



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201828977 A

(43)公開日：中華民國 107 (2018) 年 08 月 16 日

(21)申請案號：106143135

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 12 月 08 日

(51)Int. Cl.：

A61K39/00 (2006.01)

A61K35/17 (2015.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2016/12/08

美國

62/431,580

2016/12/08

德國

10 2016 123 859.7

(71)申請人：德商英麥提克生物技術股份有限公司 (德國) IMMATICS BIOTECHNOLOGIES GMBH (DE)

德國

(72)發明人：艾爾頓 里歐尼 ALTEN, LEONIE (DE)；邦克 賽巴斯汀 BUNK, SEBASTIAN (DE)；馬友若 多明尼克 MAURER, DOMINIK (DE)；瓦那 克勞迪亞 WAGNER, CLAUDIA (DE)

(74)代理人：李世章；彭國洋

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：22 項 圖式數：13 共 118 頁

(54)名稱

新穎 T 細胞受體以及使用彼之免疫療法

NOVEL T CELL RECEPTORS AND IMMUNE THERAPY USING THE SAME

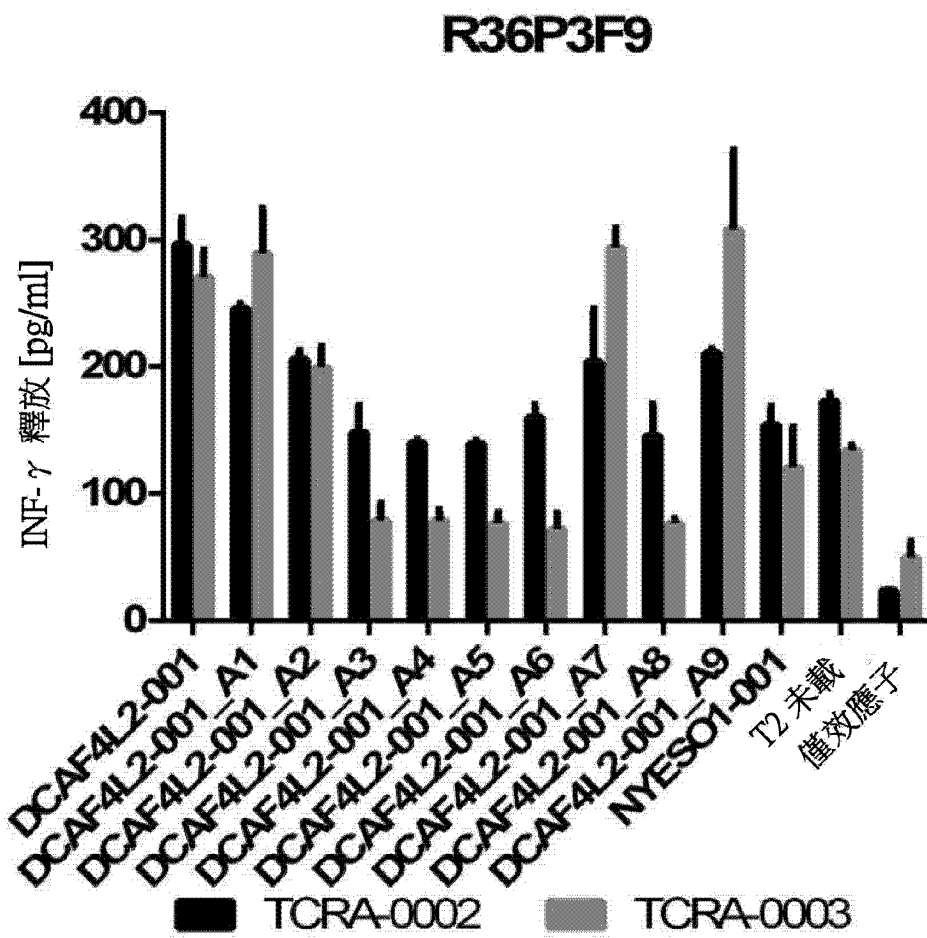
(57)摘要

本發明涉及針對源自靶蛋白 DDB1 和 CUL4 相關因子 4 樣 2 (DCAF4L2) 的腫瘤相關抗原 (TAA) 的抗原識別構建體。本發明特別提出了對本發明 TAA 具有選擇性和特異性的新型 T 細胞受體 (TCR) 分子。本發明的 TCR 及其衍生的 TAA 結合片段可用於診斷、治療和預防表達 TAA 的癌性疾病。還提出了編碼本發明抗原識別構建體的核酸、包含這些核酸的載體、表達抗原識別構建體的重組細胞以及包含本發明化合物的藥物組合物。

The present invention relates to antigen recognizing constructs against a tumor associated antigen(TAA) derived from the target protein DDB1 and CUL4 associated factor 4-like 2(DCAF4L2). The invention in particular provides novel T cell receptor(TCR) based molecules which are selective and specific for the TAA of the invention. The TCR of the invention, and TAA binding fragments derived therefrom, are of use for the diagnosis, treatment and prevention of TAA expressing cancerous diseases. 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.

指定代表圖：

圖 1:



【發明說明書】

【中文發明名稱】新穎T細胞受體以及使用彼之免疫療法

【英文發明名稱】NOVEL T CELL RECEPTORS AND IMMUNE THERAPY
USING THE SAME

【技術領域】

【0001】 本發明涉及針對源自靶蛋白 DDB1 和 CUL4 相關因子 4 樣 2 (DCAF4L2) 的腫瘤相關抗原 (TAA) 的抗原識別構建體。本發明特別提出了對本發明 TAA 具有選擇性和特異性的新型 T 細胞受體 (TCR) 分子。本發明的 TCR 及其衍生的 TAA 結合片段可用於診斷、治療和預防表達 TAA 的癌性疾病。還提出了編碼本發明抗原識別構建體的核酸、包含這些核酸的載體、表達抗原識別構建體的重組細胞以及包含本發明化合物的藥物組合物。

【先前技術】

【0002】 無

【發明內容】

【0003】 基於 T 細胞的免疫治療靶標代表作用于主要組織相容性複合體 (MHC) 分子提呈的來源於腫瘤相關蛋白或腫瘤特異性蛋白的肽表位。這些腫瘤相關抗原 (TAA) 可以是源自所有蛋白類型的肽，如酶、受體、轉錄因子等，它們在相應腫瘤的細胞中被表達，並且與同源未變的細胞相比，其表達通常上調。

【0004】細胞免疫反應的特定元素能選擇性地識別和破壞腫瘤細胞。從腫瘤浸潤細胞群或外周血中分離出的 T 細胞表明，這些細胞在癌症的天然免疫防禦中發揮了重要作用。特別是 CD8 陽性 T 細胞在這種反應中發揮重要作用， $TC D 8^{+}$ 能識別通常 8 至 10 個源自蛋白或位於細胞質的缺損核糖體產物 (DRiP) 的氨基酸殘基的主要組織相容性複合體 (MHC) 所載的肽中所含的 I 類分子。人 MHC 分子也稱為人白細胞 - 抗原 (HLA)。

【0005】MHC 分子有兩類：MHC I 類和 MHC II 類。肽和 MHC I 類的複合體由負載相應 T 細胞受體 (TCR) 的 CD8 陽性 T 細胞進行識別，而肽和 MHC II 類分子的複合體由負載相應 TCR 的 CD4 陽性輔助 T 細胞進行識別。由於 CD8 依賴型和 CD4 依賴型這兩種反應共同並協同地促進抗腫瘤作用，因此，確定和表徵腫瘤相關抗原和相應 T 細胞受體在開發癌症免疫治療（如：疫苗和細胞治療）中非常重要。

【0006】在 MHC I 類依賴性免疫反應中，肽不僅能與腫瘤細胞表達的某些 MHC-I 類分子結合，而且它們之後還必須能被 T 細胞負載的特異性 T 細胞受體 (TCR) 識別。因此，TAA 是基於 T 細胞療法（包括但不限於腫瘤疫苗和細胞療法）研發的起點。

【0007】大約 90% 的外周血 T 細胞表達由一個 α 多肽和一個 β 多肽組成的 TCR。除了 T 細胞外，還有一小部分 T 細胞（約占總 T 細胞的 5%）表現出由一個 γ

多肽和一個 δ 多肽組成的 TCR。在被稱為上皮內淋巴細胞 (IEL) 的淋巴細胞群內，發現 $\gamma\delta$ T 細胞在其腸道黏膜中豐度最高。啟動 $\gamma\delta$ T 細胞的抗原性分子仍然鮮為人知。但是， $\gamma\delta$ T 細胞不是 MHC 限制性細胞，似乎能夠識別整個蛋白質，而不是要求肽在抗原提呈細胞上由 MHC 分子提呈，雖然有些識別 MHC IB 類分子。構成外周血中主要 $\gamma\delta$ T 細胞群的人 $V\gamma 9/V\delta 2$ T 細胞具有獨特性，它們特異性地且快速地應答小非肽類微生物代謝物 HMB-PP (一種異戊烯基焦磷酸鹽前體)。

【0008】 T 細胞克隆的 T 細胞抗原受體的鏈各自由指定可變 (V)、[多樣性 (D)]、連接 (J) 和恒定 (C) 結構域的獨特組合構成。在每個 T 細胞克隆中， α 和 β 鏈或 δ 和 γ 鏈的 V、D 和 J 結構域的組合以該 T 細胞克隆獨特特徵的方式參與抗原識別，並定義一個獨特的結合位點 (也被稱為獨特型 T 細胞克隆)。而 C 結構域不參與抗原結合。

【0009】 TCR 是免疫球蛋白超家族的異二聚體細胞表面蛋白，其與參與介導信號轉導的 CD3 複合體的不變蛋白質相關。TCR 以 $\alpha\beta$ 和 $\gamma\delta$ 形式存在，其結構相似，但解剖位置非常不同，也可能功能也非常不同。天然異二聚體 $\alpha\beta$ TCR 和 $\gamma\delta$ TCR 的細胞外部分各自均由兩個多肽組成，每個多肽都有一個膜近端恒定結構域和一個膜遠端可變結構域。每個恒定和可變結構域都包括一個鏈內二硫鍵。可變結構域包含與抗體互補決定區 (CDR) 類

似的高度多態性環。使用 TCR 基因療法可克服目前的一些障礙。它可讓患者自己的 T 細胞在短時間內具有所需的特異性並產生足夠數量的 T 細胞，從而避免其耗盡。TCR 將被轉導至中央記憶 T 細胞或具有幹細胞特徵的 T 細胞中，這可確保轉移時產生更好的持久性和功能。TCR 工程化 T 細胞將透過化學療法或照射被注入淋巴細胞減少的癌症患者，從而獲得有效的植入，但抑制免疫抑制。

【0010】 DCAF4L2 基因編碼 DDB1 和 CUL4 相關因子 4 樣 2。此蛋白的特定功能尚待闡明；不過 DCAF4L2 基因被證明與視盤形態和唇裂發育有關。Springelkamp H, et al. Meta-analysis of Genome-Wide Association Studies Identifies Novel Loci Associated With Optic Disc Morphology. Genet Epidemiol. 2015 Mar; 39(3):207-16. Beaty TH et al. Confirming genes influencing risk to cleft lip with/without cleft palate in a case-parent trio study. Hum Genet. 2013 Jul; 132(7):771-81)。

【0011】雖然在開發用於癌症治療的分子靶向藥物方面取得了進展，但是，本領域仍然需要開發專門靶向作用於癌細胞高度特異性分子的抗癌新藥。本發明說明書透過提出靶向作用於衍生自 DCAF4L2 的 TAA-表位的新型 TCR、各自的重組 TCR 構建體、核酸、載體和與 TAA

表位特異性結合的公開宿主細胞來滿足此需求；以及使用這些分子治療癌症的方法。

【0012】 在第一方面，本發明的目的透過抗原識別構建體來解決，所述抗原識別構建體包含至少一個互補決定區(CDR) 3，其與選自 SEQ ID NO 3、9、15、21、27 和 33 的氨基酸序列至少具有 50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99% 或優選為 100% 序列同一性。

【0013】 根據本發明的抗原識別構建體識別並特異性識別本發明的表位元，其包含根據 SEQ ID NO:49 的氨基酸序列「ILQDGQFLV」（單字母密碼）或由其組成，在本文中稱為「DCAF4L2-001」或有時僅稱為本發明的「肽」或「表位」。當與 MHC 結合時，該肽優選被識別。US2016-0280738A1（在本文全部併入）公開了 DCAF4L2-001 肽及其用途。

【0014】 在一些實施方案中（也參見下文），本發明的抗原識別構建體特異性結合 TAA - 肽 - HLA 分子複合體，其中所述 TAA 肽包含 TAA 的變體或由 TAA 的變體組成，所述變體與 SEQ ID NO:49 至少 66%、優選至少 77%、更優選至少 88% 同源（優選為至少 77% 或至少 88% 相同），其中所述變體與 HLA I 類或 II 類分子結合和/或誘導與所述肽或其藥用鹽交叉反應的 T 細胞，其中所述肽不是潛在的全長多肽。

【0015】 用於本文時，當在本文中用於兩個或更多個核酸或蛋白質/多肽序列背景下任何地方時，術語「相同」或「同一性」百分比是指兩個或更多個序列或子序列相同或具有（即，至少具有）特定百分比的氨基酸殘基或核苷酸，所述氨基酸殘基或核苷酸透過使用序列比較演算法測量或人工比對和目視檢查相同（即，在指定區域中，當在比較視窗或指定區域上進行比較和比對以獲得最大對應性時，優選為在全長序列中，具有或至少具有約 60% 同一性，優選具有或至少具有 65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93% 或 94% 同一性，更優選具有或至少具有約 95%、96%、97%、98%、99% 或更高的同一性）（例如參見 NCBI 網站）。在一項特定的實施方案中，例如，當將本發明的抗原識別構建體的蛋白質或核酸序列與另一種蛋白質/基因進行比較時，同一性百分比可透過 Human Olfactory Data Explorer（例如，<https://genome.weizmann.ac.il/cgi-bin/horde/blastHorde.pl>）支持的 Blast 搜索來確定；特別是用於確定氨基酸同一性時，使用含有以下參數的 BLASTP 2.2.28+ 搜索：矩陣：BLOSUM62；空位罰分：存在：11，擴展：1；相鄰詞語閾值：11；多重命中窗口：40。

【0016】 在本發明的背景下，應當理解的是，被稱為「包括」本發明某些特徵的任何實施方案應被理解為在一些更

優選的實施方案中納入由本發明非常相同特徵「組成」或「基本上組成」的更加嚴格的描述。

【0017】 在另一個附加或替代實施方案中，抗原識別構建體還可包含 CDR1 和 / 或 CDR2 結構域序列。在可變結構域內，CDR1 和 CDR2 位於多肽鏈的可變 (V) 區域，CDR3 包括一部分 V 區域、全部多樣性 (D) 區域和連接 (J) 區域。CDR3 是最可變的，是負責特異性和選擇性識別抗原的主要 CDR。CDR1 和 CDR2 序列可能選自人可變鏈等位基因的 CDR 序列。

【0018】 天然 α - β 異二聚體 TCR 具有 α 鏈和 β 鏈。每個鏈都包括可變、連接和恒定區域， β 鏈通常還包括可變區和連接區之間的短多樣性區域，但是該多樣性區域常被視為連接區域的一部分。每個可變區都包括嵌入在框架序列中的三個 CDR (互補決定區)，其中一個是稱為 CDR3 的高度可變區。存在幾種類型的 α 鏈可變 ($V\alpha$) 區和幾種類型的 β 鏈可變 ($V\beta$) 區，由其框架、CDR1 和 CDR2 序列及部分定義的 CDR3 序列區分。 $V\alpha$ 類型透過唯一的 TRAV 號在 IMGT 命名中提及， $V\beta$ 類型透過唯一的 TRBV 號被提及。關於免疫球蛋白抗體和 TCR 基因的更多資訊，參見國際免疫基因學資訊系統®，Lefranc MP 等人 (Nucleic Acids Res. 2015 Jan; 43(Database issue): D413-22; and <http://www.imgt.org/>)。

【0019】 因此，在一個附加或替代實施方案中，本發明的抗原識別構建體包含如下文表 1 中所數的 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列組合，其與 CDR3 序列一起顯示相應的可變鏈等位基因。因此，優選的是本發明的抗原識別構建體，其包含至少一個、優選為全部三個 CDR 序列 CDR1、CDR2 和 CDR3。優選情況是，本發明的抗原識別構建體包含本文公開的本發明的單個 TCR 可變區的各 CDR1 至 CDR3（參見下文表 1 和實施例章節）。

【0020】 本文所用術語「特異性」或「抗原特異性」或「特異性針對」給定抗原系指當所述抗原由 HLA，優選為 HLA A2 提呈時，抗原識別構建體可與所述抗原特異性結合，優選為 TAA 抗原，更優選為具有高親合力的抗原。例如，作為抗原識別構建體的 TCR 可視為對 TAA 具有「抗原特異性」，條件是在與使用低濃度 TAA 抗原，例如下文提出的 TAA 表位和抗原（例如，約 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）脈衝處理的靶細胞共培養時，表達 TCR 的 TAA 接觸的 T 細胞分泌至少約 200 pg/ml 或以上（例如，250 pg/ml 或以上、300 pg/ml 或以上、400 pg/ml 或以上、500 pg/ml 或以上、600 pg/ml 或以上、700 pg/ml 或以上、1000 pg/ml 或以上、2,000 pg/ml 或以上、2,500 pg/ml 或以上、5,000 pg/ml 或以上）的干擾

素 γ (IFN- γ)。替代或附加情況是，如果表達 TCR 的 T 細胞在與低濃度 TAA 抗原脈衝的靶細胞共培養時分泌至少兩倍於 IFN- γ 未轉染背景水準的 IFN- γ ，則認為 TCR 對 TAA 具有「抗原特異性」。如上所述的這種「特異性」可用 ELISA 進行分析。

【0021】 在本發明的一個替代或附加實施方案中，抗原識別構建體選擇性地與 TAA 衍生的抗原性肽結合；優選其中 TAA 抗原性肽為具有 SEQ ID NO: 49 所示氨基酸序列的蛋白質表位或肽或其變體，其中所述變體氨基酸缺失、添加、插入或取代不超過三個、優選為兩個、最優選為不超過一個氨基酸位置。抗原識別構建體可選擇性地與 TAA 肽 DCAF4L2-001_A1 至 A9（如 SEQ ID NO: 50 至 58 所示）和 DCAF4L2-001_T1 至 T9（如 SEQ ID NO: 70 至 78 所示）的修飾版本（變體）結合。相比之下，抗原識別構建體不與 DCAF4L2-001 具有相似序列的肽（如 SEQ ID NO: 59 至 68 所示）結合。

【0022】 術語「選擇性」或「選擇性識別/結合」被理解為是指抗原識別構建體（如 TCR 或抗體）的性質，選擇性地識別或結合至優選僅一個特異性表位，優選為與另一個表位沒有或基本上沒有交叉反應。優選情況為，術語「選擇性」或「選擇性識別/結合」是指抗原識別構建體（例如 TCR）選擇性地識別或結合優選僅一個特異性表位，且優選為與另一個表位沒有或基本上沒有交叉反

應，其中所述表位對於一種蛋白質是獨特的，使得抗原識別構建體對另一種表位和另一種蛋白質沒有或基本上沒有交叉反應性。

【0023】根據本發明的抗原識別構建體優選為選自抗體或其衍生物或片段、或 T 細胞受體 (TCR) 或其衍生物或片段。本發明的抗體或 TCR 的衍生物或片段應優選為可保留母體分子的抗原結合/識別能力，特別是其如上所述的特異性和/或選擇性。此類結合功能可以透過如本文所定義的 CDR3 區的存在來保留。

【0024】在本發明的一實施方案中，本發明的 TCR 能夠以主要組織相容性複合體 (MHC) I 類依賴性方式識別 TAA 抗原。本文使用的「MHC I 類依賴性方式」系指在 MHC I 類分子的背景中在結合 TAA 抗原時 TCR 引起免疫應答。MHC I 類分子可以是本領域已知的任何 MHC I 類分子，例如 HLA-A 分子。在本發明的一項優先實施方案中，MHC I 類分子為 HLA-A2 分子。

【0025】本發明提供單鏈抗原識別構建體和雙鏈識別構建體。

【0026】在一實施方案中，該 TCR α 可變結構域具有至少一個與表 1 所示 TCR α 結構域相關的突變；和/或該 TCR β 可變結構域具有至少一個與表 1 所示 TCR β 結構域相關的突變。在一實施方案中，TCR α 可變結構域和/或 TCR β 可變結構域中包含至少一個突變的 TCR 對於 TAA 肽 HLA 分子複合體的結合親和力和/或結合半

衰期至少是包含未突變 T C R α 結構域和 / 或未突變 T C R β 可變結構域的 T C R 的兩倍。

【0027】 本說明書的 T C R α 鏈可能進一步包含 T C R α 跨膜結構域和 / 或 T C R α 細胞內結構域。本說明書的 T C R β 鏈可能進一步包含 T C R β 跨膜結構域和 / 或 T C R β 細胞內結構域。

【0028】 本發明特別提出一種作為抗原識別構建體或其片段或衍生物的 T C R。T C R 優選為人 T C R，其被理解為由人 T C R 基因座產生，因此包含人 T C R 序列。此外，本發明 T C R 的特徵在於它源自人，並且特異性地識別本發明的 T A A 抗原。

【0029】 本發明的另一項實施方案另外提供上述抗原識別構建體，其誘導免疫應答，優選為其中免疫應答的特徵在於干擾素 (I F N) γ 水準增加。

【0030】 本發明的 T C R 可以為單鏈 α 或 β ，或 γ 和 δ 分子，或為由 α 和 β 鏈或 γ 和 δ 鏈兩者組成的雙鏈構建體。

【0031】 本發明的抗原識別構建體可能包含 T C R α 或 γ 鏈；和 / 或 T C R β 或 δ 鏈；其中所述 T C R α 或 γ 鏈包含與選自 S E Q I D N o. 3、15 和 27 的氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99% 或 100% 序列同一性的 C D R 3，和 / 或其中所述 T C R β 或 δ 鏈包含與選自 S E Q I D N o. 9、21 和 33 的氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、

80%、90%、95%、98%、99% 或 100% 序列同一性的 CDR3。

【0032】 最優選地，在一些另外的實施方案中，其中本披露是指包含本文公開的 TCR 鏈的任何一個、兩個或全部 CDR1 至 CDR3 區的抗原識別構建體（參見表 1），此類抗原識別構建體可能為優選，其包含本發明相應的 CDR 序列，其不超過三個、兩個、優選為僅一個修飾的氨基酸殘基。修飾的氨基酸殘基可能選自氨基酸插入、缺失或取代基。最為優先的情況是三個、兩個、優選為僅一個修飾的氨基酸殘基為相應 CDR 序列的第一個或最後一個氨基酸殘基。如果修飾是取代，則在一些實施方案中優選取代為保守的氨基酸取代。

【0033】 如果本發明的抗原識別構建體由至少兩個氨基酸鏈（如雙鏈 TCR 或其抗原結合片段）組成，則抗原識別構建體可能包含根據 SEQ ID NO: 3 的第一個多肽鏈氨基酸序列和根據 SEQ ID NO: 9 的第二個多肽鏈氨基酸序列；或根據 SEQ ID NO: 15 的第一個多肽鏈氨基酸序列和根據 SEQ ID NO: 21 的第二個多肽鏈氨基酸序列；或根據 SEQ ID NO: 27 的第一個多肽鏈氨基酸序列和根據 SEQ ID NO: 33 的第二個多肽鏈氨基酸序列。上述任一雙鏈 TCR 或其抗原結合片段均是本發明的優選 TCR。在一些實施方案中，本發明雙鏈 TCR 的 CDR3 可能突變。如上所述的 SEQ ID NO: 9 至 28 的 CDR3 序列突變優選包括取代、缺失、添加或

插入不超過 3 個、優選為 2 個、最優選為不超過 1 個氨基酸殘基。在一些實施方案中，第一個多肽鏈可能是 TCR α 或 γ 鏈，第二個多肽鏈可能是 TCR β 或 δ 鏈。優選為 $\alpha\beta$ 或 $\gamma\delta$ TCR 的組合。

【0034】 在一些實施方案中，TCR 或其抗原結合片段由 TCR α 和 TCR β 鏈或 γ 和 δ 鏈組成。此類雙鏈 TCR 包括在每個鏈可變區內，並且各可變區包含一個 CDR1、一個 CDR2 和一個 CDR3 序列。TCR 包含 SEQ ID NO: 4 和 SEQ ID NO: 10 (R36P3F9) 或 SEQ ID NO: 16 和 SEQ ID NO: 22 (R52P2G11) 或 SEQ ID NO: 28 和 SEQ ID NO: 34 (R53P2A9) 可變鏈氨基酸序列中所包含的 CDR1 至 CDR3 序列。

【0035】 本發明的一些實施方案涉及由 TCR α 和 TCR β 鏈組成的 TCR 或其片段，其中所述 TCR 包含與選自分別根據 SEQ ID NO: 4 和 10 或 16 和 22 或 28 和 34 的 α 和 β 鏈的氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、80%、90%、90%、95%、98%、99% 或優選為 100% 序列同一性的可變區序列。

【0036】 本發明的 TCR 可以進一步包含源自任何合適物種的恒定區，如任何哺乳動物，例如：人、大鼠、猴、兔、驢或小鼠。在本發明的一項實施方案中，本發明的 TCR 進一步包含人恒定區。在一些優選實施方案中，本發明 TCR 的恒定區可例如透過引入異源序列、優選為

小鼠序列來稍加修飾，這可能增加 T C R 的表達和穩定性。

【0037】 本發明的一些實施方案涉及由 T C R α 和 T C R β 鏈組成的 T C R 或其片段，其中所述 T C R 包含與選自分別根據 S E Q I D N O : 5 和 11 或 17 和 23 或 29 和 35 的 α 和 β 鏈的氨基酸序列具有至少 50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、90 %、95 %、98 %、99 % 或優選為 100 % 序列同一性的恒定區域。

【0038】 本發明的 T C R α 或 γ 鏈還可能包含與選自 S E Q I D N o . 1、13 和 25 的氨基酸具有至少 50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、90 %、95 %、98 %、99 % 或 100 % 序列同一性的 C D R 1 和 / 或與選自 S E Q I D N o . 2、14 和 26 的氨基酸具有至少 50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、90 %、95 %、98 %、99 % 或 100 % 序列同一性的 C D R 2。

【0039】 根據本發明，T C R β 或 δ 鏈還可能包含與選自 S E Q I D N o . 7、19 和 31 的氨基酸序列具有至少 50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、90 %、95 %、98 %、99 % 或 100 % 序列同一性的 C D R 1 和 / 或與選自 S E Q I D N o . 8、20 和 32 的氨基酸序列具有至少 50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、90 %、95 %、98 %、99 % 或 100 % 序列同一性的 C D R 2。

【0040】 在一項進一步的實施方案中，抗原識別構建體可能包含 T C R 的結合片段，並且其中所述結合片段包

含 CDR1 至 CDR3，其或可選自具有 SEQ ID No. 1、2、3 或 7、8、9 或 13、14、15 或 19、20、21 或 25、26、27 或 31、32、33 的氨基酸序列的 CDR1 至 CDR3 序列。

【0041】 在本發明的進一步實施方案中，本文其他地方所述的抗原識別構建體是由至少一個 TCR α 和一個 TCR β 鏈序列組成的 TCR 或其片段，其中所述 TCR α 鏈序列包含具有 SEQ ID NO:1 至 3 的氨基酸序列的 CDR1 至 CDR3 序列，所述 TCR β 鏈序列包含具有 SEQ ID NO:7 至 9 的氨基酸序列的 CDR1 至 CDR3 序列；或其中所述 TCR α 鏈序列包含具有 SEQ ID NO:13 至 15 的氨基酸序列的 CDR1 至 CDR3 序列，所述 TCR β 鏈序列包含具有 SEQ ID NO:19 至 21 的氨基酸序列的 CDR1 至 CDR3 序列；或其中所述 TCR α 鏈序列包含具有 SEQ ID NO:25 至 27 的氨基酸序列的 CDR1 至 CDR3 序列，所述 TCR β 鏈序列包含具有 SEQ ID NO:31 至 33 的氨基酸序列的 CDR1 至 CDR3 序列。

【0042】 在本發明的進一步實施方案中，前文所述的抗原識別構建體是由至少一個 TCR α 和一個 TCR β 鏈序列組成的 TCR 或其片段，其中所述 TCR α 鏈序列包含具有 SEQ ID No.4 的氨基酸序列的可變區序列，並且其中所述 TCR β 鏈序列包含具有 SEQ ID NO:10 的氨基酸序列的可變區序列；或其中所述 TCR α 鏈序

列包含具有 SEQ ID No.16 的氨基酸序列的可變區序列，並且其中所述 TCR β 鏈序列包含具有 SEQ ID No.22 的氨基酸序列的可變區序列；或其中所述 TCR α 鏈序列包含具有 SEQ ID No.28 的氨基酸序列的可變區序列，並且其中所述 TCR β 鏈序列包含具有 SEQ ID No.34 的氨基酸序列的可變區序列。

【0043】 在本發明的進一步實施方案中，前文所述的抗原識別構建體是 TCR 或其片段，其還包含與選自 SEQ ID No. 5、11、17、23、29 和 35 的氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、80%、90%、90%、95%、98%、99% 或 100% 序列同一性的 TCR 恒定區；優選地，其中 TCR 由至少一個 TCR α 和一個 TCR β 鏈序列組成，其中 TCR α 鏈序列包含與 SEQ ID No. 5、17 和 29 的氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99% 或 100% 序列同一性的恒定區。

【0044】 此外，所披露的是前文所述的抗原識別構建體，其包含與 SEQ ID No. 6 的氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99% 或 100% 序列同一性的第一個 TCR 鏈，以及與 SEQ ID No. 12 的氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99% 或 100% 序列同一性的第二個 TCR 鏈。本發明還提出了 TCR，其包含與 SEQ ID No.18 的氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、

80%、90%、95%、98%、99% 或 100% 序列同一性的第一個 TCR 鏈，以及與 SEQ ID No. 24 的氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99% 或 100% 序列同一性的第二個 TCR 鏈。在進一步的實施方案中，本發明提出的抗原識別構建體為 TCR 並且包含與 SEQ ID No. 30 的氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99% 或 100% 序列同一性的第一個 TCR 鏈，以及與 SEQ ID No. 36 的氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99% 或 100% 序列同一性的第二個 TCR 鏈。

【0045】 本文所用的術語「鼠」或「人」在提及抗原識別構建體或 TCR 時，或本文所述的 TCR 的任何組分（例如，互補性決定區（CDR）、可變區、恒定區， α 鏈和 / 或 β 鏈）是指分別源自小鼠或人未經排列的 TCR 基因座的 TCR（或其組分）。

【0046】 在本發明的一項實施方案中，提供了嵌合 TCR，其中所述 TCR 鏈包含來自多物種的序列。優選情況為，本發明的 TCR 可包含 α 鏈，其包含 α 鏈的人可變區和例如鼠 TCR α 鏈的鼠恒定區。

【0047】 在一項實施方案中，本發明的 TCR 是由根據上述實施方案的人可變區和人恒定區組成的人 TCR。

【0048】 在一些實施方案中，抗原識別構建體被鼠源化或人源化。當將來自外來物種的氨基酸序列引入本發明的

構建體時，使用這些術語。鼠源化可能透過鼠類對應物取代人 TCR α 和 TCR β 恒定區，或者可能將必需的鼠（氨基酸）殘基引入介導增強功能效應的序列中。在人源化序列中，鼠序列透過引入人對應物或殘基而被修飾。

【0049】 為了避免 TCR 鏈錯配，可修飾本發明的 TCR。術語「錯配」應涉及本發明的 TCR α / γ 或 β / δ 轉基因的 TCR 鏈與內源性 TCR α / γ 或 β / δ 鏈之間的不正確配對，並導致轉基因 TCR $\alpha \beta / \gamma \delta$ 異二聚體細胞表面表達稀釋，這降低了修飾 T 細胞的功能性親合力。優選地，根據 IMGT 編號的 TCR 可變結構域中第 44 位的 Q 被本發明 TCR 的一條或兩條鏈中的另一個氨基酸取代。取代優選地選自 R、D、E、K、I、W 和 V 組成的組。

【0050】 本發明的 TCR 可能為單鏈 TCR (scTCR)。scTCR 可包含第一 TCR 鏈（例如， α 鏈）的可變區的多肽和整個（全長）第二 TCR 鏈（例如， β 鏈）的多肽，反之亦然。此外，scTCR 可以任選地包含一個或多個將兩個或多個多肽連接在一起的接頭。例如，接頭可以是肽，其將兩個單鏈連接在一起，如本文所述。還提供了本發明的 scTCR，其與人細胞因子如 IL-2、IL-7 或 IL-15 融合。

【0051】 本發明的抗原識別構建體還可能以包含至少兩個 scTCR 分子的多聚複合體形式提供，其中所述 scTCR 分子各自與至少一種生物素部分或其他相互連接

的分子/接頭融合，並且其中所述 **scTCR** 透過生物素－鏈黴親和素相互作用相互連接，以形成所述多聚體複合體。本領域已知的用於產生多聚體 **TCR** 的類似方法也是可能的並且包括在本披露資料中。還提出了更高級的多聚體複合體，其包含本發明兩種以上的 **scTCR**。

【0052】 為了本發明的目的，**TCR** 是具有至少一個 **TCR** α 或 γ 和/或 **TCR** β 或 δ 可變結構域的部分。通常，它們包括 **TCR** α 可變結構域和 **TCR** β 可變結構域，或者 **TCR** γ 可變結構域和 **TCR** δ 可變結構域兩者。它們可能為 $\alpha\beta$ / $\gamma\delta$ 異源二聚體，也可能為單鏈形式。為了用於過繼療法， $\alpha\beta$ 或 $\gamma\delta$ 異二聚體 **TCR** 可能例如被轉染為具有細胞質和跨膜結構域的全長鏈。如果需要，相應恒定結構域殘基之間可能存在引入的二硫鍵。

【0053】 在一項優選的實施方案中，抗原識別構建體為人 **TCR** 或其片段或衍生物。人 **TCR** 或其片段或衍生物是一種 **TCR**，其包含超過 50% 的相應人 **TCR** 序列。優選情況為，只有少部分 **TCR** 序列為人工來源或源自其他物種。然而，眾所周知，例如，人源的嵌合 **TCR** 在恒定結構域含有鼠源序列是有利的。因此，特別優選的是根據本發明的 **TCR**，其在其恒定結構域的細胞外部分含有鼠序列。

【0054】 因此，又為優選的是本發明的抗原識別構建體能夠以人白細胞抗原（**HLA**）依賴性方式、優選以

H L A - A 0 2 依 賴 性 方 式 識 別 其 抗 原 。 在 本 發 明 的 上 下 文 中 ， 術 語 「 H L A 依 賴 性 方 式 」 系 指 抗 原 識 別 構 建 體 僅 在 抗 原 肽 由 所 述 H L A 提 呈 的 情 況 下 才 與 抗 原 結 合 。

【 0 0 5 5 】 在 一 項 實 施 方 案 中 ， 根 據 本 發 明 的 抗 原 識 別 構 建 體 優 選 為 誘 導 免 疫 應 答 ， 優 選 為 其 中 免 疫 應 答 的 特 徵 在 於 干 擾 素 (I F N) γ 水 準 增 加 。

【 0 0 5 6 】 本 發 明 還 提 出 了 包 含 本 文 所 述 的 任 何 T C R (或 其 功 能 變 體) 的 功 能 部 分 的 多 肽 ， 例 如 ， 選 自 實 施 例 部 分 和 表 1 中 所 述 R 3 6 P 3 F 9 、 R 5 2 P 2 G 1 1 和 R 5 3 P 2 A 9 中 的 任 何 一 種 T C R 。 本 文 所 用 的 術 語 「 多 肽 」 包 括 寡 肽 ， 並 且 系 指 透 過 一 個 或 多 個 肽 鍵 連 接 的 氨 基 酸 的 單 鏈 。 關 於 本 發 明 的 多 肽 ， 功 能 部 分 可 以 是 包 含 T C R (或 其 功 能 變 體) 連 續 氨 基 酸 的 任 何 部 分 ， 其 中 部 分 條 件 是 功 能 部 分 與 T A A 抗 原 衍 生 肽 D C A F 4 L 2 - 0 0 1 (S E Q I D N O : 4 9 ， 以 及 S E Q I D N O : 5 0 至 5 8 中 的 變 體) 特 異 性 結 合 。 當 使 用 與 T C R (或 其 功 能 變 體) 相 關 時 ， 術 語 「 功 能 部 分 」 系 指 本 發 明 T C R (或 其 功 能 變 體) 的 任 何 部 分 或 片 段 ， 其 中 該 部 分 或 片 段 保 留 T C R (或 其 功 能 變 體) 的 生 物 活 性 ， 其 為 母 體 T C R 或 其 親 代 功 能 變 體 的 一 部 分 。 功 能 部 分 包 括 ， 例 如 ， 保 留 與 T A A 抗 原 特 異 性 結 合 的 能 力 (以 H L A 依 賴 性 方 式) 或 以 與 母 體 T C R (或 其 功 能 變 體) 相 似 程 度 、 相 同 程 度 或 更 高 程 度 檢 測 、 治 療 或 預 防 癌 症 的 T C R (或 其 功 能 變 體) 的 那 些 部 分 。 關 於 母 體 T C R (或 其 功 能 變 體) ， 功 能 部 分 可 以 包 括 ，

例如，約 10 %、25 %、30 %、50 %、68 %、80 %、90 %、95 % 或更多母體 TCR 可變序列（或其功能變體）。

【0057】 功能部分可以在該部分的氨基或羧基末端或兩個末端包含額外的氨基酸，其中在母體 TCR 或其功能變體的氨基酸序列中未發現額外的氨基酸。理想的情況是，額外的氨基酸不干擾功能部分的生物學功能，例如，特異性結合 TAA 抗原；和/或具有檢測癌症、治療或預防癌症等能力。更理想的是，與母體 TCR 或其功能變體的生物學活性相比，額外的氨基酸增強了生物學活性。

【0058】 多肽可包含本發明 TCR 的 α 和 β 鏈的一個或兩個功能部分或其功能變體，例如包含本發明 TCR 的 α 和/或 β 鏈可變區的 CDR1、CDR2 和（優選）CDR3 之一或其功能變體的功能部分。在本發明的一項實施方案中，多肽可包含功能部分，其包含 SEQ ID NO: 3、9、15、21、27 和 33 的氨基酸序列（本發明 TCR 可變區的 CDR3）或其組合。在本發明的一項實施方案中，本發明的多肽可包括例如本發明 TCR 的可變區或其功能變體，其包含上述 CDR 區的組合。在這一點來說，多肽可包含 SEQ ID NO: 4、10、16、22、28 和 34 中的任一個氨基酸序列（本發明 TCR 的 α 或 β 鏈的可變區）。

【0059】 在一些情況下，本發明的構建體可能包含一個或兩個多肽鏈，其包含根據 SEQ ID NO: 1 至 36（CDR 序列，恒定和可變區和全長序列）中任一項的一個序列或

其功能片段，並且進一步包含其他氨基酸序列，例如，編碼免疫球蛋白或其部分的氨基酸序列，則本發明的蛋白質可以是融合蛋白。就此而言，本發明還提供了包含本文所述的至少一種本發明的多肽與至少一種其他多肽的融合蛋白。其他的多肽可以作為融合蛋白的單獨多肽存在，或者可以作為與本文所述的本發明多肽之一框架（串聯）表達的多肽存在。其他多肽可包括任何肽或蛋白質分子或其部分，包括但不限於免疫球蛋白、CD3、CD4、CD8、MHC 分子、CD1 分子（例如，CD1a、CD1b、CD1c、CD1d 等）。

【0060】 融合蛋白可以包含本發明多肽的一個或多個拷貝和/或另一個多肽的一個或多個拷貝。例如，融合蛋白可包含本發明多肽和/或另一多肽的1、2、3、4、5個或更多個拷貝。製備融合蛋白的合適方法是本領域已知的，並且包括例如重組方法。在本發明的一些實施方案中，本發明的TCR（及其功能部分和功能變體）、多肽和蛋白質可以表達為單一蛋白，其包含連接 α 鏈和 β 鏈和連接 γ 鏈和 δ 鏈的連接肽。就此而言，本發明的TCR（及其功能變體和功能部分）、多肽和蛋白質包含本發明TCR可變區的氨基酸序列，並且可能進一步包含接頭肽。接頭肽可以有利地促進宿主細胞中重組TCR（包括其功能部分和功能變體）、多肽和/或蛋白質的表達。接頭肽可包含任何合適的氨基酸序列。單鏈TCR構建體的接頭序列是本領域公知的。此類單鏈構建體可進一步包

含一個或兩個恒定結構域序列。在透過宿主細胞表達包括接頭肽的構建體後，接頭肽也可能被裂解，導致 α 和 β 鏈以及 γ 和 δ 鏈分離。

【0061】 如上所述，本發明 TCR 的結合功能可能在抗體框架中提供。例如，本發明 TCR 的 CDR 序列，可能包括額外的 3 個、2 個或 1 個 N 和 / 或 C 末端框架殘基，可以直接接枝到抗體可變重 / 輕鏈序列中。本文中使用了各種語法形式的術語「抗體」，系指免疫球蛋白分子和免疫球蛋白分子的免疫活性部分，即含有抗原結合位點或互補位的分子。此類分子也被稱為免疫球蛋白分子的「抗原結合片段」。本發明還提出了與本文所述的抗原特異性結合的抗體或其抗原結合部分。抗體可以是本領域已知的任何類型的免疫球蛋白。例如，抗體可以是任何同種型免疫球蛋白，例如 IgA、IgD、IgE、IgG、IgM 等。抗體可以是單克隆或多克隆抗體。抗體可以是天然存在的抗體，例如從哺乳動物（例如，小鼠、兔、山羊、馬、雞、倉鼠、人等）中分離和 / 或純化的抗體。或者，抗體可以是基因工程化抗體，例如人源化抗體或嵌合抗體。抗體可以是單體或聚合體形式。

【0062】 術語「抗體」包括但不限於基因工程化或其他修飾形式的免疫球蛋白，例如胞內抗體、嵌合抗體、完全人抗體、人源化抗體（例如由「CDR 移植」產生）、抗體片段和異源偶聯抗體（例如雙特異性抗體、雙鏈抗體、三鏈抗體、四鏈抗體等）。術語「抗體」包括半胱氨

酸雙鏈抗體和微型抗體。因此，本文提供的關於「抗體」或「抗體樣構建體」的每個實施方案也被視為雙特異性抗體、雙鏈抗體、scFv 片段、嵌合抗體受體（CAR）構建體，雙鏈抗體和/或微型抗體，除非另有明確表示。如本文所公開的，術語「抗體」包括免疫球蛋白家族的多肽或包含免疫球蛋白片段的多肽，所述多肽能夠非共價、可逆地並以特異性方式結合相應的抗原，優選為本發明的TAA。示例性抗體結構單元包括四聚體。在一些實施方案中，全長抗體可由兩對相同的多肽鏈組成，每對具有一個「輕」和一個「重」鏈（透過二硫鍵連接）。抗體結構和同種型是本領域技術人員所熟知的（例如，Janeway's Immunobiology, 9th edition, 2016 所述）。

【0063】公認的哺乳動物免疫球蛋白基因包括 κ 、 λ 、 α 、 γ 、 δ 、 ε 和 μ 恒定區基因，以及無數免疫球蛋白可變區基因（關於免疫球蛋白基因的更多資訊，參見國際免疫基因學資訊系統®，Lefranc M-P et al, Nucleic Acids Res. 2015 Jan; 43(Database issue):D413-22; and <http://www.imgt.org>）。對於全長鏈，輕鏈被分為 κ 或 λ 類。對於全長鏈，重鏈分為 γ 、 μ 、 α 、 δ 或 ε 類，其又分別定義免疫球蛋白類別為 IgG、IgM、IgA、IgD 和 IgE。每個鏈的 N 末端限定了主要負責抗原識別的約 100 至 110 個或更多個氨基酸的可變區。術語可變輕鏈（VL）和可變重鏈（VH）分別指輕鏈和重鏈的這些區域。用於本發明時，「抗

體」包括抗體及其片段的所有變體。因此，在該概念的範圍內，為具有相同、基本上相同或相似結合特異性的全長抗體、嵌合抗體、人源化抗體、單鏈抗體（*s c F v*）、*F a b*、*F a b'* 和這些片段的多聚體形式（例如，*F (a b')* ₂）。在一些實施方案中，抗體與本發明的肽 *T A A* 特異性結合。根據本發明的優選抗原識別構建體包括抗體重鏈，優選為其可變結構域，或其抗原結合片段和/或抗體輕鏈，優選為其可變結構域，或其抗原結合片段。類似地，二硫鍵穩定的可變區片段（*d s F v*）可以透過重組 *D N A* 技術製備，但本發明的抗體片段不限於這些示例性類型的抗體片段。此外，抗體或其抗原結合部分可以被修飾為包括可檢測的標記，例如放射性同位素、螢光團（例如，異硫氰酸螢光素（*F I T C*），藻紅蛋白（*P E*））、酶（例如，鹼性磷酸酶、辣根過氧化物酶）和元素顆粒（例如，金顆粒）。在某些情況下，與 *S E Q I D N o: 3*、*9*、*15*、*21*、*27* 和 *33* 中提供的 *C D R 3* 序列相比，*T C R C D R 3* 序列可以略加修飾，但優選不超過 3 個氨基酸殘基，優選為僅兩個，最優選為僅一個氨基酸位置。優選地，抗體包含該 *C D R 3*，優選為該組合中所有的 *C D R 1* 至 *C D R 3* 區，如表 1 中本發明的 *T C R* 所示，在每種情況下與這些序列相比，獨立地可選地具有不多於三個或兩個、優選為一個氨基酸取代、插入和/或缺失基。

【0064】 製備抗體的合適方法是本領域已知的。例如，標準雜交瘤方法描述於例如，*Kohler and Milstein*,

Eur. J. Immunol, 5, 511-519 (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 (2011) 一文中。或者，其他方法，例如 EBV 雜交瘤方法 (Haskard and Archer, J. Immunol. Methods, 74(2), 361-67 (1984), 和 Roder et al, Methods Enzymol, 121, 140-67 (1986)) 和噬菌體載體表達系統 (參見例如, Huse et al., Science, 246, 1275-81 (1989)) 都是本領域已知的。此外，在非人動物中產生抗體的方法描述於例如美國專利 5,545,806、5,569,825 和 5,714,352 以及美國專利申請公開號 2002/0197266 中。

【0065】本發明的一些實施方案也涉及作為可溶性 TCR 的 TCR 或其功能片段和多肽。用於本文時，術語可溶性「T 細胞受體」系指天然 TCR 的異二聚體截短變體，其包含 TCR α 鏈和 β 鏈的細胞外部分，例如，透過二硫鍵連接，但是其缺乏天然蛋白質的跨膜和胞質結構域。術語可溶性「T 細胞受體 α 鏈和可溶性 T 細胞受體 β 鏈序列」系指缺乏跨膜和胞質結構域的 TCR α 鏈和 β 鏈序列。可溶性 TCR α 鏈和 β 鏈的序列（氨基酸或核酸）可以與天然 TCR 中的相應序列相同，或者與相應的天然 TCR 序列相比，可以包含變體可溶性 TCR

α 鏈和 β 鏈序列。本文所用的術語可溶性「T 細胞受體」包括具有變體或非變體可溶性 TCR α 鏈和 β 鏈序列的可溶性 TCR。這些變異可以在可溶性 TCR α 鏈和 β 鏈序列的可變區或恒定區中，並且可以包括但不限於氨基酸缺失、插入、取代突變以及不改變氨基酸序列的核酸序列改變。在任何情況下本發明的可溶性 TCR 都保留其母體分子的結合功能。

【0066】 上述問題透過編碼本發明抗原識別構建體的核酸或任何上述蛋白質或多肽構建體得以進一步解決。核酸優選為 (a) 具有編碼根據本發明的抗原識別構建體的鏈；(b) 具有與 (a) 中的鏈互補的鏈；或 (c) 具有在嚴格條件下與如 (a) 或 (b) 所述的分子雜交的鏈。嚴格條件是本領域技術人員已知的，具體來自 Sambrook 等人的「Molecular Cloning」一文。除此之外，核酸任選具有進一步的序列，其是表達對應於蛋白質的核酸序列所必需的，特別是用於在哺乳動物/人細胞中表達。使用的核酸可包含於適於允許在細胞中表達對應於該肽的核酸序列的載體中。然而，核酸也可用於轉化抗原呈遞細胞，其可能不限於經典的抗原呈遞細胞，例如樹突狀細胞，這樣，使得他們本身在其細胞表面上產生相應的蛋白質。

【0067】 在一些實施方案中，抗原識別構建體的多肽可以由核酸編碼並在體內或體外表達。因此，在一些實施方案中，提出了編碼抗原識別構建體的核酸。在一些實施方

案中，核酸編碼本發明抗原識別構建體的一個部分或單體（例如：本發明 T C R 的兩條鏈之一），和 / 或另一個核酸編碼本發明抗原識別構建體的另一部分或單體（例如：T C R 的兩條鏈中的另一條）。在一些實施方案中，核酸編碼兩個或更多個抗原識別構建體多肽鏈，例如，至少 2 個 T C R 鏈。編碼多個抗原識別構建體鏈的核酸可以包括至少兩個鏈序列之間的核酸切割位元點，可以編碼兩個或更多個鏈序列之間的轉錄或翻譯起始位點，和 / 或可以編碼兩個或更多個抗原識別構建體鏈之間的蛋白水解靶位點。

【0068】 本文所用的「核酸」包括「多核苷酸」、「寡核苷酸」和「核酸分子」，通常是指可以為單鏈或雙鏈、合成或從自然資源中獲得（例如，分離和 / 或純化）的 D N A 或 R N A 聚合物，其可含有天然、非天然的或改變的核苷酸，並且可含有天然、非天然的或改變的核苷酸間連接子，例如氨基磷酸酯連接子或磷硫代磷酸酯連接子，而非未修飾寡核苷酸的核苷酸之間的磷酸二酯。

【0069】 優選地，本發明的核酸為重組核酸。本文所用的術語「重組」系指（i）透過將天然或合成核酸區段連接到可在活細胞中複製的核酸分子而構建在活細胞外部的分子，或（ii）從複製上述（i）中所述內容而產生的分子。為了本文的目的，複製可以是體外複製，也可以是體內複製。核酸可包含編碼本文所述的任何 T C R、多肽或蛋白質或功能部分或其功能變體的任何核苷酸序列。

【0070】 此外，本發明提出了包含如上所述的本發明核酸的載體。理想情況是，載體為表達載體或重組表達載體。術語「重組表達載體」在本發明背景下系指允許在合適宿主細胞中表達 mRNA、蛋白質或多肽的核酸構建體。本發明的重組表達載體可以是任何合適的重組表達載體，並可用於轉化或轉染任何合適的宿主。合適的載體包括設計用於繁殖和擴增或用於表達或兩者兼有的載體，例如質粒和病毒。動物表達載體的實例包括 pEUK-C1、pMAM 和 pMAMneo。優選地，重組表達載體為病毒載體，例如，逆轉錄病毒載體。重組表達載體包括調節序列，例如轉錄和翻譯起始和終止密碼子，其特異於宿主細胞（例如，細菌、真菌、植物或動物）的類型，其中載體將被引入其中並且在其中可以進行本發明核酸的表達。此外，本發明的載體可能包括一個或多個標誌物基因，其允許選擇轉化或轉染的宿主。重組表達載體可包含與編碼本發明構建體的核苷酸序列或者與編碼本發明構建體的核苷酸序列互補或雜交的核苷酸序列在操作上可連接的天然或規範性啟動子。啟動子的選擇包括例如強、弱、誘導型、組織特異性和開發特異性啟動子。啟動子可以是非病毒啟動子，也可以是病毒啟動子。本發明的重組表達載體可以被設計用於暫態表達、穩定表達或兩者的表達。此外，重組表達載體可以用於組成型表達或誘導型表達。

【0071】 本發明還涉及包含根據本發明的抗原識別構建體的宿主細胞。具體地，本發明的宿主細胞包含如上所

述的核酸或載體。宿主細胞可以是真核細胞，例如植物、動物、真菌或藻類，也可以是原核細胞，例如細菌或原生動物。宿主細胞可以是培養細胞或原代細胞，即直接從生物體（例如人）分離。宿主細胞可以是貼壁細胞或懸浮細胞（即，在懸浮液中生長的細胞）。為了產生重組 T C R、多肽或蛋白質的目的，宿主細胞優選為哺乳動物細胞。最優選地，宿主細胞為人細胞。雖然宿主細胞可以是任何細胞類型，可以來自任何類型的組織，可以是任何發育階段的細胞，但是宿主細胞優選為外周血白細胞（P B L）或外周血單核細胞（P B M C）。更優選地，宿主細胞為 T 細胞。T 細胞可以是任何 T 細胞，諸如培養的 T 細胞，例如，原代 T 細胞或來自培養 T 細胞系的 T 細胞，例如 J u r k a t、S u p T 1 等，或獲得自哺乳動物的 T 細胞，優選為來自人類患者的 T 細胞或 T 細胞前體。如果獲得自哺乳動物，T 細胞可從許多來源獲得，包括但不限於血液、骨髓、淋巴結、胸腺或其他組織或液體。T 細胞還可以是富集或純化的。優選地，T 細胞為人 T 細胞。更優選地，T 細胞是分離自人的 T 細胞。T 細胞可以是任何類型的 T 細胞並且可以是任何發育階段的，包括但不限於 C D 4 陽性和 / 或 C D 8 陽性、C D 4 陽性輔助 T 細胞，例如，T h 1 和 T h 2 細胞、C D 8 - 陽性 T 細胞（例如，細胞毒性 T 細胞）、腫瘤浸潤細胞（T I L）、記憶 T 細胞、幼稚 T 細胞等。優選地，T 細胞為 C D 8 陽性 T 細胞或 C D 4 陽性 T 細胞。

【0072】 優選地，本發明的宿主細胞為淋巴細胞，優選為 T 淋巴細胞，例如 CD4 陽性或 CD8 陽性 T 細胞。宿主細胞更優選為對表達 TAA 的腫瘤細胞特異性的腫瘤反應性 T 細胞。

【0073】 本發明的目的還透過製備 TAA 特異性抗原識別構建體或 TAA 特異性抗原識別構建體表達細胞系的方法來解決，包括

- a) 提出合適的宿主細胞，
- b) 提出一種基因構建體，其包含編碼根據本發明公開的抗原識別構建體的編碼序列，
- c) 引入所述合適的宿主細胞、所述基因構建體，和
- d) 由所述合適的宿主細胞表達所述基因構建體。

【0074】 所述方法可能進一步包括在所述合適宿主細胞上進行細胞表面呈遞所述抗原識別構建體的步驟。

【0075】 在其他優選的實施方案中，所述基因構建體是包含與所述編碼序列可操作地連接的啟動子序列的表達構建體。

【0076】 優選地，所述抗原識別構建體來源於哺乳動物，優選來源於人。用於本發明方法的優選合適宿主細胞為哺乳動物細胞，諸如人細胞，特別是人 T 淋巴細胞。用於本發明的 T 細胞在上文中進行了詳細描述。

【0077】 本發明還包括實施方案，其中所述抗原識別構建體為修飾的 TCR，其中所述修飾是加入功能結構域，

諸如標記物或治療活性物質。此外，包括具有可選結構域的 T C R，諸如可選膜錨定結構域而不是內源性跨膜區。

【0078】理想情況是，用於將基因構建體引入所述合適宿主細胞的轉染系統為逆轉錄病毒載體系統。此類系統是本領域技術人員所熟知的。

【0079】本發明還包括在一項實施方案中，從細胞中分離和純化抗原識別構建體的另外的方法步驟，以及任選地在 T 細胞中重構經翻譯的抗原識別構建體片段。

【0080】本發明的另一方面提出了透過產生 T 細胞受體 (T C R) 的方法獲得的或可獲得的 T 細胞，其中 T 細胞受體 (T C R) 對於腫瘤細胞具有特異性並且具有如上所述的高親合力。此類 T 細胞取決於本發明方法中使用的宿主細胞，例如人或非人 T 細胞，優選為人 T C R。

【0081】本文中在多肽（例如：抗原識別構建體（其實例可以是抗體））背景下使用的術語「分離」是指從蛋白質或多肽或其他污染物純化的多肽，未經純化會干擾其治療、診斷、預防、研究或其他用途。根據本發明的抗原識別構建體可以是重組、合成或修飾（非天然）抗原結合構建體。本文中在多核酸或細胞背景下使用的術語「分離」是指從 D N A、R N A、蛋白或多肽或其他污染物（例如其他細胞）純化的核酸或細胞，未經純化會干擾其治療、診斷、預防、研究或其他用途，或者是指重組、合成或修飾（非天然）核酸。在此背景中，「重組」蛋白 / 多肽或

核酸是使用重組技術製備的。產生重組核酸和蛋白的方法和技術是本領域熟知的。

【0082】 本發明的另一方面涉及本文公開的用於藥物中的抗原識別構建體、核酸、載體、藥物組合物和/或宿主細胞。在一項優選實施方案中在藥物中的用途包括在診斷、預防和/或治療諸如惡性或良性腫瘤疾病等腫瘤疾病中的用途。腫瘤疾病為，例如，在所述腫瘤疾病的癌細胞或腫瘤細胞中以表達 TAA 為特徵的腫瘤疾病。

【0083】 關於根據本公開資料的抗原識別構建體和由其衍生的、與其相關的或編碼所述構建體的其他材料的上述醫療應用，待治療和/或診斷的疾病可以為任何增殖性疾病，優選為其特徵在於表達本發明的 TAA 或 TAA 表位序列，例如，所述疾病可以為任何癌症，包括以下癌症中任一種：急性淋巴細胞癌、急性骨髓性白血病、腺泡狀橫紋肌肉瘤、骨癌、腦癌、乳腺癌、肛門癌、肛管癌或肛門直腸癌、眼癌、肝內膽管癌、關節癌、頸癌、膽囊癌或胸膜癌、鼻癌、鼻腔癌或中耳癌、口腔癌、陰道癌、外陰癌、慢性淋巴細胞性白血病、慢性髓細胞癌、結腸癌、食管癌、宮頸癌、胃腸類癌、神經膠質瘤、霍奇金淋巴瘤、下嚥癌、腎癌、喉癌、肝癌、肺癌、惡性間皮瘤、黑色素瘤、多發性骨髓瘤、鼻咽癌、非霍奇金淋巴瘤、口咽癌、卵巢癌、陰莖癌、胰腺癌、腹膜癌、網膜癌、腸系膜癌、咽癌、攝護腺癌、直腸癌、腎癌、皮膚癌、小腸癌、軟組織癌、胃癌、睪丸癌、甲狀腺癌、子宮癌、輸尿管癌和膀

膀胱癌。優選的癌症為宮頸癌、口咽癌、肛門癌、肛管癌、肛門直腸癌、陰道癌、外陰癌或陰莖癌。特別優選的癌症為 TAA 陽性（即 DCAF4L2-001-肽提呈）癌症，優選包括胃腸癌和胃癌。

【0084】本發明的構建體、蛋白質、TCR 抗體、多肽和核酸特別用於免疫治療，優選用於過繼性 T 細胞治療。本發明化合物的給藥可以，例如，涉及將本發明的 T 細胞輸注入所述患者體內。優選地，此類 T 細胞為患者的自體 T 細胞，並且用本發明的核酸或抗原識別構建體在體外轉導。

【0085】本發明的抗原識別構建體、TCR、多肽、蛋白質（包括其功能變體）、核酸、重組表達載體、宿主細胞（包括其群體）和抗體（包括其抗原結合部分）以下統稱為「本發明的 TCR 材料」，可以配製成組合物，諸如藥物組合物。就此而言，本發明提出了一種藥物組合物，其包含本文所述的任意抗原識別構建體、TCR、多肽、蛋白質、功能部分、功能變體、核酸、表達載體、宿主細胞（包括其群體）和抗體（包括其抗原結合部分）以及藥用載體、賦形劑和/或穩定劑。含有任何本發明 TCR 材料的本發明藥物組合物可包含多於一種本發明的 TCR 材料，例如，多肽和核酸，或兩種或更多種不同的 TCR（包括功能部分及其功能變體）。或者，藥物組合物可包含與另一種藥物活性劑或藥物組合的本發明 TCR 材料，諸如，化學治療劑，例如，天冬醯胺酶、白消安、卡

鉑、順鉑、柔紅黴素、多柔比星、氟尿嘧啶、吉西他濱、羥基脲、甲氨蝶呤、紫杉醇、利妥昔單抗、長春花城、長春新城等。優選地，載體為藥用載體。關於藥物組合物，載體可以是常規用於所考慮的本發明的特定 TCR 材料的任意載體。這些藥用載體是本領域技術人員所熟知的，並且是公眾容易獲得的。優選情況是，藥用載體是在使用條件下無有害副作用或毒性的一種載體。

【0086】 因此，本還提出了一種藥物組合物，其包含本文所述的本發明的任何產品和本發明的任何 TCR 材料，特別是任何蛋白質、核酸或宿主細胞。在一項優選的實施方案中，藥物組合物用於免疫治療，優選為繼代細胞治療。

【0087】 優選地，本發明的 TCR 材料透過注射施用，如，靜脈內施用。當本發明的 TCR 材料為表達本發明 TCR（或其功能變體）的宿主細胞時，用於注射的細胞藥用載體可能包括任何等滲載體，例如，生理鹽水（水含有約 0.90% w/v 的 NaCl、水含有約 300 mOsm/L NaCl、或每升水含有約 9.0 g NaCl）、NORMOSOL R 電解質溶液（Abbott, Chicago, IL）、PLASMA-LYTE A（Baxter, Deerfield, IL）、水含約 5% 葡萄糖或林格氏乳酸鹽。在一項實施方案中，藥用載體用人血清白蛋白補充。

【0088】 為了本發明的目的，施用本發明 TCR 材料的數量或劑量（例如，當本發明 TCR 材料為一個或多

個細胞時的細胞數量)可能在合理時間框架內在受試者或動物中足以影響治療或預防反應。例如，本發明 TCR 材料的劑量應該自施用起約 2 個小時或更長時間(例如，12 至 24 小時)或更多小時的期間內與癌症抗原結合或檢測、治療或預防癌症。在某些實施方案中，時間可能更長。劑量將由本發明特定 TCR 材料的療效和動物(例如，人)的狀況以及待治療動物(例如，人)的體重決定。

【0089】 預期本發明的藥物組合物、抗原識別構建體、TCR(包括其功能變體)、多肽、蛋白質、核酸、重組表達載體、宿主細胞或細胞群可用於癌症或 TAA 陽性癌前病變的治療或預防方法。本發明的 TCR(及其功能變體)被認為可與本發明的 TAA 特異性結合，使得 TCR(或本發明相關多肽或蛋白質及其功能變體)由細胞(如 T 細胞)表達或在細胞上表達時能夠介導針對表達本發明 TAA 的靶細胞的免疫應答，優選為經由 MHC I 或 II 在所述靶細胞的表面上提呈 TAA 肽。就此而言，本發明提出了哺乳動物中病症(特別是癌症)的治療或預防方法，包括向哺乳動物施用任何藥物組合物、抗原識別構建體，特別是 TCR(及其功能變體)、多肽或本文所述的蛋白質、任何核酸或重組表達載體，其包含編碼本文所述的任何 TCR(及其功能變體)、多肽、蛋白質的核苷酸序列或包含核酸或重組載體的任何宿主細胞或細胞群，該重組載體編碼本文所述的本發明的任何構建體(及其功能變體)、多肽或蛋白質，用量為有效治療或預防哺乳動物

中病症的量，其中所述病症為癌症，如表達本發明 T A A 的癌症。

【0090】 可用于本發明的藥用載體或稀釋劑的實例包括諸如 S P G A、碳水化合物（例如，山梨糖醇、甘露糖醇、澱粉、蔗糖、葡萄糖、葡聚糖）等穩定劑，諸如白蛋白或酪蛋白等蛋白質，諸如牛血清或脫脂牛奶和緩衝液（例如，磷酸鹽緩衝液）等含蛋白製劑。

【0091】 本文中所用的術語「治療」和「預防」以及源自這些術語的詞語並不一定意味著 100% 或完全治療或預防。相反，存在不同程度的治療或預防，而本領域普通技術人員認識到具有潛在的益處或治療效果。就此而言，本發明的方法可為哺乳動物的病症提供任何治療或預防水準的任意量。此外，本發明方法提出的治療或預防可包括待治療或預防病症（例如，癌症）的一種或多種病症或症狀的治療或預防。例如，治療或預防可以包括促進腫瘤消退。此外，為了本文之目的，「預防」可以包括推遲疾病或其症狀或病症的發作。

【0092】 本發明還涉及一種治療癌症的方法，其包括與至少一種化學治療劑和 / 或放射治療組合施用本說明書的 T C R、核酸或宿主細胞。

【0093】 本發明的另一方面進一步涉及在（生物）樣本（例如從受試者或患者獲得的樣本）中檢測 T A A 蛋白或 M H C 與 T A A 蛋白（T A A 的蛋白表位）的複合體的一種方法，包括使樣本與特異性結合所述 T A A 肽或

T A A 肽 / M H C 複合體的抗原識別構建體接觸，並檢測所述抗原識別構建體和所述 T A A 肽之間或與 T A A 肽 / M H C 複合體之間的結合情況。在一些實施方案中，抗原識別構建體是根據本文所述發明的 T C R 或抗體或類似構建體，或優選為抗原識別構建體。在一些實施方案中，（生物）樣本為腫瘤或癌症樣本（如：本文別處所述的那些樣本中的一種），例如，包含腫瘤或癌細胞的樣本。

【0094】 還提出了一種在有需要的受試者中治療癌症的方法，包括：

- a) 從所述受試者中分離細胞；
- b) 用編碼本發明的抗原識別構建體的至少一種載體轉化細胞以產生轉化的細胞；
- c) 擴增轉化細胞以產生多個轉化細胞；和
- d) 將所述多個轉化細胞施用於所述受試者。

【0095】 還提出了一種在有需要的受試者中治療癌症的方法，包括：

- a) 從健康供體中分離細胞；
- b) 用編碼本發明的抗原識別構建體的一種載體轉化細胞以產生轉化的細胞；
- c) 擴增轉化細胞以產生多個轉化細胞；和
- d) 將所述多個轉化細胞施用於所述受試者。

【0096】 還提出的是在有需要的受試者中治療癌症的方法，其中說明書中的 T C R、說明書中的核酸、說明書

中的表達載體、說明書中的宿主細胞或說明書中的藥物組合物至少施用兩次，間隔至少 24 小時。

【0097】 還提出的是在有需要的受試者中治療癌症的方法，其中說明書中的 TCR、說明書中的核酸、說明書中的表達載體、說明書中的宿主細胞或說明書中的藥物組合物在數天、數週或數月的期間內施用予受試者。

【0098】 還提出的是在有需要的受試者中治療癌症的方法，其中說明書中的 TCR、說明書中的核酸、說明書中的表達載體、說明書中的宿主細胞或說明書中的藥物組合物透過局部輸注施用。優選地，局部輸注由輸注泵和/或導管系統施用。更優選地，所述局部輸注為注入實體腫瘤、供應實體腫瘤的血管和/或實體腫瘤周圍區域。

【0099】 還提出的是在有需要的受試者中治療癌症的方法，其中說明書中的 TCR、說明書中的核酸、說明書中的表達載體、說明書中的宿主細胞或說明書中的藥物組合物以每劑大約 10^4 至大約 10^{10} 個細胞的劑量施用。

【0100】 還提出了一種檢測生物樣本中癌症的方法，包括：

- a) 使生物樣本與本說明書的抗原識別構建體（如 TCT）接觸；
- b) 檢測抗原識別構建體（如 TCT）與生物樣本的結合情況。

【0101】 在一些實施方案中，檢測癌症的方法在體外、體內或原位進行。

【0102】 還提出了檢測哺乳動物中有無病症的方法。該方法包括 (i) 將包含哺乳動物一種或多種細胞的樣本接觸本發明的任何 TCR (及其功能變體)、多肽、蛋白質、核酸、重組表達載體、宿主細胞、細胞群、抗體或其抗原結合部分或本文所述的藥物組合物，從而形成複合體，並包括檢測複合體，其中所述複合體的檢測提示哺乳動物中是否存在病症，其中所述病症為癌症，諸如表達 TAA 的惡性疾病。

【0103】 關於檢測哺乳動物疾病的本發明方法，細胞樣本可以是包含全細胞、其裂解物或全部細胞裂解物的一部分的樣本，例如核或細胞質級分、全蛋白質級分或核酸級分。

【0104】 為了本發明的檢測方法之目的，所述接觸可以在哺乳動物體外或體內進行。優選情況是，接觸在體外進行。

【0105】 此外，複合體的檢測可以透過本領域已知的任何方式進行。例如，本文所述的本發明抗原識別構建體(及其功能變體)、多肽、蛋白質、核酸、重組表達載體、宿主細胞、細胞群或抗體或 TCR 或其抗原結合部分可以用檢測到的標記(諸如，放射性同位素、螢光團(例如，異硫氰酸螢光素(FITC)、藻紅蛋白(PE))、酶(例如，鹼性磷酸酶、辣根過氧化物酶)和元素顆粒(例如，金顆粒)進行標記。

【0106】 為了本發明方法之目的，其中施用宿主細胞或細胞群，所述細胞可以是與哺乳動物同種異體或自體的細胞。優選情況是，細胞為哺乳動物自體細胞。

【0107】 關於本發明 TCR 材料的上述醫療用途，待治療和/或診斷的癌症可以為任何癌症，包括以下癌症中任一種：急性淋巴細胞癌、急性骨髓性白血病、腺泡狀橫紋肌肉瘤、骨癌、腦癌、乳腺癌、肛門癌、肛管癌或肛門直腸癌、眼癌、肝內膽管癌、關節癌、頸癌、膽囊癌或胸膜癌、鼻癌、鼻腔癌或中耳癌、口腔癌、陰道癌、外陰癌、慢性淋巴細胞性白血病、慢性髓細胞癌、結腸癌、食管癌、宮頸癌、胃腸類癌、神經膠質瘤、霍奇金淋巴瘤、下嚥癌、腎癌、喉癌、肝癌、肺癌、惡性間皮瘤、黑色素瘤、多發性骨髓瘤、鼻咽癌、非霍奇金淋巴瘤、口咽癌、卵巢癌、陰莖癌、胰腺癌、腹膜癌、網膜癌、腸系膜癌、咽癌、攝護腺癌、直腸癌、腎癌、皮膚癌、小腸癌、軟組織癌、胃癌、睪丸癌、甲狀腺癌、子宮癌、輸尿管癌和膀胱癌。優選的癌症為宮頸癌、口咽癌、肛門癌、肛管癌、肛門直腸癌、陰道癌、外陰癌或陰莖癌。特別優選的癌症為 TAA 陽性癌症，諸如，結腸癌、直腸癌、胃腸癌或胃癌。

【0108】 總體上，本發明提出了患有腫瘤或腫瘤疾病的受試者的治療方法，其包括施用本發明公開的抗原識別構建體、核酸、載體、藥物組合物和/或宿主細胞。優選地，所述受試者為需要這種治療的受試者。優選實施方案中的

受試者為患有 T A A 陽性的腫瘤或腫瘤疾病的哺乳動物受試者，優選為人類患者。

【0109】 鑒於本文的公開內容，將理解本發明還涉及以下項目：

【0110】 第 1 項：一種抗原識別構建體，其包含至少一個互補決定區（C D R）3，其與選自 S E Q I D N o 3、9、15、21、27 和 33 的氨基酸序列至少具有 50% 的序列同一性。

【0111】 第 2 項：根據第 1 項的抗原識別構建體，其中所述抗原識別構建體能夠特異性地和/或選擇性地與本發明抗原肽的 T A A 結合。

【0112】 第 3 項：根據第 1 或 2 項所述的抗原識別構建體，其中所述抗原識別構建體為一種抗體或其衍生物或片段、或一種 T 細胞受體（T C R）或其衍生物或片段。

【0113】 第 4 項：根據第 1 至 3 項中任一項所述的抗原識別構建體，其中所述抗原識別構建體與提呈 T A A 抗原肽的人白細胞抗原（H L A）結合，其中所述 H L A 任選為 A 2 型。

【0114】 第 5 項：根據第 1 至 4 項中任一項所述的抗原識別構建體，其中所述構建體特異性地和/或選擇性地結合包括選自 S E Q I D N O : 49、50 至 57 的氨基酸序列或由其組成的表位。

【0115】第6項：根據第1至5項中任一項所述的抗原識別構建體，其中所述構建體為 α/β -TCR，或其片段或衍生物，或所述構建體為 γ/δ -TCR，或其片段或衍生物。

【0116】第7項：根據第1至6項中任一項所述的抗原識別構建體，其特徵在於，所述構建體是人源並特異性地和/或選擇性地識別TAA抗原肽。

【0117】第8項：根據第1至7項中任一項所述的抗原識別構建體，其中所述抗原識別構建體能夠在受試者中誘導免疫應答，任選其中所述免疫應答的特徵在於干擾素（IFN） γ 水準增加。

【0118】第9項：根據第1至8項中任一項所述的抗原識別構建體，其包含TCR α 或 γ 鏈；和/或TCR β 或 δ 鏈；其中所述TCR α 或 γ 鏈包含與選自SEQ ID No. 3、15和27的氨基酸序列具有至少50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99%或100%序列同一性的CDR3，和/或其中所述TCR β 或 δ 鏈包含與選自SEQ ID No. 9、21和33的氨基酸序列具有至少50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99%或100%序列同一性的CDR3。

【0119】第10項：根據第9項中所述的抗原識別構建體，其中TCR α 或 γ 鏈還可能包含與選自SEQ ID No. 1、13和25的氨基酸序列具有至少50%、60%、70%、80%、90%、90%、95%、98%、99%或

100% 序列同一性的 CDR1 和/或與選自 SEQ ID No. 2、14 和 26 的氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、80%、90%、90%、95%、98%、99% 或 100% 序列同一性的 CDR2。

【0120】 第 11 項： 根據第 9 或 10 項中所述的抗原識別構建體，其中 TCR β 或 γ 鏈還可能包含與選自 SEQ ID No. 1、19 和 31 的氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、80%、90%、90%、95%、98%、99% 或 100% 序列同一性的 CDR1 和/或與選自 SEQ ID No. 2、20 和 32 的氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、80%、90%、90%、95%、98%、99% 或 100% 序列同一性的 CDR2。

【0121】 第 12 項： 根據第 1 至 11 項中任一項所述的抗原識別構建體，其包含與選自 SEQ ID No. 4、10、16、22、28 和 34 的氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、80%、90%、90%、95%、98%、99% 或 100% 序列同一性的 TCR 可變鏈區。

【0122】 第 13 項： 根據第 1 至 12 項中任一項所述的抗原識別構建體，其中所述構建體被人源化、嵌合化和/或鼠源化。

【0123】 第 14 項： 根據第 1 至 13 項中任一項所述的抗原識別構建體，其包含 TCR 的結合片段，並且其中所述結合片段包含 CDR1 至 CDR3，其任選選自具有 SEQ ID No. 1、2、3 或 7、8、9 或 13、14、

15 或 19、20、21 或 25、26、27 或 31、32、33 的氨基酸序列的 CDR1 至 CDR3 序列。

【0124】 第 15 項： 根據第 1 至 14 項中任一項所述的抗原識別構建體，其中所述構建體是由至少一個 TCR α 和一個 TCR β 鏈序列組成的 TCR 或其片段，其中所述 TCR α 鏈序列包含具有 SEQ ID NO:1 至 3 的氨基酸序列的 CDR1 至 CDR3 序列，所述 TCR β 鏈序列包含具有 SEQ ID NO:7 至 9 的氨基酸序列的 CDR1 至 CDR3 序列；或其中所述 TCR α 鏈序列包含具有 SEQ ID NO:13 至 15 的氨基酸序列的 CDR1 至 CDR3 序列，所述 TCR β 鏈序列包含具有 SEQ ID NO:19 至 21 的氨基酸序列的 CDR1 至 CDR3 序列；或其中所述 TCR α 鏈序列包含具有 SEQ ID NO:25 至 27 的氨基酸序列的 CDR1 至 CDR3 序列，所述 TCR β 鏈序列包含具有 SEQ ID NO:31 至 33 的氨基酸序列的 CDR1 至 CDR3 序列。

【0125】 第 16 項： 根據第 1 至 15 項中任一項所述的抗原識別構建體，其中所述構建體是包含至少一個 TCR α 和一個 TCR β 鏈序列的 TCR 或其片段，其中所述 TCR α 鏈序列包含具有 SEQ ID No.4 的氨基酸序列的可變區序列，並且其中所述 TCR β 鏈序列包含具有 SEQ ID NO:10 的氨基酸序列的可變區序列；或其中所述 TCR α 鏈序列包含具有 SEQ ID No.16 的氨基酸序列的可變區序列，並且其中所述 TCR β 鏈序

列包含具有 SEQ ID No. 22 的氨基酸序列的可變區序列；或其中所述 TCR α 鏈序列包含具有 SEQ ID No. 28 的氨基酸序列的可變區序列，並且其中所述 TCR β 鏈序列包含具有 SEQ ID No. 34 的氨基酸序列的可變區序列。

【0126】 第 17 項：根據第 1 至 16 項中任一項所述的抗原識別構建體，其中所述構建體是 TCR 或其片段，其還包含與選自 SEQ ID No. 5、11、17、23、29 和 35 的氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、80%、90%、90%、95%、98%、99% 或 100% 序列同一性的 TCR 恒定區；優選地，其中 TCR 由至少一個 TCR α 和一個 TCR β 鏈序列組成，其中 TCR α 鏈序列包含與 SEQ ID No. 5、17 和 29 的氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99% 或 100% 序列同一性的恒定區。

【0127】 第 18 項：根據第 1 至 17 項中任一項所述的抗原識別構建體，其包含與 SEQ ID No. 6 的氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99% 或 100% 序列同一性的第一個 TCR 鏈，以及與 SEQ ID No. 12 的氨基酸序列具有至少 50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、99% 或 100% 序列同一性的第二個 TCR 鏈。

【0128】 第 19 項：根據第 1 至 17 項中任一項所述的抗原識別構建體，其包含與 SEQ ID No. 18 的氨

基酸序列具有至少 50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、95 %、98 %、99 % 或 100 % 序列同一性的第一個 TCR 鏈，以及與 SEQ ID No. 24 的氨基酸序列具有至少 50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、95 %、98 %、99 % 或 100 % 序列同一性的第二個 TCR 鏈。

【0129】 第 20 項： 根據第 1 至 17 項中任一項所述的抗原識別構建體，其包含與 SEQ ID No. 30 的氨基酸序列具有至少 50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、95 %、98 %、99 % 或 100 % 序列同一性的第一個 TCR 鏈，以及與 SEQ ID No. 36 的氨基酸序列具有至少 50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、95 %、98 %、99 % 或 100 % 序列同一性的第二個 TCR 鏈。

【0130】 第 21 項： 一種核酸，其編碼根據第 1 至 20 項中任一項的抗原識別構建體。

【0131】 第 22 項： 一種載體，其包含根據第 21 項所述的核酸。

【0132】 第 23 項： 一種宿主細胞，其包含根據第 1 至 20 項中任一項所述的抗原識別構建體或根據第 21 項所述的核酸或根據第 22 項所述的載體。

【0133】 第 24 項： 根據第 23 項所述的宿主細胞，其中所述細胞為淋巴細胞，優選為 T 淋巴細胞或 T 淋巴細胞祖細胞，更優選為 CD4 或 CD8 陽性 T 細胞。

【0134】 第 25 項： 一種藥物組合物，其包含根據第 1 至 20 項中任一項所述的抗原識別構建體，或根據

第 21 項所述的核酸，或根據第 22 項所述的載體，或根據第 23 或 24 項所述的宿主細胞，以及藥用載體、穩定劑和/或賦形劑。

【0135】 第 26 項： 根據第 1 至 20 項中任一項所述的抗原識別構建體，或根據第 21 項所述的核酸，或根據第 22 項所述的載體，或根據第 23 或 24 項所述的宿主細胞，或根據第 25 項用於藥物的藥物組合物。

【0136】 第 27 項： 抗原識別構建體或核酸或載體或宿主細胞或藥物組合物根據第 26 項所述的用途，在診斷、預防和/或治療增殖性疾病的用途，其中所述疾病包括惡性或良性腫瘤疾病。

【0137】 第 28 項： 抗原識別構建體或核酸或載體或宿主細胞或藥物組合物根據第 27 項所述的用途，其中所述腫瘤疾病的特徵在於 TAA 在腫瘤疾病的腫瘤細胞中表達。

【0138】 第 29 項： 抗原識別構建體或核酸或載體或宿主細胞或藥物組合物根據第 26 至 28 項中任一項所述的用途，其中所述在藥物中的用途是在免疫治療中的用途，任選地包含過繼細胞轉移，其中所述免疫治療包括過繼自體或異源 T 細胞治療。

【0139】 第 30 項： 一種製備表達細胞系的 TAA 特異性抗原識別構建體的方法，包括
a. 提出合適的宿主細胞，

- b. 提出一種遺傳構建體，其包含編碼根據第 1 至 20 項中任一項所述的抗原識別構建體的編碼序列，
- c. 引入所述合適的宿主細胞、所述遺傳構建體，
- d. 由所述合適的宿主細胞表達所述基因構建體。

【0140】 第 31 項： 根據第 30 項所述的方法，還包括所述抗原識別構建體的細胞表面提呈。

【0141】 第 32 項： 根據第 30 或 31 項所述的方法，其中所述遺傳構建體是包含與所述編碼序列可操作地連接的啟動子序列的表達構建體。

【0142】 第 33 項： 根據第 30 至 32 項中任一項所述的方法，其中所述抗原識別構建體為哺乳動物來源，優選為人來源。

【0143】 第 34 項： 根據第 30 至 33 項中任一項所述的方法，其中所述合適的宿主細胞為哺乳動物細胞，其任選地選自人細胞或人 T 淋巴細胞。

【0144】 第 35 項： 根據第 30 至 34 項中任一項所述的方法，其中所述抗原識別構建體為修飾的 TCR，其中所述修飾包括添加包含標記的功能結構域或包含膜錨定結構域的可選結構域。

【0145】 第 36 項： 根據第 35 項所述的方法，其中所述抗原識別構建體為 α / β TCR、 γ / δ TCR 或單鏈 TCR (scTCR)。

【0146】 第 37 項： 根據第 30 至 36 項中任一項所述的方法，其中所述遺傳構建體透過逆轉錄病毒轉染被導入所述合適的宿主細胞。

【0147】 第 38 項： 根據第 30 至 37 項中任一項所述的方法，進一步包括從合適的宿主細胞分離和純化所述抗原識別構建體，或在 T 細胞中重構所述抗原識別構建體。

【0148】 第 39 項： 一種治療癌症的方法，包括向有需要的受試者施用以上項中任一項所述的 TCR、核酸或表達載體、宿主細胞和 / 或藥物組合物。

【0149】 第 40 項：第 39 項中的方法，其中所述 TCR 在宿主細胞的表面上表達。

【0150】 第 41 項：第 40 項中的方法，其中所述宿主細胞選自 T 細胞或 T 細胞祖細胞組成的組。

【0151】 第 42 項：第 41 項中的方法，其中 T 細胞或 T 細胞祖細胞是自體細胞。

【0152】 第 43 項：第 42 項中的方法，其中 T 細胞或 T 細胞祖細胞是同種異體細胞。

【0153】 第 44 項：第 43 項中的方法，其中 TCR 與治療活性劑共軛。

【0154】 第 45 項：第 44 項中的方法，其中治療活性劑選自由放射性核素、化學治療劑和毒素組成的組。

【0155】 第 46 項：第 39 至 45 項中任一項所述的方法，其中所述癌症為非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細

胞癌、腦癌、胃癌、結直腸癌、肝細胞癌、頭頸癌、胰腺癌、攝護腺癌、白血病、乳腺癌、梅克爾細胞癌、黑色素瘤、卵巢癌、膀胱癌、子宮癌、膽囊癌、膽管癌和食管癌，或其組合。

【0156】 第47項：第39至46任一項中所述的方法，進一步包括對所述受試者施用至少一種化學治療劑。

【0157】 第48項：第46至47任一項中所述的方法，進一步包括對所述受試者施用放射治療。

【0158】 第49項：一種在有需要的受試者中治療癌症的方法，包括：

- a) 從所述受試者中分離細胞；
 - b) 用編碼以上任一項中所述的 TCR 的一個載體轉化細胞以產生轉化細胞；
 - c) 擴增轉化細胞以產生多個轉化細胞；
- 以及
- d) 將所述多個轉化細胞施用於所述受試者。

【0159】 第50項：第49項中的方法，其中所述細胞選自 T 細胞或 T 細胞祖細胞。

【0160】 第51項：一種在有需要的受試者中治療癌症的方法，包括：

- a) 從健康供體中分離細胞；
- b) 用編碼以上任一項中所述的 TCR 的一個載體轉化細胞以產生轉化細胞；
- c) 擴增轉化細胞以產生多個轉化細胞；

以及

d) 將所述多個轉化細胞施用於所述受試者。

【0161】 第 52 項：第 51 項中的方法，其中所述細胞選自 T 細胞或 T 細胞祖細胞。

【圖式簡單說明】

【0162】 在以下實施例中將對本發明進一步進行說明，參照隨附圖表和序列，但是不僅限於此。為了本發明之目的，所有參考文獻均以完整引用的形式併入本文。在圖和序列中：

【0163】 圖 1：用 TCR R36P3F9 的 α 和 β 鏈 RNA 電穿孔的 CD8+ T 細胞的 IFN- γ 釋放（表 1），在用與載有 DCAF4L2-001 肽（SEQ ID NO: 49）的 T2 靶細胞、或 SEQ ID NO:1（SEQ ID NO:50-58）1-9 位置處的各種 DCAF4L2-001 丙氨酸取代變體或對照肽 NYESO1-001（SEQ ID NO: 69）進行共同培養後。用源自兩個不同健康供體的 CD8+ T 細胞獲得 IFN- γ 釋放資料。RNA 電穿孔的 CD8+ T 細胞單獨或與未載入靶細胞共孵育作為對照。

【0164】 圖 2：用 TCR R52P2G11 的 α 和 β 鏈 RNA 電穿孔的 CD8+ T 細胞的 IFN- γ 釋放（表 1），在用與載有 DCAF4L2-001 肽（SEQ ID NO: 49）的 T2 靶細胞、或 SEQ ID NO:1（SEQ ID NO:50 至 58）1-9 位置處的各種 DCAF4L2-001 丙氨酸取代變體或對照肽 NYESO1-001（SEQ ID NO: 69）進行共同培

養後。用源自兩個不同健康供體的 CD8+ T 細胞獲得 IFN- γ 釋放資料。RNA 電穿孔的 CD8+ T 細胞單獨或與未載入靶細胞共孵育作為對照。

【0165】 圖 3：用 TCR R53P2A9 的 α 和 β 鏈 RNA 電穿孔的 CD8+ T 細胞的 IFN- γ 釋放（表 1），在用與載有 DCAF4L2-001 肽（SEQ ID NO: 49）的 T2 靶細胞、或 SEQ ID NO:1（SEQ ID NO:50 至 58）1-9 位置處的各種 DCAF4L2-001 丙氨酸取代變體或對照肽 NYESO1-001（SEQ ID NO: 69）進行共同培養後。用源自兩個不同健康供體的 CD8+ T 細胞獲得 IFN- γ 釋放資料。RNA 電穿孔的 CD8+ T 細胞單獨或與未載入靶細胞共孵育作為對照。

【0166】 圖 4：用 TCR R36P3F9 的 α 和 β 鏈 RNA 電穿孔的 CD8+ T 細胞的 IFN- γ 釋放，在用與載有 DCAF4L2-001 肽（SEQ ID NO:49）、或同源但不相關 GRB14-002 肽（SEQ ID NO:59）、SNR-004（SEQ ID NO:60）、WRN-002（SEQ ID NO:61）、MUC-009（SEQ ID NO:62）、GSTA4-001（SEQ ID NO:63）、PFN1-001（SEQ ID NO:64）、VPS39-001（SEQ ID NO:65）、AHR-002（SEQ ID NO:66）、KCM-001（SEQ ID NO:67）或 VPS51-001（SEQ ID NO:68）或對照肽 NYESO1-001（SEQ ID NO:69）進行共同培養後。用源自兩個不同健康供體的 CD8+ T 細胞獲得 IFN- γ

釋放資料。RNA 電穿孔的 CD8+ T 細胞單獨或與未載入靶細胞共孵育作為對照。

【0167】 圖 5：用 TCR R52P2G11 的 α 和 β 鏈 RNA 電穿孔的 CD8+ T 細胞的 IFN- γ 釋放，在用與載有 DCAF4L2-001 肽 (SEQ ID NO:49)、或同源但不相關 GRB14-002 肽 (SEQ ID NO:59)、SNR-004 (SEQ ID NO:60)、WRN-002 (SEQ ID NO:61)、MUC-009 (SEQ ID NO:62)、GSTA4-001 (SEQ ID NO:63)、PFN1-001 (SEQ ID NO:64)、VPS39-001 (SEQ ID NO:65)、AHR-002 (SEQ ID NO:66)、KCM-001 (SEQ ID NO:67) 或 VPS51-001 (SEQ ID NO:68) 或對照肽 NYESO1-001 (SEQ ID NO:69) 進行共同培養後。用源自兩個不同健康供體的 CD8+ T 細胞獲得 IFN- γ 釋放資料。RNA 電穿孔的 CD8+ T 細胞單獨或與未載入靶細胞共孵育作為對照。

【0168】 圖 6：用 TCR R53P2A9 的 α 和 β 鏈 RNA 電穿孔的 CD8+ T 細胞的 IFN- γ 釋放，在用與載有 DCAF4L2-001 肽 (SEQ ID NO:49)、或同源但不相關 GRB14-002 肽 (SEQ ID NO:59)、SNR-004 (SEQ ID NO:60)、WRN-002 (SEQ ID NO:61)、MUC-009 (SEQ ID NO:62)、GSTA4-001 (SEQ ID NO:63)、PFN1-001 (SEQ ID NO:64)、VPS39-001 (SEQ ID NO:65)、AHR-002 (SEQ ID

NO:66) 、 KCM-001 (SEQ ID NO:67) 或 VPS51-001 (SEQ ID NO:68) 或 對 照 肽 NYESO1-001 (SEQ ID NO:69) 進 行 共 同 培 養 後 。 用 源 自 兩 個 不 同 健 康 供 體 的 CD8+ T 細 胞 獲 得 IFN- γ 釋 放 資 料 。 RNA 電 穿 孔 的 CD8+ T 細 胞 單 獨 或 與 未 載 入 靶 細 胞 共 孵 育 作 為 對 照 。

【0169】 圖 7： 分 別 對 TCR R52P2G11 和 R53P2A9 的 α 和 β 鏈 RNA 電 穿 孔 的 CD8+ T 細 胞 進 行 HLA-A*02/DCAF4L2-001 四 聚 體 或 HLA-A*02/NYESO1-001 四 聚 體 染 色 。 與 HLA-A*02/NYESO1-001 複 合 體 特 異 性 結 合 的 1G4TCR 的 RNA 電 穿 孔 的 CD8+ T 細 胞 和 模 擬 電 穿 孔 CD8+ T 細 胞 作 為 對 照 。

【0170】 圖 8： 用 TCR R52P2G11 的 α 和 β 鏈 RNA 電 穿 孔 的 CD8+ T 細 胞 的 IFN- γ 釋 放 (表 1) ， 在 用 與 載 有 DCAF4L2-001 肽 (SEQ ID NO: 49) 的 T2 靶 細 胞 在 10 μ M 至 10 pM 不 同 肽 負 載 濃 度 中 進 行 共 同 培 養 後 。 用 源 自 兩 個 不 同 健 康 供 體 的 CD8+ T 細 胞 獲 得 IFN- γ 釋 放 資 料 。 RNA 電 穿 孔 的 CD8+ T 細 胞 單 獨 或 與 未 載 入 靶 細 胞 共 孵 育 作 為 對 照 。 供 體 1 (TCR A-0006) 顯 示 於 左 側 Y 軸 上 ， 供 體 2 (TCR A-0007) 顯 示 於 右 側 Y 軸 上 。

【0171】 圖 9： 用 TCR R53P2A9 的 α 和 β 鏈 RNA 電 穿 孔 的 CD8+ T 細 胞 的 IFN- γ 釋 放 (表 1) ，

在用與載有 D C A F 4 L 2 - 0 0 1 肽 (S E Q I D N O : 4 9) 的 T 2 靶細胞在 1 0 μ M 至 1 0 p M 不同肽負載濃度中進行共同培養後。用源自兩個不同健康供體的 C D 8 + T 細胞獲得 I F N - γ 釋放資料。R N A 電穿孔的 C D 8 + T 細胞單獨或與未載入靶細胞共孵育作為對照。供體 1 (T C R A - 0 0 0 6) 顯示於左側 Y 軸上，供體 2 (T C R A - 0 0 0 7) 顯示於右側 Y 軸上。

【 0 1 7 2 】 圖 1 0 : 用 T C R R 3 6 P 3 F 9 的 α 和 β 鏈 R N A 電穿孔的 C D 8 + T 細胞的 I F N - γ 釋放 (表 1) ，在用與載有 D C A F 4 L 2 - 0 0 1 肽 (S E Q I D N O : 4 9) 的 T 2 靶細胞在 1 0 μ M 至 1 0 p M 不同肽負載濃度中進行共同培養後。R N A 電穿孔的 C D 8 + T 細胞單獨或與未載入靶細胞共孵育作為對照。

【 0 1 7 3 】 圖 1 1 : 用 T C R R 5 2 P 2 G 1 1 的 α 和 β 鏈 R N A 電穿孔的 C D 8 + T 細胞的 I F N - γ 釋放 (表 1) ，在用與載有 D C A F 4 L 2 - 0 0 1 肽 (S E Q I D N O : 4 9) 的 T 2 靶細胞、或 S E Q I D N O : 1 (S E Q I D N O : 7 0 至 7 8) 1 - 9 位置處的各種 D C A F 4 L 2 - 0 0 1 蘇氨酸取代變體或對照肽 N Y E S O 1 - 0 0 1 (S E Q I D N O : 6 9) 進行共同培養後。用源自兩個不同健康供體的 C D 8 + T 細胞獲得 I F N - γ 釋放資料。R N A 電穿孔的 C D 8 + T 細胞單獨或與未載入靶細胞共孵育作為對照。

【 0 1 7 4 】 圖 1 2 : 用 T C R R 5 3 P 2 A 9 的 α 和 β 鏈 R N A 電穿孔的 C D 8 + T 細胞的 I F N - γ 釋放 (表 1) ，

在用與載有 D C A F 4 L 2 - 0 0 1 肽 (S E Q I D N O : 4 9) 的 T 2 靶細胞、或 S E Q I D N O : 1 (S E Q I D N O : 7 0 至 7 8) 1 - 9 位置處的各種 D C A F 4 L 2 - 0 0 1 蘇氨酸取代變體或對照肽 N Y E S O 1 - 0 0 1 (S E Q I D N O : 6 9) 進行共同培養後。用源自兩個不同健康供體的 C D 8 + T 細胞獲得 I F N - γ 釋放資料。R N A 電穿孔的 C D 8 + T 細胞單獨或與未載入靶細胞共孵育作為對照。

【 0 1 7 5 】 圖 1 3 : 在用含有 T C R R 5 2 P 2 G 1 1 或 R 5 3 P 2 A 9 的 α 和 β 鏈的不同構建體進行慢病毒轉導後對 T 細胞的腫瘤生長 (A 、 B 、 C 、 D) 和 I F N - γ 釋放 (E 、 F) 的影響，以評估 T C R 介導識別在 D C A F 4 L 2 表達 A 3 7 5 細胞 (B 、 D 、 F) 中內源地處理和提呈的 D C A F 4 L 2 - 0 0 1 。靶標陰性 A 3 7 5 細胞作為對照 (A 、 C 、 E) 。資料來自 2 個供體：1 4 1 5 4 0 (A 、 B 、 E 、 F) 和 1 0 5 (C 、 D 、 E 、 F) 。

【 0 1 7 6 】 表 1 : 本發明的 T C R 序列

SEQ ID NO:	TCR 名稱	鏈	區域	序列
1	R36P3F9	α	CDR1	TSINN
2	R36P3F9	α	CDR2	IRS
3	R36P3F9	α	CDR3	CATVSNYQLIW
4	R36P3F9	α	可變結構域	METLLGVSLVILWLQLARVNSQQGEEDPQALSI QEGENATMNCSYKTSINNQLQWYRQNSGRGLV HLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLITAS RAADTASYFCATVSNYQLIWGAGTKLIKP
5	R36P3F9	α	恒定結構域	DIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTN VSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVA WSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVK LVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNL LMTLRLWSS
6	R36P3F9	α	全長	METLLGVSLVILWLQLARVNSQQGEEDPQALSI QEGENATMNCSYKTSINNQLQWYRQNSGRGLV

				HLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLLITAS RAADTASYFCATVSNYQLIWGAGTKLIHKPDIQ NPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVS QSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWS NKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLV EKSFETDTNLFQNLSVIGFRILLKLVAGFNLL MTLRLWSS
7	R36P3F9	β	CDR1	MNHEY
8	R36P3F9	β	CDR2	SMNVEV
9	R36P3F9	β	CDR3	CASSSTSGGLSGETQYF
10	R36P3F9	β	可變結構域	MGPQLLGYVVLCLLGAGPLEAQVTQNPRYLIT VTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLR QIYYSMNVEVTDKGDVPEGYKVS RKEKRNFL ILESPPNQTSLYFCASSSTSGGLSGETQYFGPG TRLLVL
11	R36P3F9	β	恒定結構域	EDLKNVPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLA TGFYPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLK EQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRC QVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWG RADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYA VLVSALVLMAMVVKRKDSRG
12	R36P3F9	β	全長	MGPQLLGYVVLCLLGAGPLEAQVTQNPRYLIT VTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLR QIYYSMNVEVTDKGDVPEGYKVS RKEKRNFL ILESPPNQTSLYFCASSSTSGGLSGETQYFGPG TRLLVLEDLKNVPPEVAVFEPSEAEISHTQKA TLVCLATGFYPDHVELSWWVNGKEVHSGVST DPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNP RNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVS AEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGK ATLYAVLVSALVLMAMVVKRKDSRG
13	R52P2G11	α	CDR1	VSPFSN
14	R52P2G11	α	CDR2	MTF
15	R52P2G11	α	CDR3	CVVSAYGKLQF
16	R52P2G11	α	可變結構域	MKKHLTTFLVILWLYFYRGNGKNQVEQSPQSL IILEGKNCTLQCNYTVSPFSNLRWYKQDTGRGP VSLTIMTFSENTKSNGRYTATLDADTKQSSLHI TASQLSDSASYICVVSAYGKLQFGAGTQVVVT P
17	R52P2G11	α	恒定結構域	DIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTN VSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVA WSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVK LVEKSFETDTNLFQNLSVIGFRILLKLVAGFNLL MTLRLWSS
18	R52P2G11	α	全長	MKKHLTTFLVILWLYFYRGNGKNQVEQSPQSL IILEGKNCTLQCNYTVSPFSNLRWYKQDTGRGP VSLTIMTFSENTKSNGRYTATLDADTKQSSLHI TASQLSDSASYICVVSAYGKLQFGAGTQVVVT PDIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQT NVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVA WSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVK LVEKSFETDTNLFQNLSVIGFRILLKLVAGFNLL

				LMTLRLWSS
19	R52P2G11	β	CDR1	SGHNS
20	R52P2G11	β	CDR2	FNNNVP
21	R52P2G11	β	CDR3	CASSLGSPDGNQPQHF
22	R52P2G11	β	可變結構域	MDSWTFCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVT EMGQEVTLRCKPISGHNSLFWYRQTMMRGLE LLIYFNNNVPIDDSGMPEDRFS AKMPNASFSTL KIQPSEPRDS AVYFCASSLGSPDGNQPQHF GDG TRLSIL
23	R52P2G11	β	恒定結構域	EDLNKVPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLA TGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLKE QPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQC VQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGR ADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAV LV SALVLMAMVKRKDF
24	R52P2G11	β	全長	MDSWTFCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVT EMGQEVTLRCKPISGHNSLFWYRQTMMRGLE LLIYFNNNVPIDDSGMPEDRFS AKMPNASFSTL KIQPSEPRDS AVYFCASSLGSPDGNQPQHF GDG TRLSILEDLNKVPPEVAVFEPSEAEISHTQKAT LVCLATGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTD PQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPR NHFRQC VQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSA EAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGK ATLYAVLV SALVLMAMVKRKDF
25	R53P2A9	α	CDR1	TSEDYY
26	R53P2A9	α	CDR2	QEAY
27	R53P2A9	α	CDR3	CAYNSYAGGTSYGKLT
28	R53P2A9	α	可變結構域	MACPGFLWALVISTCLEFSMAQTVTQSQPEMS VQEAEVTLSC TYDTSESDYYLFWYKQPPSRQ MILVIRQEAYKQQNATENRFSVNFQKA AKSFS LKISDSQLGDAAMYFCAYNSYAGGTSYGKLT GQGTILTVHP
29	R53P2A9	α	恒定結構域	NIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTN VSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVA WSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVK LVEKSFETDTNLNFQNL SVIGFRILLKVAGFNL LMTLRLWSS
30	R53P2A9	α	全長	MACPGFLWALVISTCLEFSMAQTVTQSQPEMS VQEAEVTLSC TYDTSESDYYLFWYKQPPSRQ MILVIRQEAYKQQNATENRFSVNFQKA AKSFS LKISDSQLGDAAMYFCAYNSYAGGTSYGKLT GQGTILTVHPNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSV CLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSM DFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFF PSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNL SVIGFR ILLKVAGFNLLMTLRLWSS
31	R53P2A9	β	CDR1	SGHKS
32	R53P2A9	β	CDR2	YYEKEE
33	R53P2A9	β	CDR3	CASSLDGTSEQYF
34	R53P2A9	β	可變結構域	MGPGLLCWVLLCLLGAGPVDAGVTQSPHLLIK TRGQQVTLRCSPISGHKSVSWYQQVLGQGPQFI

				FQYYEKEERGRGNFPDRFSARQFPNYSSSELNV NALLLGDSALYLCASSLDGTSEQYFGPGTRLTV T
35	R53P2A9	β	恒定結構域	EDLKNVPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLA TGFYPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLK EQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRC QVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWG RADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYA VLVSALVLMAMVKKDSRG
36	R53P2A9	β	全長	MGPGLLCWVLLCLLGAGPVDAGVTQSPTHLIK TRGQQVTLRCSPISGHKSVSWYQQVLGQGPQFI FQYYEKEERGRGNFPDRFSARQFPNYSSSELNV NALLLGDSALYLCASSLDGTSEQYFGPGTRLTV TEDLKNVPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCL ATGFYPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPL KEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRC CQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAW GRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLY AVLVSALVLMAMVKKDSRG
37	1G4	α	CDR1	DSAIYN
38	1G4	α	CDR2	IQS
39	1G4	α	CDR3	CAVRPTSGGSYIPTF
40	1G4	α	可變結構域	METLLGLLILWLQLQWVSSKQEVTPIPAALSVP EGENLVNCSFTDSAIYNLQWFRQDPGKGLTS LLLIQSSQREQTSGRLNASLDKSSGRSTLYIAAS QPGDSATYLC AVRPTSGGSYIPTFGRGTSLIVHP
41	1G4	α	恒定結構域	YIQNPDP AVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTN VSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVA WSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVK LVEKSFETDTNLFQNL SVIGFRILLK VAGFNL LMTLRLWSS
42	1G4	α	全長	METLLGLLILWLQLQWVSSKQEVTPIPAALSVP EGENLVNCSFTDSAIYNLQWFRQDPGKGLTS LLLIQSSQREQTSGRLNASLDKSSGRSTLYIAAS QPGDSATYLC AVRPTSGGSYIPTFGRGTSLIVHP YIQNPDP AVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTN VSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVA WSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVK LVEKSFETDTNLFQNL SVIGFRILLK VAGFNL LMTLRLWSS
43	1G4	β	CDR1	MNHEY
44	1G4	β	CDR2	SVGAGI
45	1G4	β	CDR3	CASSYVGNTGELFF
46	1G4	β	可變結構域	MSIGLLCCAALSLLWAGPVNAGVTQTPKFQVL KTGQSM TLQCAQDMNHEYMSWYRQDPGMGL RLIHYSVGAGITDQGEVPNGYNVSRSTTEDFPL RLLSAAPSQTSVYFCASSYVGNTGELFFGEGSR LTVL
47	1G4	β	恒定結構域	EDLKNVPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLA TGFYPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLK EQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRC QVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWG

				RADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYA VLVSALVLMAMVKKKDSRG
48	1G4	β	全長	MSIGLLCCAALSLLWAGPVNAGVTQTPKFQVL KTGQSM TLQCAQDMNHEYMSWYRQDPGMGL RLIHYSVGAGITDQGEVPNGYNVSRSTTEDFPL RLLSAAPSQTSVYFCASSYVGNTGELFFGEGSR LTVLEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATL VCLATGFYPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDP QPLKEQPALNDSRYCLSSRLRV SATFWQNPRN HRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAE AWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKAT LYAVLVSALVLMAMVKKKDSRG

【 0 1 7 7 】 表 2：本發明的肽序列和相關序列

肽代碼	序列	SEQ ID NO:
DCAF4L2-001	ILQDGQFLV	49
DCAF4L2-001_A1	ALQDGQFLV	50
DCAF4L2-001_A2	IAQDGQFLV	51
DCAF4L2-001_A3	ILADGQFLV	52
DCAF4L2-001_A4	ILQAGQFLV	53
DCAF4L2-001_A5	ILQDAQFLV	54
DCAF4L2-001_A6	ILQDGAFLV	55
DCAF4L2-001_A7	ILQDGQALV	56
DCAF4L2-001_A8	ILQDGQFAV	57
DCAF4L2-001_A9	ILQDGQFLA	58
GRB14-002	GLVDGVFLV	59
SNR-004	ILQDGRIFI	60
WRN-002	ILQDLQPFL	61
MUC-009	ILQEGTFKA	62
GSTA4-001	KLQDGNHLL	63
PFN1-001	LLQDGEFSM	64
VPS39-001	LLQDKQFEL	65
AHR-002	NLQEGEFLL	66
KCM-001	TLQNSQFLL	67
VPS51-001	TLTDEQFLV	68
NYESO1-001	SLLMWITQV	69
DCAF4L2-001_T1	TLQDGQFLV	70

DCAF4L2-001_T2	ITQDGQFLV	71
DCAF4L2-001_T3	ILTDGQFLV	72
DCAF4L2-001_T4	ILQTGQFLV	73
DCAF4L2-001_T5	ILQDTQFLV	74
DCAF4L2-001_T6	ILQDGTFLV	75
DCAF4L2-001_T7	ILQDGQTLV	76
DCAF4L2-001_T8	ILQDGQFTV	77
DCAF4L2-001_T9	ILQDGQFLT	78

【實施方式】

背景

【0178】 從健康供體的 T 細胞中分離和擴增三種 D C A F 4 L 2 - 0 0 1 特異性 T C R (R 3 6 P 3 F 9 、 R 5 2 P 2 G 1 1 和 R 5 3 P 2 A 9 ， 參見表 1) ， 每種編碼腫瘤特異性 T C R α 和 T C R β 鏈。根據之前描述的方法 (W a l t e r e t a l . , 2 0 0 3 J I m m u n o l . , N o v 1 5 ; 1 7 1 (1 0) : 4 9 7 4 - 8) 體外刺激來自健康供體的細胞，靶標特異性細胞使用 H L A - A * 0 2 多聚體進行單細胞分選，然後進行隨後的 T C R 分離。例如根據 G r e e n 和 S a m b r o o k 所著的分子克隆實驗室手冊第四版所述的標準方法透過 5 ' R A C E 分離 T C R 序列。對 T C R R 3 6 P 3 F 9 、 R 5 2 P 2 G 1 1 和 R 5 3 P 2 A 9 的 α 和 β 可變區進行測序，並透過基因合成產生表達構建體用於進一步的功能表征。R 3 6 P 3 F 9 來自 H L A - A * 0 2 陽性供體，R 5 2 P 2 G 1 1 和 R 5 3 P 2 A 9 來自 H L A - A * 0 2 陰性供體（同種反應性環境）。

【0179】 相關 T C R 透過轉導，例如透過 m R N A 電穿孔或慢病毒轉導，在人 T 細胞中表達。對於慢病毒轉

導，將 P B M C 解凍並靜置過夜，然後使用固定抗體活化。使用編碼 D C A F 4 L 2 特異性 T C R 的慢病毒載體轉導活化細胞，並在有細胞因子的情況下擴增。收集 T 細胞並透過離心濃縮，然後冷凍保存。

【0180】 在與不同靶細胞（例如載有不同肽的 T 2 細胞）共培養後，評估 T 細胞的 I F N - γ 釋放情況。表達 T C R R 5 2 P 2 G 1 1 和 R 5 3 P 2 A 9 的 C D 8 + T 細胞的療效透過，例如，與未修飾的 A 3 7 5 細胞相比，使用 D C A F 4 L 2 轉導的 A 3 7 5 腫瘤細胞系作為靶細胞的 T 細胞活化研究（I F N - γ 釋放）或殺傷測定法來確定。

實施例 1：T 細胞受體 R 3 6 P 3 F 9

【0181】 T C R R 3 6 P 3 F 9 (S E Q I D N O : 1 - 1 2) 受限於 H L A - A * 0 2 提呈的 D C A F 4 L 2 - 0 0 1 (參見圖 4) 。

【0182】 R 3 6 P 3 F 9 特異性識別 D C A F 4 L 2 - 0 0 1 ，因為與 H L A - A * 0 2 + 靶細胞共同培養後再次表達該 T C R 的人原代 C D 8 + T 細胞釋放 I F N - γ ，其載有 D C A F 4 L 2 - 0 0 1 肽或 D C A F 4 L 2 - 0 0 1 的丙氨酸取代變體（圖 1）。T C R R 3 6 P 3 F 9 確實可特異性識別 D C A F 4 L 2 - 0 0 1 ，但不是與 D C A F 4 L 2 - 0 0 1 顯示出高度序列相似性的不同肽（圖 4）。N Y E S O 1 - 0 0 1 肽用作陰性對照。

【0183】 R 3 6 P 3 F 9 的靶向肽滴定分析（圖 10）顯示 E C 5 0 在 3 , 6 n M 的範圍內。

實施例 2：T 細胞受體 R 5 2 P 2 G 1 1

【0184】 TCR R52P2G11 (SEQ ID NO:13-24) 受限於 HLA-A*02 提呈的 DCAF4L2-001 (參見圖 5)。

【0185】 R52P2G11 特異性識別 DCAF4L2-001，因為與 HLA-A*02+ 靶細胞共同培養後再次表達該 TCR 的人原代 CD8+ T 細胞釋放 IFN γ ，其載有 DCAF4L2-001 肽或 DCAF4L2-001 的丙氨酸和蘇氨酸取代變體 (圖 2 和 11)。TCR R52P2G11 確實可特異性識別 DCAF4L2-001，但不是與 DCAF4L2-001 顯示出高度序列相似性的不同肽 (圖 5)。NYESO1-001 肽用作陰性對照。

【0186】 R52P2G11 的再次表達導致選擇性結合於 HLA-A*02/DCAF4L2-001 四聚體，而不是人原代 CD8+ T 細胞中的 HLA-A*02/NYESO1-001 四聚體 (圖 7)。NYESO1-001 特異性 TCR 1G4 的再次表達和模擬表達作為對照。

【0187】 R52P2G11 的靶向肽滴定分析 (圖 8) 顯示 EC50 在 $\sim 8,5$ nM 的範圍內。

【0188】 R52P2G11 在人原代 CD8+ T 細胞中再次表達導致選擇性識別 DCAF4L2 轉導的 A375 腫瘤細胞系但不是未修飾的 A375 細胞 (圖 13)。使用未轉導的 T 細胞作為對照。與表達 HLA-A*02 和 DCAF4L2-001 的細胞系共培養後的 T 細胞活化反映了透過 TCR R52P2G11 識別內源性提呈的靶 pHLA (圖 13)。

實施例 3：T 細胞受體 R53P2A9

【0189】 TCR R53P2A9 (SEQ ID NO:25-36) 受限於 HLA-A*02 提呈的 DCAF4L2-001 (參見上面圖 6)。

【0190】 R53P2A9 特異性識別 DCAF4L2-001，因為與 HLA-A*02+ 靶細胞共同培養後再次表達該 TCR 的人原代 CD8+ T 細胞釋放 IFN- γ ，其載有 DCAF4L2-001 肽或 DCAF4L2-001 的丙氨酸和蘇氨酸取代變體 (圖 3 和 12)。TCR R53P2A9 確實可特異性識別 DCAF4L2-001，但不是與 DCAF4L2-001 顯示出高度序列相似性的不同肽 (圖 6)。NYESO1-001 肽用作陰性對照。

【0191】 R53P2A9 的再次表達導致選擇性結合於 HLA-A*02/DCAF4L2-001 四聚體，而不是人原代 CD8+ T 細胞中的 HLA-A*02/NYESO1-001 四聚體 (圖 7)。NYESO1-001 特異性 TCR 1G4 的再次表達和模擬表達作為對照。

【0192】 R53P2A9 的靶向肽滴定分析 (圖 9) 顯示 EC50 在 $\sim 11,8$ nM 的範圍內。

【0193】 R53P2A9 在人原代 CD8+ T 細胞中再次表達導致選擇性識別 DCAF4L2 轉導的 A375 腫瘤細胞系但不是未修飾的 A375 細胞 (圖 13)。使用未轉導的 T 細胞作為對照。與表達 HLA-A*02 和 DCAF4L2-001 的細胞系共培養後的 T 細胞活化反映

了透過 T C R R 5 3 P 2 A 9 識別內源性處理的靶 p H L A (圖 1 3) 。

【符號說明】

【 0 1 9 4 】

無

【生物材料寄存】

【 0 1 9 5 】 國內寄存資訊 (請依寄存機構、日期、號碼順序註記)

無

【 0 1 9 6 】 國外寄存資訊 (請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註

記)

無

【序列表】

<110> Immatics Biotechnologies GmbH

<120> 新型 T 細胞受體及其免疫治療應用

<130> I33000WO

<150> DE 102016123859.7

<151> 2016-12-08

<150> US 62/431,580

<151> 2016-12-08

<160> 78

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Thr Ser Ile Asn Asn
1 5

<210> 2

<211> 3

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Ile Arg Ser
1

<210> 3

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Cys Ala Thr Val Ser Asn Tyr Gln Leu Ile Trp
1 5 10

<210> 4

<211> 129

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

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

Ala Arg Val Asn Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser
20 25 30

Ile Gln Glu Gly Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser
35 40 45

Ile Asn Asn Leu Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val
50 55 60

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

Leu Arg Val Thr Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Leu Ile
85 90 95

Thr Ala Ser Arg Ala Ala Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Val
100 105 110

Ser Asn Tyr Gln Leu Ile Trp Gly Ala Gly Thr Lys Leu Ile Ile Lys
115 120 125

Pro

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

<400> 5

Asp 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> 6
<211> 270
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 6

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

Ala Arg Val Asn Ser Gln Gln Gly Glu Glu Asp Pro Gln Ala Leu Ser
20 25 30

Ile Gln Glu Gly Glu Asn Ala Thr Met Asn Cys Ser Tyr Lys Thr Ser
35 40 45

Ile Asn Asn Leu Gln Trp Tyr Arg Gln Asn Ser Gly Arg Gly Leu Val
50 55 60

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

Leu Arg Val Thr Leu Asp Thr Ser Lys Lys Ser Ser Ser Leu Leu Ile
85 90 95

Thr Ala Ser Arg Ala Ala Asp Thr Ala Ser Tyr Phe Cys Ala Thr Val
100 105 110

Ser Asn Tyr Gln Leu Ile Trp Gly Ala Gly Thr Lys Leu Ile Ile Lys
115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Met Asn His Glu Tyr
1 5

<210> 8
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 8

Ser Met Asn Val Glu Val
1 5

<210> 9
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 9

Cys Ala Ser Ser Ser Thr Ser Gly Gly Leu Ser Gly Glu Thr Gln Tyr
1 5 10 15

Phe

<210> 10

<211> 135
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 10

Met Gly Pro Gln Leu Leu Gly Tyr Val Val Leu Cys Leu Leu Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

Ile Tyr Tyr Ser Met Asn Val Glu Val Thr Asp Lys Gly Asp Val Pro
65 70 75 80

Glu Gly Tyr Lys Val Ser Arg Lys Glu Lys Arg Asn Phe Pro Leu Ile
85 90 95

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

Ser Ser Thr Ser Gly Gly Leu Ser Gly Glu Thr Gln Tyr Phe Gly Pro
115 120 125

Gly Thr Arg Leu Leu Val Leu
130 135

<210> 11
<211> 179
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 11

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> 12
<211> 314
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 12

Met Gly Pro Gln Leu Leu Gly Tyr Val Val Leu Cys Leu Leu Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

Ile Tyr Tyr Ser Met Asn Val Glu Val Thr Asp Lys Gly Asp Val Pro
65 70 75 80

Glu Gly Tyr Lys Val Ser Arg Lys Glu Lys Arg Asn Phe Pro Leu Ile
85 90 95

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

Ser Ser Thr Ser Gly Gly Leu Ser Gly Glu Thr Gln Tyr Phe Gly Pro
115 120 125

Gly Thr Arg Leu Leu 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

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

<400> 13

Val Ser Pro Phe Ser Asn
1 5

<210> 14
<211> 3
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 14

Met Thr Phe
1

<210> 15
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 15

Cys Val Val Ser Ala Tyr Gly Lys Leu Gln Phe
1 5 10

<210> 16
<211> 131
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 16

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Pro
130

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

<400> 17

Asp 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> 272
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 18

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

Tyr Arg Gly Asn Gly Lys Asn Gln Val Glu Gln Ser Pro Gln Ser Leu

			20					25					30			
Ile	Ile	Leu	Glu	Gly	Lys	Asn	Cys	Thr	Leu	Gln	Cys	Asn	Tyr	Thr	Val	
		35					40					45				
Ser	Pro	Phe	Ser	Asn	Leu	Arg	Trp	Tyr	Lys	Gln	Asp	Thr	Gly	Arg	Gly	
	50					55					60					
Pro	Val	Ser	Leu	Thr	Ile	Met	Thr	Phe	Ser	Glu	Asn	Thr	Lys	Ser	Asn	
65					70					75					80	
Gly	Arg	Tyr	Thr	Ala	Thr	Leu	Asp	Ala	Asp	Thr	Lys	Gln	Ser	Ser	Leu	
				85					90					95		
His	Ile	Thr	Ala	Ser	Gln	Leu	Ser	Asp	Ser	Ala	Ser	Tyr	Ile	Cys	Val	
			100					105					110			
Val	Ser	Ala	Tyr	Gly	Lys	Leu	Gln	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Gln	Val	Val	
		115					120					125				
Val	Thr	Pro	Asp	Ile	Gln	Asn	Pro	Asp	Pro	Ala	Val	Tyr	Gln	Leu	Arg	
	130					135					140					
Asp	Ser	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Ser	Val	Cys	Leu	Phe	Thr	Asp	Phe	Asp	
145					150					155					160	
Ser	Gln	Thr	Asn	Val	Ser	Gln	Ser	Lys	Asp	Ser	Asp	Val	Tyr	Ile	Thr	
			165						170					175		
Asp	Lys	Thr	Val	Leu	Asp	Met	Arg	Ser	Met	Asp	Phe	Lys	Ser	Asn	Ser	
			180					185					190			
Ala	Val	Ala	Trp	Ser	Asn	Lys	Ser	Asp	Phe	Ala	Cys	Ala	Asn	Ala	Phe	
		195					200					205				
Asn	Asn	Ser	Ile	Ile	Pro	Glu	Asp	Thr	Phe	Phe	Pro	Ser	Pro	Glu	Ser	
	210					215					220					
Ser	Cys	Asp	Val	Lys	Leu	Val	Glu	Lys	Ser	Phe	Glu	Thr	Asp	Thr	Asn	
225					230					235					240	
Leu	Asn	Phe	Gln	Asn	Leu	Ser	Val	Ile	Gly	Phe	Arg	Ile	Leu	Leu	Leu	
				245					250					255		
Lys	Val	Ala	Gly	Phe	Asn	Leu	Leu	Met	Thr	Leu	Arg	Leu	Trp	Ser	Ser	
			260					265					270			

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

<400> 19

Ser Gly His Asn Ser
1 5

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

<400> 20

Phe Asn Asn Asn Val Pro
1 5

<210> 21
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 21

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

<210> 22
<211> 135
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 22

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Arg Leu Ser Ile Leu
130 135

<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

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> 312
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 24

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Arg Leu Ser Ile Leu Glu Asp Leu Asn Lys 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 Phe 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

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 Val 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 Phe
305 310

<210> 25
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 25

Thr Ser Glu Ser Asp Tyr Tyr
1 5

<210> 26
<211> 4
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 26

Gln Glu Ala Tyr
1

<210> 27
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 27

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

Phe

<210> 28
<211> 138
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 28

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

Glu Phe Ser Met Ala Gln Thr Val Thr Gln Ser Gln Pro Glu Met Ser
20 25 30

Val Gln Glu Ala Glu Thr Val Thr Leu Ser Cys Thr Tyr Asp Thr Ser
35 40 45

Glu Ser Asp Tyr Tyr Leu Phe Trp Tyr Lys Gln Pro Pro Ser Arg Gln
50 55 60

Met Ile Leu Val Ile Arg Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln Asn Ala Thr
65 70 75 80

Glu Asn Arg Phe Ser Val Asn Phe Gln Lys Ala Ala Lys Ser Phe Ser
85 90 95

Leu Lys Ile Ser Asp Ser Gln Leu Gly Asp Ala Ala Met Tyr Phe Cys
100 105 110

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

Gly Gln Gly Thr Ile Leu Thr Val His Pro
130 135

<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> 279
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 30

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

Glu Phe Ser Met Ala Gln Thr Val Thr Gln Ser Gln Pro Glu Met Ser
20 25 30

Val Gln Glu Ala Glu Thr Val Thr Leu Ser Cys Thr Tyr Asp Thr Ser
35 40 45

Glu Ser Asp Tyr Tyr Leu Phe Trp Tyr Lys Gln Pro Pro Ser Arg Gln
50 55 60

Met Ile Leu Val Ile Arg Gln Glu Ala Tyr Lys Gln Gln Asn Ala Thr
65 70 75 80

Glu Asn Arg Phe Ser Val Asn Phe Gln Lys Ala Ala Lys Ser Phe Ser
85 90 95

Leu Lys Ile Ser Asp Ser Gln Leu Gly Asp Ala Ala Met Tyr Phe Cys
100 105 110

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

Gly Gln Gly Thr Ile Leu Thr Val His Pro Asn Ile Gln Asn Pro Asp
130 135 140

Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val
145 150 155 160

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

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

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

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

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

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

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

Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
275

<210> 31
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 31

Ser Gly His Lys Ser
1 5

<210> 32
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 32

Tyr Tyr Glu Lys Glu Glu
1 5

<210> 33
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 33

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

<210> 34
<211> 131
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 34

Met Gly Pro Gly Leu Leu Cys Trp Val Leu Leu Cys Leu Leu Gly Ala
1 5 10 15

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

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

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

Ile Phe Gln Tyr Tyr Glu Lys Glu Glu Arg Gly Arg Gly Asn Phe Pro
65 70 75 80

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

Val Asn Ala Leu Leu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser
100 105 110

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

Thr Val Thr
130

<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> 310
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 36

Met Gly Pro Gly Leu Leu Cys Trp Val Leu Leu Cys Leu Leu Gly Ala
1 5 10 15

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

Thr Arg Gly Gln Gln Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Ile Ser Gly His

35					40					45						
Lys	Ser	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Val	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Gln	Phe	
50					55					60						
Ile	Phe	Gln	Tyr	Tyr	Glu	Lys	Glu	Glu	Arg	Gly	Arg	Gly	Asn	Phe	Pro	
65					70					75					80	
Asp	Arg	Phe	Ser	Ala	Arg	Gln	Phe	Pro	Asn	Tyr	Ser	Ser	Glu	Leu	Asn	
85					90					95						
Val	Asn	Ala	Leu	Leu	Leu	Gly	Asp	Ser	Ala	Leu	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ser	
100					105					110						
Ser	Leu	Asp	Gly	Thr	Ser	Glu	Gln	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Arg	Leu	
115					120					125						
Thr	Val	Thr	Glu	Asp	Leu	Lys	Asn	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	Tyr	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	Glu	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 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> 133
<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

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

Leu Ile Val His Pro
130

<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

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
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> 132
<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 Val Gly Asn Thr Gly Glu Leu Phe Phe Gly Glu Gly Ser Arg
115 120 125

Leu Thr Val Leu
130

<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

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

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

Ile Leu Gln Asp Gly Gln Phe Leu Val
1 5

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

<400> 50

Ala Leu Gln Asp Gly Gln Phe Leu Val
1 5

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

<400> 51

Ile Ala Gln Asp Gly Gln Phe Leu Val
1 5

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

<400> 52

Ile Leu Ala Asp Gly Gln Phe Leu Val
1 5

<210> 53
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 53

Ile Leu Gln Ala Gly Gln Phe Leu Val
1 5

<210> 54
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 54

Ile Leu Gln Asp Ala Gln Phe Leu Val
1 5

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

<400> 55

Ile Leu Gln Asp Gly Ala Phe Leu Val
1 5

<210> 56
<211> 9
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 56

Ile Leu Gln Asp Gly Gln Ala Leu Val
1 5

<210> 57

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

Ile Leu Gln Asp Gly Gln Phe Ala Val
1 5

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 58

Ile Leu Gln Asp Gly Gln Phe Leu Ala
1 5

<210> 59

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

Gly Leu Val Asp Gly Val Phe Leu Val
1 5

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Ile Leu Gln Asp Gly Arg Ile Phe Ile
1 5

<210> 61

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 61

Ile Leu Gln Asp Leu Gln Pro Phe Leu
1 5

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

<400> 62

Ile Leu Gln Glu Gly Thr Phe Lys Ala
1 5

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

<400> 63

Lys Leu Gln Asp Gly Asn His Leu Leu
1 5

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

<400> 64

Leu Leu Gln Asp Gly Glu Phe Ser Met
1 5

<210> 65
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 65

Leu Leu Gln Asp Lys Gln Phe Glu Leu
1 5

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

<400> 66

Asn Leu Gln Glu Gly Glu Phe Leu Leu
1 5

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

<400> 67

Thr Leu Gln Asn Ser Gln Phe Leu Leu

1

5

<210> 68

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 68

Thr Leu Thr Asp Glu Gln Phe Leu Val

1 5

<210> 69

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 69

Ser Leu Leu Met Trp Ile Thr Gln Val

1 5

<210> 70

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 70

Thr Leu Gln Asp Gly Gln Phe Leu Val

1 5

<210> 71

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 71

Ile Thr Gln Asp Gly Gln Phe Leu Val

1 5

<210> 72

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

Ile Leu Thr Asp Gly Gln Phe Leu Val

1 5

<210> 73

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 73

Ile Leu Gln Thr Gly Gln Phe Leu Val
1 5

<210> 74
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 74

Ile Leu Gln Asp Thr Gln Phe Leu Val
1 5

<210> 75
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 75

Ile Leu Gln Asp Gly Thr Phe Leu Val
1 5

<210> 76
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 76

Ile Leu Gln Asp Gly Gln Thr Leu Val
1 5

<210> 77
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 77

Ile Leu Gln Asp Gly Gln Phe Thr Val
1 5

<210> 78
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 78

Ile Leu Gln Asp Gly Gln Phe Leu Thr
1 5



201828977

【發明摘要】**【中文發明名稱】**新穎T細胞受體以及使用彼之免疫療法**【英文發明名稱】**NOVEL T CELL RECEPTORS AND IMMUNE THERAPY

USING THE SAME

【中文】

本發明涉及針對源自靶蛋白 DDB1 和 CUL4 相關因子 4 樣 2 (DCAF4L2) 的腫瘤相關抗原 (TAA) 的抗原識別構建體。本發明特別提出了對本發明 TAA 具有選擇性和特異性的新型 T 細胞受體 (TCR) 分子。本發明的 TCR 及其衍生的 TAA 結合片段可用於診斷、治療和預防表達 TAA 的癌性疾病。還提出了編碼本發明抗原識別構建體的核酸、包含這些核酸的載體、表達抗原識別構建體的重組細胞以及包含本發明化合物的藥物組合物。

【英文】

The present invention relates to antigen recognizing constructs against a tumor associated antigen(TAA) derived from the target protein DDB1 and CUL4 associated factor 4-like 2(DCAF4L2). The invention in particular provides novel T cell receptor(TCR) based molecules which are selective and specific for the TAA of the invention. The TCR of the invention, and TAA binding fragments derived therefrom, are of use for the diagnosis, treatment and prevention of TAA expressing cancerous diseases. 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.

【指定代表圖】第（ 1 ）圖。

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明申請專利範圍】

【第1項】 一種抗原識別構建體，其包含至少一個互補決定區（CDR）3，其與選自 SEQ ID No 3、9、15、21、27 和 33 的氨基酸序列至少具有 50% 的序列同一性。

【第2項】 根據請求項 1 中所述的抗原識別構建體，其中抗原識別構建體可特異性地和/或選擇性地結合包括選自 SEQ ID NO:49、50 至 57 的氨基酸序列或由其組成的表位。

【第3項】 根據請求項 1 或 2 所述的抗原識別構建體，其中所述抗原識別構建體為一種抗體或其衍生物或片段、或一種 T 細胞受體（TCR）或其衍生物或片段。

【第4項】 根據請求項 1 至 3 中任一項所述的抗原識別構建體，其包含 TCR α 或 γ 鏈；和/或 TCR β 或 δ 鏈；其中所述 TCR α 或 γ 鏈包含與選自 SEQ ID No. 3、15 和 27 的氨基酸序列具有至少 50% 序列同一性的 CDR3 和/或其中所述 TCR β 或 δ 鏈包含與選自 SEQ ID No. 9、21 和 33 的氨基酸序列具有至少 50% 序列同一性的 CDR3。

【第5項】 根據請求項 4 中所述的抗原識別構建體，其中所述 TCR α 或 γ 鏈還包含與選自 SEQ ID No. 1、13 和 25 的氨基酸序列具有至少 50% 序列同一性

的 CDR1；和/或與選自 SEQ ID No. 2、14 和 26 的氨基酸序列具有至少 50% 序列同一性的 CDR2。

【第6項】 根據請求項 4 或 5 中所述的抗原識別構建體，其中所述 TCR β 或 δ 鏈還包含與選自 SEQ ID No. 7、19 和 31 的氨基酸序列具有至少 50% 序列同一性的 CDR1；和/或與選自 SEQ ID No. 8、20 和 32 的氨基酸序列具有至少 50% 序列同一性的 CDR2。

【第7項】 根據請求項 1 至 6 中任一項所述的抗原識別構建體，其包含與選自 SEQ ID No. 4、10、16、22、28 和 34 的氨基酸序列具有至少 50% 序列同一性的 TCR 可變鏈區。

【第8項】 根據請求項 1 至 7 中任一項所述的抗原識別構建體，其包含 TCR 的結合片段，並且其中所述結合片段包含 CDR1 至 CDR3，其任選選自具有 SEQ ID No. 1、2、3 或 7、8、9 或 13、14、15 或 19、20、21 或 25、26、27 或 31、32、33 的氨基酸序列的 CDR1 至 CDR3 序列。

【第9項】 一種核酸，其編碼根據請求項 1 至 8 中任一項的抗原識別構建體，或包含所述核酸的一種載體。

【第10項】 一種宿主細胞，其包含根據請求項 1 至 8 中任一項所述的抗原識別構建體，或根據請求項 9 所述的核酸或載體，優選為淋巴細胞，優選為 T 淋巴細胞。

胞或 T 淋巴細胞祖細胞，更優選為 CD4 或 CD8 陽性 T 細胞，再更優選為其是 γ / δ T 細胞的 T 細胞。

【第 11 項】 一種藥物組合物，其包含根據請求項 1 至 8 中任一項所述的抗原識別構建體，或根據請求項 9 所述的核酸或載體，或根據請求項 10 所述的宿主細胞，以及藥用載體、穩定劑和/或賦形劑。

【第 12 項】 請求項 1 至 8 任一項中所述的抗原識別構建體，或根據請求項 9 所述的核酸，或根據請求項 10 所述的載體，或根據請求項 11 所述的宿主細胞，或根據請求項 12 所述的藥物組合物，用於藥物中，優選為用於診斷、預防和/或治療增殖性疾病，特別是癌症，其中所述癌症優選選自非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、腦癌、胃癌、結直腸癌、肝細胞癌、頭頸癌、胰腺癌、攝護腺癌、白血病、乳腺癌、梅克爾細胞癌、黑色素瘤、卵巢癌、膀胱癌、子宮癌、膽囊癌、膽管癌和食管癌，或其組合。

【第 13 項】 一種檢測生物樣本中癌症的方法，包括：

a) 使生物樣本與請求項 3 至 8 任一項中所述的 TCR 接觸，

以及

b) 檢測 TCR 與生物樣本的結合情況。

【第 14 項】 請求項 13 項中所述的方法，其中 TCR 包

含可檢測標記。

【第15項】 請求項 14 項中所述的方法，其中可檢測標記選自放射性核素、螢光團和生物素組成的組。

【第16項】 請求項 13 至 15 任一項中所述的方法，其中所述檢測在體外、體內或原位進行。

【第17項】 請求項 13 至 16 任一項中所述的方法，其中所述癌症為非小細胞肺癌、小細胞肺癌、腎細胞癌、腦癌、胃癌、結直腸癌、肝細胞癌、頭頸癌、胰腺癌、攝護腺癌、白血病、乳腺癌、梅克爾細胞癌、黑色素瘤、卵巢癌、膀胱癌、子宮癌、膽囊癌、膽管癌和食管癌，或其組合。

【第18項】 根據請求項 3 至 8 中任一項所述的抗原識別構建體，其為 TCR，其中所述 TCR 是可溶性 TCR。

【第19項】 請求項 3 至 8 任一項中所述的抗原識別構建體，其是 TCR，其中所述 α 鏈包含與 SEQ ID NO:4 所述的氨基酸序列至少 95% 相同的 TCR α 可變結構域； β 鏈包含與 SEQ ID NO:10 至少 95% 相同的 TCR β 可變結構域，其中 TCR 與 TAA-肽-MHC 分子複合體特異性結合。

【第20項】 請求項 3 至 8 任一項中所述的抗原識別構建體，其是 TCR，其相對於 SEQ ID NO:4 在 α

鏈中有至少一個突變和/或相對於 SEQ ID NO:10 在 β 鏈中有至少一個突變，並且其中 TCR 對 TAA 肽 HLA 分子複合體的結合親和力和/或結合半衰期是未突變 TCR 對相同肽的結合親和力和/或結合半衰期的至少兩倍。

【第21項】 請求項 3 至 8 任一項中所述的抗原識別構建體，其是 TCR，其相對於 SEQ ID NO:4 在 α 鏈中有至少一個突變和/或相對於 SEQ ID NO:10 在 β 鏈中有至少一個突變，並且其中與未突變的 TCR 相比，TCR 已經修飾了糖基化。

【第22項】 一種 TCR，其包含至少一個選自 SEQ ID NO:4 的 α 鏈 CDR1、CDR2 和 CDR3 組成的組中的 α 鏈互補決定區 (CDR)；和/或包含至少一個選自 SEQ ID NO:10 的 β 鏈 CDR1、CDR2 和 CDR3 組成的組中的 β 鏈互補決定區 (CDR)，並且其中所述 TCR 與 TAA 肽-MHC 分子複合體特異性結合。

