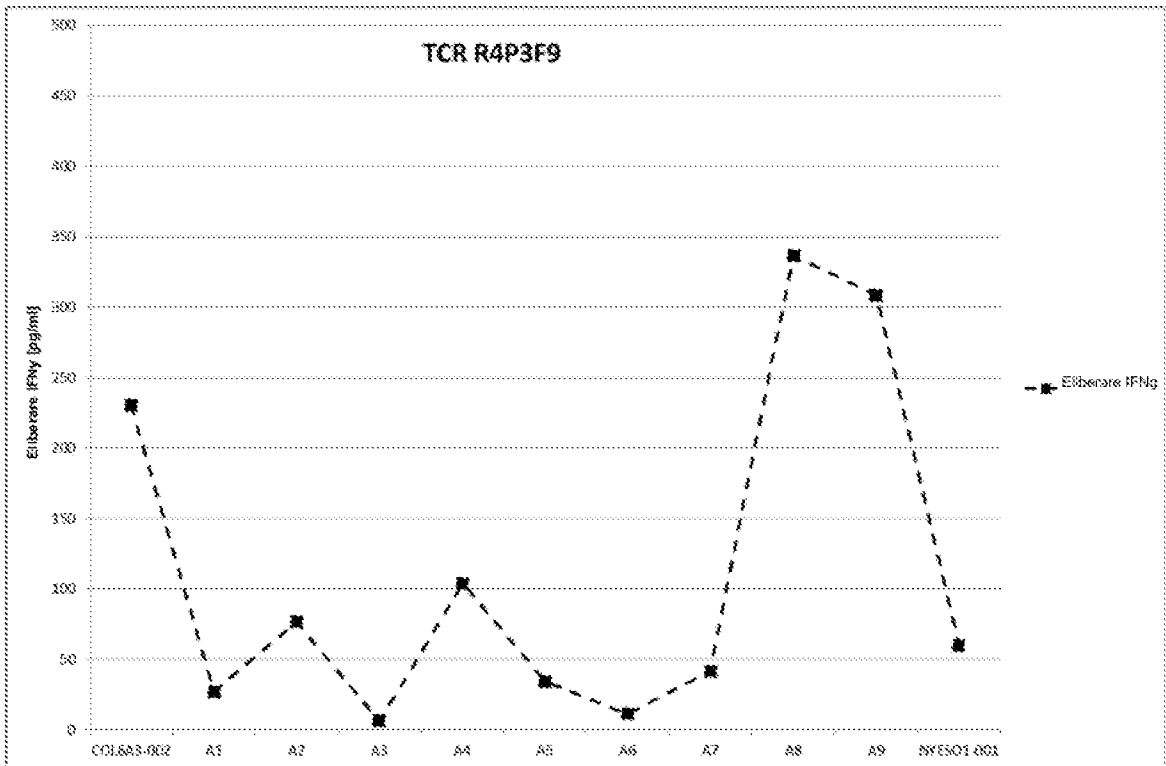


Figura 7:

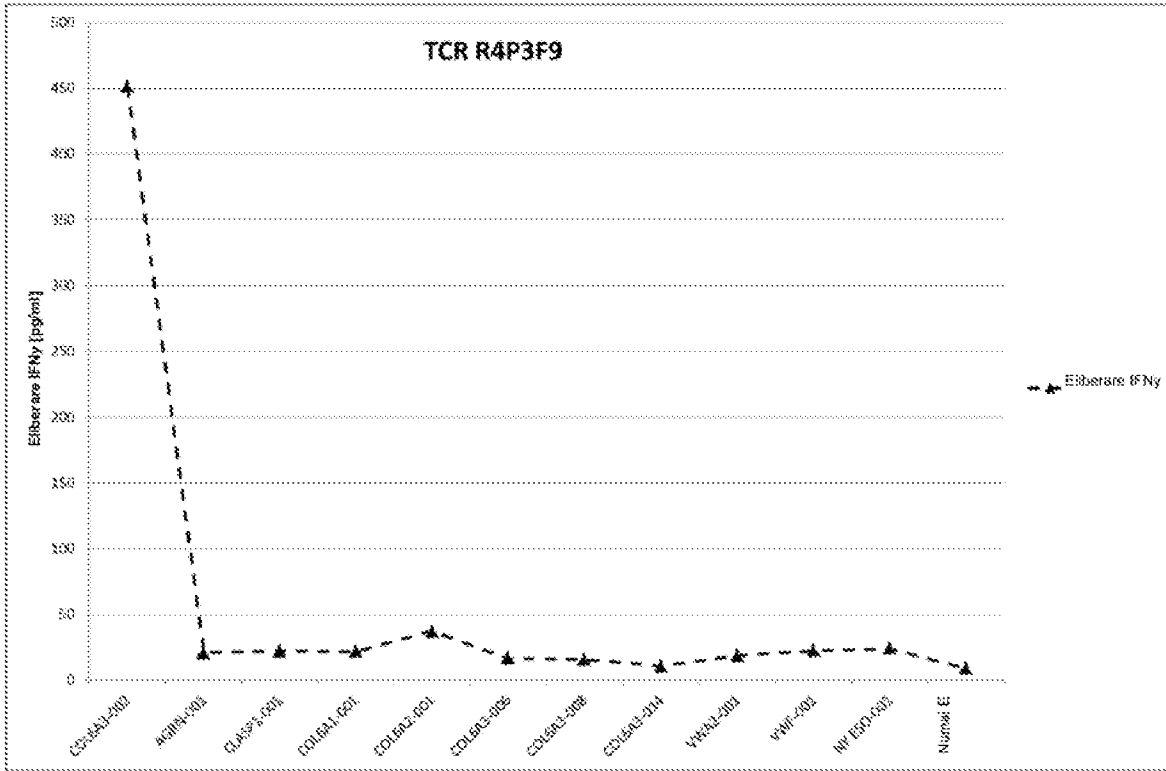


Figura 8:

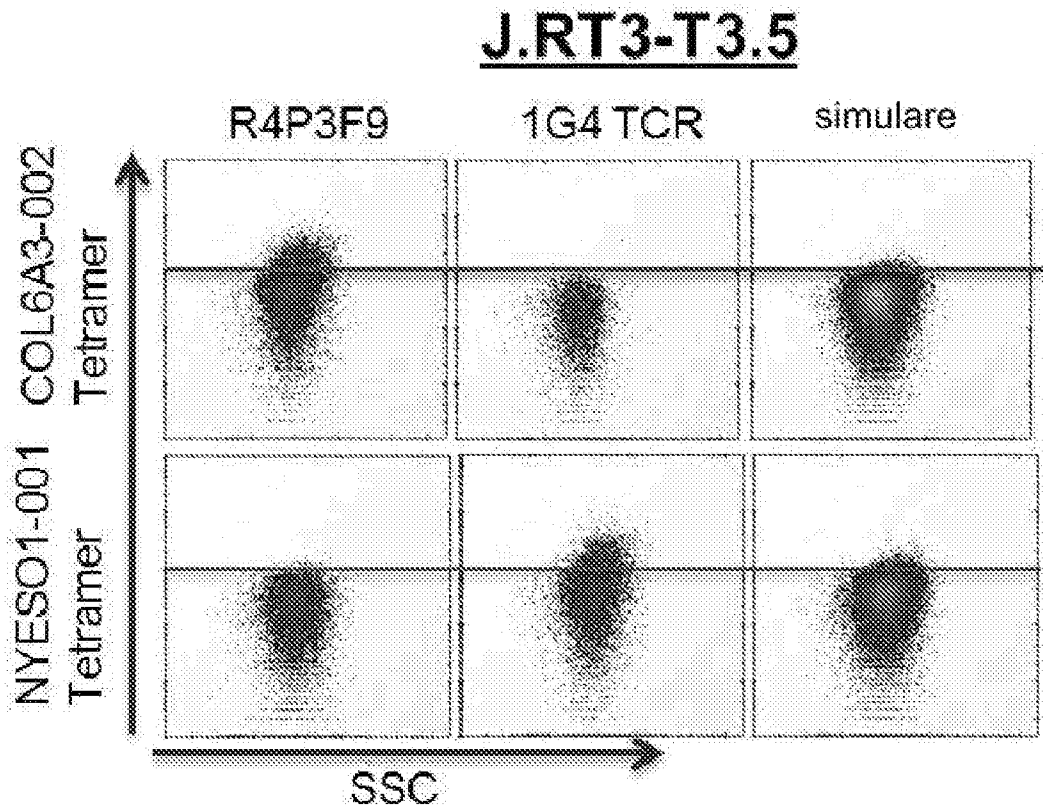


Figura 9:

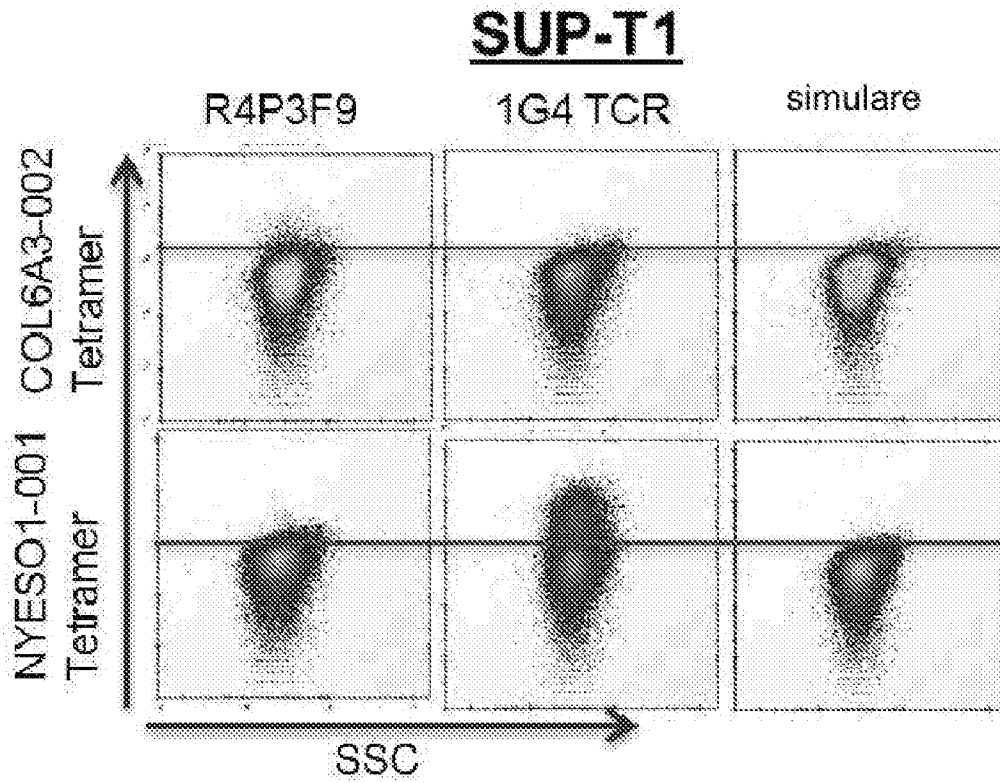


Figura 10:

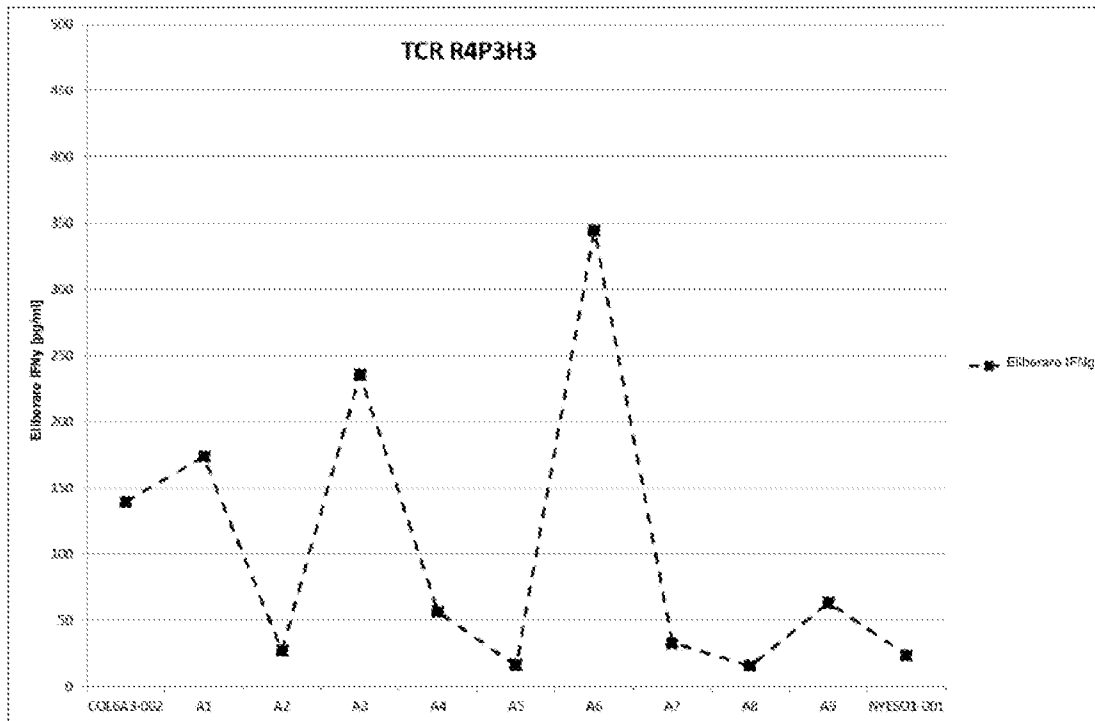


Figura 11:

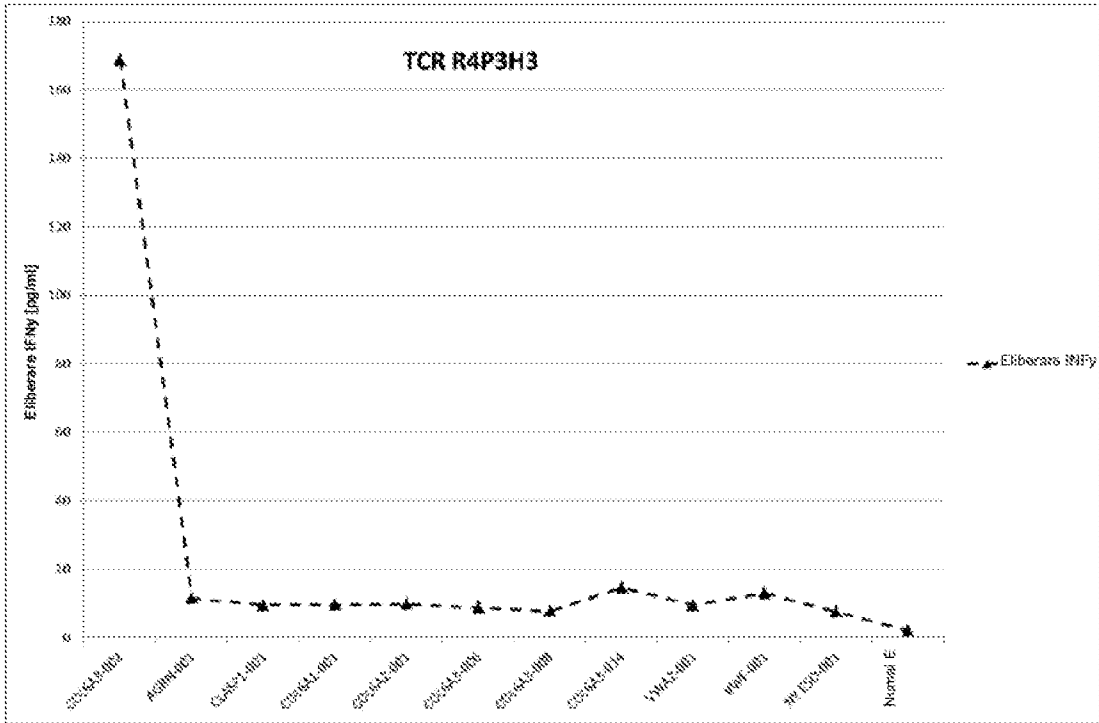


Figura 12:

