(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119487060 A
(43)申请公布日 2025.02.18

(21)申请号 202380051389.X
(22)申请日 2023.04.28
(30)优先权数据
63/337522 2022.05.02 US
63/342451 2022.05.16 US
63/413553 2022.10.05 US
63/423269 2022.11.07 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.12.31
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2023/020338 2023.04.28
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/215183 EN 2023.11.09
(71)申请人 帝斯肯医疗公司
地址 美国马萨诸塞州
(72)发明人 王伊帆 C·古勒 G·麦克比斯
(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
专利代理师 肖传馨 张华
(51)Int.Cl.
C07K 14/725(2006.01)
A61K 35/17(2006.01)
A61K 38/17(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
C07K 16/30(2006.01)

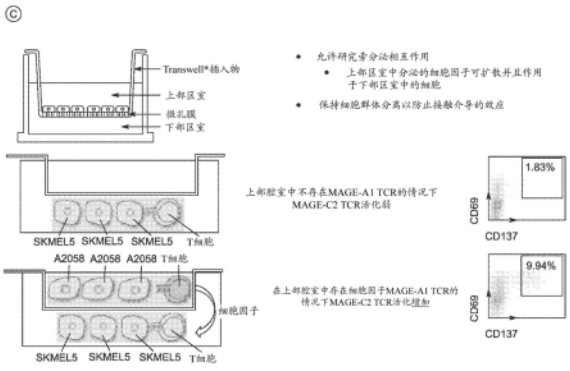
权利要求书8页 说明书76页 附图22页

(54)发明名称

多重T细胞受体组合物、组合疗法以及其用途

(57)摘要

本文提供了多重T细胞受体组合物、组合疗法以及其用途。



CN 119487060 A

1.一种包含至少两种结合蛋白的组合物,其中i)所述结合蛋白中的至少一者为能够结合至作为免疫原性肽-MHC(pMHC)复合物的来源于靶蛋白的免疫原性肽的T细胞受体(TCR),并且ii)所述结合蛋白中的至少一者为能够结合至作为pMHC复合物的来自与i)中相同的靶蛋白或不同的靶蛋白的不同免疫原性肽的TCR,任选其中所述组合物包含2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多种结合蛋白。

2.如权利要求1所述的组合物,其中i)的所述TCR和/或ii)的所述TCR的结合亲和力具有小于或等于约$5x10^{-4}$ M的K_d。

3.如权利要求1或2所述的组合物,其中i)的所述MHC与ii)的所述MHC为相同或不同的。

4.如权利要求1-3中任一项所述的组合物,其中i)和/或ii)的所述结合蛋白包含:

a)与选自由表1、表4或表6中所列的TCRα链CDR序列组成的组的TCRα链CDR序列具有至少约80%同一性的T细胞受体(TCR)α链CDR序列;和/或

b)与选自由表1、表4或表6中所列的TCRβ链CDR序列组成的组的TCRβ链CDR序列具有至少约80%同一性的TCRβ链CDR序列。

5.如权利要求1-4中任一项所述的组合物,其中i)和/或ii)的所述结合蛋白包含:

a)与选自由表1、表4或表6中所列的TCR V_α结构域序列组成的组的TCR V_α结构域序列具有至少约80%同一性的TCRα链可变(V_α)结构域序列;和/或

b)与选自由表1、表4或表6中所列的TCR V_β结构域序列组成的组的TCR V_β结构域序列具有至少约80%同一性的TCRβ链可变(V_β)结构域序列。

6.如权利要求1-5中任一项所述的组合物,其中i)和/或ii)的所述结合蛋白包含:

a)选自由表1、表4或表6中所列的TCRα链序列组成的组的TCRα链序列;和/或

b)选自由表1、表4或表6中所列的TCRβ链序列组成的组的TCRβ链序列。

7.如权利要求1-6中任一项所述的组合物,其中1)所述TCRα链CDR、所述TCR V_α结构域和/或所述TCRα链由选自表1、表2、表4和/或表6中所列的TRAV、TRAJ以及TRAC基因的组的TRAV、TRAJ和/或TRAC基因或其片段编码),所述TCRβ链CDR、所述TCR V_β结构域和/或所述TCRβ链由选自表1、表2、表4和/或表6中所列的TRBV、TRBJ以及TRBC基因的组的TRBV、TRBJ和/或TRBC基因或其片段编码),与表1、表4或表6中所列的同源参考CDR序列相比,所述结合蛋白的各CDR具有至多五个氨基酸取代、插入、缺失或它们的组合。

8.如权利要求1-7中任一项所述的组合物,其中所述免疫原性肽包含表3中所示的氨基酸序列。

9.如权利要求1-8中任一项所述的组合物,其中所述结合蛋白为嵌合、人源化或人结合蛋白。

10.如权利要求1-9中任一项所述的组合物,其中所述结合蛋白为TCR、TCR的抗原结合片段、单链TCR(scTCR)、嵌合抗原受体(CAR)或包含TCR和效应子结构域的融合蛋白,任选其中所述结合结构域包含跨膜结构域和细胞内效应子结构域。

11.如权利要求1-10中任一项所述的组合物,其中所述TCRα链和所述TCRβ链为共价键联的,任选其中所述TCRα链和所述TCRβ链通过接头肽共价键联。

12.如权利要求1-11中任一项所述的组合物,其中所述TCRα链和/或所述TCRβ链共价键联至一个部分,任选其中所述共价键联部分包含亲和力标签或标记。

13.如权利要求12所述的组合物,其中所述亲和力标签选自由以下组成的组:CD34富集

标签、谷胱甘肽-S-转移酶(GST)、钙调素结合蛋白(CBP)、蛋白质C标签、Myc标签、Halo标签、HA标签、Flag标签、His标签、生物素标签以及V5标签,和/或其中所述标记为荧光蛋白。

14.如权利要求1-13中任一项所述的组合物,其中所述共价键联部分选自由以下组成的组:炎性剂、细胞因子、毒素、细胞毒性分子、放射性同位素或抗体或其抗原结合片段。

15.如权利要求1-14中任一项所述的组合物,其中所述结合蛋白结合至细胞表面上的所述pMHC复合物。

16.如权利要求1-15中任一项所述的组合物,其中所述MHC为MHC多聚体,任选其中所述MHC多聚体为四聚体。

17.如权利要求1-16中任一项所述的组合物,其中所述MHC为MHC I类分子。

18.如权利要求1-17中任一项所述的组合物,其中所述MHC包含为HLA血清型HLA-A*02的MHCα链。

19.如权利要求1-18中任一项所述的组合物,其中所述HLA对偶基因选自由以下组成的组:HLA-A*02、HLA-A*03、HLA-A*01、HLA-A*11、HLA-A*24、HLA-B*07、HLA-C*07、HLA-C*01、HLA-C*02、HLA-C*03、HLA-C*04、HLA-C*05、HLA-C*06、HLA-C*08、HLA-C*12、HLA-C*14、HLA-C*15、HLA-C*16、HLA-C*17以及HLA-C*18,任选其中所述HLA对偶基因选自由以下组成的组:HLA-A*0201、HLA-A*0202、HLA-A*0203、HLA-A*0204、HLA-A*0205、HLA-A*0206、HLA-A*0207、HLA-A*0210、HLA-A*0211、HLA-A*0212、HLA-A*0213、HLA-A*0214、HLA-A*0216、HLA-A*0217、HLA-A*0219、HLA-A*0220、HLA-A*0222、HLA-A*0224、HLA-A*0230、HLA-A*0242、HLA-A*0253、HLA-A*0260、HLA-A*0274对偶基因、HLA-A*0301、HLA-A*0302、HLA-A*0305、HLA-A*0307、HLA-A*0101、HLA-A*0102、HLA-A*0103、HLA-A*0116对偶基因、HLA-A*1101、HLA-A*1102、HLA-A*1103、HLA-A*1104、HLA-A*1105、HLA-A*1119对偶基因、HLA-A*2402、HLA-A*2403、HLA-A*2405、HLA-A*2407、HLA-A*2408、HLA-A*2410、HLA-A*2414、HLA-A*2417、HLA-A*2420、HLA-A*2422、HLA-A*2425、HLA-A*2426、HLA-A*2458对偶基因、HLA-B*0702、HLA-B*0704、HLA-B*0705、HLA-B*0709、HLA-B*0710、HLA-B*0715、HLA-B*0721、HLA-C*0702、HLA-C*0701、HLA-C*0401、HLA-C*0602、HLA-C*0304、HLA-C*0501、HLA-C*1601、HLA-C*0202、HLA-C*0303、HLA-C*1203、HLA-C*0802、HLA-C*0102、HLA-C*1701、HLA-C*1502、HLA-C*1402、HLA-C*1202、HLA-C*0704、HLA-C*0801、HLA-C*0302、HLA-C*1801、HLA-C*1505、HLA-C*1602、HLA-C*0804、HLA-C*0305以及HLA-C*1403对偶基因。

20.如权利要求1-19中任一项所述的组合物,其中所述组合物结合至所述pMHC复合物引发大于单独任一TCR的免疫反应,任选其中所述免疫反应为T细胞反应和/或协同反应。

21.如权利要求1-20中任一项所述的组合物,其中所述T细胞反应选自由以下组成的组:T细胞扩增、细胞因子释放和/或细胞毒性杀伤作用。

22.如权利要求1-21中任一项所述的组合物,所述结合蛋白能够以小于或等于约$1x10^{-4}$ M、小于或等于约$5x10^{-5}$ M、小于或等于约$1x10^{-5}$ M、小于或等于约$5x10^{-6}$ M、小于或等于约$1x10^{-6}$ M、小于或等于约$5x10^{-7}$ M、小于或等于约$1x10^{-7}$ M、小于或等于约$5x10^{-8}$ M、小于或等于约$1x10^{-8}$ M、小于或等于约$5x10^{-9}$ M、小于或等于约$1x10^{-9}$M、小于或等于约$5x10^{-10}$ M、小于或等于约$1x10^{-10}$ M、小于或等于约$5x10^{-11}$ M、小于或等于约$1x10^{-11}$ M、小于或等于约$5x10^{-12}$ M或小于或等于约$1x10^{-12}$ M的K_d特异性结合至所述免疫原性肽-MHC(pMHC)复合物。

23.如权利要求1-22中任一项所述的组合物,其中与已知T细胞受体相比,所述结合蛋

白对所述肽-MHC(pMHC)具有更高的结合亲和力。

24.如权利要求1-23中任一项所述的组合物,其中与已知T细胞受体相比,所述结合蛋白对所述肽-MHC(pMHC)具有高至少1.05倍的结合亲和力。

25.如权利要求1-24中任一项所述的组合物,其中与已知T细胞受体相比,所述结合蛋白当与具有所述标靶的杂合子表达的靶细胞接触时诱导更高的T细胞扩增、细胞因子释放和/或细胞毒性杀伤作用。

26.如权利要求1-25中任一项所述的组合物,其中与已知T细胞受体相比,所述结合蛋白当与具有所述标靶的杂合子表达的靶细胞接触时诱导增加至少1.05倍的T细胞扩增、细胞因子释放和/或细胞毒性杀伤作用。

27.如权利要求25或26所述的组合物,其中所述靶细胞为SK-MEL-5、DEL、THP-1或TF-1细胞系。

28.如权利要求25或26所述的组合物,其中所述靶细胞为癌细胞。

29.如权利要求28所述的组合物,其中所述癌症为血液学恶性肿瘤。

30.如权利要求28所述的组合物,其中所述癌症为实体肿瘤。

31.如权利要求30所述的组合物,其中所述癌症为黑素瘤、头颈癌或肺癌。

32.一种分离的核酸分子,所述分离的核酸分子在严格条件下与编码选自由表1、表4或表6中所列的多肽序列组成的组的多肽或如权利要求1-31中任一项的多肽组合物的核酸的补体或与编码选自由表1、表4或表6中所列的多肽序列组成的组的多肽或如权利要求1-31中任一项的多肽组合物的核酸具有至少约80％同源性的序列杂交,任选其中所述分离的核酸分子包含1)选自表1、表2、表4和/或表6中所列的TRAV、TRAJ以及TRAC基因的组的TRAV、TRAJ和/或TRAC基因或其片段和/或2)选自表1、表2、表4和/或表6中所列的TRBV、TRBJ以及TRBC基因的组的TRBV、TRBJ和/或TRBC基因或其片段。

33.如权利要求32所述的分离的核酸,其中所述核酸经过密码子优化以在宿主细胞中表达。

34.一种载体,所述载体包含如权利要求32或33所述的分离的核酸。

35.如权利要求34所述的载体,其中所述载体为克隆载体、表达载体或病毒载体。

36.如权利要求34或35所述的载体,其中所述载体还包含编码CD8α、CD8β、显性负性TGFβ受体II(DN-TGFβRII)、可选蛋白质标记物的核酸序列,任选其中所述可选蛋白质标记物为二氢叶酸还原酶(DHFR)。

37.如权利要求34-36中任一项所述的载体,其中编码CD8α、CD8β、所述DN-TGFβRII和/或所述可选蛋白质标记物的所述核酸序列可操作地连接至编码标签的核酸。

38.如权利要求34-37中任一项所述的载体,其中所述编码标签的核酸位于编码CD8α、CD8β、所述DN-TGFβRII和/或所述可选蛋白质标记物的核酸序列上游的5',使得所述标签融合至CD8α、CD8β、所述DN-TGFβRII和/或所述可选蛋白质标记物的N端。

39.如权利要求34-38中任一项所述的载体,其中所述标签为CD34富集标签。

40.如权利要求34-39中任一项所述的载体,其中如任一前述权利要求所述的分离的核酸以及编码CD8α、CD8β、所述DN-TGFβRII和/或所述可选蛋白质标记物的所述核酸序列与内部核糖体进入位点或编码自裂解肽的核酸序列相互连接。

41.如权利要求34-40中任一项所述的载体,其中所述自裂解肽为P2A、E2A、F2A或T2A。

42.一种宿主细胞,所述宿主细胞包含如权利要求32或33所述的分离的核酸,包含如权利要求34-41中任一项所述的载体,和/或表达如权利要求1-31中任一项所述的结合蛋白组合物,任选其中所述细胞为基因工程化的,另外任选其中所述宿主细胞为各自包含如权利要求32或33的分离的核酸的宿主细胞的集合,包含如权利要求34-41中任一项所述的载体,和/或表达如权利要求1-31中任一项所述的结合蛋白组合物。

43.如权利要求42所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞包含TCR基因、HLA基因或两者的染色体基因剔除。

44.如权利要求42或43所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞包含选自以下的HLA基因的剔除:α1巨球蛋白基因、α2巨球蛋白基因、α3巨球蛋白基因、β1微球蛋白基因、β2微球蛋白基因以及它们的组合。

45.如权利要求42-44中任一项所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞包含选自以下的TCR基因的剔除:TCRα可变区基因、TCRβ可变区基因、TCR恒定区基因以及它们的组合。

46.如权利要求42-45中任一项所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞表达CD8α、CD8β、DN-TGFβRII和/或可选蛋白质标记物,任选其中所述可选蛋白质标记物为DHFR。

47.如权利要求46所述的宿主细胞,其中所述CD8α、所述CD8β、所述DN-TGFβRII和/或所述可选蛋白质标记物融合至CD34富集标签。

48.如权利要求47所述的宿主细胞,其中宿主细胞使用所述CD34富集标签进行富集。

49.如权利要求42-48中任一项所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞为造血祖细胞、外周血单核细胞(PBMC)、脐带血细胞或免疫细胞。

50.如权利要求42-49中任一项所述的宿主细胞,其中所述免疫细胞为细胞毒性淋巴细胞、细胞毒性淋巴细胞前体细胞、细胞毒性淋巴细胞祖细胞、细胞毒性淋巴细胞干细胞、$CD4^+$T细胞、$CD8^+$T细胞、CD4/CD8双阴性T细胞、伽马德尔塔(γδ)T细胞、自然杀手(NK)细胞、NK-T细胞、树突细胞或它们的组合。

51.如权利要求42-50中任一项所述的宿主细胞,其中所述T细胞为原初T细胞、中央记忆T细胞、效应记忆T细胞或它们的组合。

52.如权利要求42-51中任一项所述的宿主细胞,其中所述T细胞为原代T细胞或T细胞系的细胞。

53.如权利要求42-52中任一项所述的宿主细胞,其中所述T细胞不表达内源性TCR或具有较低的内源性TCR的表面表达。

54.如权利要求42-53中任一项所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞当与靶细胞接触时能够产生细胞因子或细胞毒性分子,所述靶细胞包含含有在MHC分子背景中的HA-2肽表位的肽-MHC(pMHC)复合物。

55.如权利要求54所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞在体外、离体或体内与所述靶细胞接触。

56.如权利要求54或55所述的宿主细胞,其中所述细胞因子为TNF-α、IL-2和/或IFN-γ。

57.如权利要求54-56中任一项所述的宿主细胞,其中所述细胞毒性分子为穿孔素和/或颗粒酶,任选其中所述细胞毒性分子为颗粒酶B。

58.如权利要求54-57中任一项所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞当与具有所述标靶

的杂合子表达的靶细胞接触时能够产生更高水平的细胞因子或细胞毒性分子。

59.如权利要求58所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞能够产生高至少1.05倍水平的细胞因子或细胞毒性分子。

60.如权利要求54-59中任一项所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞能够杀伤包含含有在MHC分子背景中的靶肽表位的肽-MHC(pMHC)复合物的靶细胞。

61.如权利要求60所述的宿主细胞,其中所述杀伤作用通过杀伤作用分析来确定。

62.如权利要求60或61所述的宿主细胞,其中所述杀伤作用分析中所述宿主细胞与所述靶细胞的比率为20:1至0.625:1。

63.如权利要求60-62中任一项所述的宿主细胞,其中靶细胞为以1μg/mL至50pg/mL免疫原性肽脉冲添加的T2细胞。

64.如权利要求60-62中任一项所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞当与具有所述标靶的杂合子表达的靶细胞接触时能够杀伤更高数目的靶细胞。

65.如权利要求64所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞能够杀伤高至少1.05倍数目的靶细胞。

66.如权利要求60、61、64以及65中任一项所述的宿主细胞,其中所述靶细胞为SK-MEL-5、DEL、THP-1或TF-1细胞系。

67.如权利要求54-66中任一项所述的宿主细胞,其中所述免疫原性肽包含表3中所示的氨基酸序列。

68.如权利要求54-67中任一项所述的宿主细胞,其中所述MHC分子为MHC I类分子。

69.如权利要求54-68中任一项所述的宿主细胞,其中所述MH C分子包含为HLA血清型HLA-A*02、HLA-A*03、HLA-A*01、HL A-A*11、HLA-A*24、HLA-B*07、HLA-C*07、HLA-C*01、HLA-C*02、HLA-C*03、HLA-C*04、HLA-C*05、HLA-C*06、HLA-C*08、HLA-C*12、HLA-C*14、HLA-C*15、HLA-C*16、HLA-C*17或HL A-C*18的MHCα链。

70.如权利要求54-69中任一项所述的宿主细胞,其中所述HLA对偶基因选自由以下组成的组:HLA-A*0201、HLA-A*0202、HLA-A*0203、HLA-A*0204、HLA-A*0205、HLA-A*0206、HLA-A*0207、HLA-A*0210、HLA-A*0211、HLA-A*0212、HLA-A*0213、HLA-A*0214、HLA-A*0216、HLA-A*0217、HLA-A*0219、HLA-A*0220、HLA-A*0222、HLA-A*0224、HLA-A*0230、HLA-A*0242、HLA-A*0253、HLA-A*0260、HLA-A*0274对偶基因、HLA-A*0301、HLA-A*0302、HLA-A*0305、HLA-A*0307、HLA-A*0101、HLA-A*0102、HLA-A*0103、HLA-A*0116对偶基因、HLA-A*1101、HLA-A*1102、HLA-A*1103、HLA-A*1104、HLA-A*1105、HLA-A*1119对偶基因、HLA-A*2402、HLA-A*2403、HLA-A*2405、HLA-A*2407、HLA-A*2408、HLA-A*2410、HLA-A*2414、HLA-A*2417、HLA-A*2420、HLA-A*2422、HLA-A*2425、HLA-A*2426、HLA-A*2458对偶基因、HLA-B*0702、HLA-B*0704、HLA-B*0705、HLA-B*0709、HLA-B*0710、HLA-B*0715、HLA-B*0721、HLA-C*0702、HLA-C*0701、HLA-C*0401、HLA-C*0602、HLA-C*0304、HLA-C*0501、HL A-C*1601、HLA-C*0202、HLA-C*0303、HLA-C*1203、HLA-C*0802、HLA-C*0102、HLA-C*1701、HLA-C*1502、HLA-C*1402、HLA-C*1202、HLA-C*0704、HLA-C*0801、HLA-C*0302、HLA-C*1801、HLA-C*1505、HLA-C*1602、HLA-C*0804、HLA-C*0305以及HLA-C*1403对偶基因。

71.如权利要求54-70中任一项所述的宿主细胞,其中所述靶细胞为选自由以下组成的组的细胞系:SK-MEL-5、Del、THP-1以及TF-1细胞系,或为表达所述免疫原性肽的癌细胞。

72.如权利要求71所述的宿主细胞,其中所述癌细胞属于血液学恶性肿瘤或实体肿瘤。

73.如权利要求54-71中任一项所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞不表达所述免疫原性肽,不由如权利要求1-30中任一项的结合蛋白识别,不具有权利要求69中所列的血清型,和/或不表达权利要求70中所列的HLA对偶基因。

74.一种宿主细胞群体,所述宿主细胞为如权利要求42-73中任一项的宿主细胞。

75.一种预防和/或治疗受试者的以免疫原性肽抗原的表达为特征的非恶性病症、过度增殖性病症或过度增殖性病症复发的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的如权利要求1-74中任一项的组合物的组合或根据权利要求1-74中任一项的结合蛋白、核酸、载体和/或宿主细胞的组合。

76.如权利要求75所述的方法,其中所述组合物包含细胞,任选其中所述细胞为同种异体细胞、同基因细胞或自体细胞。

77.如权利要求75或76所述的方法,其中所述细胞为基因修饰的。

78.如权利要求75-77中任一项所述的方法,其中所述细胞包含TCR基因、HLA基因或TCR基因与HLA基因两者的染色体基因剔除。

79.如权利要求75-78中任一项所述的方法,其中所述细胞包含选自以下的HLA基因的剔除:α1巨球蛋白基因、α2巨球蛋白基因、α3巨球蛋白基因、β1微球蛋白基因、β2微球蛋白基因以及它们的组合。

80.如权利要求75-79中任一项所述的方法,其中所述细胞包含选自以下的TCR基因的剔除:TCRα可变区基因、TCRβ可变区基因、TCR恒定区基因以及它们的组合。

81.如权利要求75-80中任一项所述的方法,其中所述细胞表达CD8α、CD8β、DN-TGFβRII和/或可选蛋白质标记物,任选其中所述可选蛋白质标记物为DHFR并且另外任选其中所述CD8α、所述CD8β、所述DN-TGFβRII和/或所述可选蛋白质标记物融合至CD34富集标签。

82.如权利要求81所述的方法,其中细胞使用所述CD34富集标签进行富集。

83.如权利要求75-82中任一项所述的方法,其中所述细胞为造血祖细胞、外周血单核细胞(PBMC)、脐带血细胞或免疫细胞。

84.如权利要求75-83中任一项所述的方法,其中所述免疫细胞为细胞毒性淋巴细胞、细胞毒性淋巴细胞前体细胞、细胞毒性淋巴细胞祖细胞、细胞毒性淋巴细胞干细胞、$CD4^+$T细胞、$CD8^+$T细胞、CD4/CD8双阴性T细胞、伽马德尔塔(γδ)T细胞、自然杀手(NK)细胞、NK-T细胞、树突细胞或它们的组合。

85.如权利要求75-84中任一项所述的方法,其中所述T细胞为原初T细胞、中央记忆T细胞、效应记忆T细胞或它们的组合。

86.如权利要求75-85中任一项所述的方法,其中所述T细胞为原代T细胞或T细胞系的细胞。

87.如权利要求75-86中任一项所述的方法,其中所述T细胞不表达内源性TCR或具有较低的内源性TCR的表面表达。

88.如权利要求75-87中任一项所述的方法,其中所述细胞当与包含含有在MHC分子背景中的所述免疫原性肽的肽-MHC(pMHC)复合物的靶细胞接触时能够产生细胞因子或细胞毒性分子。

89.如权利要求75-89中任一项所述的方法,其中所述细胞因子为TNF-α、IL-2和/或

IFN-γ。

90.如权利要求75-90中任一项所述的方法,其中所述细胞毒性分子为穿孔素和/或颗粒酶,任选其中所述细胞毒性分子为颗粒酶B。

91.如权利要求75-90中任一项所述的方法,其中所述细胞当与具有所述标靶的杂合子表达的靶细胞接触时能够产生更高水平的细胞因子或细胞毒性分子。

92.如权利要求91所述的方法,其中所述细胞能够产生高至少1.05倍水平的细胞因子或细胞毒性分子。

93.如权利要求75-92中任一项所述的方法,其中所述宿主细胞能够杀伤包含含有在MHC分子背景中的所述标靶的肽-MHC(pMHC)复合物的靶细胞。

94.如权利要求75-93中任一项所述的方法,其中所述宿主细胞当与具有所述标靶的杂合子表达的靶细胞接触时能够杀伤更高数目的靶细胞。

95.如权利要求94所述的方法,其中所述宿主细胞能够杀伤高至少1.05倍数目的靶细胞。

96.如权利要求75-95中任一项所述的方法,其中所述免疫原性肽包含表3中所示的氨基酸序列。

97.如权利要求92-96中任一项所述的方法,其中所述MHC分子为MHC I类分子。

98.如权利要求75-97中任一项所述的方法,其中所述MHC分子包含为HLA血清型HLA-A*02、HLA-A*03、HLA-A*01、HLA-A*11、HLA-A*24、HLA-B*07、HLA-C*07、HLA-C*01、HLA-C*02、HLA-C*03、HLA-C*04、HLA-C*05、HLA-C*06、HLA-C*08、HLA-C*12、HLA-C*14、HLA-C*15、HLA-C*16、HLA-C*17或HLA-C*18的MHCα链。

99.如权利要求75-98中任一项所述的方法,其中所述HLA对偶基因选自由以下组成的组:HLA-A*0201、HLA-A*0202、HLA-A*0203、HLA-A*0204、HLA-A*0205、HLA-A*0206、HLA-A*0207、HLA-A*0210、HLA-A*0211、HLA-A*0212、HLA-A*0213、HLA-A*0214、HLA-A*0216、HLA-A*0217、HLA-A*0219、HLA-A*0220、HLA-A*0222、HLA-A*0224、HLA-A*0230、HLA-A*0242、HLA-A*0253、HLA-A*0260、HLA-A*0274对偶基因、HLA-A*0301、HLA-A*0302、HLA-A*0305、HLA-A*0307、HLA-A*0101、HLA-A*0102、HLA-A*0103、HLA-A*0116对偶基因、HLA-A*1101、HLA-A*1102、HLA-A*1103、HLA-A*1104、HLA-A*1105、HLA-A*1119对偶基因、HLA-A*2402、HLA-A*2403、HLA-A*2405、HLA-A*2407、HLA-A*2408、HLA-A*2410、HLA-A*2414、HLA-A*2417、HLA-A*2420、HLA-A*2422、HLA-A*2425、HLA-A*2426、HLA-A*2458对偶基因、HLA-B*0702、HLA-B*0704、HLA-B*0705、HLA-B*0709、HLA-B*0710、HLA-B*0715、HLA-B*0721、HLA-C*0702、HLA-C*0701、HLA-C*0401、HLA-C*0602、HLA-C*0304、HLA-C*0501、HLA-C*1601、HLA-C*0202、HLA-C*0303、HLA-C*1203、HLA-C*0802、HL A-C*0102、HLA-C*1701、HLA-C*1502、HLA-C*1402、HLA-C*1202、HLA-C*0704、HLA-C*0801、HLA-C*0302、HLA-C*1801、HLA-C*1505、HLA-C*1602、HLA-C*0804、HLA-C*0305以及HLA-C*1403对偶基因。

100.如权利要求75-99中任一项所述的方法,其中所述靶细胞为在所述受试者中表达所述抗原的非恶性细胞或过度增殖细胞。

101.如权利要求75-100中任一项所述的方法,其中所述组合物还包含药学上可接受的载体。

102.如权利要求75-101中任一项所述的方法,其中所述组合物诱导大于单独任一TCR

的针对所述受试者中表达所述抗原的所述非恶性细胞或所述过度增殖细胞的免疫反应,任选其中所述免疫反应为协同反应。

103.如权利要求75-102中任一项所述的方法,其中所述组合物诱导针对所述受试者中表达所述抗原的所述非恶性细胞或所述过度增殖细胞的抗原特异性T细胞免疫反应。

104.如权利要求75-103中任一项所述的方法,其中所述抗原特异性T细胞免疫反应包含$CD4^+$辅助T淋巴细胞(Th)反应和CD8+细胞毒性T淋巴细胞(CTL)反应中的至少一者。

105.如权利要求75-104中任一项所述的方法,其中所述过度增殖性病症包含血液学恶性肿瘤或实体肿瘤。

106.如权利要求75-104中任一项所述的方法,其中所述非恶性病症为自体免疫病症,任选其中所述自体免疫病症为全身性硬化或多发性硬化。

107.如权利要求75-106中任一项所述的方法,其中所述受试者正在接受或先前接受了造血细胞移植(HCT),任选其中所述HCT包含不表达所述免疫原性抗原、不由如权利要求1-31中任一项的结合蛋白识别、不具有权利要求98中所列的血清型和/或不表达权利要求99中所列的HLA对偶基因的细胞。

108.如权利要求107所述的方法,其中所述HCT包含供体造血细胞,所述供体造血细胞包含编码HLA组分的基因的染色体剔除、编码TCR组分的基因的染色体剔除或两者。

109.如权利要求75-108中任一项所述的方法,所述方法还包括向所述受试者施用用于所述非恶性病症、所述过度增殖性病症或所述过度增殖性病症复发的至少一种其他治疗。

110.如权利要求75-109中任一项所述的方法,其中用于所述非恶性病症、所述过度增殖性病症或所述过度增殖性病症复发的所述至少一种其他治疗与所述组合物并行或依序施用。

111.如权利要求75-110中任一项所述的方法,其中所述受试者为以免疫原性抗原表达为特征的病症的动物模型和/或哺乳动物,任选其中所述哺乳动物为人、灵长类动物或啮齿动物。

多重T细胞受体组合物、组合疗法以及其用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2022年5月2日提交的美国临时申请序列号63/337,522;于2022年5月16日提交的美国临时申请序列号63/342,451;于2022年10月5日提交的美国临时申请序列号63/413,553;以及于2022年11月7日提交的美国临时申请序列号63/423,269的优先权权益;所述申请中的每一者的全部内容以全文引用的方式并入本文中。

发明内容

[0003] 本发明至少部分基于以下发现:组合识别超过一种抗原(例如相同标靶上的超过一种抗原和/或不同标靶上的超过一种抗原)的某些结合蛋白(包括T细胞受体(TCR))以及包含所述结合蛋白的工程化细胞可克服抗原异质性和/或人白血球抗原(HLA)杂合性丧失以治疗癌症,包括实体肿瘤。举例来说,基因工程化的T细胞情况下的过继性细胞转移(ACT)对于治疗癌症(诸如实体肿瘤)来说具有极大的前景,但一次仅靶向一种抗原,完全反应为罕见的并且常常因癌症相关抗原的非均质表达和HLA杂合性丧失而寿命较短。在多个靶抗原和/或HLA分子范围内的多重TCR-T细胞(TCR-T)疗法模拟天然寡克隆T细胞对癌症的反应并且提供一种解决一些与对过继细胞疗法的抗性相关的主要挑战的方式。作为非限制性代表性实例,使用两种TCR靶向具有非均质抗原表达的混合肿瘤细胞培养物实现协同细胞毒性。一个TCR-T/靶细胞对的存在增强另一TCR-T对其标靶的活性;此效应经由分泌的可溶性因子介导。结果证实,使用多重T细胞受体和相关组合物(例如多重TCR-T)可不仅通过单独靶向相同肿瘤中的不同靶细胞而且通过细胞因子介导的各T细胞的反应增强克服抗原异质性。令人意外的是,这些结果进一步意外地展示协同效应。

附图说明

[0004] 图1A至图1C表明,肿瘤间和肿瘤内标靶表达异质性为表达治疗性TCR的T细胞(TCR-T)疗法的临床挑战。提供了人黑素瘤肿瘤样品中的可变肿瘤间和肿瘤内抗原表达的实例。使用PRAME特异性抗体(粉色)和MAGEC2特异性抗体(蓝色)对人黑素瘤肿瘤微阵列进行免疫组织化学分析。在如图1A中所呈现的多个切片以及具有不同表达程度的以存在单一抗原为主的切片中观测到肿瘤内的非均质抗原表达(图1B和图1C)。

[0005] 图2A和图2B表明HLA杂合性丧失(LOH)为常见的并且突出了对多重TCR-T疗法的需要。图2A示出了非小细胞肺癌样品的代表性非限制性HLA LOH分析的结果,展示HLA-A*02:01对偶基因的克隆和部分LOH的广泛发生率。图2B表明单一疗法TCR-T经常导致部分反应和快速复发,这部分归因于靶抗原或HLA异质性。本文已开发并且描述一种多重化方法来解决此问题,从而改善长期缓解。

[0006] 图3A和图3B提供了一种用于克服标靶异质性的代表性非限制性多重化方法并且表明将TCR-T多重化具有协同抗肿瘤活性。图3A示出了Incucyte®NucLight红标记的HPV+(CaSki)和MAGEA1+(A101D)细胞系在存在HPV16 E7-TCR-T、MAGEA1-TCR-T或两种TCR-T的组合的情况下生长的结果。历经三天的时间使用Incucyte®分析对细胞生长进行评估。图3B

示也了如通过72小时时的细胞存活率百分比所计算在两种TCR之间观测到协同细胞毒性的结果。

[0007] 图4A至图4C还表明将TCR-T多重化因细胞因子介导的增强具有协同抗肿瘤活性。图4A示出了使用两种不同细胞系将肿瘤内标靶表达变异性模型化的示意图。图4B示出了将表达MAGEA1特异性TCR的T细胞与具有高MAGEA1表达的靶细胞系(A2058)共培养增强表达MAGEC2 TCR的T细胞针对具有中度MAGEC2表达的细胞系(SKMEL5)的细胞毒性的结果。图4C表明细胞毒性增加是由靶向MAGEA1的T细胞所分泌的可溶性因子驱动,这如所描述的说明性Transwell实验中所示导致靶向MAGEC2的T细胞的活化增加。

[0008] 图5A和图5B提供了一种用于选择患者和TCR-T的代表性非限制性筛选策略并且还说明了一种实现TCR-T的定制多重化的ImmunoBank策略。图5A示出了一种用于选择用于多重TCR-T疗法的患者和TCR-T的说明性筛选策略。在生殖系HLA基因型分型之后,使用许多熟知方法中的任一者(诸如免疫组织化学(IHC)或RNA原位杂交(ISH))针对标靶表达对患者肿瘤进行评估。还可通过基因组测序针对HLA LOH对肿瘤样品进行评估。如果观测到LOH,则选择靶向完整染色体臂上的2种不同HLA的TCR-T。如果未观测到LOH,则选择靶向相反染色体上的HLA的TCR-T。图5B表明针对个别癌症患者定制的TCR-T疗法将受益于构建识别呈现于不同HLA对偶基因(行中)上的不同标靶(列中)的治疗性TCR的ImmunoBank。通过在标靶与HLA两者上进行多重化,将此策略设计成防止抗性因标靶损失或HLA LOH而上升。

[0009] 图6提供了解决靶向单一HLA上的不同抗原的两种TCR-T疗法情况下的肿瘤内异质性的多重TCR-T治疗剂的代表性实例的汇总数据。使用对MAGE-A1和PRAME具特异性的抗体通过免疫组织化学对癌症相关蛋白MAGE-A1和PRAME的非均质表达进行评估。使用对呈现于HLA-A*02:01上的MAGE-A1源性表位具特异性的主导TCR以及对呈现于HLA-A*02:01上的PRAME源性表位具特异性的主导TCR。TCR在体外和体内展现高性能并且似乎对其相应肽/MHC标靶具高度选择性。所述图还展示了将MAGE-A1特异性TCR与PRAME特异性TCR组合来解决由体外与体内HLA-A*02:01阳性的表达MAGE-A1或PRAME的HEK293T细胞的混合物构成的肿瘤模型的价值。所述两种靶细胞子集经过荧光染料标记以使得能够进行流式细胞术分析。所用的HEK293T细胞还含有颗粒酶B活化的红外荧光蛋白(IFP)报告子以允许由TCR靶向的细胞发荧光。虽然使用单一TCR为次最佳的,因为它仅靶向一部分肿瘤细胞,而不靶向不能由TCR识别的细胞的子集,但是将两种TCR组合使得同时杀伤两种癌细胞子集。通过在治疗性TCR的ImmunoBank中累积识别来自多种癌症相关蛋白质的不同表位并且定址不同HLA对偶基因的有效的并且具选择性的治疗性TCR,使得能够基于患者肿瘤的生物学形成定制TCR组合来作出治疗决策。

[0010] 图7示出了多重TCR-T治疗作用机制的代表性展示。

[0011] 图8A至图8E示出了用于确定TCR-T细胞介导的杀伤作用的代表性流式细胞术门控策略。将三个代表性批次的单重TSC-204-A0201或TSC-204-C0702和多重T-Plex-204-A0201/C0702 TCR-T细胞与靶细胞群体共培养约20小时,所述靶细胞群体由HLA-A*02:01剔除的U266B1(“C7标靶”,CFSE标记的)和HLA-C*07:02剔除的U266B1(“A2标靶”,CellTrace™紫标记的)的平衡混合物组成。通过流式细胞术分析来自共培养中的不同子集(效应子、A2标靶以及C7标靶)的残余细胞的细胞活力(显示使用来自代表性批次的T-Plex-204-A0201/C0702 TCR-T细胞获得的代表性数据)。由FSC-A与SSC-A点图对细胞进行门控(图8A)并且使

用CellTrace™CFSE与CellTrace™紫绘图区分亚群(图8B)。在相较于事件的LIVE/DEAD™的直方图中鉴定各亚群的活细胞(图8C至图8E)。

[0012] 图9示出了与单重(TSC-204-A0201或TSC-204-C0702)或多重(T-Plex-204-A0201/204-C0702)TCR-T细胞共培养的非均质肿瘤模型(U266B1 HLA-A*02:01KO与U266B1 HLA-C*07:02KO组合)中靶细胞的活力的代表性展示。将U266B1 HLA-C*07:02KO和U266B1HLA-A*02:01KO靶细胞荧光条码化,将各自的等分试样指定为对照,然后将剩余部分组合以形成平衡非均质标靶。将三个批次的单一TCR-T细胞剂("单重")、TSC-204-A0201或TSC-204-C0702以及多重T-Plex-204-A0201/C0702 TCR-T细胞与非均质靶细胞或仅单一靶细胞(对照)共培养。通过流式细胞术分析来确定条码化的靶细胞的数目和其活力。针对绝对计数珠粒将各标靶的活细胞计数标准化,然后作图。类似地,将各标靶的活力百分比作图以确定T-Plex介导的杀伤作用。每对框示数据的左侧框表示U266B1 HLA-C7 KO细胞的数据并且每对框示数据的右侧框表示U266B1 HLA-A2 KO细胞的数据。

具体实施方式

[0013] 本发明至少部分基于以下发现:组合识别超过一种抗原(例如相同标靶上的超过一种抗原和/或不同标靶上的超过一种抗原)的某些结合蛋白(包括T细胞受体(TCR))以及包含所述结合蛋白的工程化细胞可克服抗原异质性和/或人白血球抗原(HLA)杂合性丧失以治疗癌症,包括实体肿瘤。

[0014] 因此,本发明部分关于经过鉴定的结合蛋白(例如TCR)、表达结合蛋白(例如TCR)的宿主细胞、包含结合蛋白(例如TCR)的组合物以及表达结合蛋白(例如TCR)的宿主细胞、诊断、预测以及监测T细胞对表达所关注的抗原和/或标靶的细胞的反应的方法以及用于预防和/或治疗以所关注的抗原和/或标靶的表达为特征的非恶性病症、过度增殖性病症或过度增殖性病症复发的方法,所述方法通过直接施用两种或更多种结合蛋白或施用提供所述两种或更多种结合蛋白的组合物,诸如包含两种或更多种结合蛋白的单一组合物、包含编码两种或更多种结合蛋白(例如TCR)的核酸和/或载体的单一组合物、包含表达两种或更多种结合蛋白(例如TCR)的宿主细胞类型的单一组合物、其中每一者包含至少一种结合蛋白(例如TCR)的两种或更多种组合物的组合、其中每一者包含编码至少一种结合蛋白(例如TCR)的核酸和/或载体的两种或更多种组合物的组合、其中每一者包含表达至少一种结合蛋白(例如TCR)的宿主细胞的两种或更多种组合物的组合等来进行。施用可为并行或依序施用单一组合物或组合物的组合。两种或更多种结合蛋白可为2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多种结合蛋白或其间的任何范围(包括端点),诸如2-5种结合蛋白、2-4种结合蛋白、2-3种结合蛋白等。在一些实施方案中,使用主动的靶基因表达分析、HLA杂合性丧失(LOH)和/或HLA分型的步骤来选择适合的受试者,以确定与TCR结合至所需MHC:肽(pMHC)复合物的相容性和预期治疗功效。本文例示了许多代表性非限制性组合并且本文所描述的任何剂的任何组合均涵盖于组合物和其用途中并且由本发明涵盖。

[0015] 此外,如下文和工作实施例中进一步描述,除如本文所描述的结合蛋白外,本发明所涵盖的宿主细胞可编码和/或表达与结合蛋白或其组分相同的多核苷酸或不同的多核苷酸上的可用辅助蛋白。举例来说,宿主细胞可编码和/或表达TCRα、TCRβ、CD8α、CD8β、DN-TGFβR(例如DN-TGFβRII)和/或可选蛋白质标记物,任选其中可选蛋白质标记物为DHFR。

[0016] 术语“显性负性TGFβ受体”或“DN-TGFβR”是指提供对TGFβ信号传导的抗性的转化生长因子(TGF)β受体变体或突变体。存在五种I I型受体(活化受体)和七种I型受体(信号传播受体)。活性TGFβ受体为由两个TGFβ受体I(TGFβRI)和两个TGFβ受体II(TGFβRII)组成的杂四聚体。在一些实施方案中,DN-TGFβR为DN-TGFβRII(即T GFβ受体II变体或突变体)。在一些实施方案中,抗性是针对免疫细胞(诸如T细胞)上的TGFβ信号传导的抑制性效应,所述TGFβ可由癌细胞或由细胞环境内的其他免疫细胞,诸如由基质细胞、巨噬细胞、髓样细胞、上皮细胞、自然杀手细胞等产生。TGFβ信号传导抑制剂为本领域中熟知的并且包括但不限于螯合受体并且从而抑制信号传导的突变体TGFβ、结合至TGFβ和/或TGFβ受体的抗体(例如乐德木单抗(lerdelimumab)、美替木单抗(metlimumab)、非苏木单抗(fressolim umab)等)、可溶性TGFβ结合蛋白,诸如TGFβ受体中螯合TGFβ的部分(例如TGFβRII-Fc融合蛋白)或其他结合剂,诸如β-聚糖。可替代地或除本文所描述的DN-TGFβR(例如DN-TGFβRII)外使用任何以及所有已知TGFβ信号传导抑制剂。在一些实施方案中,DN-TGFβR缺乏TGFβ介导的信号传导所需的细胞内部分,诸如整个细胞内结构域、激酶信号传导结构域等。DN-TGFβR构建体为本领域中熟知的(参见Brand等(1993)J.Biol.Chem.268:11500-11503;Weiser等(1993)Mol.Cell Biol.13:7239-7247;Bollard等(2002)Blood 99:3179-3187;PCT公布WO 2009/152610;PCT公布WO 2017/156484;Kloss等(2018)Mol.Ther.26:1855-1866;PCT公布WO.2019/089884;PCT公布WO 2020/042647;以及PCT公布WO 2020/042648的代表性非限制性实施方案)

[0017] 实施例

[0018] 实施例1:用于实施例2的材料和方法

[0019] a.将HPV和MAGE-A1 TCR多重化

[0020] (i)对T细胞进行工程化以表达HPV16-$E7_{11-19}$特异性或MAGE-$A1_{290-297}$ TCR

[0021] 使用StraightFrom® Leukopak®CD3微珠试剂盒(Miltenyi Biotec)根据制造商的方案从Leukopak分离原代CD3+ T细胞。将分离的细胞冷冻于CryoStor®CS10(Stem Cell Technologies)中并且储存在液氮中直到使用。在第-1天,将CD3+ T细胞解冻,用完全T细胞培养基(补充有10%热灭活胎牛血清(FBS)、100IU/mL青霉素、100μg/mL链霉素、重组人IL-2[50U/mL,PeproTech,Cranbury,NJ]、重组人IL-15[5ng/mL,R&D Systems]以及重组人IL-7[5ng/mL,(R&D Systems]的RPMI 1640)洗涤。在第0天,将CD3+ T细胞洗涤并且再悬浮于新鲜T细胞培养基中并且使用ImmunoCult™人CD3/CD28/CD2 T细胞活化剂(每1x10^6个CD3+ T细胞5μL,Stem Cell Technologies)活化。在第1天,将细胞洗涤并且再悬浮于新鲜完全T细胞培养基中,并且以每孔1x10^6个细胞进行涂铺。将三个重复孔用慢病毒粒子转导以表达HPV或MAGE-A1 TCR。在第2天,将细胞洗涤,将三份再悬浮并且组合于新鲜完全T细胞培养基中,并且在G-Rex®6孔板(Wilson Wolf)的1个孔中进行扩增,直到第5天。在第5天,收获细胞,并且在4C下持续30分钟使用CD34磁性珠粒(Miltenyi)在EasySep缓冲液(StemCell Inc)和FcBlock溶液中将细胞浓度调节至每毫升100x10^6个CD3+ T细胞,用EasySep缓冲液洗涤,并且使用QuadroMACS®分离器和LS柱(Miltenyi)分离。将分离的细胞洗涤并且再悬浮于新鲜完全T细胞培养基中并且在G-Rex®10烧瓶(Wilson Wolf)中扩增,直到第12天,此时将细胞在CryoStor®CS10中冷冻并且储存在液氮下直到使用。

[0022] b.将MAGE-C2和MAGE-A1 TCR多重化

[0023] (i)对T细胞进行工程化以表达MAGE-$C2_{184-192}$或MAGE-$A1_{290-297}$TCR

[0024] 使用StraightFrom® Leukopak®CD8微珠试剂盒(Miltenyi Biotec)根据制造商的方案分离原代CD8+ T细胞。将分离的细胞在CryoStor®CS10(Stem Cell Technologies)中冷冻并且储存在液氮中直到使用。在第-1天,将CD8+ T细胞解冻,用完全T细胞培养基(补充有10%热灭活胎牛血清(FBS)、100IU/mL青霉素、100μg/mL链霉素、重组人IL-2[50U/mL,PeproTech,Cranbury,NJ]、重组人IL-15[5ng/mL,R&D Systems]以及重组人IL-7[5ng/mL,(R&D Systems]的RPMI 1640)洗涤。在第0天,将CD8+ T细胞洗涤并且再悬浮于新鲜T细胞培养基中并且使用ImmunoCult™人CD3/CD28/CD2 T细胞活化剂(每1x10^6个CD8+ T细胞5μL,Stem Cell Technologies)活化。在第1天,将细胞洗涤并且再悬浮新鲜完全T细胞培养基中,并且以每孔1x10^6个细胞涂铺于9个孔中。将各个孔一式三份地用慢病毒粒子转导以表达MAGE-C2或MAGE-A1或维持为非转导供体对照。在第2天,将细胞洗涤,将三份组合,并且再悬浮于新鲜完全T细胞培养基中并且在G-Rex®6孔板(Wilson Wolf)中扩增,直到第5天。在第5天,收获细胞,并且在MACS®操作缓冲液(Miltenyi)中将细胞浓度调节至每毫升100x10^6个CD8+ T细胞并且在室温下以1:50稀释度添加抗mTCR生物素抗体(BioLegend)持续10分钟,然后用MACS®操作缓冲液洗涤。以1:5稀释度添加抗生物素微珠(Miltenyi),并且在室温下孵育10分钟。将细胞用MACS®操作缓冲液洗涤并且再悬浮于MACS®操作缓冲液中以便使用QuadroMACS®分离器和LS柱(Miltenyi)进行人工磁力分离。将分离的细胞洗涤并且再悬浮于新鲜完全T细胞培养基中并且在G-Rex®10烧瓶(Wilson Wolf)中扩增,直到第12天,此时将细胞在CryoStor®CS10中冷冻并且储存在液氮下直到使用。

[0025] (ii)细胞系

[0026] 从美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection,ATCC,Manassas,VA)购得表皮样癌细胞系CaSki(ATCC CRL-1550)和黑素瘤细胞系A101D(ATCC CRL-7898)、SK-MEL-5(ATCC HTB-70)以及A2058(ATCC CRL-11147)。将CaSki细胞在含有10%热灭活FBS和1%青霉素-链霉素[Thermo Fisher Scientific]的RPMI 1640中培养。将A101D和A2058细胞维持在含有10%热灭活FBS和1%青霉素-链霉素[Thermo Fisher Scientific]的DMEM中并且将SK-MEL-5细胞在含有10%热灭活FBS和1%青霉素-链霉素[Thermo Fisher Scientific]的EMEM中培养。

[0027] (iii)产生表达*Incucyte*®Nuclight红的稳定细胞系

[0028] 将CaSki、A101D以及SK-MEL-5细胞用Incucyte®NucLight红慢病毒试剂(EF-1α启动子,嘌呤霉素选择)(Sartorius)转导。转导后24小时,将细胞洗涤并且再悬浮于其相应细胞系培养基中并且在37℃,5%CO_2下培养。转导后2-3天,将嘌呤霉素(Gibco,Waltham,MA)以预定浓度(在0.5ug/mL至1ug/mL范围内)添加至培养物中以选择转导的细胞。在嘌呤霉素选择下使培养物扩增直到其如通过流式细胞术分析所确定为至少90% Incucyte® Nuclight红阳性。

[0029] (iv)体外细胞毒性分析

[0030] 在未涂布聚L-鸟氨酸的情况下在96孔平底组织培养板中进行体外细胞毒性分析;

在此涂铺粘附细胞并且允许其在添加T细胞前一天附着。在有指示时,以所指示的E:T比率将T细胞与表达Incucyte®Nuclight红的CaSki、A101D或SK-MEL-5细胞共培养。在Incucyte®S3仪器(Sartorius)上获得数据,并且在Incucyte®S3上定量靶细胞生长作为T细胞细胞毒性的读数。

[0031] (v)Transwell T细胞活化分析

[0032] 根据制造商的说明书使用具有1.0-μm孔聚碳酸酯膜插入物(Sigma-Aldrich# CLS3392)的Corning®HTS Transwell®-96可渗透支撑物。将A101D黑素瘤细胞接种于上部腔室中,同时将SK-MEL-5黑素瘤细胞接种于下部腔室中并且允许两种细胞系粘附过夜。第二天,将MAGEA1 TCR工程化的CD8+ T细胞与上部腔室中的A101D细胞共培养,同时将MAGEC2 TCR工程化的CD8+ T细胞与下部腔室中的SK-MEL-5细胞以1:2E:T比率共培养并且在5% CO_2下在37℃下孵育48小时。在孵育之后,收集细胞用于通过用针对T细胞活化标记物的抗体染色来进行评估。简单地说,将T细胞用PE-标记的抗CD137和AF647-标记的抗CD69(BioLegend)染色,洗涤,然后在CytoFLEX流式细胞仪(Beckman Coulter)上分析CD137和CD69双阳性细胞。

[0033] 实施例2:代表性非限制性组合疗法实施例

[0034] 基因工程化的T细胞情况下的过继性细胞转移对治疗实体肿瘤来说具有极大的前景。迄今为止,TCR工程化T细胞疗法的临床研究一次靶向一种抗原并且已产生在30-50%范围内的令人鼓舞的反应率。不幸的是,完全反应为罕见的,并且反应常常寿命较短。据信存在两个与单抗原靶向TCR-T细胞疗法相关的主要挑战。

[0035] 首先,大多数癌症相关抗原的表达为非均质的。在一个代表性非限制性实例中,使用两种癌症生殖系抗原MAGE-C2和PRAME进行多重免疫组织化学分析,并且在来自不同实体肿瘤类型的样品间观测到相当大的异质性(图1A至图1C)。另外,在单细胞层面(并非表达各抗原的给定肿瘤内的每个癌细胞),观测到非均质抗原表达(图1A至图1C)。这表明单一TCR可能不足以消除给定肿瘤内的所有癌细胞,从而允许缺乏经过处理的抗原的肿瘤细胞逃脱并且驱使复发。

[0036] 其次,单一剂TCR-T细胞疗法仅靶向单一HLA对偶基因,所述单一HLA对偶基因通过通常观测到的HLA杂合性丧失(LOH)机制经历损失(图2A和图2B)。在所有实体肿瘤中已有17%观测到克隆HLA I类LOH(Montesion等,Cancer Discovery,2021)并且在甚至更大百分比的肿瘤中出现亚克隆HLA LOH。

[0037] 多重TCR-T细胞疗法模拟天然寡克隆T细胞对癌症的反应并且提供了一种解决两种与治疗实体肿瘤相关的挑战的方式。

[0038] 使用TScan的专有ReceptorScan和TargetScan平台,发现用于TCR-T细胞疗法的多种TCR,诸如HPV16 E7特异性、MAGEA1特异性以及MAGEC2特异性TCR。

[0039] 在一个代表性非限制性实例中,使用直接和间接共培养实验对两种先导TCR(MAGE-A1和HPV)、较低亲和力TCR(MAGE-C2)以及表达其同源抗原的靶细胞系进行多重化,以评估使用超过一种TCR来靶向肿瘤的潜在协同作用,以及理解此类协同作用后的生物机制。图1A至图5B中示出了材料和方法以及结果。简单来说,使用两个独特TCR:抗原对将体外多重T细胞介导的癌症杀伤作用和异质性模型化。此外,用于产生图3中所示的数据的载体表达CD8共受体,而用于产生图4中所示的数据的载体未表达CD8共受体,不过它具有小鼠

TCR恒定区。

[0040] 在一种代表性情况下,测试了两种高亲和力TCR-T的多重化(即,一种名为TCR E7-11-28(也称为TCR28或28;参见表1),靶向HPV16-E7的HLA-A*02:01限制性表位;并且第二种名为TCR-204-C07(也称为TCR 32-41、TCR-204-C7以及TCR-204-C0702;参见表1),靶向MAGE-A1的HLA-C*07:02限制性表位。对全T细胞进行转导并且进行选择以表达相关TCR(HPV或MAGE-A1),并且在一些情况下,表达CD8共受体。靶细胞为两种细胞系的混合物,所述两种细胞系各自仅表达两种抗原中的一者。CaSki宫颈癌细胞为A*02:01+并且HPV+的。A101D黑素瘤细胞为C*07:02+并且MAGE-A1+的。对两种细胞系进行工程化以表达Incucyte® NucLight红并且混合在一起以模拟肿瘤异质性。将工程化T细胞或非工程化供体对照T细胞(对照TCR-T)与Incucyte®NucLight红标记的靶细胞系以所指示的效应细胞与靶细胞(E:T)比率共培养,并且在IncuCyte®上定量其存活率作为T细胞的细胞毒性的读数。尽管72h时个别TCR-T引起约50-60%的细胞杀伤作用,但在相同的总效应子与标靶(E:T)比率下两种TCR-T的1:1混合物产生约80%的细胞杀伤作用,指示协同效应(图3A和图3B)。

[0041] 在另一代表性情况下,测试对针对MAGE-A1的高亲和力TCR-T与针对MAGE-C2的低亲和力TCR-T进行多重化。TCR-204-C07(也称为TCR 32-41、TCR-204-C7以及TCR-204-C0702;参见表1)为天然存在的高亲和力TCR,所述天然存在的高亲和力TCR识别MAGEA1的HLA-C*07:02限制性表位并且展现对表达MAGEA1的细胞系的稳健杀伤作用。TCR-LD8-3为低亲和力TCR,所述低亲和力TCR识别MAGEC2的HLA-B*07:02限制性表位(也称为TCR 8-3;参见表1)(图4A)。使用编码为获得更好的表达而HM密码子优化的TCR的慢病毒载体来转导CD8+T细胞。基于相关TCR(MAGE-A1或MAGE-C2)的表达选择经过转导的细胞。靶细胞为表达MAGE-A1或表达MAGE-C2的细胞的混合物。A2058与SK-MEL-5细胞均为黑素瘤细胞系,所述黑素瘤细胞系为C*07:02+并且B*07:02+的,然而A2058细胞仅高度表达MAGE-A1并且SK-MEL-5细胞仅适度表达MAGE-C2。先前发现,虽然MAGE-C2 TCR-T细胞有效杀伤以高水平表达MAGEC2的A101D细胞,但它对杀伤以较低水平表达MAGEC2的SK-MEL-5细胞无效。为确定当与更具细胞毒性的TCR多重化时MAGE-C2 TCR-T细胞的细胞毒性活性是否会增强,进行了共培养实验。将经过工程化以表达Incucyte®NucLight红的SK-MEL-5细胞与未标记的A2058细胞混合在一起,使得在IncuCyte®上定量的活性将仅反映对SK-MEL-5细胞的细胞毒性。以所指示的效应细胞与靶细胞(E:T)比率将工程化T细胞或非工程化供体对照T细胞(未转导T细胞)与靶细胞系共培养,并且在IncuCyte®上定量其存活率作为T细胞的细胞毒性的读数。虽然通过单一MAGE-C2 T细胞观测到SK-MEL-5的低水平杀伤作用,但当MAGE-C2与MAGE-A1 T细胞组合时,MAGE-C2 TCR的细胞毒性活性协同地增强。因此,虽然单独MAGE-C2 TCR-T展示MAGE-C2阳性细胞的部分杀伤作用,但添加MAGE-A1 TCR-T协同地增强MAGE-C2 TCR-T的活性(图4B)。

[0042] 为探索此协同活性的机制,使用Corning®HTS Transwell®系统。选择具有1.0μm孔聚酯膜transwell系统的HTS Transwell-96可渗透支撑物以允许可溶性因子在两个细胞区室(上部腔室与下部腔室)之间扩散,但细胞不扩散。将A101D黑素瘤细胞接种于上部腔室中,同时将SK-MEL-5黑素瘤细胞接种于下部腔室中并且允许两种细胞系附着过夜。第二天,将MAGEA1 TCR工程化的CD8+ T细胞与上部腔室中的A101D细胞共培养,而将MAGEC2 TCR工

程化的CD8+ T细胞与下部腔室中的SK-MEL-5细胞以1:2E:T比率共培养。48小时之后,收集来自任一腔室的细胞用于通过用针对T细胞活化标记物的抗体染色进行评估。简单地说,将T细胞用PE-标记的抗CD137和AF647-标记的抗CD69(BioLegend)染色,洗涤,然后在CytoFLEX流式细胞仪(Beckman Coulter)上分析CD137和CD69双阳性细胞。使用transwell培养系统,发现MAGE-A1 TCR-T分泌的细胞因子在抗原接合后极大地增强MAGE-C2 TCR-T细胞的T细胞活化(图4C)。这些发现表明,多重TCR-T可不仅通过独立靶向不同癌细胞群体而且通过细胞因子介导的T细胞增强来克服抗原异质性。令人意外的是,这些结果意外地证实了协同效应。

[0043] 这些结果适合于临床应用。举例来说,为解决临床中的实体肿瘤异质性,设计了一种说明性筛选策略以测试患者肿瘤的抗原阳性和HLA LOH(图5A)。此外,识别呈现于不同HLA对偶基因上的不同标靶的治疗性TCR的ImmunoBank。据信选择靶向完整抗原和患者肿瘤中的HLA对偶基因的多重TCR-T协同地克服实体肿瘤异质性。正在进行其他体内研究以进一步证实多重TCR-T细胞疗法的协同效应并且正在设计临床试验以进一步证实临床协同效应。

[0044] 因此,本实施例提供了可用于多重TCR-T细胞疗法的组合物和方法,所述组合物和方法包括抗MAGE-A1和抗HPV TCR的组合或抗MAGE-A1和抗MAGE-C2 TCR的组合,以及表达所述组合的工程化细胞。不希望受任何特定科学理论束缚,本实施例还包括多重TCR-T细胞疗法模拟天然寡克隆T细胞对癌症的反应。多重TCR-T细胞疗法(诸如上文所描述的组合)提供了解决与治疗实体肿瘤相关的某些挑战的方法和组合物。

[0045] 可使用多种分析来证实多重TCR-T细胞疗法(诸如上文所描述的组合)的功效。在一个代表性非限制性实例中,使用直接和间接共培养实验对抗MAGE-A1和抗HPV TCR的组合或抗MAGE-A1和抗MAGE-C2 TCR的组合以及表达其同源抗原的一个或多个靶细胞系进行多重化,以评估使用超过一种TCR来靶向肿瘤的潜在协同作用,以及理解此类协同作用后的生物机制。可使用此分析对包括所关注的TCR组合的多重TCR-T细胞疗法的多重T细胞介导的体外癌症杀伤作用和异质性进行模型化。

[0046] 在一种代表性情况下,可使用和/或测试诸如通过使用表达(i)靶向MAGE-A1的HLA-C*07血清型限制性表位的抗MAGE-A1 TCR(表3A)以及(ii)靶向HPV16 E7的HLA-A*02血清型限制性表位的抗HPV16 E7 TCR(表3C)的工程化细胞对此类TCR的多重化。

[0047] 在另一代表性情况下,可使用和/或测试诸如通过使用表达(i)靶向MAGE-A1的HLA-C*07血清型限制性表位的抗MAGE-A1 TCR(表3A)以及(ii)靶向MAGE-C3的HLA-B*07血清型限制性表位的抗MAGE-C3 TCR(表3B)的工程化细胞对此类TCR的多重化。

[0048] 本发明所涵盖的单独抗MAGE-A1 TCR、抗HPV TCR、抗MAGE-C2 TCR和/或抗PRAME TCR或它们的任何组合可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)以下的TCR:a)与选自由本文所提供的表格中所列的TCRα序列组成的组的TCRα链序列具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更大同一性的TCRα链序列;和/或b)与选自由本文所提供的表格中所列的TCRβ链序列组成的组的TCRβ链序列具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更大同一性的TCRβ链序列。

[0049] 本发明所涵盖的单独抗MAGE-A1 TCR、抗HPV TCR、抗MAGE-C2 TCR和/或抗PRAME TCR或它们的任何组合可为包括以下(例如包含、基本上由其组成或由其组成)以下的TCR:a)选自由本文所提供的表格中所列的TCRα链序列组成的组的TCRα链序列;和/或b)选自由本文所提供的表格中所列的TCRβ链序列组成的组的TCRβ链序列。

[0050] 本发明所涵盖的单独抗MAGE-A1 TCR、抗HPV TCR、抗MAGE-C2 TCR和/或抗PRAME TCR或它们的任何组合可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)以下的TCR:a)与选自由本文所提供的表格中所列的TCR V_{α}结构域序列组成的组的TCRα链可变(V_{α})结构域序列具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更大同一性的TCRα链可变(V_{α})结构域序列;和/或b)与选自由本文所提供的表格中所列的TCR V_{β}结构域序列组成的组的TCRβ链可变(V_{β})结构域序列具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更大同一性的TCRβ链可变(V_{β})结构域序列。

[0051] 本发明所涵盖的单独抗MAGE-A1 TCR、抗HPV TCR、抗MAGE-C2 TCR和/或抗PRAME TCR或它们的任何组合可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)以下的TCR:a)选自由本文所提供的表格中所列的TCR V_{α}结构域序列组成的组的TCRα链可变(V_{α})结构域序列;和/或b)选自由本文所提供的表格中所列的TCR V_{β}结构域序列组成的组的TCRβ链可变(V_{β})结构域序列。

[0052] 本发明所涵盖的单独抗MAGE-A1 TCR、抗HPV TCR、抗MAGE-C2 TCR和/或抗PRAME TCR或它们的任何组合可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)以下的TCR:至少一个(例如一个、两个或三个,诸如单独或与CDR1和CDR2组合的CDR3)与选自由本文所提供的表格中所列的TCRα链CDR序列组成的组的TCRα链CDR序列具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更大同一性的TCRα链互补决定区(CDR)序列。据信CDR3为负责识别经过加工的抗原的主要CDR并且CDR1和CDR2主要与MHC相互作用,因此,在一些实施方案中,提供了包含来自TCRα链的单独CDR3和/或来自本文所提供的表格中所列的TCRβ链的单独CDR3的结合蛋白,各CDR3具有如本实施例中所叙述的序列同源性。

[0053] 本发明所涵盖的单独抗MAGE-A1 TCR、抗HPV TCR、抗MAGE-C2 TCR和/或抗PRAME TCR或它们的任何组合可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)至少一个(例如一个、两个或三个,诸如单独或与CDR1和CDR2组合的CDR3)与选自由本文所提供的表格中所列的TCRβ链CDR序列组成的组的TCRβ链CDR序列具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更大同一性的TCRβ链互补决定区(CDR)序列的TCR。如上文所描述,据信CDR3为负责识别经过加工的抗原的主要CDR并且CDR1和CDR2主要与MHC相互作用,因此,在一些实施方案中,提供了包含来自TCRβ链的单独CDR3和/或来自本文所提供的表格中所列的TCRα链的单独CDR3的结合蛋白,各CDR3具有如此实施例中所叙述的序列同源性。

[0054] 本发明所涵盖的TCR(单独抗MAGE-A1 TCR、抗HPV TCR、抗MAGE-C2 TCR和/或抗PRAME TCR或它们的任何组合)可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)至少一个(例如一个、两个或三个))本文所提供的表格中所列的TCRα链互补决定区(CDR)的TCR。

[0055] 本发明所涵盖的单独抗MAGE-A1 TCR、抗HPV TCR、抗MAGE-C2 TCR和/或抗PRAME TCR或它们的任何组合可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)至少一个(例如一个、两个或三个))本文所提供的表格中所列的TCRβ链互补决定区(CDR)的TCR。

[0056] 本发明所涵盖的单独抗MAGE-A1 TCR、抗HPV TCR、抗MAGE-C2 TCR和/或抗PRAME TCR或它们的任何组合可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)与本文所提供的表格中所列的TCR Cα序列具有至少约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或更大同一性的TCRα链恒定区(C_α)序列的TCR。

[0057] 本发明所涵盖的单独抗MAGE-A1 TCR、抗HPV TCR、抗MAGE-C2 TCR和/或抗PRAME TCR或它们的任何组合可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)与本文所提供的表格中所列的TCR C_β序列具有至少约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或更大同一性的TCRβ链恒定区(C_β)序列的TCR。

[0058] 本发明所涵盖的单独抗MAGE-A1 TCR、抗HPV TCR、抗MAGE-C2 TCR和/或抗PRAME TCR或它们的任何组合可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)选自由本文所提供的表格中所列的TCR C_α序列组成的组的TCRα链恒定区(C_α)序列的TCR。

[0059] 本发明所涵盖的单独抗MAGE-A1 TCR、抗HPV TCR、抗MAGE-C2 TCR和/或抗PRAME TCR或它们的任何组合可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)选自由本文所提供的表格中所列的TCR C_β序列组成的组的TCRβ链恒定区(C_β)序列的TCR。

[0060] 表1:代表性TCR序列

[0061]

MAGEA1 TCR 32-41 野生型序列 α链: TRAV27/TRAJ52/TRAC	α链 DNA 序列 ATGGTCCTGAAATTCTCCGTGTCCATTCTTTGGATT CAGTTGGCATGGGTGAGCACCCAGCTGCTGGAGC AGAGCCCTCAGTTTCTTAGCATCCAAGAGGGAGA AAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCA**AGTGTTT** **TCTCCAGC**CTTCAATGGTACAGACAGGAGCCTGG GGAAGGTCCTGTCCTCCTGGTGACA**GTTGTTACT** **GGTGGAGAA**GTGAAGAAGCTGAAGAGACTTACC TTTCAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCT CCACATCACTGCAGCCCAGCCTGGTGATACAGGC CTCTACCTC**TGTGCAGGAGATGAAAGTATTAGC** **TATGGAAAGCTGACATTT**GGACAAGGGACCATC TTGACTGTCCATCCAAatatccagaaccctgaccctgccgtgtacca gctgagagactctaaatccagtgacaagtctgtctgcctattcaccgattttgattctc aaacaaatgtgtcacaaagtaaggattctgatgtgtatatcacagacaaaactgtgct agacatgaggtctatggacttcaagagcaacagtgctgtggcctggagcaacaaa tctgactttgcatgtgcaaacgccttcaacaacagcattattccagaagacaccttctt ccccagcccagaaagttcctgtgatgtcaagctggtcgagaaaagctttgaaacag atacgaacctaaactttcaaaacctgtcagtgattgggttccgaatcctcctcctgaa agtggccgggtttaatctgctcatgacgctgcggctgtggtccagc (SEQ ID NO: 1)
	α链蛋白质序列 MVLKFSVSILWIQLAWVSTQLLEQSPQFLSIQEGENL TVYCNSS**SVFSS**LQWYRQEPGEGPVLLVT**VVTGGE** **V**KKLKRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYL**CA** **GDESISYGKLTF**GQGTILTVHPNiqnpdpavyqlrdskssdks vclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfaca nafnnsiipedtffpspesscdvklveksfetdtnlnfqnlsvigfrilllkvagfnll mtlrlwss (SEQ ID NO: 2)
MAGEA1 TCR 32-41 野生型序列 β链: TRBV12-4/TRBJ1-	β链 DNA 序列 ATGGGCTCCTGGACCCTCTGCTGTGTGTCCCTTTG CATCCTGGTTGCAAAGCACACAGATGCTGGAGTT ATCCAGTCACCCCGGCACGAGGTGACAGAGATGG GACAAGAAGTGACTCTGAGATGTAAACCAATT**TC** **AGGACATGACTAC**CTTTTCTGGTACAGACAGACC

[0062]

4/TRBC1	ATGATGCGGGGACTGGAGTTGCTCATTTAC**TTTAA CAACAACGTTCCT**ATTGATGATTCAGGGATGCCC GAGGATCGCTTCTCAGCTAAGATGCCTAATGCATC ATTCTCCACTCTGAAGATCCAGCCCTCAGAACCCA GGGACTCAGCTGTGTACTTC**TGTGCCAGCAGTTT TCTCGGCTGGAATGAAAAACTGTTCTTT**GGCAG TGGAACCCAGCTCTCTGTCTTGGaggacctgaacaaggtgtt cccacccgaggtcgctgtgtttgagccatcagaagcagagatctcccacacccaa aaggccacactggtgtgcctggccacaggcttcttccctgaccacgtggagctga gctggtgggtgaatgggaaggaggtgcacagtggggtcagcacggacccgcag cccctcaaggagcagcccgccctcaatgactccagatactgcctgagcagccgc ctgagggtctcggccaccttctggcagaaccccgcaaccacttccgctgtcaagt ccagttctacgggctctcggagaatgacgagtggacccaggatagggccaaacc cgtcacccagatcgtcagcgccgaggcctggggtagagcagactgtggctttacc tcggtgtcctaccagcaaggggtcctgtctgccaccatcctctatgagatcctgcta gggaaggccaccctgtatgctgtgctggtcagcgcccttgtgttgatggccatggt caagagaaaggatttc (SEQ ID NO: 3)
	β链蛋白质序列 MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMG QEVTLRCKPI**SGHDY**LFWYRQTMMRGLELLIY**FNN NVP**IDDSGMPEDRFSAKMPNASFSTLKIQPSEPRDSA VYF**CASSFLGWNEKLFF**GSGTQLSVLEdlnkvfppevav fepseaeishtqkatlvclatgffpdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeqp alndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivs aeawgradcgftsvsyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf (SEQ ID NO: 4)
MAGEA1 TCR 32-41 HM 密码子优化序列 注：在图 4 中此克隆以 MAGEA1 TCR 与 MAGEC2 TCR 的多重物的形式使用。另外，此实验中使用单独 TCR 载体，使得没有其他元件(例如不表达 CD8α/β 共受体、DN-TGFBRII 等)。图 3 中所示的数据使用 HM 版本的序列产生。 α 链: TRAV27/TRAJ52/密码子优化小鼠 TRAC	α链 DNA 序列 ATGGTCCTGAAATTCTCCGTGTCCATTCTTTGGATT CAGTTGGCATGGGTGAGCACCCAGCTGCTGGAGC AGAGCCCTCAGTTTCTTAGCATCCAAGAGGGAGA AAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCA**AGTGTTT TCTCCAGC**CTTCAATGGTACAGACAGGAGCCTGG GGAAGGTCCTGTCCTCCTGGTGACA**GTTGTTACT GGTGGAGAA**GTGAAGAAGCTGAAGAGACTTACC TTTCAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCT CCACATCACTGCAGCCCAGCCTGGTGATACAGGC CTCTACCTC**TGTGCAGGAGATGAAAGTATTAGC TATGGAAAGCTGACATTT**GGACAAGGGACCATC TTGACTGTCCATCCAAacattcaaaacccagaacccgccgtctacc agctgaaagacccgaggtctcaagactctacgttgtgcttgttcaccgatttcgaca gtcagataaatgtgcctaagaccatggagagtggcactttcatcactgacaaatgtg tgttggacatgaaggctatggacagcaagtcaaacggcgcgattgcttggtccaac caaacttctttcacgtgccaggacatcttcaaggagacaaacgccacctatccatcc tctgatgttccgtgcgatgcgactcttaccgagaaaagcttcgagacggacatgaa cttgaacttccaaaacctgcttgtgatggtactgcgaatacttcttcttaaggtggcgg gcttcaatttgctcatgacactcagactttggtctagc (SEQ ID NO: 5)	
	α链蛋白质序列 MVLKFSVSILWIQLAWVSTQLLEQSPQFLSIQEGENL TVYCNSS**SVFSS**LQWYRQEPGEGPVLLVT**VVTGGE**

[0063]

	VKKLKRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYL**CAGDESISYGKLTF**GQGTILTVHPNiqnpepavyqlkdprsqdstlclftdfdsqinvpktmesgtfitdkcvldmkamdsksngaiawsnqtsftcqdifketnatypssdvpcdatlteksfetdmnlnfqnllvmvlrilllkvagfnllmtlrlwss (SEQ ID NO: 6)
MAGEA1 TCR 32-41 HM 密码子优化序列 注：在图 4 中此克隆以 MAGEA1 TCR 与 MAGEC2 TCR 的多重物的形式使用。另外，此实验中使用单独 TCR 载体，使得没有其他元件(例如不表达 CD8α/β 共受体、DN-TGFBRII 等)。图 3 中所示的数据使用 HM 版本的序列产生。 β 链：TRBV12-4/TRBJ1-4/密码子优化小鼠 TRBC	β 链 DNA 序列 ATGGGCTCCTGGACCCTCTGCTGTGTGTCCCTTTG CATCCTGGTTGCAAAGCACACAGATGCTGGAGTT ATCCAGTCACCCCGGCACGAGGTGACAGAGATGG GACAAGAAGTGACTCTGAGATGTAAACCAATT**TC** **AGGACATGACTAC**CTTTTCTGGTACAGACAGACC ATGATGCGGGGACTGGAGTTGCTCATTTAC**TTTAA** **CAACAACGTTCCT**ATTGATGATTCAGGGATGCCC GAGGATCGCTTCTCAGCTAAGATGCCTAATGCATC ATTCTCCACTCTGAAGATCCAGCCCTCAGAACCCA GGGACTCAGCTGTGTACTTC**TGTGCCAGCAGTTT** **TCTCGGCTGGAATGAAAAACTGTTCTTT**GGCAG TGGAACCCAGCTCTCTGTCTTGGaagatcttcgaaacgtaacc cctccaaaagtgagtctctttgaaccgagtaaggctgagatcgcgaacaaacaaaa ggcgaccctcgtctgtcttgcgcgaggatttttttcccgaccacgtggagttgtcttgg tgggtaaacggtaaggaagtacacagcggtgtttgcaccgaccctcaagcctaca aggaatctaactattcatactgcctttcatcccgacttagggtttctgctacctttttggc acaatccgaggaatcactttaggtgtcaagtacagttccacggattgtcagaggag gataaatggccggagggctccccgaagccggttacgcagaacattagtgcggaa gcctggggacgagcagactgcggtatcacgtctgccagctatcagcaaggcgttc tgtcagcgacaattctgtacgaaatacttttgggtaaggctacattgtatgcggtattg gtgtctacgctggtagtcatggccatggtgaaacgaaaaaactca (SEQ ID NO: 7)
	β 链蛋白质序列 MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMG QEVTLRCKPI**SGHDY**LFWYRQTMMRGLELLIY**FNN** **NVP**IDDSGMPEDRFSAKMPNASFSTLKIQPSEPRDSA VYF**CASSFLGWNEKLFF**GSGTQLSVLEdlrnvtppkvslf epskaeiankqkatlvclargffpdhvelswwvngkevhsgvctdpqaykes nysyclssrlrvsatfwhnprnhfrcqvqfhglseedkwpegspkpvtqnisae awgradcgitsasyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvstlvvmamvkrkns (SEQ ID NO: 8)
完整 β 和 α ORF DNA 序列(“弗林蛋白酶(Furin)-P2A”位点中的加下划线斜体区域编码允许在单一卡盒中表达两个多肽链的序列”)	ATGGGCTCCTGGACCCTCTGCTGTGTGTCCCTTTG CATCCTGGTTGCAAAGCACACAGATGCTGGAGTT ATCCAGTCACCCCGGCACGAGGTGACAGAGATGG GACAAGAAGTGACTCTGAGATGTAAACCAATT**TC** **AGGACATGACTAC**CTTTTCTGGTACAGACAGACC ATGATGCGGGGACTGGAGTTGCTCATTTAC**TTTAA** **CAACAACGTTCCT**ATTGATGATTCAGGGATGCCC GAGGATCGCTTCTCAGCTAAGATGCCTAATGCATC ATTCTCCACTCTGAAGATCCAGCCCTCAGAACCCA GGGACTCAGCTGTGTACTTC**TGTGCCAGCAGTTT** **TCTCGGCTGGAATGAAAAACTGTTCTTT**GGCAG TGGAACCCAGCTCTCTGTCTTGGaagatcttcgaaacgtaacc

[0064]

	cctccaaaagtgagtctctttgaaccgagtaaggctgagatcgcgaacaaacaaaa ggcgaccctcgtctgtcttgcgcgaggatttttcccgaccacgtggagttgtcttgg tgggtaaacggtaaggaagtacacagcggtgtttgcaccgaccctcaagcctaca aggaatctaactattcatactgcctttcatcccgacttagggtttctgctacctttggc acaatccgaggaatcactttaggtgtcaagtacagttccacggattgtcagaggag gataaatggccggagggctccccgaagccggttacgcagaacattagtgcggaa gcctggggacgagcagactgcggtatcacgtctgccagctatcagcaaggcgttc tgtcagcgacaattctgtacgaaatacttttgggtaaggctacattgtatgcggtattg gtgtctacgctggtagtcatggccatggtgaaacgaaaaaactca*AGAGCCA AAAGAAGCGGGAGCGGTGCGACAAACTTTAGCCTGT TGAAACAAGCCGGCGACGTTGAAGAGAACCCCGGAC CT*ATGGTCCTGAAATTCTCCGTGTCCATTCTTTGGA TTCAGTTGGCATGGGTGAGCACCCAGCTGCTGGA GCAGAGCCCTCAGTTTCTTAGCATCCAAGAGGGA GAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCA**AGTGT TTTCTCCAGC**CTTCAATGGTACAGACAGGAGCCT GGGGAAGGTCCTGTCCTCCTGGTGACA**GTTGTTA CTGGTGGAGAA**GTGAAGAAGCTGAAGAGACTTA CCTTTCAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCT CTCCACATCACTGCAGCCCAGCCTGGTGATACAGG CCTCTACCTC**TGTGCAGGAGATGAAAGTATTAG CTATGGAAAGCTGACATTT**GGACAAGGGACCAT CTTGACTGTCCATCCAAacattcaaaacccagaacccgccgtctac cagctgaaagacccgaggtctcaagactctacgttgtgcttgttcaccgatttcgac agtcagataaatgtgcctaagaccatggagagtggcactttcatcactgacaaatgt gtgttggacatgaaggctatggacagcaagtcaaacggcgcgattgcttggtccaa ccaaacttctttcacgtgccaggacatcttcaaggagacaaacgccacctatccatc ctctgatgttccgtgcgatgcgactcttaccgagaaaagcttcgagacggacatga acttgaacttccaaaacctgcttgtgatggtactgcgaatacttcttcttaaggtggcg ggcttcaatttgctcatgacactcagactttggtctagc (SEQ ID NO: 9)
完整β和α ORF 蛋白质序列(“弗林蛋白酶-P2A”位点中的加下划线斜体区域允许在单一卡盒中表达两个多肽链”)”)	MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMG QEVTLRCKPI**SGHDY**LFWYRQTMMRGLELLIY**FNN NVP**IDDSGMPEDRFSAKMPNASFSTLKIQPSEPRDSA VYF**CASSFLGWNEKLFF**GSGTQLSVLEdlrnvtppkvslf epskaeiankqkatlvclargffpdhvelswwvngkevhsgvctdpqaykes nysyclssrlrvsatfwhnprnhfrcqvqfhglseedkwpegspkpvtqnisae awgradcgitsasyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvstlvvmamvkrkns*R AKRSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP*MVLKFSVSILWI QLAWVSTQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSS**SVFSS** LQWYRQEPGEGPVLLVT**VVTGGEV**KKLKRLTFQFG DARKDSSLHITAAQPGDTGLYL**CAGDESISYGKLTF** GQGTILTVHPNiqnpepavyqlkdprsqdstlclftdfdsqinvpktmes gtfitdkcvldmkamdsksngaiawsnqtsftcqdifketnatypssdvpcdat lteksfetdmnlnfqnllvmvlrilllkvagfnllmtlrlwss (SEQ ID NO: 10)
注：以下各克隆的 CDR1 和 CDR2 序列对于以上所列的对应碱基克隆名称来说为冗余的	
MAGEA1 TCR 32-41 (也称为克隆“TSC-	α链 DNA 序列 ATGGTCCTGAAATTCTCCGTGTCCATTCTTTGGATT

[0065]

204-C07”、“TSC-204-C7”以及“TSC-204-C0702”) MGTM密码子优化序列 注：此克隆在图3中以MAGEA1 TCR与HPV TCR的多重物的形式使用并且在图6和图7至图9中以与其他TCR的多重物的形式使用 α链：TRAV27/TRAJ52/MGTM修饰的TRAC	CAGTTGGCATGGGTGAGCACCCAGCTGCTGGAGC AGAGCCCTCAGTTTCTTAGCATCCAAGAGGGAGA AAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCA**AGTGTTT TCTCCAGC**CTTCAATGGTACAGACAGGAGCCTGG GGAAGGTCCTGTCCTCCTGGTGACA**GTTGTTACT GGTGGAGAA**GTGAAGAAGCTGAAGAGACTTACC TTTCAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCT CCACATCACTGCAGCCCAGCCTGGTGATACAGGC CTCTACCTC**TGTGCAGGAGATGAAAGTATTAGC TATGGAAAGCTGACATTT**GGACAAGGGACCATC TTGACTGTCCATCCAaacatccagaaccccgaccccgccgtgtacc agctgagggactccaagtccagcgacaagagcgtgtgtctgtttacggacttcgac agccagaccaacgtgagtcaaagcaaggacagcgacgtctacataacggataag accgtgctggacatgcggagcatggacttcaagagcaacagcgccgtggcctgg tccaacaagagcgacttcgcctgcgccaacgccttcaacaacagcatcatccccg aggacaccttcttccccagcagcgacgtgccctgcgacgtgaaactggtggagaa gtccttcgagacagacaccaatctgaactttcagaacctgctggtgatcgtgctgcg gattctgctgctgaaagtggccggcttcaatctgctgatgaccctgcggctgtggag c (SEQ ID NO: 11)
	α链蛋白质序列 MVLKFSVSILWIQLAWVSTQLLEQSPQFLSIQEGENL TVYCNSS**SVFSS**LQWYRQEPGEGPVLLVT**VVTGGE V**KKLKRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYL**CA GDESISYGKLTF**GQGTILTVHPNiqnpdpavyqlrdskssdks vclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfaca nafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnll mtlrlws (SEQ ID NO: 12)
MAGEA1 TCR 32-41 (也称为克隆“TSC-204-C07”、“TSC-204-C7”以及“TSC-204-C0702”) MGTM密码子优化序列 注：此克隆在图3中以MAGEA1 TCR与HPV TCR的多重物的形式使用并且在图6和图7至图9中以与其他TCR的多重物的形式使用 β链：TRBV12-4/TRBJ1-4/MGTM修饰的TRBC1	β链DNA序列 ATGGGCTCCTGGACCCTCTGCTGTGTGTCCCTTTG CATCCTGGTTGCAAAGCACACAGATGCTGGAGTT ATCCAGTCACCCCGGCACGAGGTGACAGAGATGG GACAAGAAGTGACTCTGAGATGTAAACCAATT**TC AGGACATGACTAC**CTTTTCTGGTACAGACAGACC ATGATGCGGGGACTGGAGTTGCTCATTTAC**TTCAA CAACAACGTTCCT**ATTGATGATTCAGGGATGCCC GAGGATCGCTTCTCAGCTAAGATGCCTAATGCATC ATTCTCCACTCTGAAGATCCAGCCCTCAGAACCCA GGGACTCAGCTGTGTACTTC**TGTGCCAGCAGTTT TCTCGGCTGGAATGAAAAACTGTTCTTT**GGCAG TGGAACCCAGCTCTCTGTCTTGgaagatctgaacaaggtgttc cctccagaggtggccgtgttcgagccttctaaggccgagatcgcccacacacaaa aagccaccctcgtgtgcctggccaccggctttttccccgaccacgtggaactgtctt ggtgggtcaacggcaaagaggtgcactccggcgtgtcaacggatccccagcctc tgaaagaacagcctgccctgaacgacagccggtactgcctgagctccagactga gagtgtccgccaccttctggcagaaccccccggaaccacttcagatgccaggtgca gttttacggcctgagcgagaacgacgagtggacccaggacagagccaagcccgt gacacaaatcgtgtctgccgaagcctggggaagagccgattgcggcatcaccag cgcctcctatcaccagggcgtgctgagcgccacaatcctgtacgaaatcctgctgg gcaaggccaccctgtacgccgtgctggtgtctgctctggtgctgatggccatggtc aagcggaaggacttt (SEQ ID NO: 13)

[0066]

	β链蛋白质序列 MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMG QEVTLRCKPI**SGHDY**LFWYRQTMMRGLELLIY**FNN** **NVP**IDDSGMPEDRFSAKMPNASFSTLKIQPSEPRDSA VYF**CASSFLGWNEKLFF**GSGTQLSVLEdlnkvfppevav fepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeq palndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqiv saeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkd f (SEQ ID NO: 14)
完整β和α ORF DNA 序列	ATGGGCTCCTGGACCCTCTGCTGTGTGTCCCTTTG CATCCTGGTTGCAAAGCACACAGATGCTGGAGTT ATCCAGTCACCCCGGCACGAGGTGACAGAGATGG GACAAGAAGTGACTCTGAGATGTAAACCAATT**TC** **AGGACATGACTAC**CTTTTCTGGTACAGACAGACC ATGATGCGGGGACTGGAGTTGCTCATTTAC**TTCAA** **CAACAACGTTCCT**ATTGATGATTCAGGGATGCCC GAGGATCGCTTCTCAGCTAAGATGCCTAATGCATC ATTCTCCACTCTGAAGATCCAGCCCTCAGAACCCA GGGACTCAGCTGTGTACTTC**TGTGCCAGCAGTTT** **TCTCGGCTGGAATGAAAAACTGTTCTTT**GGCAG TGGAACCCAGCTCTCTGTCTTGgaagatctgaacaaggtgttc cctccagaggtggccgtgttcgagccttctaaggccgagatcgcccacacacaaa aagccaccctcgtgtgcctggccaccggctttttccccgaccacgtggaactgtctt ggtgggtcaacggcaaagaggtgcactccggcgtgtcaacggatccccagcctc tgaaagaacagcctgccctgaacgacagccggtactgcctgagctccagactga gagtgtccgccaccttctggcagaaccccccggaaccacttcagatgccaggtgca gttttacggcctgagcgagaacgacgagtggacccaggacagagccaagcccgt gacacaaatcgtgtctgccgaagcctggggaagagccgattgcggcatcaccag cgcctcctatcaccagggcgtgctgagcgccacaatcctgtacgaaatcctgctgg gcaaggccaccctgtacgccgtgctggtgtctgctctggtgctgatggccatggtc aagcggaaggacttt*GGCAGCGGCAGAGCCAAAAGGTCCGG* *GAGCGGTGCGACAAACTTTAGCCTGTTGAAACAAGCC* *GGCGACGTTGAAGAGAACCCCCGGACCT*ATGGTCCTG AAATTCTCCGTGTCCATTCTTTGGATTCAGTTGGC ATGGGTGAGCACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCT CAGTTTCTTAGCATCCAAGAGGGAGAAAATCTCA CTGTGTACTGCAACTCCTCA**AGTGTTTTCTCCAG** **C**CTTCAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGT CCTGTCCTCCTGGTGACA**GTTGTTACTGGTGGAG** **AA**GTGAAGAAGCTGAAGAGACTTACCTTTCAGTTT GGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCA CTGCAGCCCAGCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTC **TGTGCAGGAGATGAAAGTATTAGCTATGGAAA** **GCTGACATTT**GGACAAGGGACCATCTTGACTGTC CATCCAaacatccagaaccccgaccccgccgtgtaccagctgagggactcc aagtccagcgacaagagcgtgtgtctgtttacggacttcgacagccagaccaacgt gagtcaaagcaaggacagcgacgtctacataacggataagaccgtgctggacat gcggagcatggacttcaagagcaacagcgccgtggcctggtccaacaagagcg acttcgcctgcgccaacgccttcaacaacagcatcatccccgaggacaccttcttc cccagcagcgacgtgccctgcgacgtgaaactggtggagaagtccttcgagaca

[0067]

	gacaccaatctgaactttcagaacctgctggtgatcgtgctgcggattctgctgctg aaagtggccggcttcaatctgctgatgaccctgcggctgtggagc (SEQ ID NO: 15)
完整β和α ORF 蛋白质序列	MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMG QEVTLRCKPI**SGHDY**LFWYRQTMMRGLELLIY**FNN NVP**IDDSGMPEDRFSAKMPNASFSTLKIQPSEPRDSA VYF**CASSFLGWNEKLFF**GSGTQLSVLEdlnkvfppevav fepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeq palndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqiv saeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkd f*GSGRAKRSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP*MVLKFS VSILWIQLAWVSTQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNS S**SVFSS**LQWYRQEPGEGPVLLVT**VVTGGEV**KKLKR LTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYL**CAGDESIS YGKLTF**GQGTILTVHPNiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfds qtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiip edtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnllmtlrlws (SEQ ID NO: 16)
MAGEC2 TCR 8-3 野生型序列 α链: TRAV24*01 F/TRAJ32*02/TRAC	α链 DNA 序列 ATGGAGAAGAATCCTTTGGCAGCCCCACTTCTTAT CCTCTGGTTTCATCTTGACTGCGTGAGCAGCATTC TGAACGTGGAACAAAGTCCTCAGTCACTGCATGTT CAGGAGGGAGACAGCACCAATTTCACCTGCAGCT TCCCT**TCCAGCAATTTTTATGCC**CTTCACTGGTA CAGATGGGAAACTGCAAAAAGCCCCGAGGCCTTG TTTGTT**ATGACTCTTAATGGGGATGAA**AAGAAG AAAGGACGCATTAGTGCCACTCTTAATACCAAGG AGGGTTACAGCTATTTGTATATCAAAGGATCCCAG CCTGAGGACTCAGCCACATACCTCTGT**GCCTCCG GAAGTGGTGGTGCTACAAACAAGCTCATC**TTTG GAACTGGCACTCTGCTTGCTGTCCAGCCAAatatccag aaccctgaccctgccgtgtaccagctgagagactctaaatccagtgacaagtctgt ctgcctattcaccgattttgattctcaaacaaatgtgtcacaaagtaaggattctgatgt gtatatcacagacaaaactgtgctagacatgaggtctatggacttcaagagcaaca gtgctgtggcctggagcaacaaatctgactttgcatgtgcaaacgccttcaacaaca gcattattccagaagacaccttcttccccagcccagaaagttcctgtgatgtcaagct ggtcgagaaaagctttgaaacagatacgaacctaaactttcaaaacctgtcagtgat tgggttccgaatcctcctcctgaaagtggccgggtttaatctgctcatgacgctgcg gctgtggtccagc (SEQ ID NO: 17)
	α链蛋白质序列 MEKNPLAAPLLILWFHLDCVSSILNVEQSPQSLHVQE GDSTNFTCSFP**SSNFYA**LHWYRWETAKSPEALFV**M TLNGDE**KKKGRISATLNTKEGYSYLYIKGSQPEDSA TYLC**ASGSGGATNKLI**FGTGTLLAVQPniqnpdpavyqlr dskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavaws nksdfacanafnnsiipedtffpspesscdvklveksfetdtnlnfqnlsvigfrill lkvagfnllmtlrlwss (SEQ ID NO: 18)
MAGEC2 TCR 8-3 野生型序列	β链 DNA 序列 ATGAGCCCAATTTTCACCTGCATCACAATCCTTTG

[0068]

β链: TRBV16*01/TRBJ1-1*01/TRBC1	TCTGCTGGCTGCAGGTTCTCCTGGTGAAGAAGTCG CCCAGACTCCAAAACATCTTGTCAGAGGGGAAGG ACAGAAAGCAAAACTTTATTGTGCCCCAATT**AAA** **GGACACAGTTAT**GTTTTCTGGTACCAACAGGTCC TGAAAAACGAGTTCAAGTTCTTGATTTCC**TTCCAG** **AATGAAAATGTC**TTTGATGAAACAGGTATGCCCA AGGAAAGATTTTCAGCTAAGTGCCTCCCAAATTCA CCCTGTAGCCTTGAGATCCAGGCTACTAAGCTTGA GGATTCAGCAGTGTATTTTTGT**GCCAGCAGCCAA** **TCACGGAGCCTTAGGGGCACTGAAGCTTTC**TTT GGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTTGaggacctgaa caaggtgttcccacccgaggtcgctgtgtttgagccatcagaagcagagatctccc acacccaaaaggccacactggtgtgcctggccacaggcttcttccctgaccacgt ggagctgagctggtgggtgaatgggaaggaggtgcacagtggggtcagcacgg acccgcagcccctcaaggagcagcccgccctcaatgactccagatactgcctga gcagccgcctgagggtctcggccaccttctggcagaaccccgcaaccacttccg ctgtcaagtccagttctacgggctctcggagaatgacgagtggacccaggatagg gccaaacccgtcacccagatcgtcagcgccgaggcctggggtagagcagactgt ggctttacctcggtgtcctaccagcaaggggtcctgtctgccaccatcctctatgag atcctgctagggaaggccaccctgtatgctgtgctggtcagcgcccttgtgttgatg gccatggtcaagagaaaggatttc (SEQ ID NO: 19)
	β链蛋白质序列 MSPIFTCITILCLLAAGSPGEEVAQTPKHLVRGEGQK AKLYCAPI**KGHSY**VFWYQQVLKNEFKFLIS**FQNEN** **V**FDETGMPKERFSAKCLPNSPCSLEIQATKLEDSAVY FC**ASSQSRSLRGTEAF**FGQGTRLTVVEdlnkvfppevavf epseaeishtqkatlvclatgffpdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeqp alndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivs aeawgradcgftsvsyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf (SEQ ID NO: 20)
MAGEC2 TCR 8-3 HM 密码子优化序列 注：在图4中此克隆以MAGEC2 TCR与MAGEA1 TCR的多重物的形式使用。另外，此实验中使用单独TCR载体，使得没有其他元件(例如不表达CD8α/β共受体、DN-TGFBRII等)。 α链: TRAV24*01 F/TRAJ32*02/密码子优化小鼠TRAC	α链DNA序列 ATGGAGAAGAATCCTTTGGCAGCCCCACTTCTTAT CCTCTGGTTTCATCTTGACTGCGTGAGCAGCATTC TGAACGTGGAACAAAGTCCTCAGTCACTGCATGTT CAGGAGGGAGACAGCACCAATTTCACCTGCAGCT TCCCT**TCCAGCAATTTTTATGCC**CTTCACTGGTA CAGATGGGAAACTGCAAAAAGCCCCGAGGCCTTG TTTGTT**ATGACTCTTAATGGGGATGAA**AAGAAG AAAGGACGCATTAGTGCCACTCTTAATACCAAGG AGGGTTACAGCTATTTGTATATCAAAGGATCCCAG CCTGAGGACTCAGCCACATACCTCTGT**GCCTCCG** **GAAGTGGTGGTGCTACAAACAAGCTCATC**TTTG GAACTGGCACTCTGCTTGCTGTCCAGCCAAacattcaa aacccagaacccgccgtctaccagctgaaagacccgaggtctcaagactctacgt tgtgcttgttcaccgatttcgacagtcagataaatgtgcctaagaccatggagagtg gcactttcatcactgacaaatgtgtgttggacatgaaggctatggacagcaagtcaa acggcgcgattgcttggtccaaccaaacttctttcacgtgccaggacatcttcaagg agacaaacgccacctatccatcctctgatgttccgtgcgatgcgactcttaccgaga aaagcttcgagacggacatgaacttgaacttccaaaacctgcttgtgatggtactgc gaatacttcttcttaaggtggcgggcttcaatttgctcatgacactcagactttggtcta

[0069]

	gc (SEQ ID NO: 21)
	α链蛋白质序列 MEKNPLAAPLLILWFHLDCVSSILNVEQSPQSLHVQE GDSTNFTCSFP**SSNFYA**LHWYRWETAKSPEALFV**M** **TLNGDE**KKKGRISATLNTKEGYSYLYIKGSQPEDSA TYLC**ASGSGGATNKLI**FGTGTLLAVQPNiqnpepavyql kdprsqdstlclftdfdsqinvpktmesgtfitdkcvldmkamdsksngaiaws nqtsftcqdifketnatypssdvpcdatlteksfetdmnlnfqnllvmvlrilllkv agfnllmtlrlwss (SEQ ID NO: 22)
MAGEC2 TCR 8-3 HM 密码子优化序列 注：在图4中此克隆以MAGEC2 TCR与MAGEA1 TCR的多重物的形式使用。另外，此实验中使用单独TCR载体，使得没有其他元件(例如不表达CD8α/β共受体、DN-TGFBRII等)。 β链： TRBV16*01/TRBJ1-1*01/密码子优化小鼠TRBC	β链DNA序列 ATGAGCCCAATTTTCACCTGCATCACAATCCTTTG TCTGCTGGCTGCAGGTTCTCCTGGTGAAGAAGTCG CCCAGACTCCAAAACATCTTGTCAGAGGGGAAGG ACAGAAAGCAAAACTTTATTGTGCCCCAATT**AAA** **GGACACAGTTAT**GTTTTCTGGTACCAACAGGTCC TGAAAAACGAGTTCAAGTTCTTGATTTCC**TTCCAG** **AATGAAAATGTC**TTTGATGAAACAGGTATGCCCA AGGAAAGATTTTCAGCTAAGTGCCTCCCAAATTCA CCCTGTAGCCTTGAGATCCAGGCTACTAAGCTTGA GGATTCAGCAGTGTATTTTTGT**GCCAGCAGCCAA** **TCACGGAGCCTTAGGGGCACTGAAGCTTTC**TTT GGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTTGaagatcttcga aacgtaacccctccaaaagtgagtctctttgaaccgagtaaggctgagatcgcgaa caaacaaaaggcgaccctcgtctgtcttgcgcgaggatttttcccgaccacgtgg agttgtcttggtgggtaaacggtaaggaagtacacagcggtgtttgcaccgaccct caagcctacaaggaatctaactattcatactgcctttcatcccgacttagggtttctgc tacctttggcacaatccgaggaatcactttaggtgtcaagtacagttccacggattg tcagaggaggataaatggccggagggctccccgaagccggttacgcagaacatt agtgcggaagcctggggacgagcagactgcggtatcacgtctgccagctatcag caaggcgttctgtcagcgacaattctgtacgaaatacttttgggtaaggctacattgt atgcggtattggtgtctacgctggtagtcatggccatggtgaaacgaaaaaactca (SEQ ID NO: 23)
	β链蛋白质序列 MSPIFTCITILCLLAAGSPGEEVAQTPKHLVRGEGQK AKLYCAPI**KGHSY**VFWYQQVLKNEFKFLIS**FQNEN** **V**FDETGMPKERFSAKCLPNSPCSLEIQATKLEDSAVY FC**ASSQSRSLRGTEAF**FGQGTRLTVVEdlrnvtppkvslfe pskaeiankqkatlvclargffpdhvelswwvngkevhsgvctdpqaykesn ysyclssrlrvsatfwhnprnhfrcqvqfhglseedkwpegspkpvtqnisaea wgradcgitsasyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvstlvvmamvkrkns (SEQ ID NO: 24)
完整β和αORF DNA序列(“弗林蛋白酶-P2A”位点中的加下划线斜体区域编码允许在单一卡盒中表达两个多肽链的序列	ATGAGCCCAATTTTCACCTGCATCACAATCCTTTG TCTGCTGGCTGCAGGTTCTCCTGGTGAAGAAGTCG CCCAGACTCCAAAACATCTTGTCAGAGGGGAAGG ACAGAAAGCAAAACTTTATTGTGCCCCAATT**AAA** **GGACACAGTTAT**GTTTTCTGGTACCAACAGGTCC TGAAAAACGAGTTCAAGTTCTTGATTTCC**TTCCAG** **AATGAAAATGTC**TTTGATGAAACAGGTATGCCCA

[0070]

")	AGGAAAGATTTTCAGCTAAGTGCCTCCCAAATTCA CCCTGTAGCCTTGAGATCCAGGCTACTAAGCTTGA GGATTCAGCAGTGTATTTTTGT**GCCAGCAGCCAA TCACGGAGCCTTAGGGGCACTGAAGCTTTC**TTT GGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTTGaagatcttcga aacgtaacccctccaaaagtgagtctctttgaaccgagtaaggctgagatcgcgaa caaacaaaaggcgaccctcgtctgtcttgcgcgaggatttttcccgaccacgtgg agttgtcttggtgggtaaacggtaaggaagtacacagcggtgtttgcaccgaccct caagcctacaaggaatctaactattcatactgcctttcatcccgacttagggtttctgc tacctttggcacaatccgaggaatcactttaggtgtcaagtacagttccacggattg tcagaggaggataaatggccggagggctccccgaagccggttacgcagaacatt agtgcggaagcctggggacgagcagactgcggtatcacgtctgccagctatcag caaggcgttctgtcagcgacaattctgtacgaaatactttgggtaaggctacattgt atgcggtattggtgtctacgctggtagtcatggccatggtgaaacgaaaaaactca *agagccaaaagaagcgggagcggtgcgacaaactttagcctgttgaaacaag ccggcgacgttgaagagaaccccggacct*ATGGAGAAGAATCCT TTGGCAGCCCCACTTCTTATCCTCTGGTTTCATCTT GACTGCGTGAGCAGCATTCTGAACGTGGAACAAA GTCCTCAGTCACTGCATGTTCAGGAGGGAGACAG CACCAATTTCACCTGCAGCTTCCCT**TCCAGCAATT TTTATGCC**CTTCACTGGTACAGATGGGAAACTGC AAAAAGCCCCGAGGCCTTGTTTGTT**ATGACTCTT AATGGGGATGAA**AAGAAGAAAGGACGCATTAGT GCCACTCTTAATACCAAGGAGGGTTACAGCTATTT GTATATCAAAGGATCCCAGCCTGAGGACTCAGCC ACATACCTCTGT**GCCTCCGGAAGTGGTGGTGCT ACAAACAAGCTCATC**TTTGGAACTGGCACTCTGC TTGCTGTCCAGCCAAacattcaaaacccagaacccgccgtctaccag ctgaaagacccgaggtctcaagactctacgttgtgcttgttcaccgatttcgacagtc agataaatgtgcctaagaccatggagagtggcactttcatcactgacaaatgtgtgtt ggacatgaaggctatggacagcaagtcaaacggcgcgattgcttggtccaaccaa acttctttcacgtgccaggacatcttcaaggagacaaacgccacctatccatcctct gatgttccgtgcgatgcgactcttaccgagaaaagcttcgagacggacatgaactt gaacttccaaaacctgcttgtgatggtactgcgaatacttcttcttaaggtggcgggc ttcaatttgctcatgacactcagactttggtctagc (SEQ ID NO: 25)
完整β和α ORF 蛋白质序列(“弗林蛋白酶-P2A”位点中的加下划线斜体区域允许在单一卡盒中表达两个多肽链")")	MSPIFTCITILCLLAAGSPGEEVAQTPKHLVRGEGQK AKLYCAPI**KGHSY**VFWYQQVLKNEFKFLISFQNENV FDETGMPKERFSAKCLPNSPCSLEIQATKLEDSAVYF C**ASSQSRSLRGTEAF**FGQGTRLTVVEdlrnvtppkvslfep skaeiankqkatlvclargffpdhvelswwvngkevhsgvctdpqaykesny syclssrlrvsatfwhnprnhfrcqvqfhglseedkwpegspkpvtqnisaeaw gradcgitsasyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvstlvvmamvkrkns*rakrs gsgatnfsllkqagdveenpgp*MEKNPLAAPLLILWFHLDCVS SILNVEQSPQSLHVQEGDSTNFTCSFP**SSNFYA**LHWY RWETAKSPEALFV**MTLNGDEK**KKGRISATLNTKEG YSYLYIKGSQPEDSATYLC**ASGSGGATNKLI**FGTGT LLAVQPNiqnpepavyqlkdprsqdstlclftdfdsqinvpktmesgtfitd kcvldmkamdsksngaiawsnqtsftcqdifketnatypssdvpcdatlteksf etdmnlnfqnllvmvlrilllkvagfnllmtlrlwss (SEQ ID NO: 26)
MAGEC2 TCR 8-3 (	α链 DNA 序列

[0071]

也称为克隆“TCR LD8-3”) MGTM 密码子优化序列 α 链: TRAV24*01 F/TRAJ32*02/MGTM 修饰的 TRAC	ATGGAGAAGAATCCTTTGGCAGCCCCACTTCTTAT CCTCTGGTTTCATCTTGACTGCGTGAGCAGCATTC TGAACGTGGAACAAAGTCCTCAGTCACTGCATGTT CAGGAGGGAGACAGCACCAATTTCACCTGCAGCT TCCCT**TCCAGCAATTTTTATGCC**CTTCACTGGTA CAGATGGGAAACTGCAAAAAGCCCCGAGGCCTTG TTTGTT**ATGACTCTTAATGGGGATGAA**AAGAAG AAAGGACGCATTAGTGCCACTCTTAATACCAAGG AGGGTTACAGCTATTTGTATATCAAAGGATCCCAG CCTGAGGACTCAGCCACATACCTCTGT**GCCTCCG GAAGTGGTGGTGCTACAAACAAGCTCATC**TTTG GAACTGGCACTCTGCTTGCTGTCCAGCCAAacatccag aaccccgaccccgccgtgtaccagctgagggactccaagtccagcgacaagag cgtgtgtctgtttacggacttcgacagccagaccaacgtgagtcaaagcaaggaca gcgacgtctacataacggataagaccgtgctggacatgcggagcatggacttcaa gagcaacagcgccgtggcctggtccaacaagagcgacttcgcctgcgccaacgc cttcaacaacagcatcatccccgaggacaccttcttccccagcagcgacgtgccct gcgacgtgaaactggtggagaagtccttcgagacagacaccaatctgaactttcag aacctgctggtgatcgtgctgcggattctgctgctgaaagtggccggcttcaatctg ctgatgaccctgcggctgtggagcagc (SEQ ID NO: 27)
	α 链蛋白质序列 MEKNPLAAPLLILWFHLDCVSSILNVEQSPQSLHVQE GDSTNFTCSFP**SSNFYA**LHWYRWETAKSPEALFV**M TLNGDE**KKKGRISATLNTKEGYSYLYIKGSQPEDSA TYLC**ASGSGGATNKLI**FGTGTLLAVQPNiqnpdpavyql rdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavaws nksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrill lkvagfnllmtlrlwss (SEQ ID NO: 28)
MAGEC2 TCR 8-3 (也称为克隆“TCR LD8-3”) MGTM 密码子优化序列 β 链: TRBV16*01/TRBJ1-1*01/ MGTM 修饰的 TRBC	β 链 DNA 序列 ATGAGCCCAATTTTCACCTGCATCACAATCCTTTG TCTGCTGGCTGCAGGTTCTCCTGGTGAAGAAGTCG CCCAGACTCCAAAACATCTTGTCAGAGGGGAAGG ACAGAAAGCAAAACTTTATTGTGCCCCAATT**AAA GGACACAGTTAT**GTTTTCTGGTACCAACAGGTCC TGAAAAACGAGTTCAAGTTCTTGATTTCC**TTCCAG AATGAAAATGTC**TTTGATGAAACAGGTATGCCCA AGGAAAGATTTTCAGCTAAGTGCCTCCCAAATTCA CCCTGTAGCCTTGAGATCCAGGCTACTAAGCTTGA GGATTCAGCAGTGTATTTTTGT**GCCAGCAGCCAA TCACGGAGCCTTAGGGGCACTGAAGCTTTC**TTT GGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTTGaagatctgaa caaggtgttccctccagaggtggccgtgttcgagccttctaaggccgagatcgccc acacacaaaaagccaccctcgtgtgcctggccaccggctttttccccgaccacgtg gaactgtcttggtgggtcaacggcaaagaggtgcactccggcgtgtcaacggatc cccagcctctgaaagaacagcctgccctgaacgacagccggtactgcctgagctc cagactgagagtgtccgccaccttctggcagaaccccccggaaccacttcagatgc caggtgcagttttacggcctgagcgagaacgacgagtggacccaggacagagcc aagcccgtgacacaaatcgtgtctgccgaagcctggggaagagccgattgcggc atcaccagcgcctcctatcaccagggcgtgctgagcgccacaatcctgtacgaaat cctgctgggcaaggccaccctgtacgccgtgctggtgtctgctctggtgctgatgg

[0072]

	ccatggtcaagcggaaggacttt (SEQ ID NO: 29)
	β链蛋白质序列 MSPIFTCITILCLLAAGSPGEEVAQTPKHLVRGEGQK AKLYCAPI**KGHSY**VFWYQQVLKNEFKFLIS**FQNEN** **V**FDETGMPKERFSAKCLPNSPCSLEIQATKLEDSAVY FC**ASSQSRSLRGTEAF**FGQGTRLTVVEdlnkvfppevavf epskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeqp alndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivs aeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf (SEQ ID NO: 30)
完整β和α ORF DNA序列	ATGAGCCCAATTTTCACCTGCATCACAATCCTTTG TCTGCTGGCTGCAGGTTCTCCTGGTGAAGAAGTCG CCCAGACTCCAAAACATCTTGTCAGAGGGGAAGG ACAGAAAGCAAAACTTTATTGTGCCCCAATT**AAA** **GGACACAGTTAT**GTTTTCTGGTACCAACAGGTCC TGAAAAACGAGTTCAAGTTCTTGATTTCC**TTCCAG** **AATGAAAATGTC**TTTGATGAAACAGGTATGCCCA AGGAAAGATTTTCAGCTAAGTGCCTCCCAAATTCA CCCTGTAGCCTTGAGATCCAGGCTACTAAGCTTGA GGATTCAGCAGTGTATTTTTGT**GCCAGCAGCCAA** **TCACGGAGCCTTAGGGGCACTGAAGCTTTC**TTT GGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTTGaagatctgaa caaggtgttccctccagaggtggccgtgttcgagccttctaaggccgagatcgccc acacacaaaaagccaccctcgtgtgcctggccaccggctttttccccgaccacgtg gaactgtcttggtgggtcaacggcaaagaggtgcactccggcgtgtcaacggatc cccagcctctgaaagaacagcctgccctgaacgacagccggtactgcctgagctc cagactgagagtgtccgccaccttctggcagaaccccccggaaccacttcagatgc caggtgcagttttacggcctgagcgagaacgacgagtggacccaggacagagcc aagcccgtgacacaaatcgtgtctgccgaagcctggggaagagccgattgcggc atcaccagcgcctcctatcaccagggcgtgctgagcgccacaatcctgtacgaaat cctgctgggcaaggccaccctgtacgccgtgctggtgtctgctctggtgctgatgg ccatggtcaagcggaaggactttggcagcggc*agagccaaaagaagcgggag* *cggtgcgacaaactttagcctgttgaaacaagccggcgacgttgaagagaacc* *ccggacct*ATGGAGAAGAATCCTTTGGCAGCCCCACT TCTTATCCTCTGGTTTCATCTTGACTGCGTGAGCA GCATTCTGAACGTGGAACAAAGTCCTCAGTCACTG CATGTTCAGGAGGGAGACAGCACCAATTTCACCT GCAGCTTCCCT**TCCAGCAATTTTTATGCC**CTTCA CTGGTACAGATGGGAAACTGCAAAAAGCCCCGAG GCCTTGTTTGTT**ATGACTCTTAATGGGGATGAA**A AGAAGAAAGGACGCATTAGTGCCACTCTTAATAC CAAGGAGGGTTACAGCTATTTGTATATCAAAGGA TCCCAGCCTGAGGACTCAGCCACATACCTCTGT**GC** **CTCCGGAAGTGGTGGTGCTACAAACAAGCTCA** **TC**TTTGGAACTGGCACTCTGCTTGCTGTCCAGCCA Aacatccagaaccccgaccccgccgtgtaccagctgagggactccaagtccag cgacaagagcgtgtgtctgtttacggacttcgacagccagaccaacgtgagtcaaa gcaaggacagcgacgtctacataacggataagaccgtgctggacatgcggagca tggacttcaagagcaacagcgccgtggcctggtccaacaagagcgacttcgcctg cgccaacgccttcaacaacagcatcatccccgaggacaccttcttccccagcagc

	gacgtgccctgcgacgtgaaactggtggagaagtccttcgagacagacaccaatc tgaactttcagaacctgctggtgatcgtgctgcggattctgctgctgaaagtggccg gcttcaatctgctgatgaccctgcggctgtggagcagc (SEC ID NO: 31)
完整β和α ORF 蛋白质序列	MSPIFTCITILCLLAAGSPGEEVAQTPKHLVRGEGQK AKLYCAPI**KGHSY**VFWYQQVLKNEFKFLIS**FQNEN V**FDETGMPKERFSAKCLPNSPCSLEIQATKLEDSAVY FC**ASSQSRSLRGTEAF**FGQGTRLTVVEdlnkvfppevavf epskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeqp alndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivs aeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf *gsgrakrsgsgatnfsllkqagdveenpgp*MEKNPLAAPLLILWFH LDCVSSILNVEQSPQSLHVQEGDSTNFTCSFP**SSNFY A**LHWYRWETAKSPEALFV**MTLNGDE**KKKGRISATL NTKEGYSYLYIKGSQPEDSATYLC**ASGSGGATNKLI** FGTGTLLAVQPNiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqsk dsdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssd vpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnllmtlrlwss (SEC ID NO: 32)
E7-11-28 MGTM 密码子优化序列(也称为“TCR28”或“28”) α链: TRAV25/TRAJ37/MG TM 修饰的 TRAC	α链 DNA 序列 ATGCTGCTGATCACCTCCATGCTGGTGCTGTGGAT GCAGCTGAGCCAAGTGAACGGCCAGCAAGTGATG CAGATCCCTCAGTACCAGCACGTGCAAGAAGGCG AGGACTTCACCACCTACTGCAACAGCAGC**ACCAC ACTGAGCAAC**ATCCAGTGGTACAAGCAGCGGCCT GGCGGACACCCTGTGTTTCTGATCCAG**CTGGTCA AGTCCGGCGAAGTG**AAGAAGCAGAAGCGGCTGA CCTTCCAGTTCGGCGAGGCCAAGAAGAACAGCAG CCTGCACATCACCGCCACACAGACCACAGATGTG GGCACCTACTTC**TGCGCTGGCATCGGTAGCAGC AACACCGGTAAGCTCATCTTT**GGGCAAGGGACA ACTTTACAAGTAAAACCAGacatccagaaccccgaccccgccg tgtaccagctgagggactccaagtccagcgacaagagcgtgtgtctgtttacggac ttcgacagccagaccaacgtgagtcaaagcaaggacagcgacgtctacataacg gataagaccgtgctggacatgcggagcatggacttcaagagcaacagcgccgtg gcctggtccaacaagagcgacttcgcctgcgccaacgccttcaacaacagcatca tccccgaggacaccttcttccccagcagcgacgtgccctgcgacgtgaaactggt ggagaagtccttcgagacagacaccaatctgaactttcagaacctgctggtgatcg tgctgcggattctgctgctgaaagtggccggcttcaatctgctgatgaccctgcggc tgtggagc (SEC ID NO: 33)
	α链蛋白质序列 MLLITSMLVLWMQLSQVNGQQVMQIPQYQHVQEG EDFTTYCNSS**TTLSN**IQWYKQRPGGHPVFLIQ**LVKS GEV**KKQKRLTFQFGEAKKNSSLHITATQTTDVGTYF **CAGIGSSNTGKLIF**GQGTTLQVKPDiqnpdpavyqlrdsks

[0073]

[0074]

	sdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksd facanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkva gfnllmtlrlws (SEQ ID NO: 34)
E7-11-28 MGTM 密码子优化序列 β链: TRBV2/TRBJ2-7/MGTM 修饰的TRBC	β链 DNA 序列 ATGGATACCTGGCTCGTGTGTTGGGCCATCTTTAG CCTGCTGAAGGCCGGACTGACCGAGCCTGAAGTG ACCCAGACTCCAAGCCATCAAGTGACTCAGATGG GGCAAGAAGTCATTCTGCGTTGCGTGCCCATC**AG CAACCACCTGTAC**TTTTATTGGTATCGCCAGATC CTGGGCCAGAAAGTGGAATTCCTGGTGTCC**TTCT ACAACAATGAGATC**TCCGAGAAGTCCGAGATCTT CGACGACCAGTTCTCCGTGGAAAGACCCGACGGC AGCAACTTCACACTGAAGATCCGGTCTACCAAACT TGAGGACTCCGCTATGTATTTT**TGTGCAATCACA GGTCGCGTTTCATATGAGCAATATTTC**GGGCCG GGCACCAGGCTCACGGTCACAgaagatctgaacaaggtgttcc ctccagaggtggccgtgttcgagccttctaaggccgagatcgcccacacacaaaa agccaccctcgtgtgcctggccaccggctttttccccgaccacgtggaactgtcttg gtgggtcaacggcaaagaggtgcactccggcgtgtcaacggatccccagcctct gaaagaacagcctgccctgaacgacagccggtactgcctgagctccagactgag agtgtccgccaccttctggcagaaccccccggaaccacttcagatgccaggtgcag ttttacggcctgagcgagaacgacgagtggacccaggacagagccaagcccgtg acacaaatcgtgtctgccgaagcctggggaagagccgattgcggcatcaccagc gcctcctatcaccagggcgtgctgagcgccacaatcctgtacgaaatcctgctggg caaggccaccctgtacgccgtgctggtgtctgctctggtgctgatggccatggtca agcggaaggactttggcagcggcagagccaaaaggtccgggagcggt (SEQ ID NO: 35)
	β链蛋白质序列 MDTWLVCWAIFSLLKAGLTEPEVTQTPSHQVTQMG QEVILRCVPI**SNHLY**FYWYRQILGQKVEFLVS**FYNN EI**SEKSEIFDDQFSVERPDGSNFTLKIRSTKLEDSAMY F**CAITGRVSYEQYF**GPGTRLTVTEdlnkvfppevavfepska eiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsr yclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawg radcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdfgsgrak rsgsg (SEQ ID NO: 36)
完整β和α ORF DNA 序列(“弗林蛋白酶-P2A”位点中的加下划线斜体区域编码允许在单一卡盒中表达两个多肽链的序列”)	ATACCTGGCTCGTGTGTTGGGCCATCTTTAGCCTG CTGAAGGCCGGACTGACCGAGCCTGAAGTGACCC AGACTCCAAGCCATCAAGTGACTCAGATGGGGCA AGAAGTCATTCTGCGTTGCGTGCCCATC**AGCAAC CACCTGTAC**TTTTATTGGTATCGCCAGATCCTGGG CCAGAAAGTGGAATTCCTGGTGTCC**TTCTACAAC AATGAGATC**TCCGAGAAGTCCGAGATCTTCGACG ACCAGTTCTCCGTGGAAAGACCCGACGGCAGCAA CTTCACACTGAAGATCCGGTCTACCAAACTTGAGG ACTCCGCTATGTATTTT**TGTGCAATCACAGGTCG CGTTTCATATGAGCAATATTTC**GGGCCGGGCAC CAGGCTCACGGTCACAgaagatctgaacaaggtgttccctccagag gtggccgtgttcgagccttctaaggccgagatcgcccacacacaaaaagccaccc

[0075]

	tcgtgtgcctggccaccggctttttccccgaccacgtggaactgtcttggtgggtca acggcaaagaggtgcactccggcgtgtcaacggatccccagcctctgaaagaac agcctgccctgaacgacagccggtactgcctgagctccagactgagagtgtccgc caccttctggcagaaccccccggaaccacttcagatgccaggtgcagttttacggcc tgagcgagaacgacgagtggacccaggacagagccaagcccgtgacacaaatc gtgtctgccgaagcctggggaagagccgattgcggcatcaccagcgcctcctatc accagggcgtgctgagcgccacaatcctgtacgaaatcctgctgggcaaggcca ccctgtacgccgtgctggtgtctgctctggtgctgatggccatggtcaagcggaag gactttggcagcggcagagccaaaaggtccgggagcggt*GCGACAAACT TTAGCCTGTTGAAACAAGCCGGCGACGTTGAAGAGAA CCCCGGACC*TATGCTGCTGATCACCTCCATGCTGG TGCTGTGGATGCAGCTGAGCCAAGTGAACGGCCA GCAAGTGATGCAGATCCCTCAGTACCAGCACGTG CAAGAAGGCGAGGACTTCACCACCTACTGCAACA GCAGC**ACCACACTGAGCAAC**ATCCAGTGGTACA AGCAGCGGCCTGGCGGACACCCTGTGTTTCTGATC CAG**CTGGTCAAGTCCGGCGAAGTG**AAGAAGCA GAAGCGGCTGACCTTCCAGTTCGGCGAGGCCAAG AAGAACAGCAGCCTGCACATCACCGCCACACAGA CCACAGATGTGGGCACCTACTTC**TGCGCTGGCAT CGGTAGCAGCAACACCGGTAAGCTCATCTTT**GG GCAAGGGACAACTTTACAAGTAAAACCAGacatccag aaccccgaccccgccgtgtaccagctgagggactccaagtccagcgacaagag cgtgtgtctgtttacggacttcgacagccagaccaacgtgagtcaaagcaaggaca gcgacgtctacataacggataagaccgtgctggacatgcggagcatggacttcaa gagcaacagcgccgtggcctggtccaacaagagcgacttcgcctgcgccaacgc cttcaacaacagcatcatccccgaggacaccttcttccccagcagcgacgtgccct gcgacgtgaaactggtggagaagtccttcgagacagacaccaatctgaactttcag aacctgctggtgatcgtgctgcggattctgctgctgaaagtggccggcttcaatctg ctgatgaccctgcggctgtggagc (SEQ ID NO: 37)
完整β和αORF蛋白质序列(“弗林蛋白酶-P2A”位点中的加下划线斜体区域允许在单一卡盒中表达两个多肽链”)”)	MDTWLVCWAIFSLLKAGLTEPEVTQTPSHQVTQMG QEVILRCVPI**SNHLY**FYWYRQILGQKVEFLVS**FYNN EI**SEKSEIFDDQFSVERPDGSNFTLKIRSTKLEDSAMY F**CAITGRVSYEQYF**GPGTRLTVTEdlnkvfppevavfepska eiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsr yclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawg radcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdfgsgrak rsgsg*ATNFSLLKQAGDVEENPGP*MLLITSMLVLWMQL SQVNGQQVMQIPQYQHVQEGEDFTTYCNSS**TTLSN**I QWYKQRPGGHPVFLIQ**LVKSGEV**KKQKRLTFQFGE AKKNSSLHITATQTTDVGTYF**CAGIGSSNTGKLIF**G QGTTLQVKPDiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskds dvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdv pcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnllmtlrlws (SEQ ID NO: 38)

[0076] *表1部分地提供了根据MHC血清型呈现分组并且根据由MHC血清型呈现并且由划分子组的TCR结合的不同肽划分子组的代表性TCR序列。描述并且要求了诸如表格中代表性地例示的那些个别TCR,以及结合单独或与MHC复合的本文所描述的肽表位序列的结合蛋白

种类,诸如本文所提供的表格中分组的那些结合蛋白。此外,提供了本文所描述的各TCRα链的TRAV、TRAJ以及TRAC基因以及本文所描述的各TCRβ链的TRBV、TRBJ以及TRBC基因。以各个命名的TCR的各对同源α链和β链的形式提供本文所描述的各TCR的序列。标注本文所描述的TCR序列。可变结构域序列使用大写字母。恒定结构域序列为小写字母。CDR1、CDR2以及CDR3序列使用粗体并且加下划线的文本进行标注。CDR1、CDR2以及CDR3以从左(N端)到右(C端)的标准出现顺序显示。本文所描述的各TCRα链的TRAV、TRAJ以及TRAC基因以及本文所描述的各TCRβ链的TRBV、TRBJ以及TRBC基因根据本文所描述的熟知IMGT命名法进行标注。类似地,TRAV和TRBV的CDR1和CDR2为本领域熟知的,因为它们是基于熟知并且标注的TRAV和TRBV序列(例如如像在imt.org可获得的IMGT以及在iedb.org可获得的IEDB的数据库中所标注)。

[0077] 表2

[0078]

代表性人 MAGEA1 cDNA 序列	Atgtctcttgagcagaggagtctgcactgcaagcctgaggaagcccttgaggcccaaca agaggccctgggcctggtgtgtgtgcaggctgccacctcctcctcctctcctctggtcctg ggcaccctggaggaggtgcccactgctgggtcaacagatcctccccagagtcctcagg gagcctccgcctttcccactaccatcaacttcactcgacagaggcaacccagtgagggtt ccagcagccgtgaagaggaggggccaagcacctcttgtatcctggagtccttgttccga gcagtaatcactaagaaggtggctgatttggttggttttctgctcctcaaatatcgagccag ggagccagtcacaaaggcagaaatgctggagagtgtcatcaaaaattacaagcactgttt tcctgagatcttcggcaaagcctctgagtccttgcagctggtctttggcattgacgtgaagg aagcagaccccaccggccactcctatgtccttgtcacctgcctaggtctctcctatgatgg cctgctgggtgataatcagatcatgcccaagacaggcttcctgataattgtcctggtcatga ttgcaatggagggcggccatgctcctgaggaggaaatctgggaggagctgagtgtgatg gaggtgtatgatgggagggagcacagtgcctatggggagcccaggaagctgctcaccc aagatttggtgcaggaaaagtacctggagtaccggcaggtgccggacagtgatcccgca cgctatgagttcctgtggggtccaagggccctcgctgaaaccagctatgtgaaagtccttg agtatgtgatcaaggtcagtgca**agagttcgcttttttcttcccatccctgcgtgaagca**g ctttgagagaggaggaagagggagtctga (SEQ ID NO: 39)
代表性人 MAGEA1 蛋白质序列	MSLEQRSLHCKPEEALEAQQEALGLVCVQAATSSSSPLV LGTLEEVPTAGSTDPPQSPQGASAFPTTINFTRQRQPSEG SSSREEEGPSTSCILESLFRAVITKKVADLVGFLLLKYRA REPVTKAEMLESVIKNYKHCFPEIFGKASESLQLVFGIDV

[0079]

	KEADPTGHSYVLVTCLGLSYDGLLGDNQIMPKTGFLIIV LVMIAMEGGHAPEEEIWEELSVMEVYDGREHSAYGEPR KLLTQDLVQEKYLEYRQVPDSDPARYEFLWGPRALAET SYVKVLEYVIKVSAR**VRFFFPSL**REAALREEEEGV* (SEQ ID NO: 40)
代表性人 HLA-C*07:02 DNA 序列	Atgcgcgtcatggctccacgcgccctcctcctgctgctctcaggggcctggccctgac cgagacctgggcctgctcccactccatgcgctatttcgacaccgccgtgtcccgcccagg ccgcggtgagccacgcttcatctcagtgggctacgtggacgacactcagttcgtgcgctt cgacagcgacgccgccagtcctcgcggggagccacgcgcaccatgggtggagcagg aggggcctgagtattgggaccgcgagacacagaagtacaagcgccaggcacaggctg accgcgtgagcctgcgcaacctgcgcggctactacaaccagagcgaggacgggtctca cacctccagcgcatgtctggctgcgacctggggcctgacgggcgcctcctccgcgggt atgaccagtccgcctacgacggcaaggattacatcgccctgaacgaggacctgcgctcc tggaccgccgctgacaccgccgctcagatcacccagcgcaagttggaggctgcccgcg ccgctgagcagctgcgcgcctacctggagggcacatgcgtggagtggctccgccgcta cctggagaacgggaaggagaccctgcagcgcgcagaaccaccaaagacacacgtga cccaccaccctctctctgaccatgaggccaccctgcgctgctgggccctgggcttctacc ctgctgagatcacactgacctggcagcgcgatggggaggaccagacccaggacaccg agcttgtggagacccgcccagcaggtgatggcaccttccagaagtgggcagctgtggtg gtgccttctgggcaagagcagcgctacacatgccatatgcagcacgaggggctgcaag agccactcaccctgagctgggagccatcttcccagccaaccatcccaatcatgggcatcg ttgctggcctggctgtcctggttgtcctggctgtccttggtgctgtggtcaccgctatgatgt gtcgccgcaagagctcaggtgggaaaggtgggagctgctctcaggctgcatgcagcaa cagtgcccagggctctgatgagtctctcatcacttgtaaagcctga (SEQ ID NO: 41)
代表性人 HLA-C*07:02 蛋白质序列	MRVMAPRALLLLLSGGLALTETWACSHSMRYFDTAVS RPGRGEPRFISVGYVDDTQFVRFDSDAASPRGEPRAPWV EQEGPEYWDRETQKYKRQAQADRVSLRNLRGYYNQSE DGSHTLQRMSGCDLGPDGRLLRGYDQSAYDGKDYIAL NEDLRSWTAADTAAQITQRKLEAARAAEQLRAYLEGTC VEWLRRYLENGKETLQRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLR CWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDGT FQKWAAVVVPSGQEQRYTCHMQHEGLQEPLTLSWEPSS QPTIPIMGIVAGLAVLVVLAVLGAVVTAMMCRRKSSGG KGGSCSQAACSNSAQGSDESLITCKA* (SEQ ID NO: 42)
代表性载体(其 TCR 编码蛋白质可与任何所关注的 TCR 序列互换): pTSLV102-MSCV-HA1-10-30-MGTM-Q-CD8	tggaagggctaattcactcccaaagaagacaagatatccttgatctgtggatctaccacac acaaggctacttccctgattagcagaactacacaccagggccaggggtcagatatccact gacctttggatggtgctacaagctagtaccagttgagccagataaggtagaagaggccaa taaaggagagaaacaccagcttgttacaccctgtgagcctgcatgggatggatgacccgg agagagaagtgttagagtggaggtttgacagccgcctagcatttcatcacgtggcccgag agctgcatccggagtacttcaagaactgctgatatcgagcttgctacaagggactttccgc tggggactttccagggaggcgtggcctgggcgggactggggagtggcgagccctcag atcctgcatataagcagctgctttttgcctgtactgggtctctctggttagaccagatctgag cctgggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgccttg agtgcttcaagtagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagac cctttttagtcagtgtggaaaatctctagcagtggcgcccgaacagggacttgaaagcgaa agggaaaccagaggagctctctcgacgcaggactcggcttgctgaagcgcgcacggc aagaggcgaggggcggcgactggtgagtacgccaaaaattttgactagcggaggctag aaggagagagatgggtgcgagagcgtcagtattaagcgggggagaattagatcgcgat

[0080]

gggaaaaaattcggttaaggccaggggaaagaaaaaatataaattaaaacatatagtat
gggcaagcagggagctagaacgattcgcagttaatcctggcctgttagaaacatcagaa
ggctgtagacaaatactgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaactt
agatcattatataatacagtagcaaccctctattgtgtgcatcaaaggatagagataaaaga
caccaaggaagctttagacaagatagaggaagagcaaaacaaaagtaagaccaccgca
cagcaagcggccggccgctgatcttcagacctggaggaggagatatgagggacaattg
gagaagtgaattatataaatataaagtagtaaaaattgaaccattaggagtagcacccacc
aaggcaaagagaagagtggtgcagagagaaaaaagagcagtgggaataggagctttgt
tccttgggttcttgggagcagcaggaagcactatgggcgcagcgtcaatgacgctgacg
gtacaggccagacaattattgtctggtatagtgcagcagcagaacaatttgctgagggcta
ttgaggcgcaacagcatctgttgcaactcacagtctggggcatcaagcagctccaggca
agaatcctggctgtggaaagatacctaaaggatcaacagctcctggggatttggggttgct
ctggaaaactcatttgcaccactgctgtgccttggaatgctagttggagtaataaatctctgg
aacagatttggaatcacacgacctggatggagtgggacagagaaattaacaattacacaa
gcttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaagaaaagaatgaacaagaatt
attggaattagataaatgggcaagtttgtggaattggtttaacataacaaattggctgtggta
tataaaattattcataatgatagtaggaggcttggtaggtttaagaatagtttttgctgtactttc
tatagtgaatagagttaggcagggatattcaccattatcgtttcagacccacctcccaaccc
cgaggggacccgacaggcccgaaggaatagaagaagaaggtggagagagagacag
agacagatccattcgattagtgaacggatctcgacggtatcgccgaattaattcacaaatg
gcagtattcatccacaattttaaaagaaaaggggggattgggggtacagtgcagggga
aagaatagtagacataatagcaacagacatacaaactaaagaattacaaaaacaaattac
aaaaattcaaaattttcgggtttattacaggCGcGCcagagatccagtttggacCTgc
AGG**TGAAAGACCCCACCTGTAGGTTTGGCAAGtTA**
GCTTAAGTAACGCCATTTTGCAAGGCATGGAAAAT
ACATAACTGAGAATAGAGAAGTTCAGATCAAGGTT
AGGAACAGAGAGACAGCAGAATATGGGCCAAACA
GGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCA
GGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCC
GCCCTCAGCAGTTTCTAGCGAACCATCAGATGTTT
CCAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAATGACCCTGTGC
CTTATTTGAACTAACCAATCAGTTtGCTTCTtGCTTC
TGTTtGtGtGCTTCTGCTCCCtGAGCTCAATAAAAGA
GCCCACAACCCCTCACTtGGtGgGCCAGTCCTCtGATA
GACTGtGTCcCCtGGaTACCCGTAcggtaccgctagcgccacc***ATG***
GGCACCAGCCTCCTCTGCTGGATGGCCCTGTGTCTCCT
GGGGGCAGATCACGCAGATACTGGAGTCTCCCAGGAC
CCCAGACACAAGATCACAAAGAGGGGACAGAATGTTAC
TTTCAGGTGTGATCCAATTTCTGAACACAACCGCCTTTA
TTGGTACCGCCAGACCCTGGGGCAGGGCCCAGAGTTT
CTGACTTACTTCCAGAATGAAGCTCAACTTGAAAAATC
AAGGCTGCTCAGTGATCGGTTCTCTGCAGAGAGGCCTA
AGGGATCTTTCTCCACCTTGGAGATCCAGCGCACAGAG
CAGGGGGACTCTGCCATGTATCTCTGTGCCAGCAGCCG
CACTGCTGGAGATACTCAGTATTTTGGCCCAGGCACCC
GGCTGACAGTGCTCGAAGATCTGAACAAGGTGTTCCCT
CCAGAGGTGGCCGTGTTCGAGCCTTCTaAGGCCGAGAT
CgccCACACaCAaAAAGCCACCCTCGTGTGCCTGGCCAC
CGGCTTTTTCCCCGACCACGTGGAACTGTCTTGGTGGG
TCAACGGCAAAGAGGTGCACTCCGGCGTGtcAACgGATC

[0081]

CCCAGCCTCTGAAAGAACAGCCTGCCCTGAACGACAGC
CGGTACTGCCTGAGCTCCAGACTGAGAGTGTCCGCCAC
CTTCTGGCAGAACCCCCGGAACCACTTCAGATGCCAGG
TGCAGTTTTACGGCCTGAGCGAGAACGACGAGTGGAC
CCAGGACAGAGCCAAGCCCGTGACACAAATCGTGTCTG
CCGAAGCCTGGGGAAGAGCCGATTGCGGCATCACCAG
CGCCTCCTATCACCAGGGCGTGCTGAGCGCCACAATCC
TGTACGAAATCCTGCTGGGCAAGGCCACCCTGTACGCC
GTGCTGGTGTCTGCTCTGGTGCTGATGGCCATGGTCAA
GCGGAAGGACTTTGGCAGCGGCAGAGCCAAAAGGTCC
GGGAGCGGTGCGACAAACTTTAGCCTGTTGAAACAAG
CCGGCGACGTTGAAGAGAACCCCGGACCT**ATGGAAA**
CCCTcTTGGGCCTGCTTATCCTTTGGCTGCAGCTGC
AATGGGTGAGCAGCAAACAGGAGGTGACTCAGATT
CCTGCAGCTCTGAGTGTCCCAGAAGGAGAAAACTT
GGTTCTCAACTGCAGTTTCACTGATAGCGCTATTT
ACAACCTCCAGTGGTTTAGGCAGGACCCTGGGAAA
GGCCTCACATCTCTGTTGCTTATTCAGTCAAGTCA
GAGAGAGCAAACAAGTGGACGCCTTAATGCCTCTC
TGGATAAATCATCAGGACGCAGTACTCTTTACATT
GCAGCTTCTCAGCCTGGTGATTCAGCCACCTACCT
GTGCGCTGTGAGGGGTGGTACCTCAGGAACCTACA
AATACATCTTTGGAACAGGCACCAGGCTGAAGGTT
CTTGCAAACATCCAGAACCCCGACCCCGCCGTGTA
CCAGCTGAGGGACTCCAAGTCCAGCGACAAGAGC
GTGTGTCTGTTTACGGACTTCGACAGCCAGACCAA
CGTGAGTCAAAGCAAGGACAGCGACGTCTACATAA
CGGATAAGACCGTGCTGGACATGCGGAGCATGGA
CTTCAAGAGCAACAGCGCCGTGGCCTGGTCCAACA
AGAGCGACTTCGCCTGCGCCAACGCCTTCAACAAC
AGCATCATCCCCGAGGACACCTTCTTCCCCAGCAG
CGACGTGCCCTGCGACGTGAAACTGGTGGAGAAG
TCCTTCGAGACAGACACCAATCTGAACTTTCAGAA
CCTGCTGGTGATCGTGCTGCGGATTCTGCTGCTGA
AAGTGGCCGGCTTCAATCTGCTGATGACCCTGCGG
CTGTGGAGCAGCAGGGCTAAGAGGTCCGGCAGCGG
AGCCACCAATTTTTCCCTGCTGAAACAGGCTGGTGAC
GTGGAAGAAAACCCTGGCCCCATGGCGCTGCCCGTCA
CCGCGCTGCTGCTGCCCCTGGCGCTGCTGTTACACGCC
GCTCGGCCA*GAGCTTCCCACCCAGGGCACATTCTCCAAC*
GTGTCCACCAATGTGTCGGGAGGCGGCGGATCGTCCCA
GTTCAGAGTGTCCCCTCTGGACCGCACCTGGAACCTGGG
CGAGACCGTGGAGCTGAAATGTCAGGTCCTGCTGAGCAA
CCCGACCTCCGGGTGCAGTTGGCTGTTCCAGCCGCGTG
GTGCTGCCGCAAGCCCTACGTTCCTGCTTTACCTGAGCC
AGAACAAGCCCAAGGCGGCCGAGGGCCTGGACACCCAG
AGATTCTCCGGCAAGCGCCTGGGGGACACATTCGTGCTT
ACTTTGAGCGATTTCCGCAGAGAGAACGAGGGCTACTATT
TCTGTTCGGCGCTGAGCAATTCCATCATGTATTTCAGCCA
CTTTGTGCCAGTGTTCCTGCCTGCCAAGCCTACCACAACA

[0082]

CCAGCTCCCCGTCCCCCGACTCCGGCGCCTACCATCGC
GAGTCAACCGTTGAGCCTGAGGCCTGAGGCTTGTCGGCC
CGCTGCGGGGGGTGCCGTCCACACCAGGGGCCTCGACT
TTGCGTGCGACATCTATATTTGGGCGCCTCTGGCGGGTA
CCTGCGGGGTGCTGCTGCTGTCATTGGTGATTACCCTGT
ACTGCAATCACCGCAACCGCCGGCGGGTCTGTAAGTGCC
CACGGCCTGTGGTCAAGTCCGGTGACAAACCGTCGCTCT
*CGGCTCGCTACGTGC*GCGCTAAGCGCAGCGGTTCCGG
GGCCACCAACTTTTCATTGCTGAAGCAGGCCGGTGAT
GTGGAGGAGAATCCAGGGCCCATGCGCCCCAGGCTTT
GGCTCCTTCTTGCTGCTCAGCTCACTGTCTTGCATGGC
AACTCCGTTCTGCAGCAGACTCCCGCCTACATCAAGG
TGCAGACGAACAAGATGGTGATGCTGTCATGCGAGGC
CAAGATCTCTCTTTCAAATATGAGAATTTATTGGCTAC
GACAGCGCCAGGCCCCCTCCAGCGACAGCCACCACGA
GTTCCTGGCGCTTTGGGATTCTGCTAAAGGCACCATCC
ATGGAGAGGAGGTGGAACAGGAGAAGATAGCTGTCT
TCCGCGACGCATCCCGCTTCATCCTGAACCTGACCAG
CGTGAAGCCGGAGGACAGCGGCATCTACTTCTGTATG
ATCGTTGGCTCCCCCGAGCTGACCTTCGGCAAAGGCA
CCCAGCTGTCCGTGGTGGACTTCCTGCCCACCACAGC
CCAGCCAACCAAGAAATCCACCCTCAAGAAGCGCGTG
TGCCGACTGCCCCGCCCTGAAACCCAGAAGGGCCCTC
TGTGCTCCCCCATCACCCTTGGACTGCTGGTGGCGGG
AGTCCTGGTGCTGCTCGTATCTCTGGGTGTCGCCATCC
ACCTGTGCTGCCGCCGCCGCCGCGCCCGCCTGAGGTT
TATGAAACAGTTTTACAAGTGATAAatcgatagatcctaatcaac
ctctggattacaaaatttgtgaaagattgactggtattcttaactatgttgctccttttacgctat
gtggatacgctgctttaatgcctttgtatcatgctattgcttcccgtatggctttcattttctcctc
cttgtataaatcctggttgctgtctctttatgaggagttgtggcccgttgtcaggcaacgtgg
cgtggtgtgcactgtgtttgctgacgcaacccccactggttggggcattgccaccacctgt
cagctcctttccgggactttcgctttcccctccctattgccacggcggaactcatcgccgc
ctgccttgcccgctgctggacaggggctcggctgttgggcactgacaattccgtggtgttg
tcggggaaatcatcgtcctttccttggctgctcgcctgtgttgccacctggattctgcgcgg
gacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatccagcggaccttccttcccgcggcctg
ctgccggctctgcggcctcttccgcgtcttcgccttcgccctcagacgagtcggatctccc
tttgggccgcctccccgcctgagatcctttaagaccaatgacttacaaggcagctgtagat
cttagccacttttaaaagaaaaggggggactggaagggctaattcactcccaacgaaga
caagatctgctttttgcttgtactgggtctctctggttagaccagatctgagcctgggagctc
tctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgcttcaagt
agtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagt
gtggaaaatctctagcagtagtagttcatgtcatcttattattcagtatttataacttgcaaaga
aatgaatatcagagagtgagaggcccgggttaattaaggaaagggctagatcattcttga
agacgaaagggcctcgtgatacgcctatttttataggttaatgtcatgataataatggtttctt
agacgtcaggtggcacttttcggggaaatgtgcgcggaacccctatttgtttatttttctaaat
acattcaaatatgtatccgctcatgagacaataaccctgataaatgcttcaataatattgaaa
aaggaagagtatgagtattcaacatttccgtgtcgcccttattccctttttgcggcattttgcc
ttcctgtttttgctcacccagaaacgctggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgggt
gcacgagtgggttacatcgaactggatctcaacagcggtaagatccttgagagttttcgcc
ccgaagaacgttttccaatgatgagcacttttaaagttctgctatgtggcgcggtattatccc

[0083]

	gtgttgacgccgggcaagagcaactcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttgg ttgagtactcaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaagagaattatg cagtgctgccataaccatgagtgataacactgcggccaacttacttctgacaacgatcgga ggaccgaaggagctaaccgcttttttgcacaacatgggggatcatgtaactcgccttgatc gttgggaaccggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcgtgacaccacgatgcc tgtagcaatggcaacaacgttgcgcaaactattaactggcgaactacttactctagcttccc ggcaacaattaatagactggatggaggcggataaagttgcaggaccacttctgcgctcg gcccttccggctggctggtttattgctgataaatctggagccggtgagcgtgggtctcgcg gtatcattgcagcactggggccagatggtaagccctcccgtatcgtagttatctacacgac ggggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctcac tgattaagcattggtaactgtcagaccaagtttactcatatatactttagattgatttaaaacttc attttaatttaaaaggatctaggtgaagatccttttgataatctcatgaccaaaatcccttaa cgtgagttttcgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgag atcctttttttctgcgcgtaatctgctgcttgcaaacaaaaaaaccaccgctaccagcggtg gtttgtttgccggatcaagagctaccaactctttttccgaaggtaactggcttcagcagagc gcagataccaaatactgttcttctagtgtagccgtagttaggccaccacttcaagaactctgt agcaccgcctacatacctcgctctgctaatcctgttaccagtggctgctgccagtggcgat aagtcgtgtcttaccgggttggactcaagacgatagttaccggataaggcgcagcggtcg ggctgaacgggggggttcgtgcacacagcccagcttggagcgaacgacctacaccgaac tgagatacctacagcgtgagctatgagaaagcgccacgcttcccgaagggagaaaggc ggacaggtatccggtaagcggcagggtcggaacaggagagcgcacgagggagcttcc agggggaaacgcctggtatctttatagtcctgtcgggtttcgccacctctgacttgagcgtc gatttttgtgatgctcgtcaggggggcggagcctatggaaaaacgccagcaacgcggcc tttttacggttcctggccttttgctggccttttgctcacatgttctttcctgcgttatcccCCTG ATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCT GATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGC GAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATA CGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATT AATGCAGCAAGCTCATGGCTGACTAATTTTTTTATTT ATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTATT CCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGC TTTTGCAAAAAGCTCCCCGTGGCACGACAGGTTTCCC GACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAAT GTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGCTTTAC ACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTG AGCGGATAACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACA TGATTACGAATTTCACAAATAAAGCATTTTTTTCACTG CATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTCATCAATGTATC TTATCATGTCTGGATCAACTGGATAACTCAAGCTAAC CAAAATCATCCCAAACTTCCCACCCCATACCCTATTAC CACTGCCAATTACCTGTGGTTTCATTTACTCTAAACCT GTGATTCCTCTGAATTATTTTCATTTTAAAGAAATTGT ATTTGTTAAATATGTACTACAAACTtagtagt (SEQ ID NO: 43)
代表性人 MAGEC2 cDNA 序列	Atgcctcccgttccaggcgttccattccgcaacgttgacaacgactccccgacctcagtt gagttagaagactgggtagatgcacagcatcccacagatgaggaagaggaggaagcct cctccgcctcttccacttgtacttagtattttccccctcttctttctccacatcctcttctctgatt cttggtggtcctgaggaggaggaggtgccctctggtgtgataccaaatcttaccgagagc attcccagtagtcctccacagggtcctccacagggtccttcccagagtcctctgagctcct gctgctcctcttttcatggagctcattcagtgaggagtccagcagccagaaaggggagg

[0084]

	atacaggcacctgtcagggcctgccagacagtgagtcctctttcacatatacactagatga aaaggtggccgagttagtggagttcctgctcctcaaatacgaagcagaggagcctgtaac agaggcagagatgctgatgattgtcatcaagtacaaagattactttcctgtgatactcaaga gagcccgtgagttcatggagcttctttttggccttgccctgatagaagtgggccctgacca cttctgtgtgtttgcaaacacagtaggcctcaccgatgagggtagtgatgatgagggcatg cccgagaacagcctcctgattattattctgagtgtgatcttcataaagggcaactgtgcctct gaggaggtcatctgggaagtgctgaatgcagtaggggtatatgctgggagggagcactt cgtctatggggagcctagggagctcctcactaaagtttgggtgcagggacattacctgga gtatcgggaggtgccccacagttctcctccatattatgaattcctgtggggtccgagagcc cattcagaaagcatcaagaagaaagtactagagtttttagccaagctgaacaacactgttc ctagttcctttccatcctggtacaaggatgctttgaaagatgtggaagagagagtccaggc cacaattgataccgcagatgatgccactgtcatggccagtgaaagcctcagtgtcatgtcc agcaacgtctccttttctgagtga (SEQ ID NO: 44)
代表性人 MAGEC2 蛋白质序列(代表性非限制性表位加下划线)	MPPVPGVPFRNVDNDSPTSVELEDWVDAQHPTDEEEEE ASSASSTLYLVFSPSSFSTSSSLILGGPEEEEVPSGVIPNLT ESIPSSPPQGPPQGPSQSPLSSCCSSFSWSSFSEESSSQKGE DTGTCQGLPDSESSFTYTLDEKVAELVEFLLLKYEAEEP VTEAEMLMIVIKYKDYFPVILKRAREFMELLFGLALIEV GPDHFCVFANTVGLTDEGSDDEGMPENSLLIIILSVIFIKG NCASEEVIWEVLNAVGVYAGREHFVYGEPRELLTKVW VQGHYLEYREVPHSSPPYYEFLWGPRAHSESIKKKVLEF LAKLNNTVPSSFPSWYKDALKDVEERVQATIDTADDAT VMASESLSVMSSNVSFSE (SEQ ID NO: 45)
代表性人 HLA-B*07:02 DNA 序列	Atgctggtcatggcgccccgaaccgtcctcctgctgctctcggcggccctggccctgac cgagacctgggccggctcccactccatgaggtatttctacacctccgtgtcccggcccgg ccgcggggagccccgcttcatctcagtgggctacgtggacgacacccagttcgtgaggt tcgacagcgacgccgcgagtccgagagaggagccgcgggcgccgtggatagagcag gaggggccggagtattgggaccggaacacacagatctacaaggcccaggcacagact gaccgagagagcctgcggaacctgcgcggctactacaaccagagcgaggccgggtct cacaccctccagagcatgtacggctgcgacgtggggccggacgggcgcctcctccgc gggcatgaccagtacgcctacgacggcaaggattacatcgccctgaacgaggacctgc gctcctggaccgccgcggacacggcggctcagatcacccagcgcaagtgggaggcg gcccgtgaggcggagcagcggagagcctacctggagggcgagtgcgtggagtggctc cgcagatacctggagaacgggaaggacaagctggagcgcgctgacccccaaagaca cacgtgacccaccaccccatctctgaccatgaggccaccctgaggtgctgggccctggg tttctaccctgcggagatcacactgacctggcagcgggatggcgaggaccaaactcagg acactgagcttgtggagaccagaccagcaggagatagaaccttccagaagtgggcagc tgtggtggtgccttctggagaagagcagagatacacatgccatgtacagcatgaggggct gccgaagcccctcaccctgagatgggagccgtcttcccagtccaccgtccccatcgtgg gcattgttgctggcctggctgtcctagcagttgtggtcatcggagctgtggtcgctgctgtg atgtgtaggaggaagagttcaggtggaaaaggagggagctactctcaggctgcgtgca gcgacagtgcccagggctctgatgtgtctctcacagcttga (SEQ ID NO: 46)
代表性人 HLA-B*07:02 蛋白质序列	MLVMAPRTVLLLLSAALALTETWAGSHSMRYFYTSVSR PGRGEPRFISVGYVDDTQFVRFDSDAASPREEPRAPWIE QEGPEYWDRNTQIYKAQAQTDRESLRNLRGYYNQSEA GSHTLQSMYGCDVGPDGRLLRGHDQYAYDGKDYIALN EDLRSWTAADTAAQITQRKWEAAREAEQRRAYLEGEC VEWLRRYLENGKDKLERADPPKTHVTHHPISDHEATLR CWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAGDRT FQKWAAVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEPSS

[0085]

	QSTVPIVGIVAGLAVLAVVVIGAVVAAVMCRRKSSGGK GGSYSQAACSDSAQGSDVSLTA (SEQ ID NO: 47)
代表性HPV16 E7蛋白质序列 (代表性非限制性表位加下划线)	MHGDTPTLHEYMLDLQPETTDLYCYEQLNDSSEEEDEID GPAGQAEPDRAHYNIVTFCCKCDSTLRLCVQSTHVDIRT LEDLLMGTLGIVCPICSQKP (SEQ ID NO: 48)
代表性人 HLA -A*02:01 DNA 序列(CDS)	ATGGCCGTCATGGCGCCCCGAACCCTCGTCCTGCTAC TCTCGGGGGCTCTGGCCCTGACCCAGACCTGGGCGGG CTCTCACTCCATGAGGTATTTCTTCACATCCGTGTCCC GGCCCGGCCGCGGGGAGCCCCGCTTCATCGCAGTGGG CTACGTGGACGACACGCAGTTCGTGCGGTTCGACAGC GACGCCGCGAGCCAGAGGATGGAGCCGCGGGCGCCG TGGATAGAGCAGGAGGGTCCGGAGTATTGGGACGGG GAGACACGGAAAGTGAAGGCCCACTCACAGACTCAC CGAGTGGACCTGGGGACCCTGCGCGGCTACTACAACC AGAGCGAGGCCGGTTCTCACACCGTCCAGAGGATGTA TGGCTGCGACGTGGGGTCGGACTGGCGCTTCCTCCGC GGGTACCACCAGTACGCCTACGACGGCAAGGATTACA TCGCCCTGAAAGAGGACCTGCGCTCTTGGACCGCGGC GGACATGGCAGCTCAGACCACCAAGCACAAGTGGGA GGCGGCCCATGTGGCGGAGCAGTTGAGAGCCTACCTG GAGGGCACGTGCGTGGAGTGGCTCCGCAGATACCTGG AGAACGGGAAGGAGACGCTGCAGCGCACGGACGCCC CCAAAACGCATATGACTCACCACGCTGTCTCTGACCA TGAAGCCACCCTGAGGTGCTGGGCCCTGAGCTTCTAC CCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCGGGATGGGG AGGACCAGACCCAGGACACGGAGCTCGTGGAGACCA GGCCTGCAGGGGATGGAACCTTCCAGAAGTGGGCGG CTGTGGTGGTGCCTTCTGGACAGGAGCAGAGATACAC CTGCCATGTGCAGCATGAGGGTTTGCCCAAGCCCCTC ACCCTGAGATGGGAGCCGTCTTCCCAGCCCACCATCC CCATCGTGGGCATCATTGCTGGCCTGGTTCTCTTTGGA GCTGTGATCACTGGAGCTGTGGTCGCTGCTGTGATGT GGAGGAGGAAGAGCTCAGATAGAAAAGGAGGGAGCT ACTCTCAGGCTGCAAGCAGTGACAGTGCCCAGGGCTC TGATGTGTCTCTCACAGCTTGTAAAGTGTGA (SEQ ID NO: 49)
代表性人 HLA -A*02:01 蛋白质序列	MAVMAPRTLVLLLSGALALTQTWAGSHSMRYFFTSVSR PGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIE QEGPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGTLRGYYNQSEA GSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAYDGKDYIAL KEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEG TCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEA TLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRPAG DGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRW EPSSQPTIPIVGIIAGLVLFGAVITGAVVAAVMWRRKSSD RKGGSYSQAASSDSAQGSDVSLTACKV (SEQ ID NO: 50)

[0086]

代表性载体(其TCR编码蛋白质可与任何所关注的TCR序列互换): pHAGE-MSCV-E7-11-28-P2A-dnTGFbRII	tggaagggctaattcactcccaaagaagacaagatatccttgatctgtggatctaccacac acaaggctacttccctgattagcagaactacacaccagggccaggggtcagatatccact gacctttggatggtgctacaagctagtaccagttgagccagataaggtagaagaggccaa taaaggagagaacaccagcttgttacaccctgtgagcctgcatgggatggatgacccgg agagagaagtgttagagtggaggtttgacagccgcctagcatttcatcacgtggcccgag agctgcatccggagtacttcaagaactgctgatatcgagcttgctacaagggactttccgc tggggactttccagggaggcgtggcctgggcgggactggggagtggcgagccctcag atcctgcatataagcagctgctttttgcctgtactgggtctctctggttagaccagatctgag cctgggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgccttg agtgcttcaagtagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagac ccttttagtcagtgtggaaaatctctagcagtggcgcccgaacagggacttgaaagcgaa agggaaaccagaggagctctctcgacgcaggactcggcttgctgaagcgcgcacggc aagaggcgaggggcggcgactggtgagtacgccaaaaattttgactagcggaggctag aaggagagagatgggtgcgagagcgtcagtattaagcgggggagaattagatcgcgat gggaaaaaattcggttaaggccaggggaaagaaaaaatataaattaaaacatatagtat gggcaagcagggagctagaacgattcgcagttaatcctggcctgttagaaacatcagaa ggctgtagacaaatactgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaactt agatcattatataatacagtagcaaccctctattgtgtgcatcaaaggatagagataaaaga caccaaggaagctttagacaagatagaggaagagcaaaacaaaagtaagaccaccgca cagcaagcggccggccgctgatcttcagacctggaggaggagatatgagggacaattg gagaagtgaattatataaatataaagtagtaaaaattgaaccattaggagtagcacccacc aaggcaaagagaagagtggtgcagagagaaaaaagagcagtgggaataggagctttgt tccttgggttcttgggagcagcaggaagcactatgggcgcagcgtcaatgacgctgacg gtacaggccagacaattattgtctggtatagtgcagcagcagaacaatttgctgagggcta ttgaggcgcaacagcatctgttgcaactcacagtctggggcatcaagcagctccaggca agaatcctggctgtggaaagatacctaaaggatcaacagctcctggggatttggggttgct ctggaaaactcatttgcaccactgctgtgccttggaatgctagttggagtaataaatctctgg aacagatttggaatcacacgacctggatggagtgggacagagaaattaacaattacacaa gcttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaagaaaagaatgaacaagaatt attggaattagataaatgggcaagtttgtggaattggtttaacataacaaattggctgtggta tataaaattattcataatgatagtaggaggcttggtaggtttaagaatagttttgctgtactttc tatagtgaatagagttaggcagggatattcaccattatcgtttcagacccacctcccaaccc cgaggggacccgacaggcccgaaggaatagaagaagaaggtggagagagagacag agacagatccattcgattagtgaacggatctcgacggtatcgccgaattaattcacaaatg gcagtattcatccacaattttaaaagaaaaggggggattgggggtacagtgcagggga aagaatagtagacataatagcaacagacatacaaactaaagaattacaaaaacaaattac aaaaattcaaaattttcgggtttattacaggCGcGCcagagatccagtttggacCTgc AGGTGAAAGACCCCACCTGTAGGTTTGGCAAGtTAGC TTAAGTAACGCCATTTTGCAAGGCATGGAAAATACAT AACTGAGAATAGAGAAGTTCAGATCAAGGTTAGGAA CAGAGAGACAGCAGAATATGGGCCAAACAGGATATC TGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGA ACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCCGCCCTCAGCAGT TTCTAGCGAACCATCAGATGTTTCCAGGGTGCCCCAA GGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTAACC AATCAGTTtGCTTCTtGCTTCTGTTtGtGtGCTTCTGCTCC CtGAGCTCAATAAAAGAGCCCACAACCCCTCACTtGGt GgGCCAGTCCTCtGATAGACTGtGTCCcCCtGGaTACCCGT Acggtaccgctagcgccaccatggatacctggctcgtgtgttgggccatctttagcctgct gaaggccggactgaccgagcctgaagtgacccagactccaagccatcaagtgactcag

[0087]

atggggcaagaagtcattctgcgttgcgtgcccatcagcaaccacctgtacttttattggtat
cgccagatcctgggccagaaagtggaattcctggtgtccttctacaacaatgagatctccg
agaagtccgagatcttcgacgaccagttctccgtggaaagacccgacggcagcaacttc
acactgaagatccggtctaccaaacttgaggactccgctatgtatttttgtgcAATCAC
AGGTCGCGTTTCATATGAGCAATATTTCGGGCCGGGC
ACCAGGCTCACGGTCACAGAAGATCTGAACAAGGTGT
TCCCTCCAGAGGTGGCCGTGTTCGAGCCTTCTAAGGC
CGAGATCGCCCACACACAAAAAGCCACCCTCGTGTGC
CTGGCCACCGGCTTTTTCCCCGACCACGTGGAACTGTC
TTGGTGGGTCAACGGCAAAGAGGTGCACTCCGGCGTG
TCAACGGATCCCCAGCCTCTGAAAGAACAGCCTGCCC
TGAACGACAGCCGGTACTGCCTGAGCTCCAGACTGAG
AGTGTCCGCCACCTTCTGGCAGAACCCCCGGAACCAC
TTCAGATGCCAGGTGCAGTTTTACGGCCTGAGCGAGA
ACGACGAGTGGACCCAGGACAGAGCCAAGCCCGTGA
CACAAATCGTGTCTGCCGAAGCCTGGGGAAGAGCCGA
TTGCGGCATCACCAGCGCCTCCTATCACCAGGGCGTG
CTGAGCGCCACAATCCTGTACGAAATCCTGCTGGGCA
AGGCCACCCTGTACGCCGTGCTGGTGTCTGCTCTGGT
GCTGATGGCCATGGTCAAGCGGAAGGACTTTGGCAGC
GGCAGAGCCAAAAGGTCCGGGAGCGGTGCGACAAAC
TTTAGCCTGTTGAAAcaagccggCGACGTTGAAGAGAACC
CCGGACCTatgctgctgatcacctccatgctggtgctgtggatgcagctgagccaa
gtgaacggccagcaagtgatgcagatccctcagtaccagcacgtgcaagaaggcgagg
acttcaccacctactgcaacagcagcaccacactgagcaacatccagtggtacaagcag
cggcctggcggacaccctgtgtttctgatccagctggtcaagtccggcgaagtgaagaa
gcagaagcggctgaccttccagttcggcgaggccaagaagaacagcagcctgcacatc
accgccacacagaccacagatgtgggcacctacttcTGCGCTGGCATCGG
TAGCAGCAACACCGGTAAGCTCATCTTTGGGCAAGGG
ACAACTTTACAAGTAAAACCAGacatccagaaccccgaccccgcc
gtgtaccagctgagggactccaagtccagcgacaagagcgtgtgtctgtttacggacttc
gacagccagaccaacgtgagtcaaagcaaggacagcgacgtctacataacggataaga
ccgtgctggacatgcggagcatggacttcaagagcaacagcgccgtggcctggtccaa
caagagcgacttcgcctgcgccaacgccttcaacaacagcatcatccccgaggacacct
tcttccccagcagcgacgtgccctgcgacgtgaaactggtggagaagtccttcgagaca
gacaccaatctgaactttcagaacctgctggtgatcgtgctgcggattctgctgCTGA
AAGTGGCCGGCTTCAATCTGCTGATGACCCTGCGGCT
GTGGAGCAGCAGGGCTAAGAGGTCCGGCAGCGGAGC
CACCAATTTTTCCCTGCTGAAACAGGCTGGTGACGTG
GAAGAAAACCCTGGCCCC**ATGGGTCGGGGGCTGCT**
CAGGGGCCTGTGGCCGCTGCACATCGTCCTGTGGA
CGCGTATCGCCAGCACGATCCCACCGCACGTTCAG
AAGTCGGTTAATAACGACATGATAGTCACTGACAA
CAACGGTGCAGTCAAGTTTCCACAACTGTGTAAAT
TTTGTGATGTGAGATTTTCCACCTGTGACAACCAG
AAATCCTGCATGAGCAACTGCAGCATCACCTCCAT
CTGTGAGAAGCCACAGGAAGTCTGTGTGGCTGTAT
GGAGAAAGAATGACGAGAACATAACACTAGAGACA
GTTTGCCATGACCCCAAGCTCCCCTACCATGACTT
TATTCTGGAAGATGCTGCTTCTCCAAAGTGCATTA

[0088]

TGAAGGAAAAAAAAAAGCCTGGTGAGACTTTCTTC
ATGTGTTCCTGTAGCTCTGATGAGTGCAATGACAA
CATCATCTTCTCAGAAGAATATAACACCAGCAATC
CTGACTTGTTGCTAGTCATATTTCAAGTGACAGGC
ATCAGCCTCCTGCCACCACTGGGAGTTGCCATATC
TGTCATCATCATCTTCTACTGCTACCGCGTTaaccggc
agcagaagTAGTGATAAatcgatagatcctaatcaacctctggattacaaaatttgtgaaagattgactggtattcttaactatgttgctccttttacgctatgtggatacgctgcttaatgcctttgtatcatgctattgcttcccgtatggctttcattttctcctccttgtataaatcctggttgctgtctctttatgaggagttgtggcccgttgtcaggcaacgtggcgtggtgtgcactgtgtttgctgacgcaacccccactggttggggcattgccaccacctgtcagctcctttccgggactttcgctttcccctcctattgccacggcggaactcatcgccgcctgccttgcccgctgctggacaggggctcggctgttgggcactgacaattccgtggtgttgtcggggaaatcatcgtccttttccttggctgctcgcctgtgttgccacctggattctgcgcgggacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatccagcggaccttccttcccgcggcctgctgccggctctgcggcctcttccgcgtcttcgccttcgccctcagacgagtcggatctccctttgggccgcctccccgcctgagatcctttaagaccaatgacttacaaggcagctgtagatcttagccacttttaaaagaaaaggggggactggaagggctaattcactcccaacgaagacaagatctgcttttgcttgtactgggtctctctggttagaccagatctgagcctgggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgcttcaagtagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaatctctagcagtagtagttcatgtcatcttattattcagtatttataacttgcaaagaaatgaatatcagagagtgagaggcccgggttaattaaggaaagggctagatcattcttgaagacgaaagggcctcgtgatacgcctatttttataggttaatgtcatgataataatggtttcttagacgtcaggtggcacttttcggggaaatgtgcgcggaacccctatttgtttatttttctaaatacattcaaatatgtatccgctcatgagacaataaccctgataaatgcttcaataatattgaaaaaggaagagtatgagtattcaacatttccgtgtcgcccttattcccttttttgcggcattttgccttcctgtttttgctcacccagaaacgctggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtgggttacatcgaactggatctcaacagcggtaagatccttgagagttttcgccccgaagaacgttttccaatgatgagcacttttaaagttctgctatgtggcgcggtattatcccgtgttgacgccgggcaagagcaactcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttggttgagtactcaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaagagaattatgcagtgctgccataaccatgagtgataacactgcggccaacttacttctgacaacgatcggaggaccgaaggagctaaccgcttttttgcacaacatgggggatcatgtaactcgccttgatcgttgggaaccggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcgtgacaccacgatgcctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaaactattaactggcgaactacttactctagcttcccggcaacaattaatagactggatggaggcggataaagttgcaggaccacttctgcgctcggcccttccggctggctggtttattgctgataaatctggagccggtgagcgtgggtctcgcggtatcattgcagcactggggccagatggtaagccctcccgtatcgtagttatctacacgacggggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctcactgattaagcattggtaactgtcagaccaagtttactcatatatactttagattgatttaaaacttcatttttaatttaaaaggatctaggtgaagatccttttgataatctcatgaccaaaatcccttaacgtgagttttcgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatccttttttctgcgcgtaatctgctgcttgcaaacaaaaaaaccaccgctaccagcggtggtttgtttgccggatcaagagctaccaactctttttccgaaggtaactggcttcagcagagcgcagataccaaatactgttcttctagtgtagccgtagttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacatacctcgctctgctaatcctgttaccagtggctgctgccagtggcgataagtcgtgtcttaccgggttggactcaagacgatagttaccggataaggcgcagcggtcgggctgaacgggggttcgtgcacacagcccagcttggagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgtgagctatgagaaagcgccacgcttcccgaagggagaaaggcggacaggtatccggta

[0089]

	agcggcagggtcggaacaggagagcgcacgagggagcttccaggggaaacgcctg gtatctttatagtcctgtcgggtttcgccacctctgacttgagcgtcgatttttgtgatgctcgt caggggggcggagcctatggaaaaacgccagcaacgcggccttttacggttcctggcc ttttgctggccttttgctcacatgttctttcctgcgttatccCCTGATTCTGTGGA TAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTC GCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGA GCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGC CTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAGCAA GCTCATGGCTGACTAATTTTTTTTATTTATGCAGAGGC CGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAG TGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCTTTTGCAAAA AGCTCCCCGTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAG CGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCT CACTCATTAGGCACCCCAGGCTTTACACTTTATGCTTC CGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACA ATTTCACACAGGAAACAGCTATGACATGATTACGAAT TTCACAAATAAAGCATTTTTTTCACTGCATTCTAGTTG TGGTTTGTCCAAACTCATCAATGTATCTTATCATGTCT GGATCAACTGGATAACTCAAGCTAACCAAAATCATCC CAAACTTCCCACCCCATACCCTATTACCACTGCCAATT ACCTGTGGTTTCATTTACTCTAAACCTGTGATTCCTCT GAATTATTTTCATTTTAAAGAAATTGTATTTGTTAAAT ATGTACTACAAACTtagtagt (SEQ ID NO: 51)
代表性载体(其TCR编码蛋白质可与任何所关注的TCR序列互换):	GAATTCGTCGACGCTAGCTGGCTTGTTGTCCACAACC ATTAAACCTTAAAAGCTTTAAAAGCCTTATATATTCTT TTTTTTCTTATAAAACTTAAAACCTTAGAGGCTATTTA AGTTGCTGATTTATATTAATTTTATTGTTCAAACATGA GAGCTTAGTACGTGAAACATGAGAGCTTAGTACATTA GCCATGAGAGCTTAGTACATTAGCCATGAGGGTTTAG TTCATTAAACATGAGAGCTTAGTACATTAAACATGAG AGCTTAGTACATACTATCAACAGGTTGAACTGCTGAT CTGTACAGTAGAATTGGTAAAGAGAGTTGTGTAAAAT ATTGAGTTCGCACATCTTGTTGTCTGATTATTGATTTT TGGCGAAACCATTTGATCATATGACAAGATGTGTATC TACCTTAACTTAATGATTTTGATAAAAATCATTAGGTA CCAATTACATTGCTTGCAATTAACCCTTTAACGGTTAT AAGGATCTAGATGAGATAGAAAGATTTGGTTTTCGGA TTTGTGTTACATAAGATGCCTAAAATAAAAATTGAGA TTCAATTTTTTTTAAACTTTTTTTTAATTGGTGGTAAGA ATATTCCCTCTACCTGTTTGAGAGTAATGAAATTGTAG TATGATTTTTCAACAAACTAAAAAAACAACATAAATC TCACATAATAACTTTATTTCAATCACACAATTGAATAC CAATAGGTTGACAGTACTTACCAGCCTGCAGG**TGAAA** **GACCCCACCTGTAGGTTTGGCAAGTTAGCTTAAGT** **AACGCCATTTTGCAAGGCATGGAAAATACATAACT** **GAGAATAGAGAAGTTCAGATCAAGGTTAGGAACAG** **AGAGACAGCAGAATATGGGCCAAACAGGATATCTG** **TGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGA** **ACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCCGCCCTCAGCA** **GTTTCTAGCGAACCATCAGATGTTTCCAGGGTGCC**

[0090]

	CCAAGGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAA **CTAACCAATCAGTTTGCTTCTTGCTTCTGTTTGTGT** **GCTTCTGCTCCCTGAGCTCAATAAAAGAGCCCACA** **ACCCCTCACTTGGTGGGCCAGTCCTCTGATAGACT** **GTGTCCCCTGG**ATACCCGTACGGTACCGCTAGCGCC ACC***ATGGATACCTGGCTCGTGTGTTGGGCCATCTTTAG*** ***CCTGCTGAAGGCCGGACTGACCGAGCCTGAAGTGACC*** ***CAGACTCCAAGCCATCAAGTGACTCAGATGGGGCAAGA*** ***AGTCATTCTGCGTTGCGTGCCCATCAGCAACCACCTGT*** ***ACTTTTATTGGTATCGCCAGATCCTGGGCCAGAAAGTG*** ***GAATTCCTGGTGTCCTTCTACAACAATGAGATCTCCGA*** ***GAAGTCCGAGATCTTCGACGACCAGTTCTCCGTGGAAA*** ***GACCCGACGGCAGCAACTTCACACTGAAGATCCGGTCT*** ***ACCAAACTTGAGGACTCCGCTATGTATTTTTGTGCAAT*** ***CACAGGTCGCGTTTCATATGAGCAATATTTCGGGCCGG*** ***GCACCAGGCTCACGGTCACAGAAGATCTGAACAAGGT*** ***GTTCCCTCCAGAGGTGGCCGTGTTCGAGCCTTCTAAGG*** ***CCGAGATCGCCCACACACAAAAAGCCACCCTCGTGTGC*** ***CTGGCCACCGGCTTTTTCCCCGACCACGTGGAACTGTC*** ***TTGGTGGGTCAACGGCAAAGAGGTGCACTCCGGCGTG*** ***TCAACGGATCCCCAGCCTCTGAAAGAACAGCCTGCCCT*** ***GAACGACAGCCGGTACTGCCTGAGCTCCAGACTGAGA*** ***GTGTCCGCCACCTTCTGGCAGAACCCCCGGAACCACTT*** ***CAGATGCCAGGTGCAGTTTTACGGCCTGAGCGAGAAC*** ***GACGAGTGGACCCAGGACAGAGCCAAGCCCGTGACAC*** ***AAATCGTGTCTGCCGAAGCCTGGGGAAGAGCCGATTG*** ***CGGCATCACCAGCGCCTCCTATCACCAGGGCGTGCTGA*** ***GCGCCACAATCCTGTACGAAATCCTGCTGGGCAAGGCC*** ***ACCCTGTACGCCGTGCTGGTGTCTGCTCTGGTGCTGAT*** ***GGCCATGGTCAAGCGGAAGGACTTTGGCAGCGGC***AGA GCCAAAAGGTCCGGGAGCGGTGCGACAAACTTTAGCC TGTTGAAACAAGCCGGCGACGTTGAAGAGAACCCCG GACCT**ATGCTGCTGATCACCTCCATGCTGGTGCTG** **TGGATGCAGCTGAGCCAAGTGAACGGCCAGCAAG** **TGATGCAGATCCCTCAGTACCAGCACGTGCAAGAA** **GGCGAGGACTTCACCACCTACTGCAACAGCAGCAC** **CACACTGAGCAACATCCAGTGGTACAAGCAGCGGC** **CTGGCGGACACCCTGTGTTTCTGATCCAGCTGGTC** **AAGTCCGGCGAAGTGAAGAAGCAGAAGCGGCTGA** **CCTTCCAGTTCGGCGAGGCCAAGAAGAACAGCAGC** **CTGCACATCACCGCCACACAGACCACAGATGTGGG** **CACCTACTTCTGCGCTGGCATCGGTAGCAGCAACA** **CCGGTAAGCTCATCTTTGGGCAAGGGACAACTTTA** **CAAGTAAAACCAGACATCCAGAACCCCGACCCCGC** **CGTGTACCAGCTGAGGGACTCCAAGTCCAGCGACA** **AGAGCGTGTGTCTGTTTACGGACTTCGACAGCCAG** **ACCAACGTGAGTCAAAGCAAGGACAGCGACGTCTA** **CATAACGGATAAGACCGTGCTGGACATGCGGAGCA** **TGGACTTCAAGAGCAACAGCGCCGTGGCCTGGTCC** **AACAAGAGCGACTTCGCCTGCGCCAACGCCTTCAA**

[0091]

	CAACAGCATCATCCCCGAGGACACCTTCTTCCCCA **GCAGCGACGTGCCCTGCGACGTGAAACTGGTGGA** **GAAGTCCTTCGAGACAGACACCAATCTGAACTTTC** **AGAACCTGCTGGTGATCGTGCTGCGGATTCTGCTG** **CTGAAAGTGGCCGGCTTCAATCTGCTGATGACCCT** **GCGGCTGTGGAGCAGC**AGGGCTAAGAGGTCCGGCA GCGGAGCCACCAATTTTTCCCTGCTGAAACAGGCTGG TGACGTGGAAGAAAACCCTGGCCCC*ATGGCGCTGCCC* *GTCACCGCGCTGCTGCTGCCCCTGGCGCTGCTGTTACAC* *GCCGCTCGGCCA*<u>*GAGCTTCCCACCCAGGGCACATTCTCC*</u> *<u>AACGTGTCCACCAATGTGTCG</u>GGAGGCGGCGGATCGTCC* *CAGTTCAGAGTGTCCCCTCTGGACCGCACCTGGAACCTG* *GGCGAGACCGTGGAGCTGAAATGTCAGGTCCTGCTGAGC* *AACCCGACCTCCGGGTGCAGTTGGCTGTTCCAGCCGCGT* *GGTGCTGCCGCAAGCCCTACGTTCCTGCTTTACCTGAGC* *CAGAACAAGCCCAAGGCGGCCGAGGGCCTGGACACCCA* *GAGATTCTCCGGCAAGCGCCTGGGGGACACATTCGTGCT* *TACTTTGAGCGATTTCCGCAGAGAGAACGAGGGCTACTAT* *TTCTGTTCGGCGCTGAGCAATTCCATCATGTATTTCAGCC* *ACTTTGTGCCAGTGTTCCTGCCTGCCAAGCCTACCACAAC* *ACCAGCTCCCCGTCCCCCGACTCCGGCGCCTACCATCGC* *GAGTCAACCGTTGAGCCTGAGGCCTGAGGCTTGTCGGCC* *CGCTGCGGGGGGTGCCGTCCACACCAGGGGCCTCGACT* *TTGCGTGCGACATCTATATTTGGGCGCCTCTGGCGGGTA* *CCTGCGGGGTGCTGCTGCTGTCATTGGTGATTACCCTGT* *ACTGCAATCACCGCAACCGCCGGCGGGTCTGTAAGTGCC* *CACGGCCTGTGGTCAAGTCCGGTGACAAACCGTCGCTCT* *CGGCTCGCTACGTG*CGCGCTAAGCGCAGCGGTTCCGG GGCCACCAACTTTTCATTGCTGAAGCAGGCCGGTGAT GTGGAGGAGAATCCAGGGCCC<u>ATGCGCCCCAGGCTTT</u> <u>GGCTCCTTCTTGCTGCTCAGCTCACTGTCTTGCATGGC</u> <u>AACTCCGTTCTGCAGCAGACTCCCGCCTACATCAAGG</u> <u>TGCAGACGAACAAGATGGTGATGCTGTCATGCGAGGC</u> <u>CAAGATCTCTCTTTCAAATATGAGAATTTATTGGCTAC</u> <u>GACAGCGCCAGGCCCCCTCCAGCGACAGCCACCACGA</u> <u>GTTCCTGGCGCTTTGGGATTCTGCTAAAGGCACCATCC</u> <u>ATGGAGAGGAGGTGGAACAGGAGAAGATAGCTGTCT</u> <u>TCCGCGACGCATCCCGCTTCATCCTGAACCTGACCAG</u> <u>CGTGAAGCCGGAGGACAGCGGCATCTACTTCTGTATG</u> <u>ATCGTTGGCTCCCCCGAGCTGACCTTCGGCAAAGGCA</u> <u>CCCAGCTGTCCGTGGTGGACTTCCTGCCCACCACAGC</u> <u>CCAGCCAACCAAGAAATCCACCCTCAAGAAGCGCGTG</u> <u>TGCCGACTGCCCCGCCCTGAAACCCAGAAGGGCCCTC</u> <u>TGTGCTCCCCCATCACCCTTGGACTGCTGGTGGCGGG</u> <u>AGTCCTGGTGCTGCTCGTATCTCTGGGTGTCGCCATCC</u> <u>ACCTGTGCTGCCGCCGCCGCCGCGCCCGCCTGAGGTT</u> <u>TATGAAACAGTTTTACAAGTGA</u>TAAATCGATGGAAGG GTGGCATCCCTGTGACCCCTCCCCAGTGCCTCTCCTGG CCCTGGAAGTTGCCACTCCAGTGCCCACCAGCCTTGT CCTAATAAAATTAAGTTGCATCATTTTGTCTGACTAGG

[0092]

	TGTCCTTCTATAATATTATGGGGTGGAGGGGGGTGGT ATGGAGCAAGGGGCAAGTTGGGAAGACAACCTGTAG GGCCTGCGGGGTCTATTGGGAACCAAGCTGGAGTGCA GTGGCACAATCTTGGCTCACTGCAATCTCCGCCTCCTG GGTTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTTGT TGGGATTCCAGGCATGCATGACCAGGCTCAGCTAATT TTTGTTTTTTTGGTAGAGACGGGGTTTCACCATATTGG CCAGGCTGGTCTCCAACTCCTAATCTCAGGTGATCTAC CCACCTTGGCCTCCCAAATTGCTGGGATTACAGGCGT GAACCACTGCTCCCTTCCCTGTCCTTCTGATTACTAGT GGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGC CCACAGTCCCCGAGAAGTTGTGGGGAGGGGTCGGCA ATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAA ACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTT CCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTA GTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGC CAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGG CCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCCTTG AATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATC CCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAG GCCTTGCGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAG TTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCGCGTGCG AATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCG ATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCT GCGACGCTTTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAAATGC GGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTCGGTTTTTGGG GCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGC ACATGTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCAC CGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCC TGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGCCC CGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGT TGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCT GCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGCGCTCGGGA GAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGG GCCTTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCAC GGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTC TCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAGGTTGGGGGG AGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTG GGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATG TAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTTTGAGTTTGGATC TTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTT TTTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGAACTAGTCCAGTG TGGTGGAATTCTGCAGATATCACGGCTAGCGCCACCA TGGGTCGGGGGCTGCTCAGGGGCCTGTGGCCGCTGCA CATCGTCCTGTGGACGCGTATCGCCAGCACGATCCCA CCGCACGTTCAGAAGTCGGTGAATAACGACATGATAG TCACTGACAACAACGGTGCAGTCAAGTTTCCACAACT GTGTAAATTTTGTGATGTGAGATTTTCCACCTGTGACA ACCAGAAATCCTGCATGAGCAACTGCAGCATCACCTC CATCTGTGAGAAGCCACAGGAAGTCTGTGTGGCTGTA

[0093]

TGGAGAAAGAATGACGAGAACATAACACTAGAGACA
GTTTGCCATGACCCCAAGCTCCCCTACCATGACTTTAT
TCTGGAAGATGCTGCTTCTCCAAAGTGCATTATGAAG
GAGAAGAAAAAGCCTGGTGAGACTTTCTTCATGTGTT
CCTGTAGCTCTGATGAGTGCAATGACAACATCATCTT
CTCAGAAGAATATAACACCAGCAATCCTGACTTGTTG
CTAGTCATATTTCAAGTGACAGGCATCAGCCTCCTGC
CACCACTGGGAGTTGCCATATCTGTCATCATCATCTTC
TACTGCTACCGCGTGAACCGGCAGCAGAAGGCTAGTG
GTTCAGGCGCAACGAATTTCTCTTTGCTGAAGCAGGC
TGGGGATGTCGAAGAAAATCCGGGTCCAATGGTGGGC
TCGCTCAACTGCATCGTAGCAGTCTCCCAGAATATGG
GCATCGGGAAGAACGGTGATTTCCCGTGGCCCCCACT
TCGCAACGAGAGCCGTTATTTCCAAAGAATGACTACA
ACCTCCTCCGTGGAGGGTAAGCAGAACCTGGTCATCA
TGGGGAAGAAGACCTGGTTCTCTATCCCTGAAAAAAA
CCGCCCCCTGAAGGGCCGCATCAACCTGGTGCTGAGC
AGGGAACTCAAGGAGCCTCCTCAGGGCGCGCATTTTC
TGAGCCGCTCATTGGATGACGCTCTCAAACTGACCGA
ACAGCCGGAGCTAGCCAACAAGGTGGACATGGTGTG
GATCGTCGGAGGCTCCTCCGTGTACAAGGAGGCCATG
AATCACCCCGGCCACTTGAAGCTGTTCGTCACCCGGA
TCATGCAGGACTTCGAGTCGGACACGTTCTTTCCAGA
GATTGACCTGGAGAAGTACAAGCTGCTGCCCGAGTAC
CCGGGAGTTCTTAGTGATGTGCAGGAGGAGAAAGGC
ATCAAGTACAAATTTGAGGTGTACGAGAAGAACGACT
AACGGTCCGTCCTGACCAATGCTGGAGTTCTTCGCCC
ACCCCAACTTGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACAAA
TAAAGCAATAGCATCACAAATTTCACAAATAAAGCAT
TTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTC
ATCAATGTATCTTATCATGTCTGTATACAGGTTACCTC
AGTCTCCTAGGTACGTCTTATATCTATGAAAAAACATT
CAAAAGCACAACATCTAGAAGAACTTACCTTTTTTCA
CCACTCTATTGCAAAGATATGTACCGATTTCTCTCGAA
GTACAAAAAACCGCTAGTTTTCAAATTCACCTCAAGA
CTTTGAAAAAAAATTGAATCTGTCAATGTCAAATAAA
ATCAGAAACAAATGTCATAATGTTACGTTAATGTTGT
CAGGTCGAAAAATAAAATTGCAAATAGAAATTTTGTT
CCTTTTTTATTGGTTTTTATTGGTGGGAAAAATATTCC
CTCTAACTGCAAAAGGGTTAATTATGTTAGAGGTAGA
GTCGACAAGCTT (SEQ ID NO: 50)
pNVVD154_TSC-200-A02_TCR-28_MSCV-TCR28-CD8-EF1a-TGFR-DHFR 载体的图谱
GAATTCGTCGACGCTAGCTGGCTTGTTGTCCACAACC
ATTAAACCTTAAAAGCTTTAAAAGCCTTATATATTCTT
TTTTTTCTTATAAAACTTAAAACCTTAGAGGCTATTTA
AGTTGCTGATTTATATTAATTTTATTGTTCAAACATGA
GAGCTTAGTACGTGAAACATGAGAGCTTAGTACATTA
GCCATGAGAGCTTAGTACATTAGCCATGAGGGTTTAG
TTCATTAAACATGAGAGCTTAGTACATTAAACATGAG

[0094]

AGCTTAGTACATACTATCAACAGGTTGAACTGCTGAT
CTGTACAGTAGAATTGGTAAAGAGAGTTGTGTAAAAT
ATTGAGTTCGCACATCTTGTTGTCTGATTATTGATTTT
TGGCGAAACCATTTGATCATATGACAAGATGTGTATC
TACCTTAACTTAATGATTTTGATAAAAATCATTAGGTA
CCAATTACATTGCTTGCAATTAACCCTTTAACGGTTAT
AAGGATCTAGATGAGATAGAAAGATTTGGTTTTCGGA
TTTGTGTTACATAAGATGCCTAAAATAAAAATTGAGA
TTCAATTTTTTTTAAACTTTTTTTTAATTGGTGGTAAGA
ATATTCCCTCTACCTGTTTGAGAGTAATGAAATTGTAG
TATGATTTTTCAACAAACTAAAAAAACAACATAAATC
TCACATAATAACTTTATTTCAATCACACAATTGAATAC
CAATAGGTTGACAGTACTTACCAGCCTGCAGG**TGAAA**
GACCCCACCTGTAGGTTTGGCAAGTTAGCTTAAGT
AACGCCATTTTGCAAGGCATGGAAAATACATAACT
GAGAATAGAGAAGTTCAGATCAAGGTTAGGAACAG
AGAGACAGCAGAATATGGGCCAAACAGGATATCTG
TGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGA
ACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCCGCCCTCAGCA
GTTTCTAGCGAACCATCAGATGTTTCCAGGGTGCC
CCAAGGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAA
CTAACCAATCAGTTTGCTTCTTGCTTCTGTTTGTGT
GCTTCTGCTCCCTGAGCTCAATAAAAGAGCCCACA
ACCCCTCACTTGGTGGGCCAGTCCTCTGATAGACT
GTGTCCCCTGGATACCCGTACGGTACCGCTAGCGCC
ACC***ATGGATACCTGGCTCGTGTGTTGGGCCATCTTTAG***
CCTGCTGAAGGCCGGACTGACCGAGCCTGAAGTGACC
CAGACTCCAAGCCATCAAGTGACTCAGATGGGGCAAGA
AGTCATTCTGCGTTGCGTGCCCATCAGCAACCACCTGT
ACTTTTATTGGTATCGCCAGATCCTGGGCCAGAAAGTG
GAATTCCTGGTGTCCTTCTACAACAATGAGATCTCCGA
GAAGTCCGAGATCTTCGACGACCAGTTCTCCGTGGAAA
GACCCGACGGCAGCAACTTCACACTGAAGATCCGGTCT
ACCAAACTTGAGGACTCCGCTATGTATTTTTGTGCAAT
CACAGGTCGCGTTTCATATGAGCAATATTTCGGGCCGG
GCACCAGGCTCACGGTCACAGAAGATCTGAACAAGGT
GTTCCCTCCAGAGGTGGCCGTGTTCGAGCCTTCTAAGG
CCGAGATCGCCCACACACAAAAAGCCACCCTCGTGTGC
CTGGCCACCGGCTTTTTCCCCGACCACGTGGAACTGTC
TTGGTGGGTCAACGGCAAAGAGGTGCACTCCGGCGTG
TCAACGGATCCCCAGCCTCTGAAAGAACAGCCTGCCCT
GAACGACAGCCGGTACTGCCTGAGCTCCAGACTGAGA
GTGTCCGCCACCTTCTGGCAGAACCCCCGGAACCACTT
CAGATGCCAGGTGCAGTTTTACGGCCTGAGCGAGAAC
GACGAGTGGACCCAGGACAGAGCCAAGCCCGTGACAC
AAATCGTGTCTGCCGAAGCCTGGGGAAGAGCCGATTG
CGGCATCACCAGCGCCTCCTATCACCAGGGCGTGCTGA
GCGCCACAATCCTGTACGAAATCCTGCTGGGCAAGGCC
ACCCTGTACGCCGTGCTGGTGTCTGCTCTGGTGCTGAT
GGCCATGGTCAAGCGGAAGGACTTTGGCAGCGGCAGA

[0095]

GCCAAAAGGTCCGGGAGCGGTGCGACAAACTTTAGCC
TGTTGAAACAAGCCGGCGACGTTGAAGAGAACCCCG
GACCT**ATGCTGCTGATCACCTCCATGCTGGTGCTG**
TGGATGCAGCTGAGCCAAGTGAACGGCCAGCAAG
TGATGCAGATCCCTCAGTACCAGCACGTGCAAGAA
GGCGAGGACTTCACCACCTACTGCAACAGCAGCAC
CACACTGAGCAACATCCAGTGGTACAAGCAGCGGC
CTGGCGGACACCCTGTGTTTCTGATCCAGCTGGTC
AAGTCCGGCGAAGTGAAGAAGCAGAAGCGGCTGA
CCTTCCAGTTCGGCGAGGCCAAGAAGAACAGCAGC
CTGCACATCACCGCCACACAGACCACAGATGTGGG
CACCTACTTCTGCGCTGGCATCGGTAGCAGCAACA
CCGGTAAGCTCATCTTTGGGCAAGGGACAACTTTA
CAAGTAAAACCAGACATCCAGAACCCCGACCCCGC
CGTGTACCAGCTGAGGGACTCCAAGTCCAGCGACA
AGAGCGTGTGTCTGTTTACGGACTTCGACAGCCAG
ACCAACGTGAGTCAAAGCAAGGACAGCGACGTCTA
CATAACGGATAAGACCGTGCTGGACATGCGGAGCA
TGGACTTCAAGAGCAACAGCGCCGTGGCCTGGTCC
AACAAGAGCGACTTCGCCTGCGCCAACGCCTTCAA
CAACAGCATCATCCCCGAGGACACCTTCTTCCCCA
GCAGCGACGTGCCCTGCGACGTGAAACTGGTGGA
GAAGTCCTTCGAGACAGACACCAATCTGAACTTTC
AGAACCTGCTGGTGATCGTGCTGCGGATTCTGCTG
CTGAAAGTGGCCGGCTTCAATCTGCTGATGACCCT
GCGGCTGTGGAGCAGCAGGGCTAAGAGGTCCGGCA
GCGGAGCCACCAATTTTTCCCTGCTGAAACAGGCTGG
TGACGTGGAAGAAAACCCTGGCCCC*ATGGCGCTGCCC*
GTCACCGCGCTGCTGCTGCCCCTGGCGCTGCTGTTACAC
GCCGCTCGGCCA<u>*GAGCTTCCCACCCAGGGCACATTCTCC*</u>
<u>*AACGTGTCCACCAATGTGTCG*</u>*GGAGGCGGCGGATCGTCC*
CAGTTCAGAGTGTCCCCTCTGGACCGCACCTGGAACCTG
GGCGAGACCGTGGAGCTGAAATGTCAGGTCCTGCTGAGC
AACCCGACCTCCGGGTGCAGTTGGCTGTTCCAGCCGCGT
GGTGCTGCCGCAAGCCCTACGTTCCTGCTTTACCTGAGC
CAGAACAAGCCCAAGGCGGCCGAGGGCCTGGACACCCA
GAGATTCTCCGGCAAGCGCCTGGGGGACACATTCGTGCT
TACTTTGAGCGATTTCCGCAGAGAGAACGAGGGCTACTAT
TTCTGTTCGGCGCTGAGCAATTCCATCATGTATTTCAGCC
ACTTTGTGCCAGTGTTCCTGCCTGCCAAGCCTACCACAAC
ACCAGCTCCCCGTCCCCCGACTCCGGCGCCTACCATCGC
GAGTCAACCGTTGAGCCTGAGGCCTGAGGCTTGTCGGCC
CGCTGCGGGGGGTGCCGTCCACACCAGGGGCCTCGACT
TTGCGTGCGACATCTATATTTGGGCGCCTCTGGCGGGTA
CCTGCGGGGTGCTGCTGCTGTCATTGGTGATTACCCTGT
ACTGCAATCACCGCAACCGCCGGCGGGTCTGTAAGTGCC
CACGGCCTGTGGTCAAGTCCGGTGACAAACCGTCGCTCT
*CGGCTCGCTACGTG*CGCGCTAAGCGCAGCGGTTCCGG
GGCCACCAACTTTTCATTGCTGAAGCAGGCCGGTGAT
GTGGAGGAGAATCCAGGGCCC<u>ATGCGCCCCAGGCTTT</u>

[0096]

	GGCTCCTTCTTGCTGCTCAGCTCACTGTCTTGCATGGC AACTCCGTTCTGCAGCAGACTCCCGCCTACATCAAGG TGCAGACGAACAAGATGGTGATGCTGTCATGCGAGGC CAAGATCTCTCTTTCAAATATGAGAATTTATTGGCTAC GACAGCGCCAGGCCCCCTCCAGCGACAGCCACCACGA GTTCCTGGCGCTTTGGGATTCTGCTAAAGGCACCATCC ATGGAGAGGAGGTGGAACAGGAGAAGATAGCTGTCT TCCGCGACGCATCCCGCTTCATCCTGAACCTGACCAG CGTGAAGCCGGAGGACAGCGGCATCTACTTCTGTATG ATCGTTGGCTCCCCCGAGCTGACCTTCGGCAAAGGCA CCCAGCTGTCCGTGGTGGACTTCCTGCCCACCACAGC CCAGCCAACCAAGAAATCCACCCTCAAGAAGCGCGTG TGCCGACTGCCCCGCCCTGAAACCCAGAAGGGCCCTC TGTGCTCCCCCATCACCCTTGGACTGCTGGTGGCGGG AGTCCTGGTGCTGCTCGTATCTCTGGGTGTCGCCATCC ACCTGTGCTGCCGCCGCCGCCGCGCCCGCCTGAGGTT TATGAAACAGTTTTACAAGTGATAAATCGATGGAAGG GTGGCATCCCTGTGACCCCTCCCCAGTGCCTCTCCTGG CCCTGGAAGTTGCCACTCCAGTGCCCACCAGCCTTGT CCTAATAAAATTAAGTTGCATCATTTTGTCTGACTAGG TGTCCTTCTATAATATTATGGGGTGGAGGGGGGTGGT ATGGAGCAAGGGGCAAGTTGGGAAGACAACCTGTAG GGCCTGCGGGGTCTATTGGGAACCAAGCTGGAGTGCA GTGGCACAATCTTGGCTCACTGCAATCTCCGCCTCCTG GGTTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTTGT TGGGATTCCAGGCATGCATGACCAGGCTCAGCTAATT TTTGTTTTTTTGGTAGAGACGGGGTTTCACCATATTGG CCAGGCTGGTCTCCAACTCCTAATCTCAGGTGATCTAC CCACCTTGGCCTCCCAAATTGCTGGGATTACAGGCGT GAACCACTGCTCCCTTCCCTGTCCTTCTGATTACTAGT GGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGC CCACAGTCCCCGAGAAGTTGTGGGGAGGGGTCGGCA ATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAA ACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTT CCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTA GTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGC CAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGG CCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCCTTG AATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATC CCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAG GCCTTGCGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAG TTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCGCGTGCG AATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCG ATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCT GCGACGCTTTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAAATGC GGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTCGGTTTTTGGG GCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGC ACATGTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCAC CGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCC TGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGCCC

[0097]

	CGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGT TGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCT GCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGCGCTCGGGA GAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGG GCCTTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCAC GGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTC TCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAGGTTGGGGGG AGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTG GGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATG TAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTTTGAGTTTGGATC TTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTT TTTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGAACTAGTCCAGTG TGGTGGAATTCTGCAGATATCACGGCTAGCGCCACCA TGGGTCGGGGGCTGCTCAGGGGCCTGTGGCCGCTGCA CATCGTCCTGTGGACGCGTATCGCCAGCACGATCCCA CCGCACGTTCAGAAGTCGGTGAATAACGACATGATAG TCACTGACAACAACGGTGCAGTCAAGTTTCCACAACT GTGTAAATTTTGTGATGTGAGATTTTCCACCTGTGACA ACCAGAAATCCTGCATGAGCAACTGCAGCATCACCTC CATCTGTGAGAAGCCACAGGAAGTCTGTGTGGCTGTA TGGAGAAAGAATGACGAGAACATAACACTAGAGACA GTTTGCCATGACCCCAAGCTCCCCTACCATGACTTTAT TCTGGAAGATGCTGCTTCTCCAAAGTGCATTATGAAG GAGAAGAAAAAGCCTGGTGAGACTTTCTTCATGTGTT CCTGTAGCTCTGATGAGTGCAATGACAACATCATCTT CTCAGAAGAATATAACACCAGCAATCCTGACTTGTTG CTAGTCATATTTCAAGTGACAGGCATCAGCCTCCTGC CACCACTGGGAGTTGCCATATCTGTCATCATCATCTTC TACTGCTACCGCGTGAACCGGCAGCAGAAGGCTAGTG GTTCAGGCGCAACGAATTTCTCTTTGCTGAAGCAGGC TGGGGATGTCGAAGAAAATCCGGGTCCAATGGTGGGC TCGCTCAACTGCATCGTAGCAGTCTCCCAGAATATGG GCATCGGGAAGAACGGTGATTTCCCGTGGCCCCCACT TCGCAACGAGAGCCGTTATTTCCAAAGAATGACTACA ACCTCCTCCGTGGAGGGTAAGCAGAACCTGGTCATCA TGGGGAAGAAGACCTGGTTCTCTATCCCTGAAAAAAA CCGCCCCCTGAAGGGCCGCATCAACCTGGTGCTGAGC AGGGAACTCAAGGAGCCTCCTCAGGGCGCGCATTTTC TGAGCCGCTCATTGGATGACGCTCTCAAACTGACCGA ACAGCCGGAGCTAGCCAACAAGGTGGACATGGTGTG GATCGTCGGAGGCTCCTCCGTGTACAAGGAGGCCATG AATCACCCCGGCCACTTGAAGCTGTTCGTCACCCGGA TCATGCAGGACTTCGAGTCGGACACGTTCTTTCCAGA GATTGACCTGGAGAAGTACAAGCTGCTGCCCGAGTAC CCGGGAGTTCTTAGTGATGTGCAGGAGGAGAAAGGC ATCAAGTACAAATTTGAGGTGTACGAGAAGAACGACT AACGGTCCGTCCTGACCAATGCTGGAGTTCTTCGCCC ACCCCAACTTGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACAAA TAAAGCAATAGCATCACAAATTTCACAAATAAAGCAT TTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTC

[0098]

	ATCAATGTATCTTATCATGTCTGTATACAGGTTACCTC AGTCTCCTAGGTACGTCTTATATCTATGAAAAAACATT CAAAAGCACAACATCTAGAAGAACTTACCTTTTTTCA CCACTCTATTGCAAAGATATGTACCGATTTCTCTCGAA GTACAAAAAACCGCTAGTTTTCAAATTCACCTCAAGA CTTTGAAAAAAAATTGAATCTGTCAATGTCAAATAAA ATCAGAAACAAATGTCATAATGTTACGTTAATGTTGT CAGGTCGAAAAATAAAATTGCAAATAGAAATTTTGTT CCTTTTTTATTGGTTTTTATTGGTGGGAAAAATATTCC CTCTAACTGCAAAAGGGTTAATTATGTTAGAGGTAGA GTCGACAAGCTT pNVVD154_TSC-200-A02_TCR-28_MSCV-TCR28-CD8-EF1a-TGFR-DHFR 载体的图谱  图例：CD：分化簇，RNA-OUT：针对由 sacB 编码的细菌左聚糖蔗糖酶的反义 RNA。SV：猿猴病毒，TCR：T 细胞受体，TIR：末端反向重复序列，QBend：小鼠抗人 CD34 抗体，dnTGFbRII：显性负性 TGFβ 受体 II，DHFR：二氢叶酸还原酶选择标记物
代表性载体(其 TCR 编码蛋白质可与任何所关注的 TCR 序列互换)： pNVVD160_TSC-200-A02_TCR-28_MSCV-TCR28	GAATTCGTCGACGCTAGCTGGCTTGTTGTCCACAACC ATTAAACCTTAAAAGCTTTAAAAGCCTTATATATTCTT TTTTTTCTTATAAAACTTAAAACCTTAGAGGCTATTTA AGTTGCTGATTTATATTAATTTTATTGTTCAAACATGA GAGCTTAGTACGTGAAACATGAGAGCTTAGTACATTA GCCATGAGAGCTTAGTACATTAGCCATGAGGGTTTAG TTCATTAAACATGAGAGCTTAGTACATTAAACATGAG AGCTTAGTACATACTATCAACAGGTTGAACTGCTGAT CTGTACAGTAGAATTGGTAAAGAGAGTTGTGTAAAAT

[0099]

-CD8-EF1a-TG FR-DHFR	ATTGAGTTCGCACATCTTGTTGTCTGATTATTGATTTT TGGCGAAACCATTTGATCATATGACAAGATGTGTATC TACCTTAACTTAATGATTTTGATAAAAATCATTAGGTA CCAATTACATTGCTTGCAATTAACCCTTTAACGGTTAT AAGGATCTAGATGAGATAGAAAGATTTGGTTTTCGGA TTTGTGTTACATAAGATGCCTAAAATAAAAATTGAGA TTCAATTTTTTTTAAACTTTTTTTTAATTGGTGGTAAGA ATATTCCCTCTACCTGTTTGAGAGTAATGAAATTGTAG TATGATTTTTCAACAAACTAAAAAAACAACATAAATC TCACATAATAACTTTATTTCAATCACACAATTGAATAC CAATAGGTTGACAGTACTTACCAGCCTGCAGG**TGAAA** **GACCCCACCTGTAGGTTTGGCAAGTTAGCTTAAGT** **AACGCCATTTTGCAAGGCATGGAAAATACATAACT** **GAGAATAGAGAAGTTCAGATCAAGGTTAGGAACAG** **AGAGACAGCAGAATATGGGCCAAACAGGATATCTG** **TGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGA** **ACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCCGCCCTCAGCA** **GTTTCTAGCGAACCATCAGATGTTTCCAGGGTGCC** **CCAAGGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAA** **CTAACCAATCAGTTTGCTTCTTGCTTCTGTTTGTGT** **GCTTCTGCTCCCTGAGCTCAATAAAAGAGCCCACA** **ACCCCTCACTTGGTGGGCCAGTCCTCTGATAGACT** **GTGTCCCCTGG**ATACCCGTACGGTACCGCTAGCGCC ACC***ATGGATACCTGGCTCGTGTGTTGGGCCATCTTTAG*** ***CCTGCTGAAGGCCGGACTGACCGAGCCTGAAGTGACC*** ***CAGACTCCAAGCCATCAAGTGACTCAGATGGGGCAAGA*** ***AGTCATTCTGCGTTGCGTGCCCATCAGCAACCACCTGT*** ***ACTTTTATTGGTATCGCCAGATCCTGGGCCAGAAAGTG*** ***GAATTCCTGGTGTCCTTCTACAACAATGAGATCTCCGA*** ***GAAGTCCGAGATCTTCGACGACCAGTTCTCCGTGGAAA*** ***GACCCGACGGCAGCAACTTCACACTGAAGATCCGGTCT*** ***ACCAAACTTGAGGACTCCGCTATGTATTTTGTGCAAT*** ***CACAGGTCGCGTTTCATATGAGCAATATTTCGGGCCGG*** ***GCACCAGGCTCACGGTCACAGAAGATCTCAATAAAGTG*** ***TTCCCCCCTGAGGTTGCGGTGTTTGAGCCGTCCAAAGC*** ***GGAGATTGCCCACACACAGAAAGCGACTTTGGTTTGTT*** ***TGGCGACAGGCTTTTTCCCTGACCACGTAGAGCTGTCT*** ***TGGTGGGTCAACGGCAAGGAGGTTCACAGCGGTGTGT*** ***CAACGGATCCCCAGCCTCTGAAAGAACAGCCTGCCCTG*** ***AACGACAGCCGGTACTGCCTGAGCTCCAGACTGAGAGT*** ***GTCCGCCACCTTCTGGCAGAACCCCCGGAACCACTTCA*** ***GATGCCAGGTGCAGTTTTACGGCCTGAGCGAGAACGA*** ***CGAGTGGACCCAGGACAGAGCCAAGCCCGTGACACAA*** ***ATCGTGTCTGCCGAAGCCTGGGGAAGAGCCGATTGCG*** ***GCATCACCAGCGCCTCCTATCACCAGGGCGTGCTGAGC*** ***GCCACAATCCTGTACGAAATCCTGCTGGGCAAGGCCAC*** ***CCTGTACGCCGTGCTGGTGTCTGCTCTGGTGCTGATGG*** ***CCATGGTCAAGCGGAAGGACTTTGGCAGCGGC***AGAGC CAAAAGGTCCGGGAGCGGTGCGACAAACTTTAGCCTG TTGAAACAAGCCGGCGACGTTGAAGAGAACCCCGGA

[0100]

CCT**ATGCTGCTGATCACCTCCATGCTGGTGCTGTG**
GATGCAGCTGAGCCAAGTGAACGGCCAGCAAGTG
ATGCAGATCCCTCAGTACCAGCACGTGCAAGAAGG
CGAGGACTTCACCACCTACTGCAACAGCAGCACCA
CACTGAGCAACATCCAGTGGTACAAGCAGCGGCCT
GGCGGACACCCTGTGTTTCTGATCCAGCTGGTCAA
GTCCGGCGAAGTGAAGAAGCAGAAGCGGCTGACC
TTCCAGTTCGGCGAGGCCAAGAAGAACAGCAGCCT
GCACATCACCGCCACACAGACCACAGATGTGGGCA
CCTACTTCTGCGCTGGCATCGGTAGCAGCAACACC
GGTAAGCTCATCTTTGGGCAAGGGACAACTTTACA
AGTAAAACCAGACATCCAGAACCCCGACCCCGCCG
TGTACCAGCTGAGGGACTCCAAGTCCAGCGACAAG
AGCGTGTGTCTGTTTACGGACTTCGACAGCCAGAC
CAACGTGAGTCAAAGCAAGGACAGCGACGTCTACA
TAACGGATAAGACCGTGCTGGACATGCGGAGCATG
GACTTCAAGAGCAACAGCGCCGTGGCCTGGTCCAA
CAAGAGCGACTTCGCCTGCGCCAACGCCTTCAACA
ACAGCATCATCCCCGAGGACACCTTCTTCCCCAGC
AGCGACGTGCCCTGCGACGTGAAACTGGTGGAGA
AGTCCTTCGAGACAGACACCAATCTGAACTTTCAG
AACCTGCTGGTGATCGTGCTGCGGATTCTGCTGCT
GAAAGTGGCCGGCTTCAATCTGCTGATGACCCTGC
GGCTGTGGAGCAGCAGGGCTAAGAGGTCCGGCAGC
GGAGCCACCAATTTTTCCCTGCTGAAACAGGCTGGTG
ACGTGGAAGAAAACCCTGGCCCC*ATGGCGCTGCCCGT*
CACCGCGCTGCTGCTGCCCCTGGCGCTGCTGTTACACGC
CGCTCGGCCAGAGCTTCCCACCCAGGGCACATTCTCCAA
*CGTGTCCACCAATGTGTCG*GGAGGCGGCGGATCGTCCC
AGTTCAGAGTGTCCCCTCTGGACCGCACCTGGAACCTGG
GCGAGACCGTGGAGCTGAAATGTCAGGTCCTGCTGAGCA
ACCCGACCTCCGGGTGCAGTTGGCTGTTCCAGCCGCGTG
GTGCTGCCGCAAGCCCTACGTTCCTGCTTTACCTGAGCC
AGAACAAGCCCAAGGCGGCCGAGGGCCTGGACACCCAG
AGATTCTCCGGCAAGCGCCTGGGGGACACATTCGTGCTT
ACTTTGAGCGATTTCCGCAGAGAGAACGAGGGCTACTATT
TCTGTTCGGCGCTGAGCAATTCCATCATGTATTTCAGCCA
CTTTGTGCCAGTGTTCCTGCCTGCCAAGCCTACCACAACA
CCAGCTCCCCGTCCCCCGACTCCGGCGCCTACCATCGC
GAGTCAACCGTTGAGCCTGAGGCCTGAGGCTTGTCGGCC
CGCTGCGGGGGGTGCCGTCCACACCAGGGGCCTCGACT
TTGCGTGCGACATCTATATTTGGGCGCCTCTGGCGGGTA
CCTGCGGGGTGCTGCTGCTGTCATTGGTGATTACCCTGT
ACTGCAATCACCGCAACCGCCGGCGGGTCTGTAAGTGCC
CACGGCCTGTGGTCAAGTCCGGTGACAAACCGTCGCTCT
*CGGCTCGCTACGTG*CGCGCTAAGCGCAGCGGTTCCGG
GGCCACCAACTTTTCATTGCTGAAGCAGGCCGGTGAT
GTGGAGGAGAATCCAGGGCCCATGCGCCCCAGGCTTT
GGCTCCTTCTTGCTGCTCAGCTCACTGTCTTGCATGGC
AACTCCGTTCTGCAGCAGACTCCCGCCTACATCAAGG

[0101]

TGCAGACGAACAAGATGGTGATGCTGTCATGCGAGGC
CAAGATCTCTCTTTCAAATATGAGAATTTATTGGCTAC
GACAGCGCCAGGCCCCCTCCAGCGACAGCCACCACGA
GTTCCTGGCGCTTTGGGATTCTGCTAAAGGCACCATCC
ATGGAGAGGAGGTGGAACAGGAGAAGATAGCTGTCT
TCCGCGACGCATCCCGCTTCATCCTGAACCTGACCAG
CGTGAAGCCGGAGGACAGCGGCATCTACTTCTGTATG
ATCGTTGGCTCCCCCGAGCTGACCTTCGGCAAAGGCA
CCCAGCTGTCCGTGGTGGACTTCCTGCCCACCACAGC
CCAGCCAACCAAGAAATCCACCCTCAAGAAGCGCGTG
TGCCGACTGCCCCGCCCTGAAACCCAGAAGGGCCCTC
TGTGCTCCCCCATCACCCTTGGACTGCTGGTGGCGGG
AGTCCTGGTGCTGCTCGTATCTCTGGGTGTCGCCATCC
ACCTGTGCTGCCGCCGCCGCCGCGCCCGCCTGAGGTT
TATGAAACAGTTTTACAAGTGATAAATCGATGGAAGG
GTGGCATCCCTGTGACCCCTCCCCAGTGCCTCTCCTGG
CCCTGGAAGTTGCCACTCCAGTGCCCACCAGCCTTGT
CCTAATAAAATTAAGTTGCATCATTTTGTCTGACTAGG
TGTCCTTCTATAATATTATGGGGTGGAGGGGGGTGGT
ATGGAGCAAGGGGCAAGTTGGGAAGACAACCTGTAG
GGCCTGCGGGGTCTATTGGGAACCAAGCTGGAGTGCA
GTGGCACAATCTTGGCTCACTGCAATCTCCGCCTCCTG
GGTTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGTTGT
TGGGATTCCAGGCATGCATGACCAGGCTCAGCTAATT
TTTGTTTTTTTGGTAGAGACGGGGTTTCACCATATTGG
CCAGGCTGGTCTCCAACTCCTAATCTCAGGTGATCTAC
CCACCTTGGCCTCCCAAATTGCTGGGATTACAGGCGT
GAACCACTGCTCCCTTCCCTGTCCTTCTGATTACTAGT
GGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGC
CCACAGTCCCCGAGAAGTTGTGGGGAGGGGTCGGCA
ATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAA
ACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTT
CCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTA
GTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGC
CAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGG
CCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCCTTG
AATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATC
CCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAG
GCCTTGCGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAG
TTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCGCGTGCG
AATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCG
ATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCT
GCGACGCTTTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAAATGC
GGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTCGGTTTTTGGG
GCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGC
ACATGTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCAC
CGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCC
TGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGCCC
CGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGT
TGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCT

[0102]

	GCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGCGCTCGGGA GAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGG GCCTTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCAC GGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTC TCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAGGTTGGGGGG AGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTG GGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATG TAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTTTGAGTTTGGATC TTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTT TTTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGTGAACTAGTCCAGTG TGGTGGAATTCTGCAGATATCACGGCTAGCGCCACCA TGGGTCGGGGGCTGCTCAGGGGCCTGTGGCCGCTGCA CATCGTCCTGTGGACGCGTATCGCCAGCACGATCCCA CCGCACGTTCAGAAGTCGGTGAATAACGACATGATAG TCACTGACAACAACGGTGCAGTCAAGTTTCCACAACT GTGTAAATTTTGTGATGTGAGATTTTCCACCTGTGACA ACCAGAAATCCTGCATGAGCAACTGCAGCATCACCTC CATCTGTGAGAAGCCACAGGAAGTCTGTGTGGCTGTA TGGAGAAAGAATGACGAGAACATAACACTAGAGACA GTTTGCCATGACCCCAAGCTCCCCTACCATGACTTTAT TCTGGAAGATGCTGCTTCTCCAAAGTGCATTATGAAG GAGAAGAAAAAGCCTGGTGAGACTTTCTTCATGTGTT CCTGTAGCTCTGATGAGTGCAATGACAACATCATCTT CTCAGAAGAATATAACACCAGCAATCCTGACTTGTTG CTAGTCATATTTCAAGTGACAGGCATCAGCCTCCTGC CACCACTGGGAGTTGCCATATCTGTCATCATCATCTTC TACTGCTACCGCGTGAACCGGCAGCAGAAGGCTAGTG GTTCAGGCGCAACGAATTTCTCTTTGCTGAAGCAGGC TGGGGATGTCGAAGAAAATCCGGGTCCAATGGTGGGC TCGCTCAACTGCATCGTAGCAGTCTCCCAGAATATGG GCATCGGGAAGAACGGTGATTTCCCGTGGCCCCCACT TCGCAACGAGAGCCGTTATTTCCAAAGAATGACTACA ACCTCCTCCGTGGAGGGTAAGCAGAACCTGGTCATCA TGGGGAAGAAGACCTGGTTCTCTATCCCTGAAAAAAA CCGCCCCCTGAAGGGCCGCATCAACCTGGTGCTGAGC AGGGAACTCAAGGAGCCTCCTCAGGGCGCGCATTTTC TGAGCCGCTCATTGGATGACGCTCTCAAACTGACCGA ACAGCCGGAGCTAGCCAACAAGGTGGACATGGTGTG GATCGTCGGAGGCTCCTCCGTGTACAAGGAGGCCATG AATCACCCCGGCCACTTGAAGCTGTTCGTCACCCGGA TCATGCAGGACTTCGAGTCGGACACGTTCTTTCCAGA GATTGACCTGGAGAAGTACAAGCTGCTGCCCGAGTAC CCGGGAGTTCTTAGTGATGTGCAGGAGGAGAAAGGC ATCAAGTACAAATTTGAGGTGTACGAGAAGAACGACT AACGGTCCGTCCTGACCAATGCTGGAGTTCTTCGCCC ACCCCAACTTGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACAAA TAAAGCAATAGCATCACAAATTTCACAAATAAAGCAT TTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTC ATCAATGTATCTTATCATGTCTGTATACAGGTTACCTC AGTCTCCTAGGTACGTCTTATATCTATGAAAAAACATT

[0103]

CAAAAGCACAACATCTAGAAGAACTTACCTTTTTTCA
CCACTCTATTGCAAAGATATGTACCGATTTCTCTCGAA
GTACAAAAAACCGCTAGTTTTCAAATTCACCTCAAGA
CTTTGAAAAAAAATTGAATCTGTCAATGTCAAATAAA
ATCAGAAACAAATGTCATAATGTTACGTTAATGTTGT
CAGGTCGAAAAATAAAATTGCAAATAGAAATTTTGTT
CCTTTTTTATTGGTTTTTATTGGTGGGAAAAATATTCC
CTCTAACTGCAAAAGGGTTAATTATGTTAGAGGTAGA
GTCGACAAGCTT

pNVVD160_TSC-200-A02_TCR-28_MSCV-TCR28-CD8-EF1a-TGFR-DHFR 载体的图谱



图例：CD：分化簇，RNA-OUT：针对由 sacB 编码的细菌左聚糖蔗糖酶的反义 RNA。SV：猿猴病毒，TCR：T 细胞受体，TIR：末端反向重复序列，QBend：小鼠抗人 CD34 抗体，dnTGFbRII：显性负性 TGFβ 受体 II，DHFR：二氢叶酸还原酶选择标记物

[0104] *对于表2中的载体,MSCV启动子为粗体。β链使用粗体并且斜体的文本进行标注。α链使用粗体并且加下划线的文本进行标注。CD34富集标签(例如Q标签)使用斜体并且加下划线的文本进行标注。CD8-α为斜体。CD8-β加下划线。

[0105] *表1和表2中包括RNA核酸分子(例如胸腺嘧啶用尿苷置换)、编码所编码蛋白质的异种同源物的核酸分子以及包含在全长上与表1或表2中所列的任何序列的核酸序列具有至少80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、99.5％或更大同一性的核酸序列的DNA或RNA核酸序列，或其部分。此类核酸分子可具有如本文进一步所描述的全长核酸的功能。

[0106] 表3:表位

[0107] 表3A:由HLA血清型HLA-C*07呈现的MAGEA1表位

[0108]

肽表位
VRFFFPSL(SEQ ID NO:52)
FFFPSLREA(SEQ ID NO:53)
ARVRFFFPSL(SEQ ID NO:54)
VRFFFPSLR(SEQ ID NO:55)
RVRFFFPSL(SEQ ID NO:56)
FFPSLREA(SEQ ID NO:57)
ARVRFFFPSLR(SEQ ID NO:58)
SARVRFFF(SEQ ID NO:59)
VRFFFPSLREA(SEQ ID NO:60)
RFFFPSLREA(SEQ ID NO:61)

[0109] 表3B:由HLA血清型HLA-B*07呈现的MAGEC2表位

[0110]

肽表位
RAREFMEL(SEQ ID NO:62)
RAREFMELL(SEQ ID NO:63)
RAREFMELLF(SEQ ID NO:64)
LKRAREFMEL(SEQ ID NO:65)
VILKRAREF(SEQ ID NO:66)
FPVILKRAR(SEQ ID NO:67)
KRAREFMEL(SEQ ID NO:68)
KRAREFMELL(SEQ ID NO:69)
LKRAREFMELL(SEQ ID NO:70)
RAREFMELLFG(SEQ ID NO:71)

[0111] 表3C:由HLA血清型HLA-A*02呈现的HPV16 E7表位

[0112]

肽表位
YMLDLQPET(SEQ ID NO:72)
YMLDLQPETT(SEQ ID NO:72a)

[0113] 表3D:由HLA血清型HLA-A*02(例如HLA-A*02:01)呈现的MAGEA1表位

[0114]

肽表位
KVLEYVIKV(SEQ ID NO:83)
VLEYVIKV(SEQ ID NO:83a)
KVLEYVIK(SEQ ID NO:83b)

[0115] *表3(诸如表3A、表3B、表3C以及表3D)中包括肽表位,以及包含在全长上与表3(诸如表3A、表3B、表3C以及表3D)中所列的任何序列的氨基酸序列具有至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或更大同一性的氨基酸序列的多肽分子,或其部分。此类多肽可具有如

本文进一步所描述的全长肽或多肽的功能。

[0116] 实施例3:代表性非限制性组合疗法实施例

[0117] 本实施例提供了可用于包括抗MAGE-A1 TCR和抗PRAME TCR的多重TCR-T细胞疗法的组合物和方法。不希望受任何特定科学理论束缚,本实施例还包括多重TCR-T细胞疗法模拟天然寡克隆T细胞对癌症的反应。多重TCR-T细胞疗法(例如包括抗MAGE-A1 TCR和抗PRAME TCR)提供了解决与治疗实体肿瘤相关的某些挑战的方法和组合物。

[0118] 可使用多种分析来证实多重TCR-T细胞疗法(例如包括抗MAG E-A1 TCR(诸如"TCR 1479",也称为"MAGE-A1-1479"、"1479"、"TSC-204-A02"以及"TSC-204-A0201")以及抗PRAME TCR(诸如"TCR 366",也称为"366"和"TSC-203-A02"(也称为"TSC-203-A0201")和/或"TCR 358",也称为"358")的多重TCR-T细胞疗法)的功效。在一个代表性非限制性实例中,使用直接和间接共培养实验对抗MA GE-A1 TCR、抗PRAME TCR以及表达其同源抗原的一种或多种靶细胞系进行多重化,以评估使用超过一种TCR来靶向肿瘤的潜在协同作用,以及理解此类协同作用后的生物机制。可使用此分析对包括抗MAGE-A1 TCR和抗PRAME TCR的多重TCR-T细胞疗法的多重T细胞介导的体外癌症杀伤作用和异质性进行模型化。

[0119] 在一种代表性情况下,举例来说,可使用和/或测试诸如通过使用表达(i)靶向MAGE-A1的HLA-A*02血清型限制性表位的抗MAGE-A1 TCR(表5,例如SEQ ID NO:83)以及(ii)靶向PRAME的HLA-A*02血清型限制性表位的抗PRAME TCR(表7,例如SEQ ID NO:104)的工程化细胞对此类TCR的多重化。在一些实施方案中,对全T细胞进行转导并且进行选择以表达相关TCR(抗MAGE-A1或抗PRAME)。靶细胞为两种细胞系的混合物,两种细胞系各自仅表达两种抗原中的一者。U266B1细胞为HLA-A*02:01+并且MAGE-A1+的。Hs695T、A375以及NCI-H1563细胞为HLA-A*02:01+并且PRAME+的。对两种细胞系进行工程化以表达Incucyte® NucLight红并且混合在一起以模拟肿瘤异质性。将工程化T细胞或非工程化供体对照T细胞(对照TCR-T)与Incucyte®NucLight红标记的靶细胞系以所指示的效应细胞至靶细胞(E:T)比率共培养,并且可在IncuCyte®上定量其存活率作为T细胞的细胞毒性的读数。

[0120] 本发明所涵盖的抗MAGE-A1 TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)以下的TCR:a)与选自由表4中所列的TCRα序列组成的组的TCRα链序列具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更大同一性的TCRα链序列;和/或b)与选自由表4中所列的TCRβ链序列组成的组的TCRβ链序列具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更大同一性的TCRβ链序列。

[0121] 本发明所涵盖的抗MAGE-A1 TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)以下的TCR:a)选自由表4中所列的TCRα链序列组成的组的TCRα链序列,)选自由表4中所列的TCRβ链序列组成的组的TCRβ链序列。

[0122] 本发明所涵盖的抗MAGE-A1 TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)以下的TCR:a)与选自由表4中所列的TCR V_α结构域序列组成的组的TCRα链可变(V_α)结构域序列具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更大同一性的TCRα链可变(V_α)结构域序列;和/或b)与选自由表4中所列的TCR V_β结构域序列组成的组的TCRβ链可变(V_β)结构域序

列具有至少约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或更大同一性的TCRβ链可变(V_β)结构域序列。

[0123] 本发明所涵盖的抗MAGE-A1 TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)以下的TCR:a)选自由表4中所列的TCR V_α结构域序列组成的组的TCRα链可变(V_α)结构域序列;和/或b)选自由表4中所列的TCR V_β结构域序列组成的组的TCRβ链可变(V_β)结构域序列。

[0124] 本发明所涵盖的抗MAGE-A1 TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)以下的TCR:至少一个(例如一个、两个或三个,诸如单独或与CDR1和CDR2组合的CDR3)与选自由表4中所列的TCRα链CDR序列组成的组的TCRα链CDR序列具有至少约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或更大同一性的TCRα链互补决定区(CDR)序列。据信CDR3为负责识别经过加工的抗原的主要CDR并且CDR1和CDR2主要与MHC相互作用,因此,在一些实施方案中,提供了包含来自TCRα链的单独CDR3和/或来自表4中所列的TCRβ链的单独CDR3的结合蛋白,各CDR3具有如此段落中所叙述的序列同源性。

[0125] 本发明所涵盖的抗MAGE-A1 TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)至少一个(例如一个、两个或三个,诸如单独或与CDR1和CDR2组合的CDR3)与选自由表4中所列的TCRβ链CDR序列组成的组的TCRβ链CDR序列具有至少约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或更大同一性的TCRβ链互补决定区(CDR)序列的TCR。如上文所描述,据信CDR3为负责识别经过加工的抗原的主要CDR并且CDR1和CDR2主要与MHC相互作用,因此,在一些实施方案中,提供了包含来自TCRβ链的单独CDR3和/或来自表4中所列的TCRα链的单独CDR3的结合蛋白,各CDR3具有如此段落中所叙述的序列同源性。

[0126] 本发明所涵盖的抗MAGE-A1 TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)至少一个(例如一个,两个或三个))表4中所列的TCRα链互补决定区(CDR)的TCR。

[0127] 本发明所涵盖的抗MAGE-A1 TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)至少一个(例如一个,两个或三个))表4中所列的TCRβ链互补决定区(CDR)的TCR。

[0128] 本发明所涵盖的抗MAGE-A1 TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)与表4中所列的TCR Cα序列具有至少约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或更大同一性TCRα链恒定区(C_α)序列的TCR。

[0129] 本发明所涵盖的抗MAGE-A1 TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)与表4中所列的TCR C_β序列具有至少约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或更大同一性TCRβ链恒定区(C_β)序列的TCR。

[0130] 本发明所涵盖的抗MAGE-A1 TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)选自由表4中所列的TCR C_α序列组成的组的TCRα链恒定区(C_α)序列的TCR。

[0131] 本发明所涵盖的抗MAGE-A1 TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)选自由表4中所列的TCR C_β序列组成的组的TCRβ链恒定区(C_β)序列的TCR。

[0132] 表4:识别由HLA血清型HLA-A*02呈现的MAGEA1抗原的TCR序列

[0133]

MAGEA1-278-1479 WT 序列 α 链: TRAV20/TRAJ26/TRAC	α 链 DNA 序列 ATGGAAAAAATGCTCGAGTGCGCCTTCATCGTGCTTT GGCTGCAGCTCGGATGGCTGAGCGGAGAGGATCAAG TGACACAGTCTCCCGAGGCTCTGAGGCTGCAAGAGGG CGAAAGCAGCTCCCTGAATTGCAGCTACACC**GTGTCT** **GGCCTGAGGGGC**CTGTTTTGGTACAGACAAGACCCT GGCAAGGGACCCGAGTTCCTGTTCACA**CTGTACTCTG** **CCGGCGAAGAA**AAAGAGAAAGAGCGCCTGAAAGCA ACCCTGACCAAGAAAGAGAGCTTCCTGCACATCACAG CCCCTAAGCCAGAGGACAGCGCTACTTACCTG**TGTGC** **CGTTTCATACGGCCAGAATTTCGTTTTT**GGTCCCGG AACCAGATTGTCCGTGCTGCCCTatatccagaaccctgaccctgcc gtgtaccagctgagagactctaaatccagtgacaagtctgtctgcctattcaccgattttgat tctcaaacaaatgtgtcacaaagtaaggattctgatgtgtatatcacagacaaaactgtgct agacatgaggtctatggacttcaagagcaacagtgctgtggcctggagcaacaaatctga ctttgcatgtgcaaacgccttcaacaacagcattattccagaagacaccttcttccccagcc cagaaagttcctgtgatgtcaagctggtcgagaaaagctttgaaacagatacgaacctaa actttcaaaacctgtcagtgattgggttccgaatcctcctcctgaaagtggccgggtttaatc tgctcatgacgctgcggctgtggtccagc (SEQ ID NO: 73)
	α 链蛋白质序列 MEKMLECAFIVLWLQLGWLSGEDQVTQSPEALRLQEGE SSSLNCSYT**VSGLRG**LFWYRQDPGKGPEFLFT**LYSAGE** **E**KEKERLKATLTKKESFLHITAPKPEDSATYL**CAVSYGQ** **NFVF**GPGTRLSVLPYiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqs kdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpspessc dvklveksfetdtnlnfqnlsvigfrilllkvagfnllmtlrlwss (SEQ ID NO: 74)
MAGEA1-278-1479 WT 序列	β 链 DNA 序列 ATGGGACCCAGGCTCCTCTTCTGGGCACTGCTTTGTCT

[0134]

β链: TRBV5-8/TRBJ1-1/TRBC1	CCTCGGAACAGGCCCAGTGGAGGCTGGAGTCACACA AAGTCCCACACACCTGATCAAAACGAGAGGACAGCA AGCGACTCTGAGATGCTCTCCTATC**TCTGGGCACACC** **AGT**GTGTACTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCTGGGCC TCCAGTTCCTCCTTTGG**TATGACGAGGGTGAAGAG**A GAAACAGAGGAAACTTCCCTCCTAGATTTTCAGGTCG CCAGTTCCCTAATTATAGCTCTGAGCTGAATGTGAAC GCCTTGGAGCTGGAGGACTCGGCCCTGTATCTC**TGTG** **CTTCCTCACTTGGGCAATTGAACACAGAGGCATTC** **TTT**GGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTAGaggacctga acaaggtgttcccacccgaggtcgctgtgtttgagccatcagaagcagagatctcccaca cccaaaaggccacactggtgtgcctggccacaggcttcttccctgaccacgtggagctg agctggtgggtgaatgggaaggaggtgcacagtggggtcagcacggacccgcagccc ctcaaggagcagcccgccctcaatgactccagatactgcctgagcagccgcctgagggt ctcggccaccttctggcagaaccccccgcaaccacttccgctgtcaagtccagttctacgg gctctcggagaatgacgagtggacccaggatagggccaaacccgtcacccagatcgtc agcgccgaggcctggggtagagcagactgtggctttacctcggtgtcctaccagcaagg ggtcctgtctgccaccatcctctatgagatcctgctagggaaggccaccctgtatgctgtg ctggtcagcgcccttgtgttgatggccatggtcaagagaaaggatttc (SEQ ID NO: 75)
	β链蛋白质序列 MGPRLLFWALLCLLGTGPVEAGVTQSPTHLIKTRGQQA TLRCSPI**SGHTS**VYWYQQALGLGLQFLLW**YDEGEE**RNR GNFPPRFSGRQFPNYSSELNVNALELEDSALYL**CASSLG** **QLNTEAFF**GQGTRLTVVEdlnkvfppevavfepseaeishtqkatlvcl atgffpdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqn prnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgftsvsyqqgvlsati lyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf (SEQ ID NO: 76)
MAGEA1-278-1479 MGTM 密码子优化序列(也称为克隆"MAGE-A1-1479"、"TCR 1479"、"1479"、"TSC-204-A02"以及"TSC-204-A0201") 注:在图 7 至图 9 中此克隆以 MAGEA1-A02 TCR 与 MAGEA1-C07 TCR 的多重物的形式使用 α链: TRAV20/TRAJ26/MGTM 修饰的	α链 DNA 序列 ATGGAAAAAATGCTCGAGTGCGCCTTCATCGTGCTTT GGCTGCAGCTCGGATGGCTGAGCGGAGAGGATCAAG TGACACAGTCTCCCGAGGCTCTGAGGCTGCAAGAGGG CGAAAGCAGCTCCCTGAATTGCAGCTACACC**GTGTCT** **GGCCTGAGGGGC**CTGTTTTGGTACAGACAAGACCCT GGCAAGGGACCCGAGTTCCTGTTCACA**CTGTACTCTG** **CCGGCGAAGAA**AAAGAGAAAGAGCGCCTGAAAGCA ACCCTGACCAAGAAAGAGAGCTTCCTGCACATCACAG CCCCTAAGCCAGAGGACAGCGCTACTTACCTG**TGTGC** **CGTTTCATACGGCCAGAATTTCGTTTTT**GGTCCCGG AACCAGATTGTCCGTGCTGCCCTacatccagaaccccgaccccgc cgtgtaccagctgagggactccaagtccagcgacaagagcgtgtgtctgtttacggactt cgacagccagaccaacgtgagtcaaagcaaggacagcgacgtctacataacggataag accgtgctggacatgcggagcatggacttcaagagcaacagcgccgtggcctggtcca acaagagcgacttcgcctgcgccaacgccttcaacaacagcatcatccccgaggacacc ttcttccccagcagcgacgtgccctgcgacgtgaaactggtggagaagtccttcgagaca gacaccaatctgaactttcagaacctgctggtgatcgtgctgcggattctgctgctgaaagt ggccggcttcaatctgctgatgaccctgcggctgtggagc (SEQ ID NO: 77)
	α链蛋白质序列 MEKMLECAFIVLWLQLGWLSGEDQVTQSPEALRLQEGE

[0135]

TRAC	SSSLNCSYT**VSGLRG**LFWYRQDPGKGPEFLFT**LYSAGE** **E**KEKERLKATLTKKESFLHITAPKPEDSATYL**CAVSYGQ** **NFVF**GPGTRLSVLPYiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqs kdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvp cdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnllmtlrlws (SEQ ID NO: 78)
MAGEA1-278-14 79 MGTM 密码 子优化序列(也称 为克隆“MAGE-A 1-1479”、“TCR 1479”、“1479”、 “TSC-204-A02”以 及“TSC-204-A020 1”) 注：在图 7 至图 9 中此克隆以 MAGEA1-A02 TCR 与 MAGEA1-C07 TCR 的多重物的 形式使用 β 链: TRBV5-8/TRBJ1- 1/MGTM 修饰的 TRBC	β 链 DNA 序列 ATGGGACCCAGGCTCCTCTTCTGGGCACTGCTTTGTCT CCTCGGAACAGGCCCAGTGGAGGCTGGAGTCACACA AAGTCCCACACACCTGATCAAAACGAGAGGACAGCA AGCGACTCTGAGATGCTCTCCTATC**TCTGGGCACACC** **AGT**GTGTACTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCTGGGCC TCCAGTTCCTCCTTTGG**TATGACGAGGGTGAAGAG**A GAAACAGAGGAAACTTCCCTCCTAGATTTTCAGGTCG CCAGTTCCCTAATTATAGCTCTGAGCTGAATGTGAAC GCCTTGGAGCTGGAGGACTCGGCCCTGTATCTC**TGTG** **CTTCCTCACTTGGGCAATTGAACACAGAGGCATTC** **TTT**GGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTAGaagatctgaa caaggtgttccctccagaggtggccgtgttcgagccttctaaggccgagatcgcccacac acaaaaagccaccctcgtgtgcctggccaccggctttttccccgaccacgtggaactgtct tggtgggtcaacggcaaagaggtgcactccggcgtgtcaacggatccccagcctctgaa agaacagcctgccctgaacgacagccggtactgcctgagctccagactgagagtgtccg ccaccttctggcagaacccccggaaccacttcagatgccaggtgcagttttacggcctga gcgagaacgacgagtggacccaggacagagccaagcccgtgacacaaatcgtgtctg ccgaagcctggggaagagccgattgcggcatcaccagcgcctcctatcaccagggcgt gctgagcgccacaatcctgtacgaaatcctgctgggcaaggccaccctgtacgccgtgc tggtgtctgctctggtgctgatggccatggtcaagcggaaggactttggcagcggcaga gccaaaaggtccgggagcggt (SEQ ID NO: 79)
	β 链蛋白质序列 MGPRLLFWALLCLLGTGPVEAGVTQSPTHLIKTRGQQA TLRCSPI**SGHTS**VYWYQQALGLGLQFLLW**YDEGEE**RNR GNFPPRFSGRQFPNYSSELNVNALELEDSALYL**CASSLG** **QLNTEAFF**GQGTRLTVVEdlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvcl atgffpdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqn prnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgitsasyhqgvlsatil yeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdfgsgrakrsgsg (SEQ ID NO: 80)
完整 β 和 α ORF DNA 序列(“弗林 蛋白酶-P2A”位点 中的加下划线斜 体区域编码允许 在单一卡盒中表 达两个多肽链的 序列)	ATGGGACCCAGGCTCCTCTTCTGGGCACTGCTTTGTCT CCTCGGAACAGGCCCAGTGGAGGCTGGAGTCACACA AAGTCCCACACACCTGATCAAAACGAGAGGACAGCA AGCGACTCTGAGATGCTCTCCTATC**TCTGGGCACACC** **AGT**GTGTACTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCTGGGCC TCCAGTTCCTCCTTTGG**TATGACGAGGGTGAAGAG**A GAAACAGAGGAAACTTCCCTCCTAGATTTTCAGGTCG CCAGTTCCCTAATTATAGCTCTGAGCTGAATGTGAAC GCCTTGGAGCTGGAGGACTCGGCCCTGTATCTC**TGTG** **CTTCCTCACTTGGGCAATTGAACACAGAGGCATTC** **TTT**GGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTAGaagatctgaa caaggtgttccctccagaggtggccgtgttcgagccttctaaggccgagatcgcccacac acaaaaagccaccctcgtgtgcctggccaccggctttttccccgaccacgtggaactgtct

[0136]

	tggtgggtcaacggcaaagaggtgcactccggcgtgtcaacggatccccagcctctgaa agaacagcctgccctgaacgacagccggtactgcctgagctccagactgagagtgtccg ccaccttctggcagaaccccccggaaccacttcagatgccaggtgcagttttacggcctga gcgagaacgacgagtggacccaggacagagccaagcccgtgacacaaatcgtgtctg ccgaagcctggggaagagccgattgcggcatcaccagcgcctcctatcaccagggcgt gctgagcgccacaatcctgtacgaaatcctgctgggcaaggccaccctgtacgccgtgc tggtgtctgctctggtgctgatggccatggtcaagcggaaggactttggcagcggc*aga* *gccaaaaggtccgggagcggtGCGACAAACTTTAGCCTGTTGAAAC* *AAGCCGGCGACGTTGAAGAGAACCCCGGACCT*ATGGAA AAAATGCTCGAGTGCGCCTTCATCGTGCTTTGGCTGC AGCTCGGATGGCTGAGCGGAGAGGATCAAGTGACAC AGTCTCCCGAGGCTCTGAGGCTGCAAGAGGGCGAAA GCAGCTCCCTGAATTGCAGCTACACC**GTGTCTGGCCT** **GAGGGGC**CTGTTTTGGTACAGACAAGACCCTGGCAA GGGACCCGAGTTCCTGTTCACA**CTGTACTCTGCCGG** **CGAAGAA**AAAGAGAAAGAGCGCCTGAAAGCAACCCT GACCAAGAAAGAGAGCTTCCTGCACATCACAGCCCCT AAGCCAGAGGACAGCGCTACTTACCTG**TGTGCCGTT** **TCATACGGCCAGAATTTCGTTTTT**GGTCCCGGAACC AGATTGTCCGTGCTGCCCTacatccagaaccccgaccccgccgtgtac cagctgagggactccaagtccagcgacaagagcgtgtgtctgtttacggacttcgacagc cagaccaacgtgagtcaaagcaaggacagcgacgtctacataacggataagaccgtgc tggacatgcggagcatggacttcaagagcaacagcgccgtggcctggtccaacaagag cgacttcgcctgcgccaacgccttcaacaacagcatcatccccgaggacaccttcttccc cagcagcgacgtgccctgcgacgtgaaactggtggagaagtccttcgagacagacacc aatctgaactttcagaacctgctggtgatcgtgctgcggattctgctgctgaaagtggccg gcttcaatctgctgatgaccctgcggctgtggagc (SEQ ID NO: 81)
完整β和αORF蛋白质序列(“弗林蛋白酶-P2A”位点中的加下划线斜体区域允许在单一卡盒中表达两个多肽链)	MGPRLLFWALLCLLGTGPVEAGVTQSPTHLIKTRGQQA TLRCSPI**SGHTS**VYWYQQALGLGLQFLLW**YDEGEE**RNR GNFPPRFSGRQFPNYSSELNVNALELEDSALYL**CASSLG** **QLNTEAFF**GQGTRLTVVEdlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvcl atgffpdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqn prnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgradcgitsasyhqgvlsatil yeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdfgsg*rakrsgsgATNFSLLKQAGDV* *EENPGP*MEKMLECAFIVLWLQLGWLSGEDQVTQSPEAL RLQEGESSSLNCSYT**VSGLRG**LFWYRQDPGKGPEFLFT**L** **YSAGEE**KEKERLKATLTKKESFLHITAPKPEDSATYL**CA** **VSYGQNFVF**GPGTRLSVLPYiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfd sqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedt ffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnllmtlrlws (SEQ ID NO: 82)

[0137] *表4部分地提供了根据MHC血清型呈现分组并且根据由MHC血清型呈现并且由划分子组的TCR结合的不同肽划分子组的代表性TCR序列。描述并且要求了诸如表格中代表性地例示的那些个别TCR,以及结合单独或与MHC复合的本文所描述的肽表位序列的结合蛋白种类,诸如本文所提供的表格中分组的那些结合蛋白。此外,提供了本文所描述的各TCRα链的TRAV、TRAJ以及TRAC基因以及本文所描述的各TCRβ链的TRBV、TRBJ以及TRBC基因。以各个命名的TCR的各对同源α链和β链的形式提供本文所描述的各TCR的序列。标注本文所描述的TCR序列。可变结构域序列使用大写字母。恒定结构域序列为小写字母。CDR1、CDR2以及CDR3

序列使用粗体并且加下划线的文本进行标注。CDR1、CDR2以及CDR3以从左(N端)到右(C端)的标准出现顺序显示。本文所描述的各TCRα链的TRAV、TRAJ以及TRAC基因以及本文所描述的各TCRβ链的TRBV、TRBJ以及TRBC基因根据本文所描述的熟知IMGT命名法进行标注。类似地,TRAV和TRBV的CDR1和CDR2为本领域熟知的,因为它们是基于熟知并且标注的TRAV和TRBV序列(例如如像在imt.org可获得的IMGT以及在iedb.org可获得的IEDB的数据库中所标注)。

[0138] *对于某些所展示的载体,MSCV启动子为粗体。β链使用粗体并且斜体的文本进行标注。α链使用粗体并且加下划线的文本进行标注。CD34富集标签(Q标签)使用斜体并且加下划线的文本进行标注。CD8-α为斜体。CD8-β加下划线。

[0139] *表4包括包含在全长上与其中所列的任何序列的氨基酸序列具有至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或更大同一性的氨基酸序列的多肽序列以及多肽分子,或其部分。此类多肽可具有如本文进一步所描述的全长肽或多肽的功能。

[0140] *表4包括RNA核酸分子(例如胸腺嘧啶用尿苷置换)、编码所编码蛋白质的异种同源物的核酸分子以及包含在全长上与其中所列的任何序列的核酸序列具有至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或更大同一性的核酸序列的DNA或RNA核酸序列,或其部分。此类核酸分子可具有如本文进一步所描述的全长核酸的功能。

[0141] 表5:由HLA血清型HLA-A*02(例如HLA-A*02:01)呈现的MAGEA1表位

[0142]

肽表位
KVLEYVIKV(SEQ ID NO:83)
VLEYVIKV(SEQ ID NO:83a)
KVLEYVIK(SEQ ID NO:83b)

[0143] 如上文所描述,涵盖本文所描述的任何TCR组合以供使用。

[0144] 举例来说,本发明所涵盖的抗PRAME TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)以下的TCR:a)与选自由表6中所列的TCRα序列组成的组的TCRα链序列具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更大同一性的TCRα链序列;和/或b)与选自由表6中所列的TCRβ链序列组成的组的TCRβ链序列具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更大同一性的TCRβ链序列。

[0145] 本发明所涵盖的抗PRAME TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)以下的TCR:a)选自由表6中所列的TCRα链序列组成的组的TCRα链序列,)选自由表6中所列的TCRβ链序列组成的组的TCRβ链序列。

[0146] 本发明所涵盖的抗PRAME TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)以下的TCR:a)与选自由表6中所列的TCR V_{α}结构域序列组成的组的TCRα链可变(V_{α})结构域序列具有至少约80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更大同一性的TCRα链可变(V_{α})结构域序列;和/或b)与选自由表6中所列的TCR V_{β}结构域序列组成的组的TCRβ链可变(V_{β})结构域序

列具有至少约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或更大同一性的TCRβ链可变(V_β)结构域序列。

[0147] 本发明所涵盖的抗PRAME TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)以下的TCR:a)选自由表6中所列的TCR V_α结构域序列组成的组的TCRα链可变(V_α)结构域序列;和/或b)选自由表6中所列的TCR V_β结构域序列组成的组的TCRβ链可变(V_β)结构域序列。

[0148] 本发明所涵盖的抗PRAME TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)以下的TCR:至少一个(例如一个、两个或三个,诸如单独或与CDR1和CDR2组合的CDR3)与选自由表6中所列的TCRα链CDR序列组成的组的TCRα链CDR序列具有至少约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或更大同一性的TCRα链互补决定区(CDR)序列。据信CDR3为负责识别经过加工的抗原的主要CDR并且CDR1和CDR2主要与MHC相互作用,因此,在一些实施方案中,提供了包含来自TCRα链的单独CDR3和/或来自表6中所列的TCRβ链的单独CDR3的结合蛋白,各CDR3具有如此段落中所叙述的序列同源性。

[0149] 本发明所涵盖的抗PRAME TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)至少一个(例如一个、两个或三个,诸如单独或与CDR1和CDR2组合的CDR3)与选自由表6中所列的TCRβ链CDR序列组成的组的TCRβ链CDR序列具有至少约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或更大同一性的TCRβ链互补决定区(CDR)序列的TCR。如上文所描述,据信CDR3为负责识别经过加工的抗原的主要CDR并且CDR1和CDR2主要与MHC相互作用,因此,在一些实施方案中,提供了包含来自TCRβ链的单独CDR3和/或来自表6中所列的TCRα链的单独CDR3的结合蛋白,各CDR3具有如此段落中所叙述的序列同源性。

[0150] 本发明所涵盖的抗PRAME TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)至少一个(例如一个、两个或三个))表6中所列的TCRα链互补决定区(CDR)的TCR。

[0151] 本发明所涵盖的抗PRAME TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)至少一个(例如一个、两个或三个))表6中所列的TCRβ链互补决定区(CDR)的TCR。

[0152] 本发明所涵盖的抗PRAME TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)与表6中所列的TCR Cα序列具有至少约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或更大同一性的TCR TCRα链恒定区(C_α)序列。

[0153] 本发明所涵盖的抗PRAME TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)与表6中所列的TCR C_β序列具有至少约80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或更大同一性的TCRβ链恒定区(C_β)序列的TCR。

[0154] 本发明所涵盖的抗PRAME TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)选自由表6中所列的TCR C_α序列组成的组的TCRα链恒定区(C_α)序列的TCR。

[0155] 本发明所涵盖的抗PRAME TCR可为包括(例如包含、基本上由其组成或由其组成)选自由表6中所列的TCR C_β序列组成的组的TCRβ链恒定区(C_β)序列的TCR。

[0156] 表6:识别由HLA血清型HLA-A*02呈现的PRAME抗原的TCR序列

PRAME-425-366 WT 序列 α 链: TRAV38-2DV8/TRAJ50/TRAC	α 链 DNA 序列 ATGGCCTGTCCTGGCTTCCTGTGGGCCCTTGTGATC AGCACTTGCCTGGAATTCAGCATGGCTCAGACAGT CACCCAGTCTCAGCCCGAAATGAGCGTCCAAGAGG CTGAAACCGTGACTCTGTCTTGTACCTACGAC**ACCT** **CCGAGAGCGATTACTAC**CTCTTTTGGTATAAGCAA CCGCCGTCCAGGCAAATGATCCTCGTGATCCGG**CA** **AGAAGCTTACAAACAGCAGAAT**GCTACCGAAAAC CGGTTCTCCGTCAATTTTCAGAAAGCCGCTAAGAGC TTTAGCCTGAAAATCTCCGACTCTCAGCTCGGCGAC GCTGCTATGTATTTC**TGTGCCTACCGCAAAACTTC** **TTACGATAAAGTCATTTTT**GGGCCAGGGACAAGC TTATCAGTCATTCCAAatatccagaaccctgaccctgccgtgtaccag ctgagagactctaaatccagtgacaagtctgtctgcctattcaccgattttgattctcaaa caaatgtgtcacaaagtaaggattctgatgtgtatatcacagacaaaactgtgctagac atgaggtctatggacttcaagagcaacagtgctgtggcctggagcaacaaatctgact ttgcatgtgcaaacgccttcaacaacagcattattccagaagacaccttcttccccagc ccagaaagttcctgtgatgtcaagctggtcgagaaaagctttgaaacagatacgaac ctaaactttcaaaacctgtcagtgattgggttccgaatcctcctcctgaaagtggccgg gtttaatctgctcatgacgctgcggctgtggtccagc (SEQ ID NO: 84)
	α 链蛋白质序列 MACPGFLWALVISTCLEFSMAQTVTQSQPEMSVQEA ETVTLSCTYD**TSESDYY**LFWYKQPPSRQMILVIR**QEA** **YKQQN**ATENRFSVNFQKAAKSFSLKISDSQLGDAAM YF**CAYRKTSYDKVIF**GPGTSLSVIPNiqnpdpavyqlrdskss dksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfa canafnnsiipedtffpspesscdvklveksfetdtnlnfqnlsvigfrilllkvagfnl lmtlrlwss (SEQ ID NO: 85)
PRAME-425-366 WT 序列 β 链: TRBV13/TRBJ2-1/TRBC1	β 链 DNA 序列 ATGCTGAGCCCCGACCTGCCTGACAGCGCTTGGAA TACCAGACTCCTGTGCAGAGTGATGCTGTGCCTGCT TGGAGCTGGAAGTGTGGCTGCTGGTGTCATTCAGTC CCCAAGGCACCTGATCAAAGAGAAGAGAGAGACA GCCACTCTGAAGTGCTACCCCATT**CCTAGACACGA** **CACG**GTCTATTGGTATCAGCAAGGACCTGGACAGG ACCCTCAGTTCCTGATCAGC**TTCTACGAGAAGATG** **CAG**AGCGACAAGGGCAGCATCCCCGACAGATTTTC TGCCCAGCAGTTCAGCGACTACCACAGCGAGCTGA ACATGAGCAGCCTGGAACTGGGCGATAGCGCCCTG TACTTC**TGTGCCTCTTCTTTCGCACGCCTGGAAG** **GTCGCGATAATGAACAATTTTTT**GGGCCAGGGAC ACGGCTCACCGTGCTAGaggacctgaacaaggtgttcccacccgag gtcgctgtgtttgagccatcagaagcagagatctcccacacccaaaaggccacactg gtgtgcctggccacaggcttcttccctgaccacgtggagctgagctggtgggtgaat gggaaggaggtgcacagtggggtcagcacggacccgcagcccctcaaggagca gcccgccctcaatgactccagatactgcctgagcagccgcctgagggtctcggcca ccttctggcagaacccccgcaaccacttccgctgtcaagtccagttctacgggctctc

[0157]

	ggagaatgacgagtggacccaggatagggccaaacccgtcacccagatcgtcagc gccgaggcctggggtagagcagactgtggctttacctcggtgtcctaccagcaagg ggtcctgtctgccaccatcctctatgagatcctgctagggaaggccaccctgtatgct gtgctggtcagcgcccttgtgttgatggccatggtcaagagaaaggatttc (SEQ ID NO: 86)
	β链蛋白质序列 MLSPDLPDSAWNTRLLCRVMLCLLGAGSVAAGVIQS PRHLIKEKRETATLKCYPI**PRHDT**VYWYQQGPGQDP QFLIS**FYEKMQ**SDKGSIPDRFSAQQFSDYHSELNMSS LELGDSALYF**CASSFARLEGRDNEQFF**GPGTRLTVLE dlnkvfppevavfepseaeishtqkatlvclatgffpdhvelswwvngkevhsgv stdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqd rakpvtqivsaeawgradcgftsvsyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlma mvkrkdf (SEQ ID NO: 87)
PRAME-425-366 MGTM 密码子优化序列(也称为克隆"TCR 366"、"366"、"TSC-203-A02"以及"TSC-203-A0201") 注：在图 6 中此克隆以 PRAME TCR 与 MAGEA1 TCR 的多重物的形式使用。T 细胞用从包含 MSCV-TCRα-TCRβ-CD8α-CD8β (TCR 中的 MGTM 恒定区和融合至 CD8 的 CD34 标签)的载体表达的 TCR 慢病毒转导。 α 链：TRAV38-2DV8/TRAJ50/MGTM 修饰的 TRAC	α 链 DNA 序列 ATGGCCTGTCCTGGCTTCCTGTGGGCCCTTGTGATC AGCACTTGCCTGGAATTCAGCATGGCTCAGACAGT CACCCAGTCTCAGCCCGAAATGAGCGTCCAAGAGG CTGAAACCGTGACTCTGTCTTGTACCTACGAC**ACCT CCGAGAGCGATTACTAC**CTCTTTTGGTATAAGCAA CCGCCGTCCAGGCAAATGATCCTCGTGATCCGG**CA AGAAGCTTACAAACAGCAGAAT**GCTACCGAAAAC CGGTTCTCCGTCAATTTTCAGAAAGCCGCTAAGAGC TTTAGCCTGAAAATCTCCGACTCTCAGCTCGGCGAC GCTGCTATGTATTTC**TGTGCCTACCGCAAAACTTC TTACGATAAAGTCATTTTT**GGGCCAGGGACAAGC TTATCAGTCATTCCAAacatccagaaccccgaccccgccgtgtacca gctgagggactccaagtccagcgacaagagcgtgtgtctgtttacggacttcgacag ccagaccaacgtgagtcaaagcaaggacagcgacgtctacataacggataagacc gtgctggacatgcggagcatggacttcaagagcaacagcgccgtggcctggtccaa caagagcgacttcgcctgcgccaacgccttcaacaacagcatcatccccgaggaca ccttcttccccagcagcgacgtgccctgcgacgtgaaactggtggagaagtccttcg agacagacaccaatctgaactttcagaacctgctggtgatcgtgctgcggattctgct gctgaaagtggccggcttcaatctgctgatgaccctgcggctgtggagc (SEQ ID NO: 88)
	α 链蛋白质序列 MACPGFLWALVISTCLEFSMAQTVTQSQPEMSVQEA ETVTLSCTYD**TSESDYY**LFWYKQPPSRQMILVIR**QEA YKQQN**ATENRFSVNFQKAAKSFSLKISDSQLGDAAM YF**CAYRKTSYDKVIF**GPGTSLSVIPNiqnpdpavyqlrdskss dksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfa canafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnl lmtlrlws (SEQ ID NO: 89)
PRAME-425-366 MGTM 密码子优化序列(也称为克隆"TCR 366"、"366"、"TSC-203-A02"以	β 链 DNA 序列 ATGCTGAGCCCCGACCTGCCTGACAGCGCTTGGAA TACCAGACTCCTGTGCAGAGTGATGCTGTGCCTGCT TGGAGCTGGAAGTGTGGCTGCTGGTGTCATTCAGTC CCCAAGGCACCTGATCAAAGAGAAGAGAGAGACA GCCACTCTGAAGTGCTACCCCATT**CCTAGACACGA**

[0158]

及“TSC-203-A0201”) 注：在图 6 中此克隆以 PRAME TCR 与 MAGEA1 TCR 的多重物的形式使用。T 细胞用从包含 MSCV-TCRα-TCRβ-CD8α-CD8β (TCR 中的 MGTM 恒定区和融合至 CD8 的 CD34 标签)的载体表达的 TCR 慢病毒转导。 β 链：TRBV13/TRBJ2-1/MGTM 修饰的 TRBC	**CACG**GTCTATTGGTATCAGCAAGGACCTGGACAGG ACCCTCAGTTCCTGATCAGC**TTCTACGAGAAGATG** **CAG**AGCGACAAGGGCAGCATCCCCGACAGATTTTC TGCCCAGCAGTTCAGCGACTACCACAGCGAGCTGA ACATGAGCAGCCTGGAACTGGGCGATAGCGCCCTG TACTTC**TGTGCCTCTTCTTTCGCACGCCTGGAAG** **GTCGCGATAATGAACAATTTTTT**GGGCCAGGGAC ACGGCTCACCGTGCTAGaagatctgaacaaggtgttccctccagagg tggccgtgttcgagccttctaaggccgagatcgcccacacacaaaaagccaccctc gtgtgcctggccaccggctttttccccgaccacgtggaactgtcttggtgggtcaacg gcaaagaggtgcactccggcgtgtcaacggatccccagcctctgaaagaacagcct gccctgaacgacagccggtactgcctgagctccagactgagagtgtccgccaccttc tggcagaaccccccggaaccacttcagatgccaggtgcagttttacggcctgagcga gaacgacgagtggacccaggacagagccaagcccgtgacacaaatcgtgtctgcc gaagcctggggaagagccgattgcggcatcaccagcgcctcctatcaccagggcg tgctgagcgccacaatcctgtacgaaatcctgctgggcaaggccaccctgtacgccg tgctggtgtctgctctggtgctgatggccatggtcaagcggaaggactttggcagcg gcagagccaaaaggtccgggagcggt (SEQ ID NO: 90)
	β 链蛋白质序列 MLSPDLPDSAWNTRLLCRVMLCLLGAGSVAAGVIQS PRHLIKEKRETATLKCYPI**PRHDT**VYWYQQGPGQDP QFLIS**FYEKMQ**SDKGSIPDRFSAQQFSDYHSELNMSS LELGDSALYF**CASSFARLEGRDNEQFF**GPGTRLTVLE dlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvngkevhsg vstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtq drakpvtqivsaeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlm amvkrkdfgsgrakrsgsg (SEQ ID NO: 91)
完整 β 和 α ORF DNA 序列(“弗林蛋白酶-P2A”位点中的加下划线斜体区域编码允许在单一卡盒中表达两个多肽链的序列)	ATGCTGAGCCCCGACCTGCCTGACAGCGCTTGGAA TACCAGACTCCTGTGCAGAGTGATGCTGTGCCTGCT TGGAGCTGGAAGTGTGGCTGCTGGTGTCATTCAGTC CCCAAGGCACCTGATCAAAGAGAAGAGAGAGACA GCCACTCTGAAGTGCTACCCCATT**CCTAGACACGA** **CACG**GTCTATTGGTATCAGCAAGGACCTGGACAGG ACCCTCAGTTCCTGATCAGC**TTCTACGAGAAGATG** **CAG**AGCGACAAGGGCAGCATCCCCGACAGATTTTC TGCCCAGCAGTTCAGCGACTACCACAGCGAGCTGA ACATGAGCAGCCTGGAACTGGGCGATAGCGCCCTG TACTTC**TGTGCCTCTTCTTTCGCACGCCTGGAAG** **GTCGCGATAATGAACAATTTTTT**GGGCCAGGGAC ACGGCTCACCGTGCTAGaagatctgaacaaggtgttccctccagagg tggccgtgttcgagccttctaaggccgagatcgcccacacacaaaaagccaccctc gtgtgcctggccaccggctttttccccgaccacgtggaactgtcttggtgggtcaacg gcaaagaggtgcactccggcgtgtcaacggatccccagcctctgaaagaacagcct gccctgaacgacagccggtactgcctgagctccagactgagagtgtccgccaccttc tggcagaaccccccggaaccacttcagatgccaggtgcagttttacggcctgagcga gaacgacgagtggacccaggacagagccaagcccgtgacacaaatcgtgtctgcc gaagcctggggaagagccgattgcggcatcaccagcgcctcctatcaccagggcg tgctgagcgccacaatcctgtacgaaatcctgctgggcaaggccaccctgtacgccg tgctggtgtctgctctggtgctgatggccatggtcaagcggaaggactttggcagcg gc*agagccaaaaggtccgggagcggtGCGACAAACTTTAGCCTGT*

[0159]

	TGAAACAAGCCGGCGACGTTGAAGAGAACCCCGGACC *T*ATGGCCTGTCCTGGCTTCCTGTGGGCCCTTGTGAT CAGCACTTGCCTGGAATTCAGCATGGCTCAGACAG TCACCCAGTCTCAGCCCGAAATGAGCGTCCAAGAG GCTGAAACCGTGACTCTGTCTTGTACCTACGAC**ACC** **TCCGAGAGCGATTACTAC**CTCTTTTGGTATAAGCA ACCGCCGTCCAGGCAAATGATCCTCGTGATCCGG**C** **AAGAAGCTTACAAACAGCAGAAT**GCTACCGAAAA CCGGTTCTCCGTCAATTTTCAGAAAGCCGCTAAGAG CTTTAGCCTGAAAATCTCCGACTCTCAGCTCGGCGA CGCTGCTATGTATTTC**TGTGCCTACCGCAAAACTT** **CTTACGATAAAGTCATTTTT**GGGCCAGGGACAAG CTTATCAGTCATTCCAAacatccagaaccccgaccccgccgtgtacc agctgagggactccaagtccagcgacaagagcgtgtgtctgtttacggacttcgaca gccagaccaacgtgagtcaaagcaaggacagcgacgtctacataacggataagac cgtgctggacatgcggagcatggacttcaagagcaacagcgccgtggcctggtcca acaagagcgacttcgcctgcgccaacgccttcaacaacagcatcatccccgaggac accttcttccccagcagcgacgtgccctgcgacgtgaaactggtggagaagtccttc gagacagacaccaatctgaactttcagaacctgctggtgatcgtgctgcggattctgc tgctgaaagtggccggcttcaatctgctgatgaccctgcggctgtggagc (SEQ ID NO: 92)
完整β和α ORF蛋白质序列(“弗林蛋白酶-P2A”位点中的加下划线斜体区域允许在单一卡盒中表达两个多肽链)	MLSPDLPDSAWNTRLLCRVMLCLLGAGSVAAGVIQS PRHLIKEKRETATLKCYPI**PRHDT**VYWYQQGPGQDP QFLIS**FYEKMQ**SDKGSIPDRFSAQQFSDYHSELNMSS LELGDSALYF**CASSFARLEGRDNEQFF**GPGTRLTVLE dlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvngkevhsg vstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtq drakpvtqivsaeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlm amvkrkdfgsg*rakrsgsgATNFSLLKQAGDVEENPGP*MACPG FLWALVISTCLEFSMAQTVTQSQPEMSVQEAETVTLS CTYD**TSESDYY**LFWYKQPPSRQMILVIR**QEAYKQQN** ATENRFSVNFQKAAKSFSLKISDSQLGDAAMYF**CAY** **RKTSYDKVIF**GPGTSLSVIPNiqnpdpavyqlrdskssdksvclft dfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnns iipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnllmtlrlws (SEQ ID NO: 93)
PRAME-425-358 WT序列 α链: TRAV30/TRAJ20/TRAC	α链DNA序列 ATGGAAACCCTGCTGAAGGTGCTGTCTGGCACCCT GCTGTGGCAGCTGACATGGGTCCGATCTCAGCAGC CTGTGCAGTCTCCTCAGGCCGTGATTCTGAGAGAA GGCGAGGACGCCGTGATCAACTGCAGCAGCTCT**AA** **GGCCCTGTACAGC**GTGCACTGGTACAGGCAGAAA CACGGCGAGGCCCCAGTGTTTCTGATGATT**CTGCT** **GAAAGGCGGCGAGCAG**AAGGGCCACGATAAGAT CTCCGCCAGCTTCAACGAGAAGAAGCAGCAGTCCA GCCTGTACCTGACAGCCAGCCAGCTGAGCTACAGC GGCACCTATTTC**TGTGGCACAGAAGGTACTGGTG** **ACTACAAGCTCTCTTTT**GGAGCCGGAACCACAGT AACTGTAAGAGCAAatatccagaaccctgaccctgccgtgtaccagct gagagactctaaatccagtgacaagtctgtctgcctattcaccgattttgattctcaaac

[0160]

	aaatgtgtcacaaagtaaggattctgatgtgtatatcacagacaaaactgtgctagaca tgaggtctatggacttcaagagcaacagtgctgtggcctggagcaacaaatctgactt tgcatgtgcaaacgccttcaacaacagcattattccagaagacaccttcttccccagcc cagaaagttcctgtgatgtcaagctggtcgagaaaagctttgaaacagatacgaacct aaactttcaaaacctgtcagtgattgggttccgaatcctcctcctgaaagtggccgggt ttaatctgctcatgacgctgcggctgtggtccagc (SEQ ID NO: 94)
	α链蛋白质序列 METLLKVLSGTLLWQLTWVRSQQPVQSPQAVILREG EDAVINCSSS**KALYS**VHWYRQKHGEAPVFLMI**LLKG GEQ**KGHDKISASFNEKKQQSSLYLTASQLSYSGTYF**C GTEGTGDYKLSF**GAGTTVTVRANiqnpdpavyqlrdsskssdk svclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacan afnnsiipedtffpspesscdvklveksfetdtnlnfqnlsvigfrilllkvagfnllmt lrlwss (SEQ ID NO: 95)
PRAME-425-358 WT 序列 β链: TRBV27/TRBJ2-7/TRBC1	β链 DNA 序列 ATGGGACCTCAGCTGCTGGGATATGTGGTGCTGTGT CTGCTCGGAGCTGGACCCCTGGAAGCTCAAGTGAC ACAGAACCCCAGATACCTGATCACCGTGACCGGCA AAAAGCTGACCGTGACCTGTAGCCAGAAC**ATGAAC CACGAGTAC**ATGAGCTGGTATCGGCAAGACCCTGG CCTGGGGCTGAGACAGATCTACTAT**AGCATGAACG TGGAAGTG**ACCGACAAAGGCGACGTGCCCGAGGG CTATAAGGTGTCCCGGAAAGAGAAGCGGAACTTTC CACTGATCCTGGAATCCCCATCTCCTAACCAGACCA GCCTGTATTTT**TGCGCTAGTTCTGCCGGGACCGG GGGGCATGAGCAATACTTC**GGGCCGGGCACCAGG CTCACGGTCACAGaggacctgaacaaggtgttcccacccgaggtcgct gtgtttgagccatcagaagcagagatctcccacacccaaaaggccacactggtgtgc ctggccacaggcttcttccctgaccacgtggagctgagctggtgggtgaatgggaag gaggtgcacagtggggtcagcacggacccgcagcccctcaaggagcagcccgcc ctcaatgactccagatactgcctgagcagccgcctgagggtctcggccaccttctgg cagaaccccgcaaccacttccgctgtcaagtccagttctacgggctctcggagaat gacgagtggacccaggatagggccaaacccgtcacccagatcgtcagcgccgag gcctggggtagagcagactgtggctttacctcggtgtcctaccagcaaggggtcctg tctgccaccatcctctatgagatcctgctagggaaggccaccctgtatgctgtgctggt cagcgcccttgtgttgatggccatggtcaagagaaaggatttc (SEQ ID NO: 96)
	β链蛋白质序列 MGPQLLGYVVLCLLGAGPLEAQVTQNPRYLITVTGK KLTVTCSQN**MNHEY**MSWYRQDPGLGLRQIYY**SMNV EV**TDKGDVPEGYKVSRKEKRNFPLILESPSPNQTSLYF **CASSAGTGGHEQYF**GPGTRLTVTEdlnkvfppevavfepsea eishtqkatlvclatgffpdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsry clssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgra dcgftsvsyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf (SEQ ID NO: 97)
PRAME-425-358 MGTM 密码子优化	α链 DNA 序列 ATGGAAACCCTGCTGAAGGTGCTGTCTGGCACCCT GCTGTGGCAGCTGACATGGGTCCGATCTCAGCAGC

[0161]

序列(也称为克隆“TCR 358”) α链: TRAV30/TRAJ20/MGTM修饰的TRAC	CTGTGCAGTCTCCTCAGGCCGTGATTCTGAGAGAA GGCGAGGACGCCGTGATCAACTGCAGCAGCTCT**AA GGCCCTGTACAGC**GTGCACTGGTACAGGCAGAAA CACGGCGAGGCCCCAGTGTTTCTGATGATT**CTGCT GAAAGGCGGCGAGCAG**AAGGGCCACGATAAGAT CTCCGCCAGCTTCAACGAGAAGAAGCAGCAGTCCA GCCTGTACCTGACAGCCAGCCAGCTGAGCTACAGC GGCACCTATTTC**TGTGGCACAGAAGGTACTGGTG ACTACAAGCTCTCTTTT**GGAGCCGGAACCACAGT AACTGTAAGAGCAAacatccagaaccccgaccccgccgtgtaccagc tgagggactccaagtccagcgacaagagcgtgtgtctgtttacggacttcgacagcc agaccaacgtgagtcaaagcaaggacagcgacgtctacataacggataagaccgt gctggacatgcggagcatggacttcaagagcaacagcgccgtggcctggtccaac aagagcgacttcgcctgcgccaacgccttcaacaacagcatcatccccgaggacac cttcttccccagcagcgacgtgccctgcgacgtgaaactggtggagaagtccttcga gacagacaccaatctgaactttcagaacctgctggtgatcgtgctgcggattctgctg ctgaaagtggccggcttcaatctgctgatgaccctgcggctgtggagc (SEQ ID NO: 98)
	α链蛋白质序列 METLLKVLSGTLLWQLTWVRSQQPVQSPQAVILREG EDAVINCSSS**KALYS**VHWYRQKHGEAPVFLMI**LLKG GEQ**KGHDKISASFNEKKQQSSLYLTASQLSYSGTYF**C GTEGTGDYKLSF**GAGTTVTVRANiqnpdpavyqlrdskssdk svclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacan afnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnllmt lrlws (SEQ ID NO: 99)
PRAME-425-358 MGTM密码子优化序列(也称为克隆“TCR 358”) β链: TRBV27/TRBJ2-7/MGTM修饰的TRBC	β链DNA序列 ATGGGACCTCAGCTGCTGGGATATGTGGTGCTGTGT CTGCTCGGAGCTGGACCCCTGGAAGCTCAAGTGAC ACAGAACCCCAGATACCTGATCACCGTGACCGGCA AAAAGCTGACCGTGACCTGTAGCCAGAAC**ATGAAC CACGAGTAC**ATGAGCTGGTATCGGCAAGACCCTGG CCTGGGGCTGAGACAGATCTACTAT**AGCATGAACG TGGAAGTG**ACCGACAAAGGCGACGTGCCCGAGGG CTATAAGGTGTCCCGGAAAGAGAAGCGGAACTTTC CACTGATCCTGGAATCCCCATCTCCTAACCAGACCA GCCTGTATTTT**TGCGCTAGTTCTGCCGGGACCGG GGGGCATGAGCAATACTTC**GGGCCGGGCACCAGG CTCACGGTCACAGaagatctgaacaaggtgttccctccagaggtggccg tgttcgagccttctaaggccgagatcgcccacacacaaaaagccaccctcgtgtgcc tggccaccggctttttccccgaccacgtggaactgtcttggtgggtcaacggcaaag aggtgcactccggcgtgtcaacggatccccagcctctgaaagaacagcctgccctg aacgacagccggtactgcctgagctccagactgagagtgtccgccaccttctggca gaaccccccggaaccacttcagatgccaggtgcagttttacggcctgagcgagaacg acgagtggacccaggacagagccaagcccgtgacacaaatcgtgtctgccgaagc ctggggaagagccgattgcggcatcaccagcgcctcctatcaccagggcgtgctga gcgccacaatcctgtacgaaatcctgctgggcaaggccaccctgtacgccgtgctg gtgtctgctctggtgctgatggccatggtcaagcggaaggactttggcagcggcaga gccaaaaggtccgggagcggt (SEQ ID NO: 100)

[0162]

	β链蛋白质序列 MGPQLLGYVVLCLLGAGPLEAQVTQNPRYLITVTGK KLTVTCSQN**MNHEY**MSWYRQDPGLGLRQIYY**SMNV** **EV**TDKGDVPEGYKVSRKEKRNFPLILESPSPNQTSLYF **CASSAGTGGHEQYF**GPGTRLTVTEdlnkvfppevavfepska eiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsry clssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgra dcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdfgsgrakrsg sg (SEQ ID NO: 101)
完整β和α ORF DNA序列(“弗林蛋白酶-P2A”位点中的加下划线斜体区域编码允许在单一卡盒中表达两个多肽链的序列)	ATGGGACCTCAGCTGCTGGGATATGTGGTGCTGTGT CTGCTCGGAGCTGGACCCCTGGAAGCTCAAGTGAC ACAGAACCCCAGATACCTGATCACCGTGACCGGCA AAAAGCTGACCGTGACCTGTAGCCAGAAC**ATGAAC** **CACGAGTAC**ATGAGCTGGTATCGGCAAGACCCTGG CCTGGGGCTGAGACAGATCTACTAT**AGCATGAACG** **TGGAAGTG**ACCGACAAAGGCGACGTGCCCGAGGG CTATAAGGTGTCCCGGAAAGAGAAGCGGAACTTTC CACTGATCCTGGAATCCCCATCTCCTAACCAGACCA GCCTGTATTTT**TGCGCTAGTTCTGCCGGGACCGG** **GGGGCATGAGCAATACTTC**GGGCCGGGCACCAGG CTCACGGTCACAGaagatctgaacaaggtgttccctccagaggtggccg tgttcgagccttctaaggccgagatcgcccacacacaaaaagccaccctcgtgtgcc tggccaccggctttttccccgaccacgtggaactgtcttggtgggtcaacggcaaag aggtgcactccggcgtgtcaacggatccccagcctctgaaagaacagcctgccctg aacgacagccggtactgcctgagctccagactgagagtgtccgccaccttctggca gaacccccggaaccacttcagatgccaggtgcagttttacggcctgagcgagaacg acgagtggacccaggacagagccaagcccgtgacacaaatcgtgtctgccgaagc ctggggaagagccgattgcggcatcaccagcgcctcctatcaccagggcgtgctga gcgccacaatcctgtacgaaatcctgctgggcaaggccaccctgtacgccgtgctg gtgtctgctctggtgctgatggccatggtcaagcggaaggactttggcagcggc*ag* *agccaaaaggtccgggagcggtGCGACAAACTTTAGCCTGTTGA* *AACAAGCCGGCGACGTTGAAGAGAACCCCGGACCT*ATG GAAACCCTGCTGAAGGTGCTGTCTGGCACCCTGC TGTGGCAGCTGACATGGGTCCGATCTCAGCAGCCT GTGCAGTCTCCTCAGGCCGTGATTCTGAGAGAAGG CGAGGACGCCGTGATCAACTGCAGCAGCTCT**AAGG** **CCCTGTACAGC**GTGCACTGGTACAGGCAGAAACA CGGCGAGGCCCCAGTGTTTCTGATGATT**CTGCTGA** **AAGGCGGCGAGCAG**AAGGGCCACGATAAGATCTC CGCCAGCTTCAACGAGAAGAAGCAGCAGTCCAGCC TGTACCTGACAGCCAGCCAGCTGAGCTACAGCGGC ACCTATTTC**TGTGGCACAGAAGGTACTGGTGACT** **ACAAGCTCTCTTTT**GGAGCCGGAACCACAGTAACT GTAAGAGCAAacatccagaaccccgaccccgccgtgtaccagctgaggg actccaagtccagcgacaagagcgtgtgtctgtttacggacttcgacagccagacca acgtgagtcaaagcaaggacagcgacgtctacataacggataagaccgtgctggac atgcggagcatggacttcaagagcaacagcgccgtggcctggtccaacaagagcg acttcgcctgcgccaacgccttcaacaacagcatcatccccgaggacaccttcttccc cagcagcgacgtgccctgcgacgtgaaactggtggagaagtccttcgagacagac accaatctgaactttcagaacctgctggtgatcgtgctgcggattctgctgctgaaagt

[0163]

	ggccggcttcaatctgctgatgaccctgcggctgtggagc (SEC ID NO: 102)
完整β和αORF蛋白质序列("弗林蛋白酶-P2A"位点中的加下划线斜体区域允许在单一卡盒中表达两个多肽链)	MGPQLLGYVVLCLLGAGPLEAQVTQNPRYLITVTGK KLTVTCSQN**MNHEY**MSWYRQDPGLGLRQIYY**SMNV EV**TDKGDVPEGYKVSRKEKRNFPLILESPSPNQTSLYF **CASSAGTGGHEQYF**GPGTRLTVTEdlnkvfppevavfepska eiahtqkatlvclatgffpdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsry clssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdrakpvtqivsaeawgra dcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdfgsg*rakrsg sgATNFSLLKQAGDVEENPGP*METLLKVLSGTLLWQLT WVRSQQPVQSPQAVILREGEDAVINCSSS**KALYS**VH WYRQKHGEAPVFLMI**LLKGGEQ**KGHDKISASFNEKK QQSSLYLTASQLSYSGTYF**CGTEGTGDYKLSF**GAGT TVTVRANiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitd ktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklv eksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnllmtlrlws (SEC ID NO: 103)

[0164] *表6部分地提供了根据MHC血清型呈现分组并且根据由MHC血清型呈现并且由划分子组的TCR结合的不同肽划分子组的代表性TCR序列。描述并且要求了诸如表格中代表性地例示的那些个别TCR,以及结合单独或与MHC复合的本文所描述的肽表位序列的结合蛋白种类,诸如本文所提供的表格中分组的那些结合蛋白。此外,提供本文所描述的各TCRα链的TRAV、TRAJ以及TRAC基因以及本文所描述的各TCRβ链的TRBV、TRBJ以及TRBC基因。以各个命名的TCR的各对同源α链和β链的形式提供本文所描述的各TCR的序列。标注本文所描述的TCR序列。可变结构域序列使用大写字母。恒定结构域序列为小写字母。CDR1、CDR2以及CDR3序列使用粗体并且加下划线的文本进行标注。CDR1、CDR2以及CDR3以从左(N端)到右(C端)的标准出现顺序显示。本文所描述的各TCRα链的TRAV、TRAJ以及TRAC基因以及本文所描述的各TCRβ链的TRBV、TRBJ以及TRBC基因根据本文所描述的熟知IMGT命名法进行标注。类似地,TRAV和TRBV的CDR1和CDR2为本领域熟知的,因为它们是基于熟知并且标注的TRAV和TRBV序列(例如如像在imt.org可获得的IMGT以及在iedb.org可获得的IEDB的数据库中所标注)。

[0165] *对于某些所展示的载体,MSCV启动子为粗体。β链使用粗体并且斜体的文本进行标注。α链使用粗体并且加下划线的文本进行标注。CD34富集标签(Q标签)使用斜体并且加下划线的文本进行标注。CD8-α为斜体。CD8-β加下划线。

[0166] *表6包括包含在全长上与其中所列的任何序列的氨基酸序列具有至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或更大同一性的氨基酸序列的多肽序列以及多肽分子,或其部分。此类多肽可具有如本文进一步所描述的全长肽或多肽的功能。

[0167] *表6包括RNA核酸分子(例如胸腺嘧啶用尿苷置换)、编码所编码蛋白质的异种同源物的核酸分子以及包含在全长上与其中所列的任何序列的核酸序列具有至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或更大同一性的核酸序列的DNA或RNA核酸序列,或其部分。此类核酸分子可具有如本文进一步所描述的全长核酸的功能。

[0168] 表7:由HLA血清型HLA-A*02(例如HLA-A*02:01)呈现的PRAME表位

[0169]

肽表位
SLLQHLIGL(SEQ ID NO:104)

[0170] 实施例4:靶向MAGEA1和PRAME的多重TCR-T细胞疗法增强在临床前模型中过继性T细胞疗法的活性

[0171] 本实施例部分基于以下认识:基因工程化T细胞情况下的过继性细胞转移对于治疗实体肿瘤具有极大的前景。某些TCR工程化T细胞疗法(TCR-T)在先临床研究一次靶向一种抗原,并且在各种情况下,产生在30-50%范围内的反应率。已观测到,对此类疗法的完全反应为罕见的,并且反应常常寿命较短。不希望受任何特定科学理论束缚,人们可合理地得出患者在对此类疗法作出反应之后快速复发的原因为其肿瘤展现抗原表达的大体异质性:并非肿瘤内的每个癌细胞均表达单一TCR疗法的标靶,并且即使它们表达,在个别肿瘤细胞中标靶也是以可变水平表达。这表明靶向一种抗原的TCR-T可允许缺乏经过处理的抗原的细胞逃脱并且驱使复发。

[0172] 本实施例呈现多重TCR-T细胞疗法的开发,其中使用多种TCR-T细胞产物作为用于解决抗原异质性的解决方案对患者进行治疗,所述多种TCR-T细胞产物选自与患者的肿瘤抗原和HLA类型相匹配的预先考查的TCR的集合。作为概念验证,选择由两种不同TCR靶向的两种不同癌症/睾丸抗原。如Luomo等(2022)Cell.S0092-8674(22)00723-1中所描述,使用TScan的筛选技术,这些抗原中的一者M AGEA1被鉴定为来自头颈癌患者的扩增肿瘤浸润T细胞的标靶。所述抗原中的另一者PRAME在多种癌症中高度表达。本实施例包括开发两种高亲和力TCR,这两种高亲和力TCR识别来自MAGEA1和PRAME的HLA-A*02:01限制性表位(分别参见表5和表7)。使用多种临床前模型评估将分别具有根据表4和表6的序列的这两种TCR-T细胞产物组合的益处。举例来说,可使用TSC-203-A0201和TSC-204-A0201 TCR-T细胞产物,诸如表达MGTM TCR并且密码子优化的那些细胞产物。

[0173] 据信当个别地与表达内源性MAGEA1和PRAME的HLA匹配的癌细胞系共培养时,两种TCR(即,分别识别MAGEA1和PRAME的TCR)均显示强体外细胞毒性活性。另外,在异种移植小鼠模型中,据信各TCR能够控制表达同源抗原和HLA的肿瘤的生长。

[0174] 在体外测试表达MAGEA1或PRAME以及HLA-A*02:01的两种不同细胞系的混合物或使其作为异种移植肿瘤在小鼠中生长并且用个别测试的任一TCR-T或用两种TCR-T的混合物进行处理。值得注意的是,MAGE特异性TCR-T和PRAME特异性TCR-T被设计成选择性地靶向其各别靶细胞子集,并且多重MAGEA1/PRAME TCR-T被设计成同时靶向两种癌细胞子集。与靶向单一抗原的TCR-T相比,当用多重MAGEA1/PRAME TCR-T处理时,小鼠经过设计以实现更久的持续肿瘤控制。

[0175] 报告于此实施例中并且进一步概括于图6中的发现预期证实多重TCR-T为靶向具有非均质靶抗原表达的癌症的有效手段,并且因此,为有利的治疗方法。不希望受任何特定科学理论束缚,本实施例证实多重TCR-T模拟天然寡克隆T细胞对癌症的反应并且具有克服抗原异质性的潜能,抗原异质性可使得在单一疗法TCR-T临床试验中观测到缺乏耐久性。所描述的共培养分析的持续时间为相对短期的,并且据信可在其他分析中观测到进一步的协同活性(诸如来自本文所描述的细胞因子依赖性现象),诸如在更久的持续时间研究中降低TCR组合的一种或多种TCR的效应子与标靶比率以显示其他TCR对减少的TCR的支持作用等。

[0176] 图6示出了人非小细胞肺(NSCLC)肿瘤样品中可变抗原表达的代表性实例。使用

MAGE-A1特异性抗体(克隆SPM282;Abcam目录号ab25834)或PRAME特异性抗体(克隆EPR20330;Abcam目录号ab219650)对人NSCLC肿瘤微阵列进行免疫组织化学分析。如针对具有可变表达程度的MAGE-A1和PRAME所呈现,在多个切片中观测到肿瘤内的非均质抗原表达。还示出了未染色的肿瘤对照。

[0177] 图6还示出了识别呈现于HLA-A*02:01上的MAGE-A1源性表位的TCR以及识别呈现于HLA-A*02:01上的PRAME源性表位的TCR的表征。进行表达MAGE-A1特异性TCR的TCR-T细胞与呈现一系列MAGE-A1(即,MCIOH1703、HJS936T以及A375)的一组HLA-A*02:01阳性癌细胞系或PRAME特异性TCR与呈现一系列PRAME表达(即,HS695T、A375以及NCI-H15632)的细胞的共培养。对HLA-A*02:01阳性但MAGE-A1(A2-HEK293T)或PRAME(647-V)阴性的细胞系进行测试作为阴性对照。

[0178] 这些实验中所用的TCR-T细胞为通过慢病毒转导工程化的全T细胞。载体含有MGTM修饰并且共受体CD8α和CD8β与重组TCR一起共递送,主要确保识别全T细胞的CD4+级分上的TCR。

[0179] 数据证实,各TCR-T对呈现同源肽/MHC(pMHC)的细胞展示高性能和选择性,从而杀伤相关靶细胞,而不杀伤所靶向的蛋白质为阴性的细胞系。

[0180] 还进行体内功效研究以进一步测试个别TCR-T细胞的性能。为雌性NOD-Prkdc^{em26Cd52}Il2r^{gem26Cd22}/NjuCrl(NCG)小鼠皮下植入U266B1癌细胞(表达MAGE-A1的HLA-A*02:01阳性细胞)。将证实有正在生长的肿瘤(平均肿瘤体积为约100mm^3;接种后21天)的动物随机化至不同实验组中并且接受MAGE-A1 TCR-T细胞(各20E6个;在随机化后第二天注射,并且一周后再次注射),或供体匹配的非工程化对照T细胞(各20E6个;随机化后第二天注射,并且一周后再次注射)的两次静脉内注射。每周两次测量肿瘤体积。尽管来自对照组的动物在第42天呈现达到超过平均800mm^{3}的正在生长的肿瘤,但用MAGE-A1特异性TCR-T细胞处理的小鼠显示稳健抗肿瘤反应。

[0181] 在类似实验中,为雌性NCG动物植入Hs695T细胞(表达PRAME的HLA-A*02:01阳性细胞)并且接受单一剂量的PRAME特异性TCR-T细胞或供体匹配的非工程化对照T细胞(20E6个T细胞,随机化之后一天)。当与对照T细胞处理的动物相比时,注射TCR-T细胞的动物呈现抗肿瘤反应。

[0182] 这些研究证实,静脉内注射TCR-T细胞可成功控制小鼠中皮下接种的pMHC阳性肿瘤的生长,从而证实个别TCR-T细胞的性能。

[0183] 进行体外实验以证实将TCR-T细胞组合以治疗非均质肿瘤的价值。将排他地表达HLA-A*02:01并且表达颗粒酶B活化的红外荧光蛋白(IFP)的报告子HEK293T细胞进一步工程化以表达MAGE-A1或PRAME。将表达MAGE-A1的细胞进行GFP标记,并且将PRAME阳性细胞进行GFP与CellTrace™紫标记以使得能够在下游物流中跟踪血细胞计数读数。当TCR-T细胞识别靶细胞时,TCR-T细胞将细胞毒性颗粒分泌至靶细胞中,从而使得靶细胞变为发荧光的(IFP阳性)。将两种靶细胞(即,PRAME阳性或MAGE-A1阳性)与MAGE-A1 TCR-T细胞、PRAME TCR-T细胞或组合两种TCR-T细胞的多重产物以平衡比率混合并且共培养。从来自相同供体的T细胞工程化得到PRAME TCR-T细胞和MAGE-A1 TCR-T细胞系。TCR-T细胞对应于通过使用采用MGTM修饰的递送载体慢病毒转导并且如上文所描述共递送CD8α和CD8β共受体而工程化的全T细胞(诸如表1)。还包括供体匹配的非工程化T细胞(NTC)作为对照。实验然后测量

如通过变为IFP阳性的GFP或GFP/CTV的比例所测量由TCR-T细胞识别并且靶向的标靶(GFP阳性MAGE-A1标靶;GFP/CTV阳性PRAME标靶)的各子集的比例。NTC未在任一标靶子集中诱导任何IFP阳性。当将MAGE-A1 TCR-T细胞与混合靶细胞共培养时,GFP阳性中IFP为阳性的比例增加,但在GFP/CTV阳性细胞中未增加。这些结果证实,在此共培养条件下仅识别MAGE-A1阳性子集。相反地,当将PRAME TCR-T细胞与靶细胞混合物共培养时,GFP/CTV阳性标靶中IFP也为阳性的比例增加,但在GFP阳性靶细胞中未增加。这些结果证实,在此共培养条件下仅靶向PRAME阳性靶细胞子集。最后,在将PRAME TCR-T细胞与MAGE-A1 TCR-T细胞的混合物与混合靶细胞共培养后,GFP阳性与GFP/CTV阳性细胞子集均呈现IFP阳性信号,表明两种靶细胞子集均被有效识别。在与多重产物的共培养中变为IFP阳性的各子集的比例类似于当与各个别TCR-T细胞产物共培养时所观测。

[0184] 总的来说,数据证实,虽然各个别TCR-T细胞产物能够靶向相关pMHC阳性的细胞,但需要多重产物广泛地靶向癌细胞的非均质混合物。

[0185] 还在雌性NCG小鼠中皮下接种表达MAGE-A1或PRAME以及HLA-A*02:01的HEK293T细胞的混合物。在肿瘤达到平均100mm^{3}后,将动物随机化并且接受20E6个MAGE-A1 TCR-T细胞、20E6个PRAME TCR-T细胞或由10E6个MAGE-A1 TCR-T细胞以及10E6个PRAME TCR-T细胞组成的多重产物或由20E6个MAGE-A1 TCR-T细胞和20E6个PRAME TCR-T细胞组成的多重产物的单次静脉内注射。一组动物接受20E6个供体匹配的非工程化T细胞的静脉内注射。这些实验中使用与上文所描述的那些效应T细胞相同的效应T细胞。然后每两周测量肿瘤体积。对照组中的动物展示迅速生长的肿瘤;在研究结束时肿瘤体积达到超过1000mm^3(在接种后第24天)。另一方面,给予各个别TCR-T细胞子集的动物呈现以较慢速率生长的肿瘤,在研究结束时仅达到约600-750mm^3。当与具有约500mm^3(10E6个各TCR-T)或约300mm^3(20E6个各TCR-T)的平均肿瘤体积的接受个别TCR-T细胞产物的动物相比时,接受多重TCR-T细胞产物的动物实现更广泛更持久的反应。此等数据与图6中所呈现并且上文所描述的体外数据一起证实,各TCR-T细胞仅靶向非均质肿瘤的子集,从而实现部分反应:癌细胞的子集保持对单一剂TCR-T细胞具抗性并且驱使复发。另一方面,通过广泛地靶向非均质肿瘤的两种细胞子集,多重TCR-T产物阻止选择抗性细胞并且实现更强的抗肿瘤反应。此外,图6说明了用于治疗性TCR疗法的基于ImmunoBank的方法的构思,其中利用结合HLA限制来定址多种癌症相关蛋白质的若干治疗性TCR以实现基于肿瘤生物学针对每个患者定制的TCR疗法组合。对于各患者,通过(a)使用免疫组织化学(IHC)或逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)确定其肿瘤中表达哪些癌症相关蛋白质(ImmunoBank的行),以及(b)通过基因组测序测量确定其肿瘤中哪些HLA基因(ImmunoBank的列)为完整的(即,HLA基因座处尚未经历杂合性丧失[LOH])来进行治疗决定。在确定患者的肿瘤标靶和HLA型态后,从ImmunoBank选择多种TCR(例如2种TCR、3种TCR等)以制备定制化多重TCR-T细胞药物产品。

[0186] 实施例5:使用识别呈现于独特HLA上的表位的不同TCR靶向相同标靶的多重TCR-T细胞疗法增强临床前模型中过继性T细胞疗法的活性

[0187] 本实施例部分基于以下认识:基因工程化T细胞情况下的过继性细胞转移对于治疗实体肿瘤具有极大的前景。

[0188] 特定的所关注的HLA对偶基因(诸如HLA-A*02:01和HLA-C*07:02)阳性的患者适合用识别由此类HLA呈现的给定标靶的表位的TCR治疗,分别诸如TSC-204-A0201和TSC-204-

C0702(例如通过同时或连续输注TCR)。其中特定HLA对偶基因出现在单独染色体(单独单倍型)上的患者更可能针对HLA丧失具抗性,因为自然杀手(NK)细胞靶向丢失两种I类HLA单倍型的肿瘤细胞(O'Connor等(2006)Immunol.117:1-10)。可使用定址不同标靶和更广泛范围的HLA类型的其他TCR-T组分来进一步增强TCR的组合并且使更广泛范围的患者能够用多重TCR-T治疗。

[0189] 本实施例呈现多重TCR-T细胞疗法的开发,其中使用多种TCR-T细胞产物作为用于解决抗原异质性的解决方案对患者进行治疗,所述多种TCR-T细胞产物选自与患者的肿瘤抗原和HLA类型相匹配的预先考查的TCR的集合。作为代表性非限制性实例,选择两种不同TCR用于多重TCR-T治疗,其中的每一者靶向属于相同标靶但由不同HLA对偶基因呈现的不同表位。以由通过转座子/转座酶介导的基因递送工程化的全T细胞(包含$CD4^+$与$CD8^+$ T细胞组成的形式使用TSC-204-A0201和TSC-204-C0702,以表达(1)相应重组TCR,(2)重组CD8α和CD8β共受体,以使治疗性产物的功效最大化,(3)CD34源性表位标签,所述标签融合至CD8α的N端以有助于在体外和体内跟踪工程化细胞,(4)显性负性II型TGFβ受体(DN-TGFβRII),以解决肿瘤微环境介导的免疫抑制,以及(5)二氢叶酸还原酶(DHFRdm)蛋白的突变形式,以有助于在制造过程期间富集工程化细胞。然而,据信本文所提供的数据中所示的结果可归因于TCR本身的功能。

[0190] TSC-204-A0201和TSC-204-C0702材料的体外表征证实,TCR-T细胞参与标靶依赖性反应,从而使得分泌炎性细胞因子、扩增效应T细胞并且最终杀伤靶细胞(图7)。由于TSC-204-A0201或TSC-204-C0702靶向的MAGE-A1源性表位分别呈现于I类MHC HLA-A*02:01和HLA-C*07:02上,故重组TCR使用CD8αβ共受体来接合pMH C。辅助($CD4^+$)T细胞不天然地表达CD8αβ共受体。将外源性CD8α和CD8β共受体与治疗性TCR一起共递送至工程化T细胞以促使$CD4^+$辅助T细胞能够识别I类限制性表位。TSC-204-A0201和TSC-204-C0702中所含的工程化$CD4^+$ T细胞与工程化$CD8^+$细胞毒性T细胞一起经历增殖,从而证实辅助T细胞的功能接合。另外,因为工程化T细胞表达DN-TGFβRII,故TSC-204-A0201和TSC-204-C0702TCR-T细胞甚至在存在实体肿瘤的微环境中可观测到的免疫抑制性细胞因子TGFβ的情况下也是活性的。

[0191] 图8和图9示出了来自施加至为模拟发生LOH的MAGE-A1阳性肿瘤而产生的非均质靶癌细胞群体的三个独立批次的TSC-204-A0201和TSC-204-C0702的TCR-T细胞的结果。简单来说,使用MAG E-A1阳性、HLA-A*02:01阳性以及HLA-C*07:02阳性癌细胞系U266B1(即,可购自ATCC的细胞系TIB-196)细胞系。通过CRISPR剔除对细胞进行工程化以形成两种版本的细胞系,其中两种所关注的H LA中仅一者为完整的(剔除HLA-A*02:01或HLA-C*07:02)。将U266B1 HLA-C*07:02KO,"A2标靶"和U266B1 HLA-A*02:01KO,"C7标靶"靶细胞分别用CellTrace™紫和CFSE条码化。在使用单重(TSC-204-C0702或TSC-204-A0201)或多重(T-Plex-204-A0201/204-C0702)条件共培养之后,将细胞悬浮液用LIVE/DEAD™活力染料标记以确定靶细胞的活力。将各靶细胞子集用独特荧光染料标记以在下游物流中跟踪血细胞计数读数,然后以1:1比率混合。

[0192] 制备效应T细胞。在分析性能前一天,将效应TCR-T细胞在37℃水浴中解冻并且用不含细胞因子的T细胞培养基洗涤。确定细胞浓度和活力(CCV),并且将活TCR-T细胞于完全T细胞培养基中以每毫升1E6个细胞的浓度接种于G-REX®6M孔板中。在37℃和5% CO_2下在湿润孵育器中回收TCR-T细胞持续16-24小时,然后培养。在解冻和过夜回收之后,收获效

应TCR-T细胞,用不含细胞因子的T细胞培养基洗涤并且以每毫升2E6个活细胞再悬浮于不含细胞因子的T细胞培养基中以为单重和多重条件作准备。将各TCR-T细胞悬浮液制成等分试样,用于进行阳性对照单重条件的涂铺。将所有三个批次的剩余TCR-T细胞悬浮液以1:1比率组合,以形成测试样品"T-Plex"条件(每毫升2E6个活细胞)。

[0193] 类似地,制备靶细胞。将靶细胞解冻,扩增,并且在培养物中维持不超过20代,然后弃去。在开始共培养前一天,收获靶细胞并且测量并记录CCV。然后以每毫升4E5个活细胞接种靶细胞以使细胞周期阶段同步。在共培养当天,收获靶细胞并且测定CCV。洗涤所收获的细胞,并且在无蛋白PBS中将细胞密度调节至每毫升1E6个细胞。将靶U266B1 HLA-C*07:02KO细胞用cell trace紫标记并且将靶U266B1 HLA-A*02:01KO细胞用CellTrace™CFSE标记(两者均根据制造商的说明书以1:2000进行)并且最终以每毫升5E5个活细胞再悬浮于基于RPMI的培养基中。在CellTrace™标记之后,将各靶细胞悬浮液(每毫升5E5个活细胞)制成等分试样用于涂铺阴性对照。非均质靶细胞制剂由剩余靶细胞悬浮液(每毫升5E5个活细胞)制成,将所述剩余靶细胞悬浮液以1:1比率组合以与阳性对照、单重以及T-Plex测试样品共培养。

[0194] 此外,制备共培养物。然后将非均质靶细胞与排他地由TSC-204-A0201、TSC-204-C0702(对应于单一疗法或"单重"TCR-T细胞产物)或由TSC-204-A0201和TSC-204-C0702的平衡混合物(即,"多重"TCR-T细胞产物)制成的不同TCR-T细胞混合物共培养。简单来说,将靶细胞涂铺于样品孔(U型底96孔板)中,然后在靶细胞顶部添加单重条件或多重条件效应细胞悬浮液。最终体积为每孔20 0μL,由分别于靶细胞RPMI培养基和不含细胞因子的T细胞和靶细胞培养基中的靶细胞(10 0μL)与效应细胞(100μL)的50/50混合物组成。将细胞放回孵育器并且共培养孵育20-24小时。各阳性对照或测试样品孔含有由50% CTV标记的U266B1 HLA-C*07:02KO(总计2.5E4个细胞)和50% CTCFSE标记的U266B1 HLA-A*02:01KO(总计2.5E4个细胞)组成的5E4个总活细胞的组合标靶悬浮液。各单重条件样品孔含有效应细胞悬浮液TSC-204-A0201或TSC-204-C0702的2E5个总活细胞与组合靶细胞悬浮液的5E4个总活细胞的组合。这表示总效应子与标靶(E:T)比率为4:1并且效应子与特定标靶比率为8:1。各T-Plex条件样品孔含有由50% TSC-204-A0201(总计1E5个细胞)和50%TSC-204-C0702(总计1E5个细胞)组成的组合细胞悬浮液T-Plex-204-A0201/204-C0702的2E5个总细胞。另外,将此孔与组合靶细胞悬浮液的5E4个总细胞组合。这表示E:T比率为4:1并且效应子与特定标靶比率为4:1。

[0195] 通过流式细胞术通过评估残余细胞中的各靶细胞群体的相对组成来评估TCR-T细胞针对靶细胞的细胞毒性活性。在共培养结束时,通过离心使细胞形成球粒,然后再悬浮于LIVE/DEAD™活力染料中,在4℃下避光持续20分钟,以确定细胞的活力。在洗涤一次之后,将细胞再悬浮于EasySep™中并且根据制造商的说明书添加CountBright™绝对计数珠粒。在添加计数珠粒之后立即在细胞计数器上对分析板进行数据采集。遵循机器的SOP-PC-0001-仪器SOP-使用和CytoFLEX维护在CytoFLEX S流式细胞仪上进行数据采集。用CytExpert软件自动进行补偿。使用FlowJo 7.6.5版进行流式细胞术分析,将统计数据输出至微软Excel 2010并且进行分析。在GraphPad Prism(5.02版)中对所选的分析数据进行作图。

[0196] 图8A至图8E中说明了门控策略。简单来说,由FSC相较于SSC点图对细胞进行门控。使用CellTrace™CFSE相较于CellTrace™紫绘图来区分亚群;C0702标靶(CellTrace™CFSE

+/CellTrace™紫-)、A0201标靶(CellTrace™CFSE-/CellTrace™紫+)以及效应子(CellTrace™CFSE-/CellTrace™紫-)。使用LIVE/DEAD™直方图来鉴定各亚群的活细胞。死细胞具有高荧光强度,因为LIVE/DEAD™染料与受损细胞膜的游离细胞内和细胞外胺反应。可辨别活细胞,因为由于染料仅被限于细胞外胺,故活细胞展示较低的荧光强度。

[0197] 对靶细胞的杀伤作用由杀伤百分比来定义,杀伤百分比通过从阴性对照活力扣除测试样品的活力百分比然后除以阴性对照来确定。当测试样品的百分比活力增加至超过阴性对照活力值时,将基线杀伤百分比值报告为0%杀伤。

[0198] 为了定量从样品孔获得的活靶细胞的绝对计数,将20μL的CountBright™绝对计数珠粒(每20微升20,400个珠粒)添加至120μL体积的细胞悬浮液中。将所获得的细胞样品的体积乘以绝对细胞计数浓度以确定所获得的总活细胞计数。

[0199] 使用阴性对照来确定靶细胞的基线活力。简单来说,对于HLA-C*0702以及MAGE-A1蛋白来说CellTrace™CFSE标记的U266B1HLA-A*02:01KO标靶(即,“C7标靶”)为完整的。这些标靶构成TS C-204-C0702 TCR-T细胞的靶细胞。CellTrace™紫标记的U266B1 H LA-C*07:02KO标靶(即,“A2标靶”)表达HLA-A*02:01和MAGE-A1蛋白。这些标靶构成TSC-204-A0201 TCR-T细胞的靶细胞。为确定过夜培养之后各个别标靶的基线活力,形成阴性对照;将TSC-204-C0702仅与U266B1 HLA-C*07:02KO靶细胞(“A2标靶”)共培养,并且将TSC-204-A0201仅与U266B1-A*02:01KO靶细胞(“C7标靶”)共培养。U266B1 HLA-A*02:01KO(C7标靶)的平均基线活力为67.57%(n=3)并且U266B1 HLA-C*07:02KO(A2标靶)为61.53%(n=3)。总活细胞计数和活力百分比如图9中“对照”的数据所示。使用这些基线值来计算特定TCR-T细胞介导的杀伤作用。

[0200] 类似地,使用阳性对照观测TCR-T细胞介导的对靶细胞的杀伤作用。简单来说,为确定T-Plex-204-A0201/204-C0702介导的杀伤作用的益处,形成由50% CTV标记的U266B1 HLA-C*07:02KO和50%CTCFSE标记的U266B1 HLA-A*02:01KO组成的细胞悬浮液。所得标靶为非均质的,因为细胞的一个子集表达HLA-A*02:01但不表达HLA-C*07:02,而另一子集表达HLA-C*07:02但丢失HLA-A*02:01。将此标靶组合“A2+C7”与由TSC-204-A0201或TSC-204-C0702组成的作为单一疗法(“单重”)的TCR-T细胞产物共培养以证实T-Plex的各个别组分的杀伤能力。这些条件充当阳性对照。

[0201] 图9中示出了与总活细胞计数和活力百分比有关的杀伤百分比结果(计算为相对于如上文所描述的基线的活力降低)。具体地说,来自三个独立批次的TSC-204-A0201 TCR-T细胞展现特定细胞介导的对U266B1 HLA-C*07:02KO靶细胞的杀伤作用(分别58.88%、69.01%以及64.30%),但不杀伤U266B1 HLA-A*02:01KO靶细胞(在所测试的所有3个批次中特异性杀伤作用为0%)。类似地,来自三个独立批次的TSC-204-C0702 TCR-T细胞展现细胞介导的对U266B1 HLA-A*02:01KO靶细胞的杀伤作用(分别48.84%、59.84%以及47.66%),但系统地不杀伤U266B1 HLA-C*07:02KO(在所测试的所有3个批次中特异性杀伤作用为0%)。这些数据证实,T-Plex的各个别TCR-T细胞组分独立地选择性地杀伤对于相关HLA来说完整的靶细胞。

[0202] 为确定T-Plex-204-A0201/204-C0702的肿瘤杀伤能力,将来自三个独立批次的方法代表性材料的供体匹配的个别TCR-T细胞组分组合并且与非均质标靶组合“A2+C7”共培养。如图9中所示,所有三个批次均展示类似趋势,证实在所有三个批次的T-Plex-204-

A0201/204-C0702情况下非均质靶细胞混合物的活力均降低。将两种靶细胞群体条码化使得能够特定地对A2和C7标靶子集的活力进行分析。当与T-Plex-204-A0201/C0702或与分离的TSC-204-A0201 TCR-T细胞共培养时,U266B1 HLA-C*07:02KO靶细胞的活力降低。类似地,当与T-Plex-204-A0201/C0702或与分离的TSC-204-C0702 TCR-T细胞与共培养时,U266B1 HLA-A*02:01KO靶细胞的活力降低。

[0203] 当与上文所提到的基线活力相比时,特异性杀伤作用(计算为相对于上文所描述的基线的活力降低证实,来自三个独立批次的T-Ple x-204-A0201/204-C0702产物在U266B1 HLA-C*07:02KO靶细胞情况下分别具有55.31%、71.18%以及60.89%的特异性肿瘤杀伤活性,并且在U266B1 HLA-A*02:01KO靶细胞的情况下分别为53.38%、61.77%以及48.45%。值得注意的是,TSC-204-C0702和TSC-204-A0201TCR-T细胞产物的个别杀伤活性类似于T-Plex-204-A0201/204-C0702的组合杀伤活性,指示组合的两个TCR-T细胞组分的有效功能。如上文所描述,分析的持续时间为相对短期的,并且据信可在其他分析中观测到进一步的协同活性(诸如来自本文所描述的细胞因子依赖性现象),诸如在更久的持续时间研究中降低TCR组合的一种或多种TCR的效应子与标靶比率以显示其他TCR对减少的TCR的支持作用等。

[0204] 因此,图9中所提供的结果证实,当面对非均质靶细胞群体时,单一TCR-T细胞组分有效地对付一部分肿瘤细胞,不对付TCR-T细胞不能识别的细胞子集(在此是因为细胞丢失相关HLA)。多重TCR-T疗法(在此组合TSC-204-A0201和TSC-204-C0702)同时引起对两种癌细胞子集的杀伤作用。因此,数据确定,可将多种TCR-T疗法(诸如TSC-204-A0201和TSC-204-C0702)加以组合以治疗其中发生LOH的肿瘤,从而使达到完全反应的几率最大化。

[0205] 以引用的方式并入

[0206] 本文所提到的所有公布、专利以及专利申请以全文引用的方式并入本文中,如同各个别公布、专利或专利申请特定地并且个别地被指示以引用的方式并入一般。在矛盾的情况下,将以本申请,包括本文中的任何定义为准。

[0207] 提到与公共数据库中的条目相关联的登录号的任何多核苷酸和多肽序列也以全文引用的方式并入,所述公共数据库为诸如由美国基因组研究院(The Institute for Genomic Research,TIGR)在全球信息网tigr.org和/或美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information,NCBI)在全球信息网ncbi.nlm.nih.gov维持的那些公共数据库。

[0208] 等效物和范围

[0209] 以上描述阐述了本发明所涵盖的一个或多个实施方案的细节。虽然上文已描述代表性示例性材料和方法,但类似或等效于本文所描述的那些材料和方法的任何材料和方法均可用于实践或测试本发明所涵盖的实施方案。与本发明有关的其他特征、目标以及优点由所述描述为显而易见的。除非另有规定,否则本文中所用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域一般技术人员通常所理解相同的含义。在矛盾的情况下,将以上文所提供的本发明的描述为准。

[0210] 本领域技术人员将认识到或能够仅使用常规实验确定本文所描述的本发明所涵盖的特定实施方案的许多等效型式。本发明所涵盖的范围不旨在限于本文所提供的描述并且随附权利要求旨在涵盖此类等效物。

[0211] 还应注意,术语“包含”旨在为开放的并且容许但不要求包括其他元素或步骤。因此当本文中使用术语“包含”时,还涵盖和公开术语“由……组成”。

[0212] 在给出范围的情况下,包括端点。此外,应了解,除非另外指出或以其他方式由上下文和本领域一般技术人员的理解为明显的,否则以范围表示的值可假设本发明所涵盖的不同实施方案中所陈述范围内的任何特定值或子范围,除非上下文另外明确指示,否则以范围下限的单位的十分之一为间隔。

[0213] 此外,应了解,本发明所涵盖的属于先前技术的任何特定实施方案可明确地从权利要求中任何一项或多项中排除。由于此类实施方案被认为是本领域一般技术人员已知的,故即使本文中未明确阐述排除,它们也可能被排除。本发明所涵盖的组合物的任何特定实施方案(例如任何抗生素、治疗剂或活性成分;任何制备方法;任何使用方法;等)可出于任何原因从任何一项或多项权利要求中排除,无论是否与先前技术的存在有关。

[0214] 应了解,已使用的词语为描述而非限制的词语,并且可在更广泛的方面中在不背离本发明所涵盖的真实范围和精神的情况下在随附权利要求的权限范围内作出改变。

[0215] 虽然已以一定长度并且以一定特定性相对于若干所描述的实施方案对本发明进行描述,但本发明预期不应限于任何此类特定情况或实施方案或任何特定实施方案,而是应参考随附权利要求进行理解,以便鉴于先前技术提供对此类权利要求的最广泛的可能的解释,并且因此,有效地涵盖本发明所涵盖的预期范围。

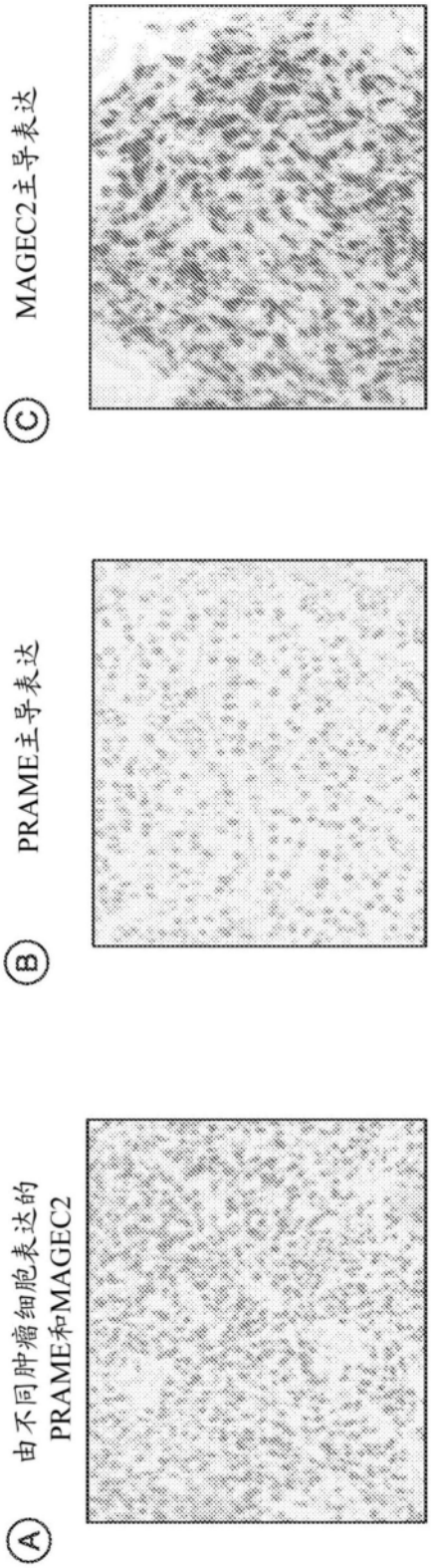


图1

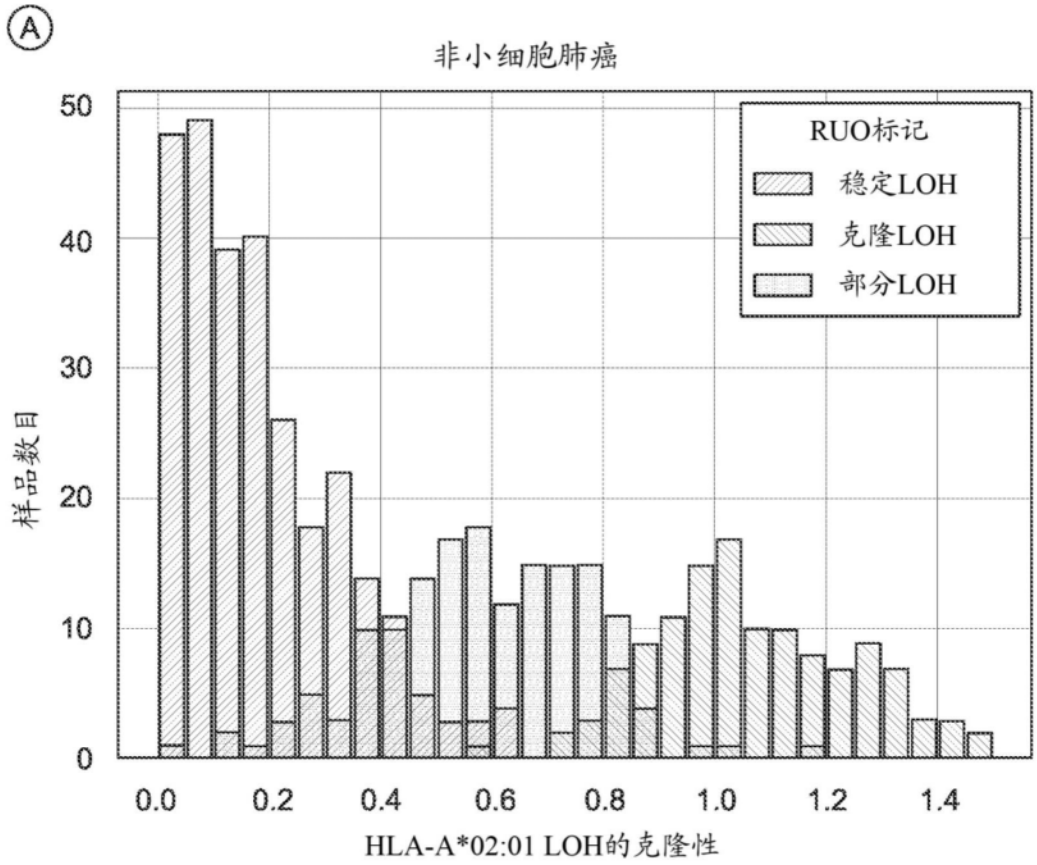

A
非小细胞肺癌
RUO标记
稳定LOH
克隆LOH
部分LOH
样品数目
50
40
30
20
10
0
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
1.4
HLA-A*02:01 LOH的克隆性

图2

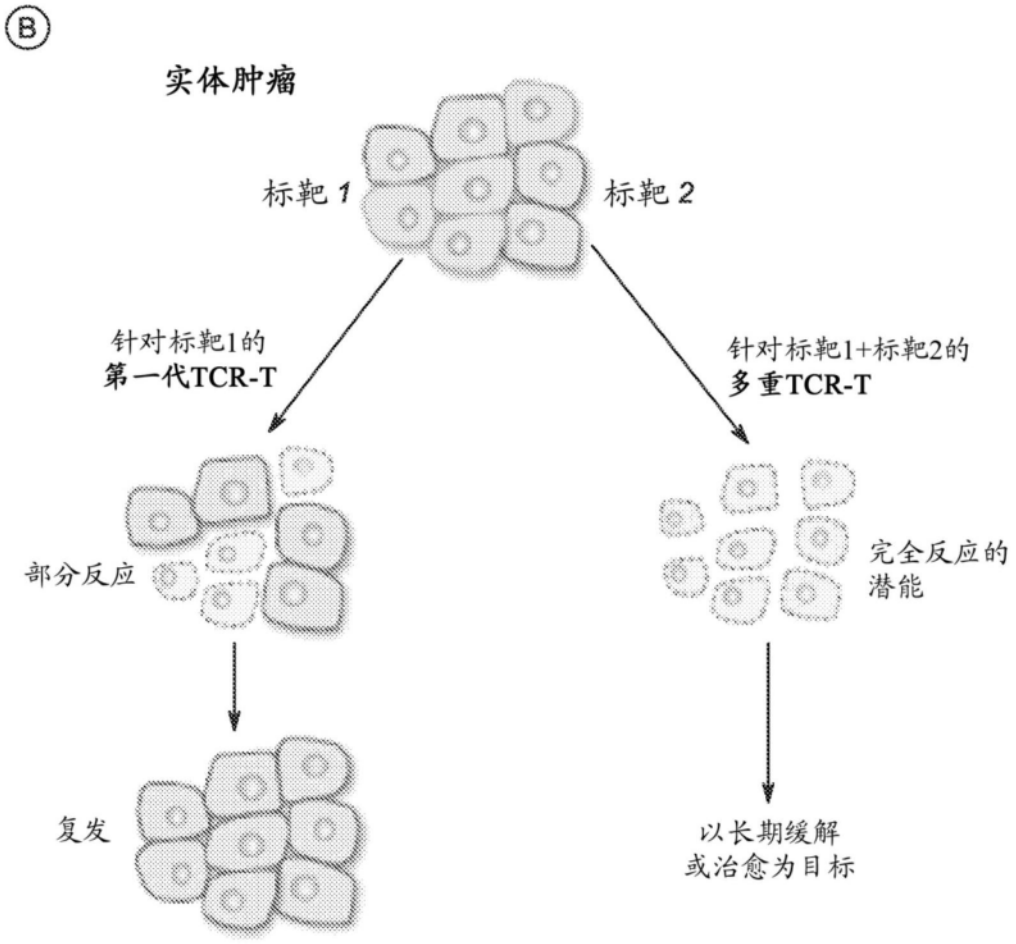

B
实体肿瘤
标靶 1
标靶 2
针对标靶1的
第一代TCR-T
针对标靶1+标靶2的
多重TCR-T
部分反应
完全反应的
潜能
复发
以长期缓解
或治愈为目标

图2(续)

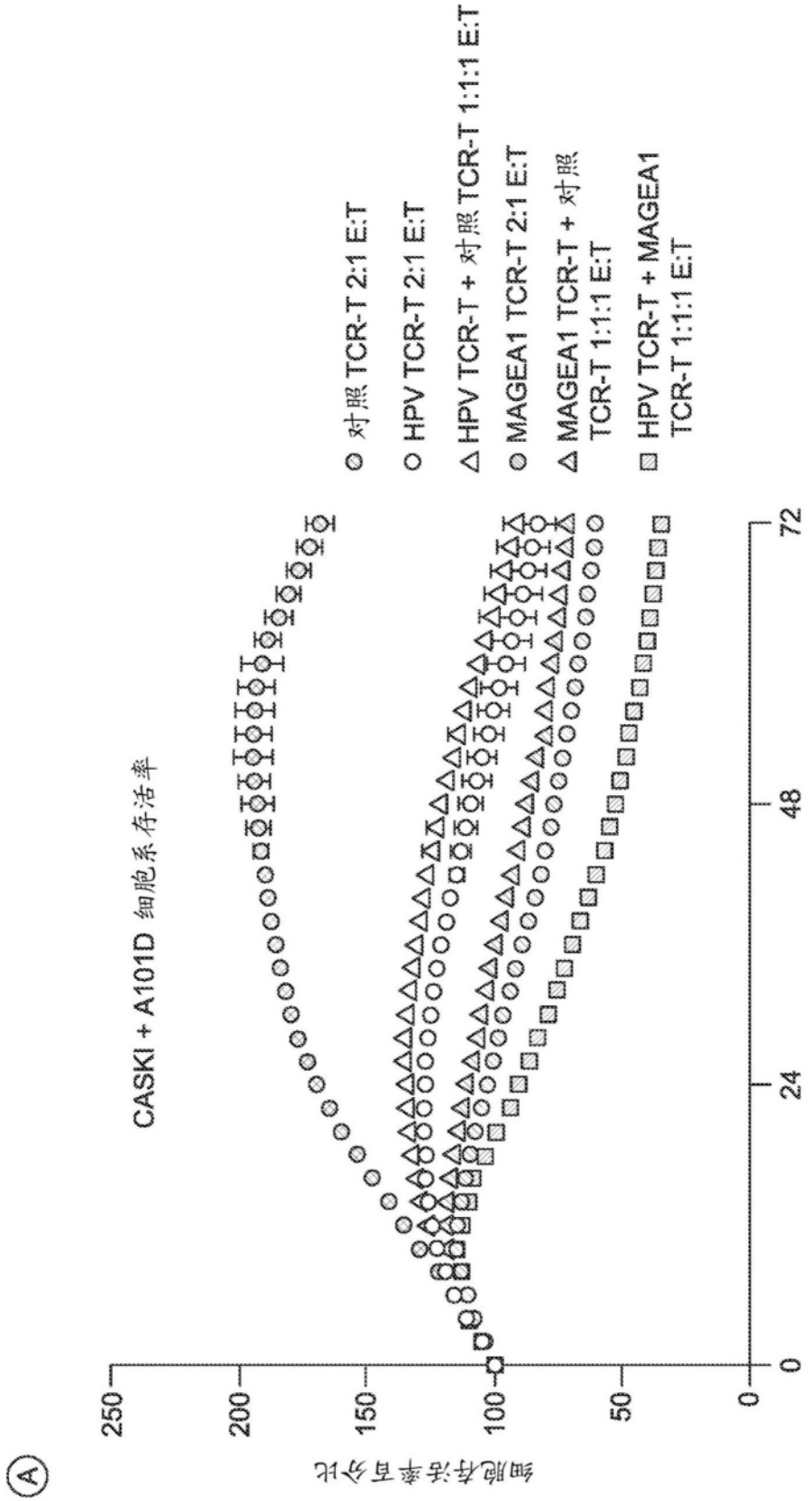

A
CASKI + A101D 细胞系存活率
细胞存活率百分比
250
200
150
100
50
0
0
24
48
72
○ 对照 TCR-T 2:1 E:T
○ HPV TCR-T 2:1 E:T
△ HPV TCR-T + 对照 TCR-T 1:1:1 E:T
● MAGEA1 TCR-T 2:1 E:T
△ MAGEA1 TCR-T + 对照 TCR-T 1:1:1 E:T
□ HPV TCR-T + MAGEA1 TCR-T 1:1:1 E:T

图3

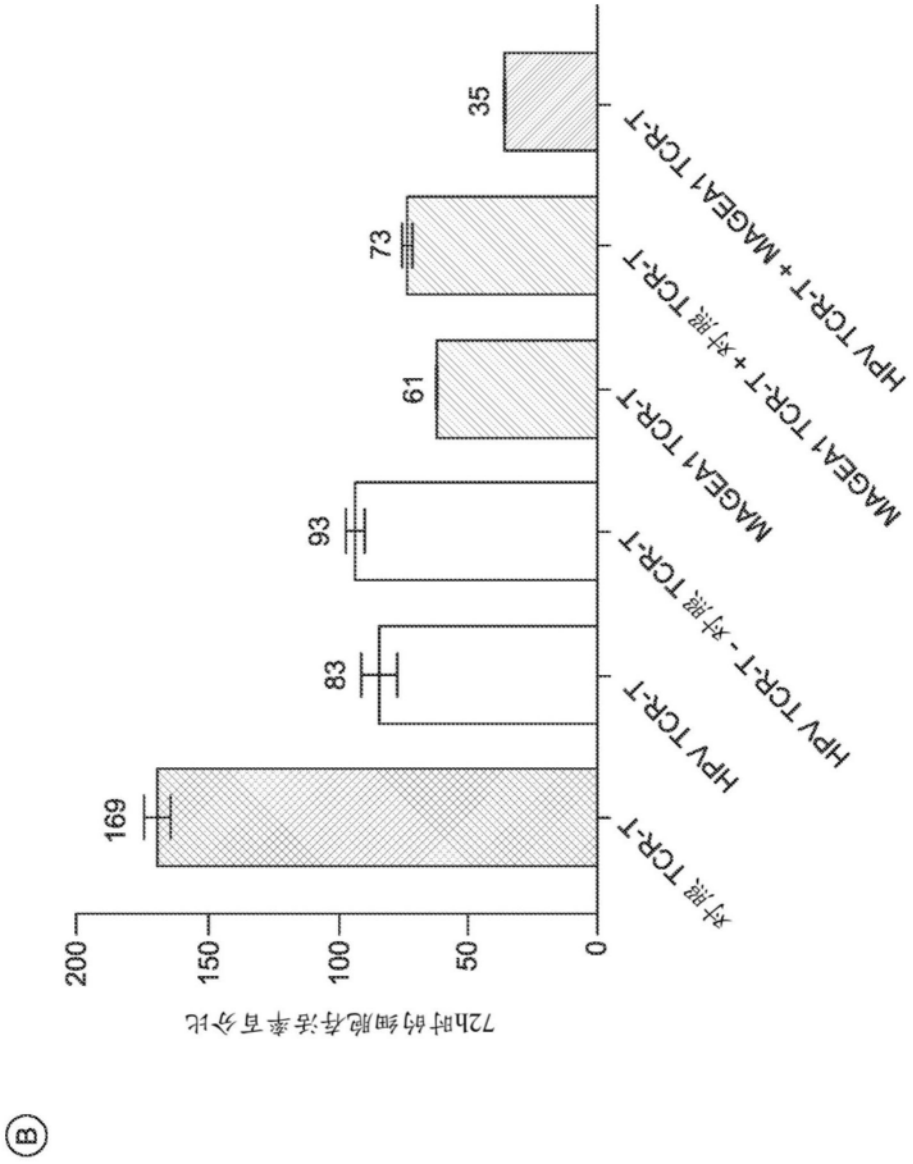

B
72h时的细胞存活率百分比
200
150
100
50
0
169
83
93
61
73
35
对照 TCR-T
HPV TCR-T
HPV TCR-T - 对照 TCR-T
MAGEA1 TCR-T
MAGEA1 TCR-T + 对照 TCR-T
HPV TCR-T + MAGEA1 TCR-T

图3(续)

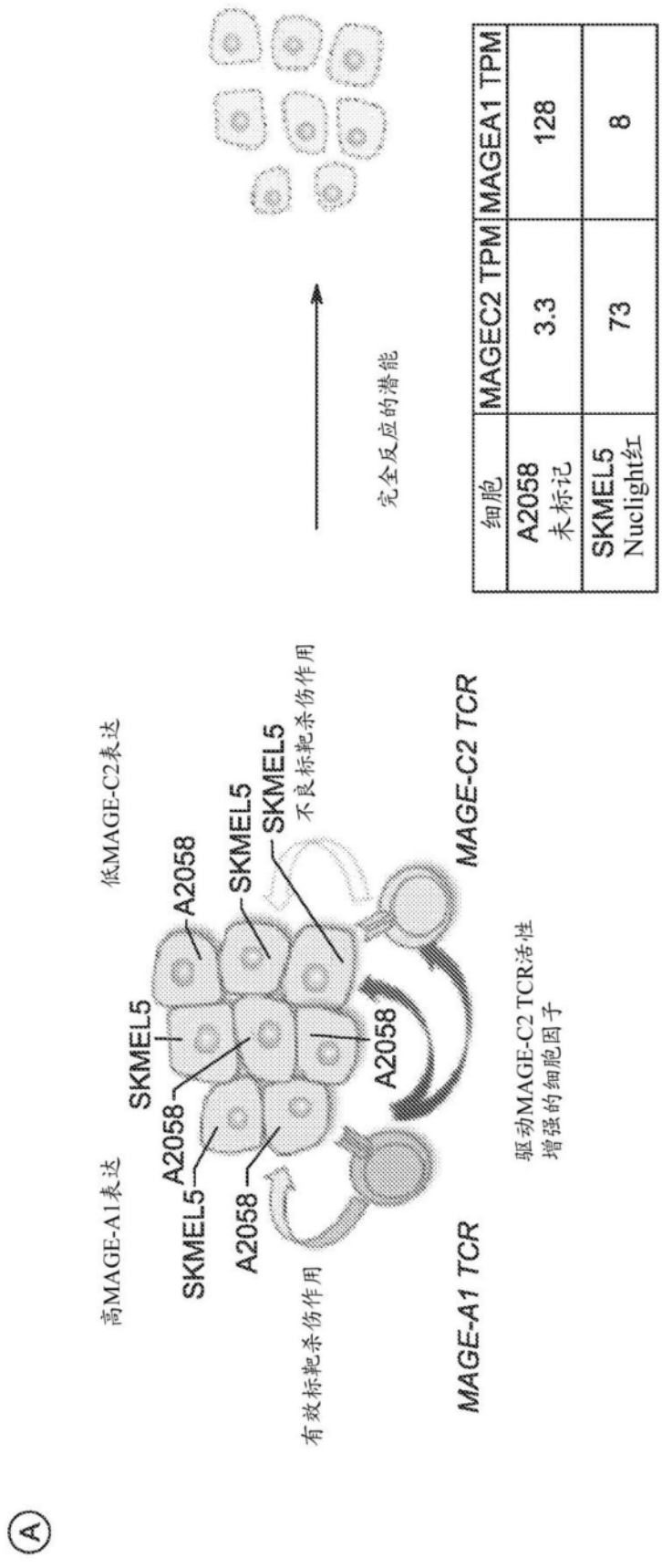

Ⓐ
高MAGE-A1表达
低MAGE-C2表达
SKMEL5
A2058
SKMEL5
A2058
SKMEL5
A2058
SKMEL5
A2058
有效标靶杀伤作用
不良标靶杀伤作用
MAGE-A1 TCR
MAGE-C2 TCR
驱动MAGE-C2 TCR活性
增强的细胞因子
完全反应的潜能
细胞
MAGEC2 TPM
MAGEA1 TPM
A2058
未标记
3.3
128
SKMEL5
Nuclight红
73
8

图4

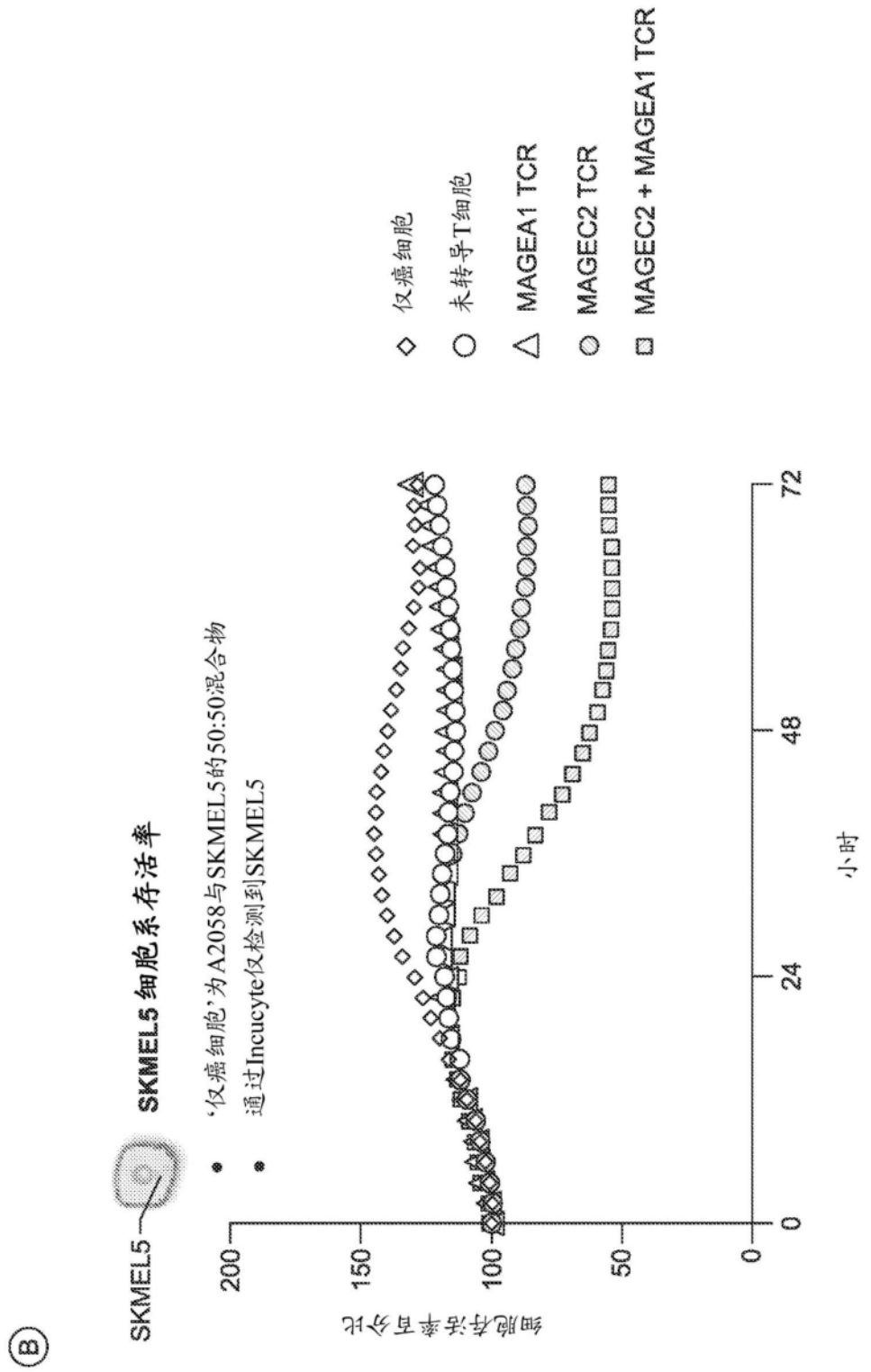

B
SKMEL5
SKMEL5 细胞系存活率
‘仅癌细胞’为A2058与SKMEL5的50:50混合物
通过Incucyte仅检测到SKMEL5
细胞存活率百分比
200
150
100
50
0
0
24
48
72
小时
仅癌细胞
未转导T细胞
MAGEA1 TCR
MAGEC2 TCR
MAGEC2 + MAGEA1 TCR

图4(续)

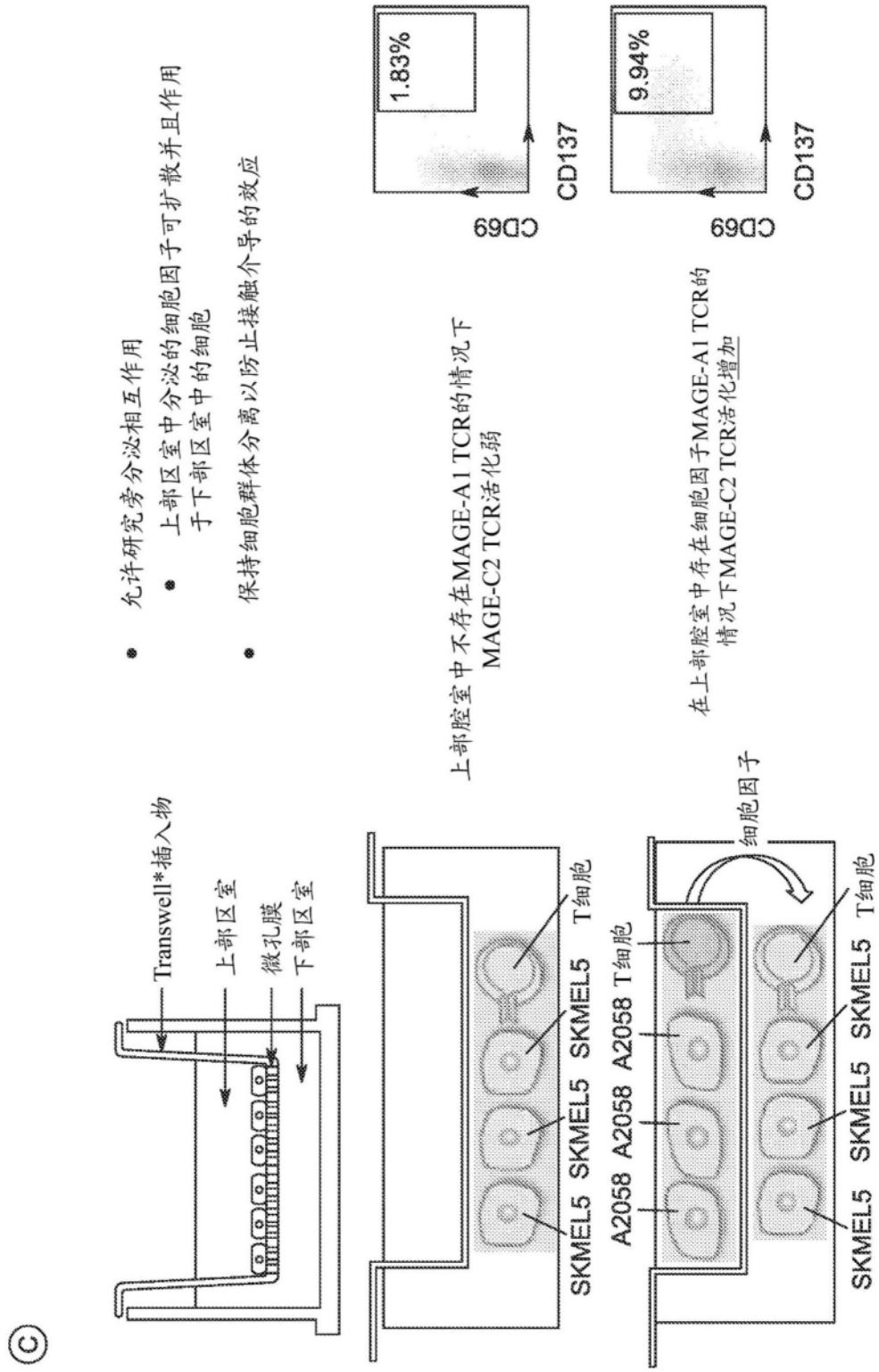

C
Transwell*插入物
上部区室
微孔膜
下部区室
允许研究旁分泌相互作用
上部区室中分泌的细胞因子可扩散并且作用于下部区室中的细胞
保持细胞群体分离以防止接触介导的效应
SKMEL5 SKMEL5 T细胞
A2058 A2058 T细胞
细胞因子
SKMEL5 SKMEL5 T细胞
上部腔室中不存在MAGE-A1 TCR的情况下MAGE-C2 TCR活化弱
在上部腔室中存在细胞因子MAGE-A1 TCR的情况下MAGE-C2 TCR活化增加
1.83%
9.94%
CD69
CD137
CD69
CD137

图4(续)

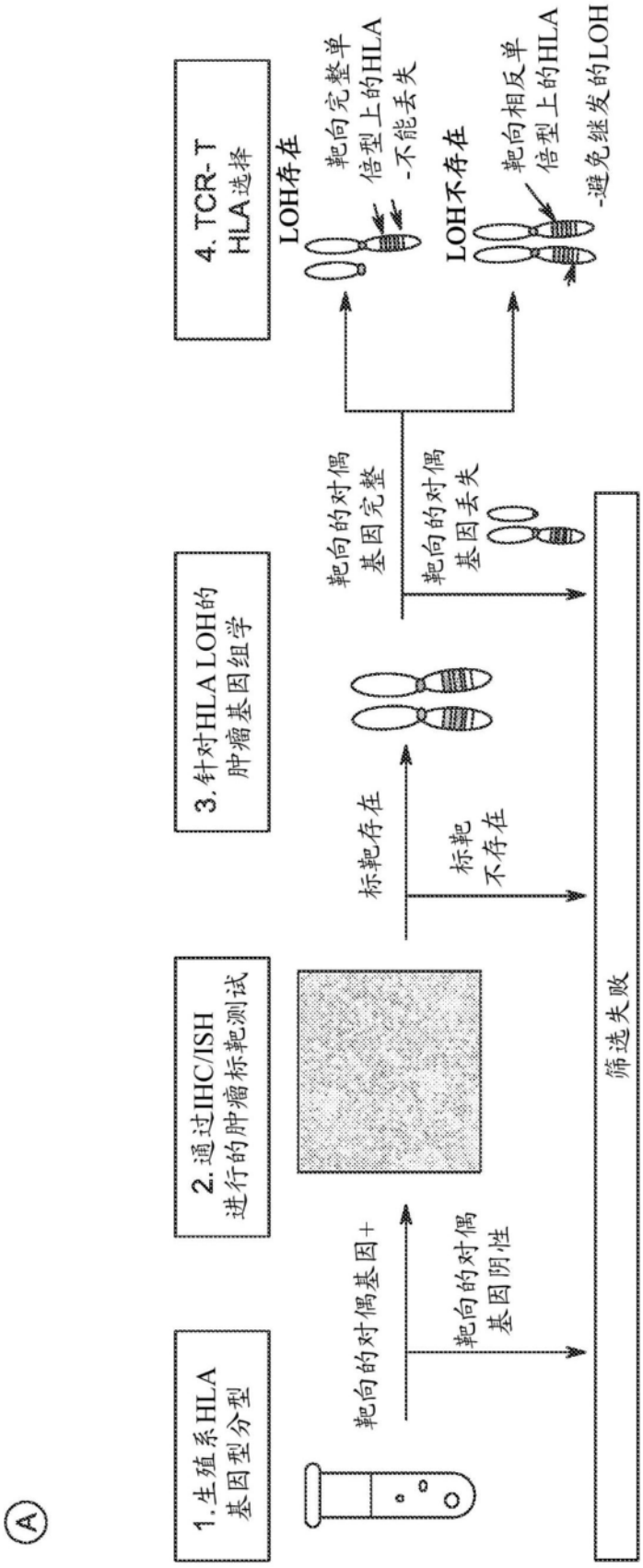

Ⓐ
1.生殖系HLA
基因型分型
2.通过IHC/ISH
进行的肿瘤标靶测试
3.针对HLA LOH的
肿瘤基因组学
4. TCR- T
HLA选择
靶向的对偶基因+
靶向的对偶
基因阴性
标靶存在
标靶
不存在
靶向的对偶
基因完整
靶向的对偶
基因丢失
LOH存在
靶向完整单
倍型上的HLA
-不能丢失
LOH不存在
靶向相反单
倍型上的HLA
-避免继发的LOH
筛选失败

图5

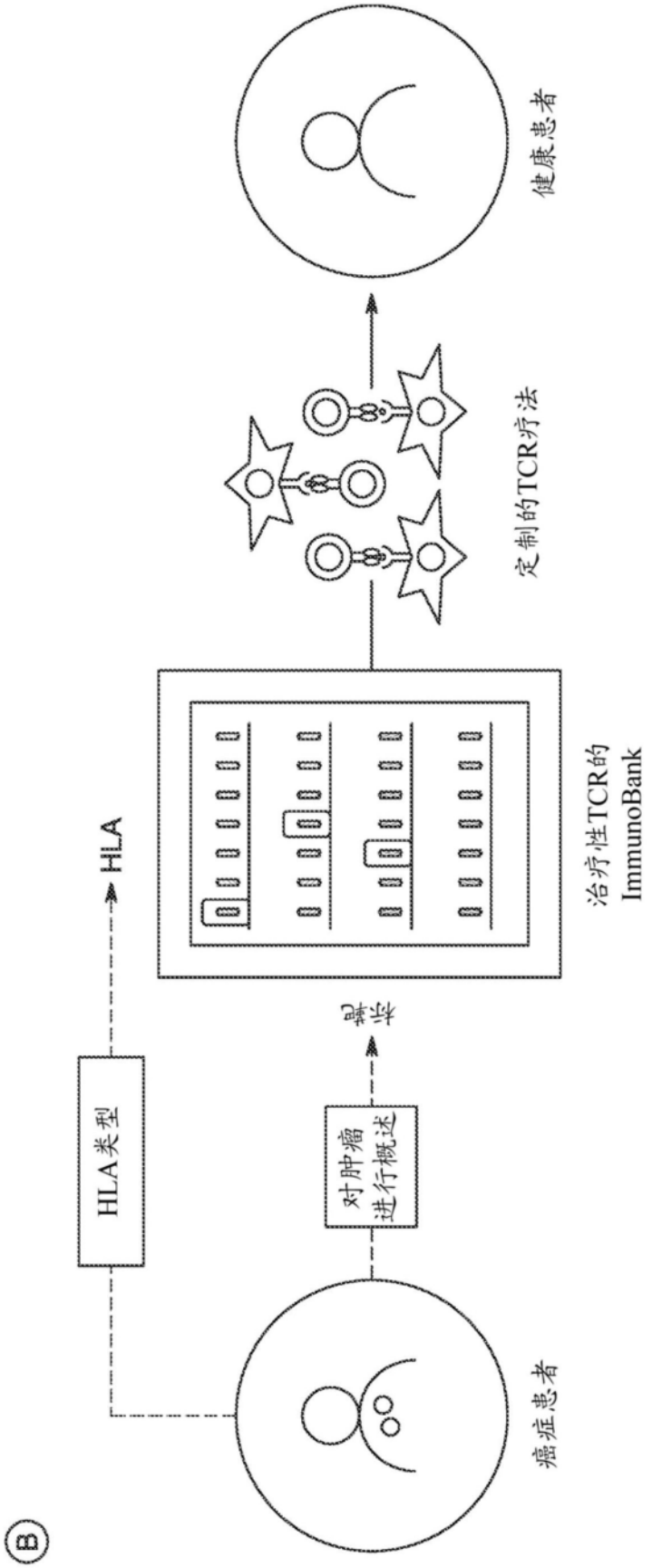

B
癌症患者
HLA类型
HLA
对肿瘤进行概述
癌肽
治疗性TCR的ImmunoBank
定制的TCR疗法
健康患者

图5(续)

背景基因工程化的T细胞情况下的过继性细胞转移对治疗实体肿瘤来说具有极大的前景。迄今为止,TCR-T细胞疗法的临床研究一次靶向一种抗原并且已产生在30-50%范围内的令人鼓舞的反应率。不幸的是,完全反应为罕见的,并且反应常常寿命较短。患者快速复发的一种可能的原因为其肿瘤展现大体抗原表达异质性:并非肿瘤内的每个癌细胞均表达单一TCR疗法的标靶,并且即使当它们表达时,也是在个别肿瘤细胞间以可变水平表达标靶。这表明靶向一种抗原的TCR-T可允许缺乏经过处理的抗原的细胞逃脱并且驱使复发。

TScan方法为解决抗原异质性,我们正在开发多重TCR-T细胞疗法,其中用选自高度活性TCR的集合并且与患者的肿瘤抗原和HLA类型相匹配的多种TCR-T细胞产物来治疗患者。使用TScan的筛选技术,这些抗原中的一者MAGE-A1被鉴定为来自头颈癌患者的扩增肿瘤浸润T细胞的标靶。另一者PRAME在多种癌症中高度表达。使用我们的ReceptorScan平台,我们开发了两种高亲和力TCR,这两种高亲和力TCR识别来自MAGE-A1和PRAME的HLA-A*02:01限制性表位并且使用多种临床前模型评估了组合这两种TCR-T细胞产物的益处。

结果多重TCR-T模拟天然寡克隆T细胞对癌症的反应并且提供一种解决实体肿瘤异质性的方式。个别地,当与表达内源性MAGE-A1和PRAME的HLA匹配的癌细胞系共培养时,两种TCR均显示强体外细胞毒性活性。另外,在异种移植小鼠模型中,各TCR能够控制表达其同源抗原的肿瘤生长。为测试两种TCR是否展现相加或协同活性,使表达MAGE-A1或PRAME的两种不同细胞系的混合物作为异种移植肿瘤在小鼠中生长,从而模拟在人肿瘤中所观测到的这些标靶的异质性。值得注意的是,与任一单独单重治疗相比,当用多重MAGE-A1/PRAME TCR-T治疗时,小鼠实现更久的持续肿瘤控制。这些发现支持以下假设,多重TCR-T具有克服抗原异质性的潜能,抗原异质性可促使在单重TCR-T疗法的临床试验中观测到缺乏耐久性。

临床应用为解决临床中的实体肿瘤异质性,我们正在构建识别呈现于不同HLA对偶基因上的不同标靶的治疗性TCR的ImmunoBank。我们认为,选择靶向患者肿瘤中的完整抗原和HLA对偶基因的多重TCR-T将协同地克服实体肿瘤异质性,并且我们正在设计试验以在临床上对此假设进行测试。

图6

人NSCLC肿瘤样品中的可变抗原表达的实例。使用MAGE-A1特异性和PRAME特异性抗体对人NSCLC肿瘤微阵列进行免疫组织化学分析。如针对可变表达程度的MAGE-A1 **(A)**和PRAME **(B)**所呈现，在多个切片中观测到肿瘤内的非均质抗原表达。未染色肿瘤对照如**(C)**中所示。

图6(续)

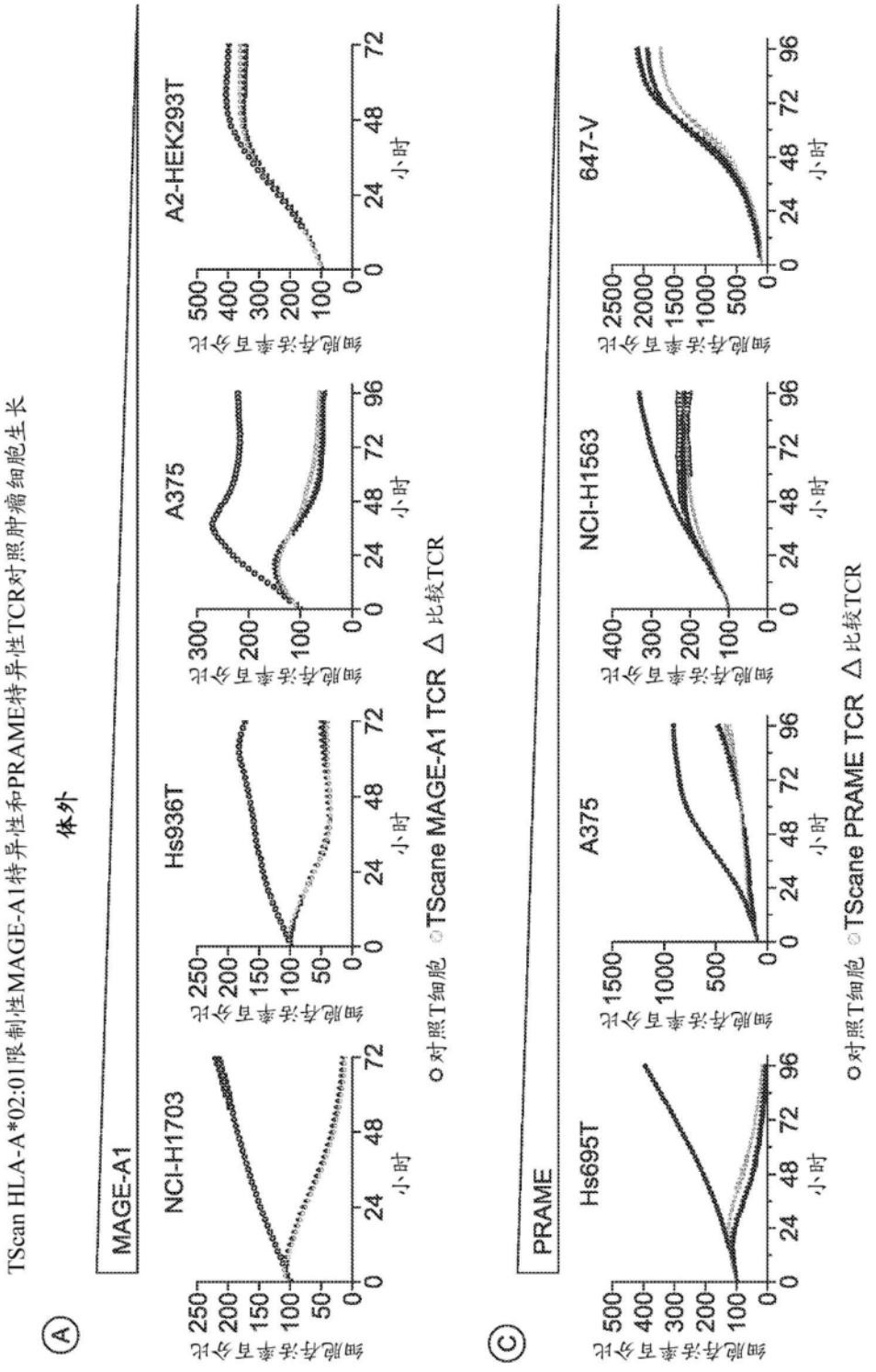
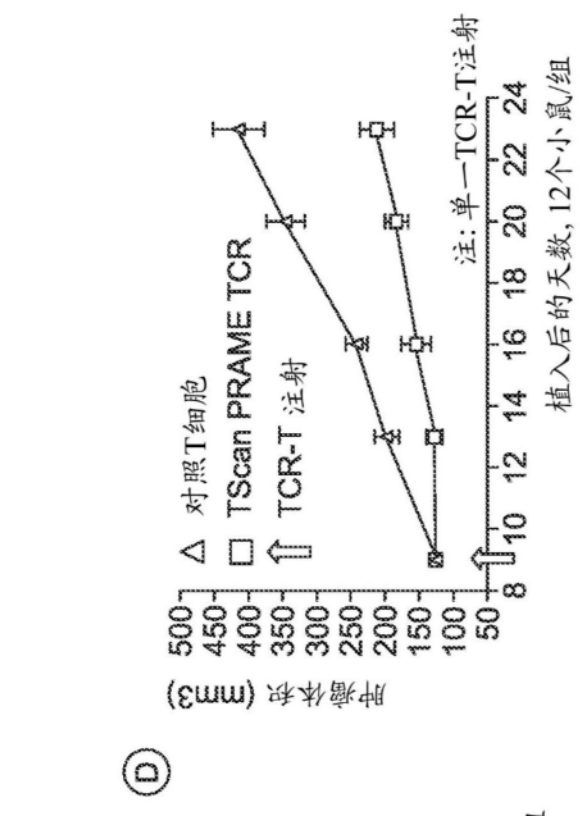

TScan HLA-A*02:01限制性MAGE-A1特异性和PRAME特异性TCR对照肿瘤细胞生长
体外
Ⓐ
MAGE-A1
NCI-H1703
Hs936T
A375
A2-HEK293T
细胞存活率百分比
小时
○对照T细胞 ◎TScane MAGE-A1 TCR △比较TCR
Ⓒ
PRAME
Hs695T
A375
NCI-H1563
647-V
细胞存活率百分比
小时
○对照T细胞 ◎TScane PRAME TCR △比较TCR

图6(续)



使具有改变的内源性MAGE-A1 **(A)**和PRAME **(C)**水平的Nuclight红标记的HLA-A*02:01$^+$癌细胞系分别在存在TScan的MAGE-A1特异性和PRAME特异性TCR-T细胞的情况下生长。使用Incucyte®历经三天的时间评估TCR-T介导的细胞毒性。为NCG免疫缺陷小鼠(Charles River)皮下植入具有内源性MAGE-A1 (U266B1) **(B)**或PRAME (Hs695T) **(D)**表达的人HLA-A*02:01$^+$肿瘤细胞系。在肿瘤达到100 mm^3后，针对MAGE-A1施用两次2000万个同源TCR-T细胞并且在所指示的天数针对PRAME施用一次。

图6 (续)

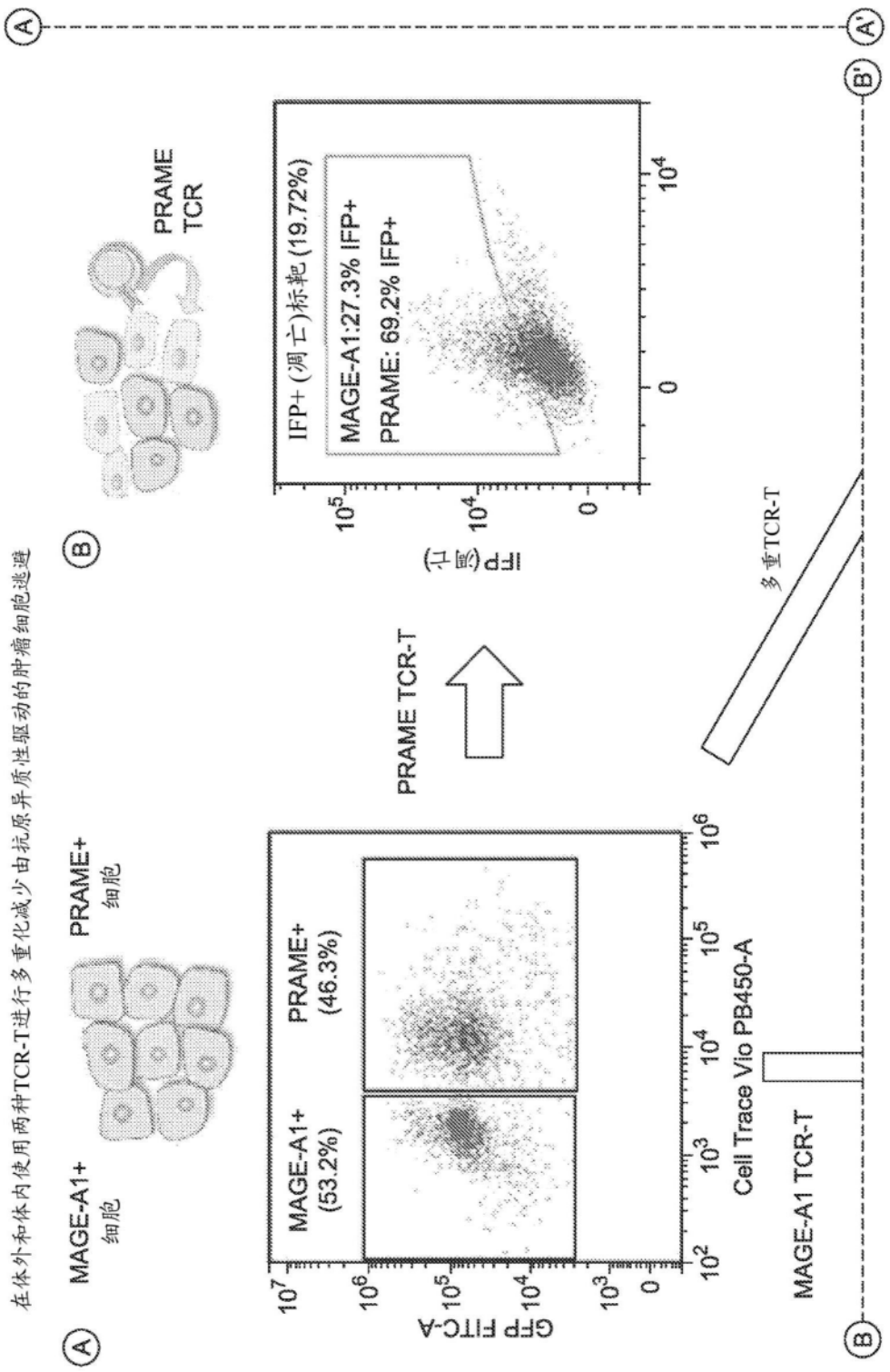

在体外和体内使用两种TCR-T进行多重化减少由抗原异质性驱动的肿瘤细胞逃避
A
MAGE-A1+
细胞
PRAME+
细胞
B
PRAME
TCR
IFP+ (凋亡)标靶 (19.72%)
MAGE-A1:27.3% IFP+
PRAME: 69.2% IFP+
IFP (凋亡)
PRAME TCR-T
多重TCR-T
MAGE-A1+
(53.2%)
PRAME+
(46.3%)
GFP FITC-A
Cell Trace Vio PB450-A
MAGE-A1 TCR-T
A'
B'
B

图6(续)

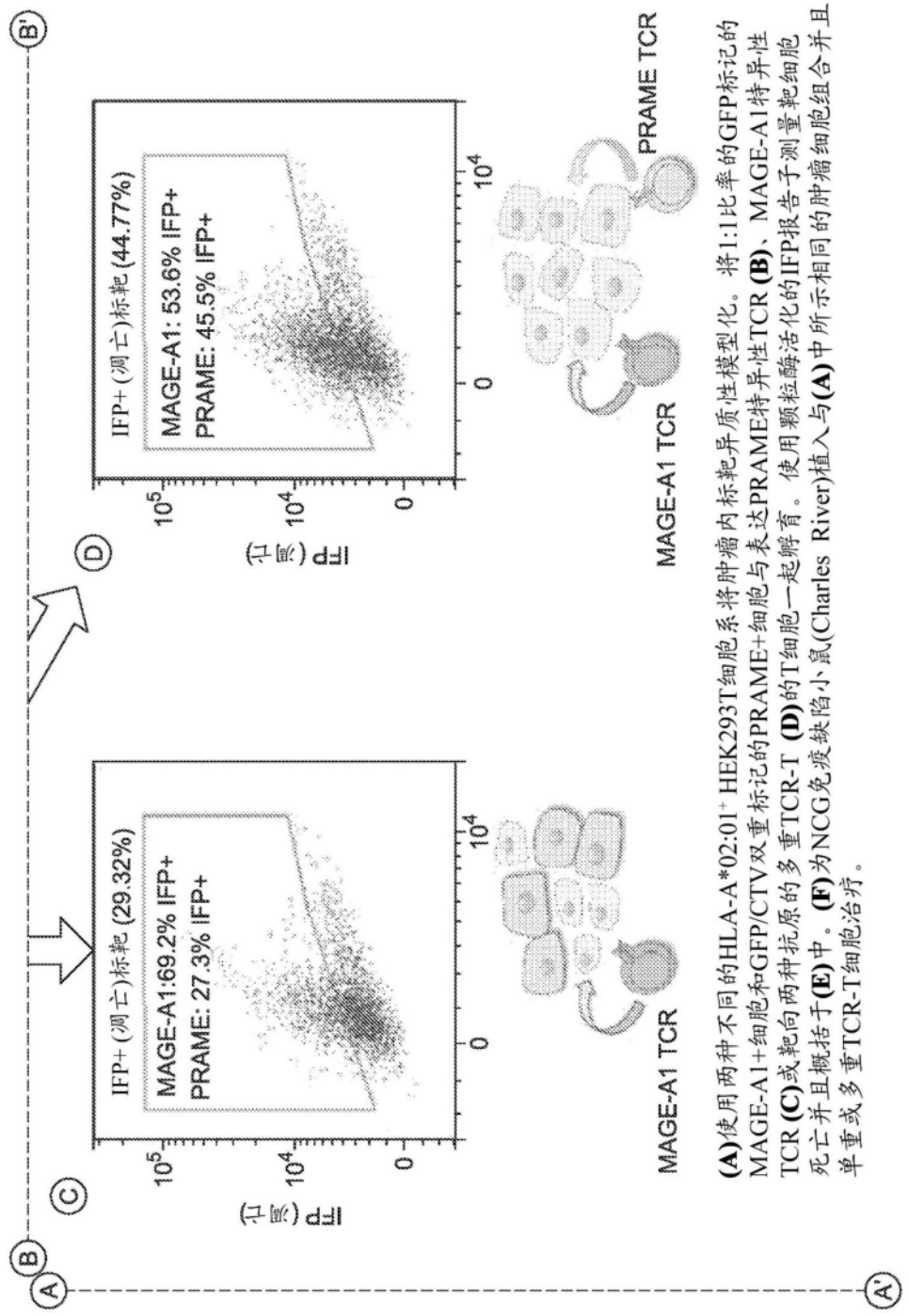

A
A'
B
B'
C
D
IFP+ (凋亡)标靶 (29.32%)
MAGE-A1:69.2% IFP+
PRAME: 27.3% IFP+
IFP+ (凋亡)标靶 (44.77%)
MAGE-A1: 53.6% IFP+
PRAME: 45.5% IFP+
IFP (凋亡)
MAGE-A1 TCR
PRAME TCR
(A)使用两种不同的HLA-A*02:01+ HEK293T细胞系将肿瘤内标靶异质性模型化。将1:1比率的GFP标记的MAGE-A1+细胞和GFP/CTV双重标记的PRAME+细胞与表达PRAME特异性TCR (B)、MAGE-A1特异性TCR (C)或靶向两种抗原的多重TCR-T (D)的T细胞一起孵育。使用颗粒酶活化的IFP报告子测量靶细胞死亡并且概括于(E)中。(F)为NCG免疫缺陷小鼠(Charles River)植入与(A)中所示相同的肿瘤细胞组合并且单重或多重TCR-T细胞治疗。

图6(续)

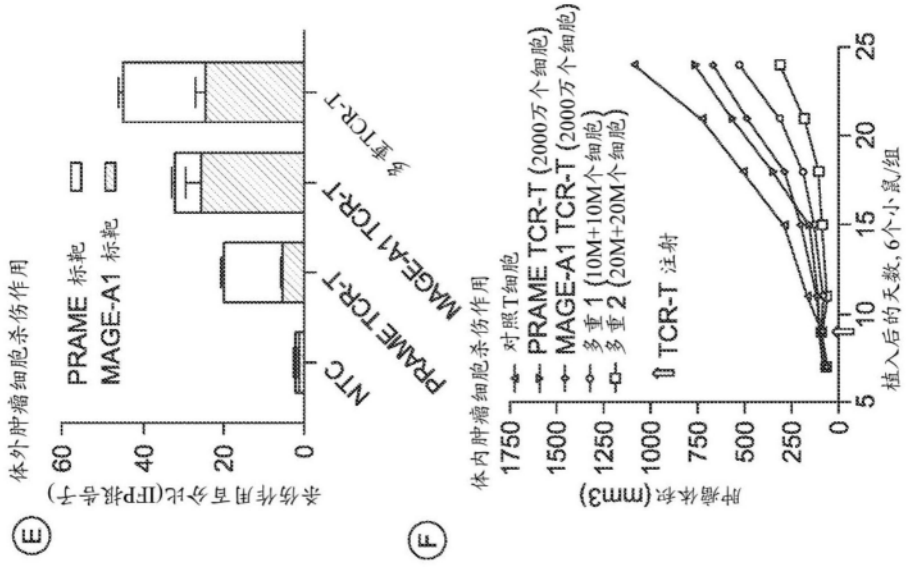

体外肿瘤细胞杀伤作用
PRAME 标靶
MAGE-A1 标靶
杀伤作用百分比(IFP报告子)
60
40
20
0
NTC
PRAME TCR-T
MAGE-A1 TCR-T
多重TCR-T
体内肿瘤细胞杀伤作用
对照T细胞
PRAME TCR-T (2000万个细胞)
MAGE-A1 TCR-T (2000万个细胞)
多重 1 (10M+10M个细胞)
多重 2 (20M+20M个细胞)
TCR-T 注射
平均体积 (mm3)
1750
1500
1250
1000
750
500
250
0
5
10
15
20
25
植入后的天数, 6个小鼠/组

图6(续)

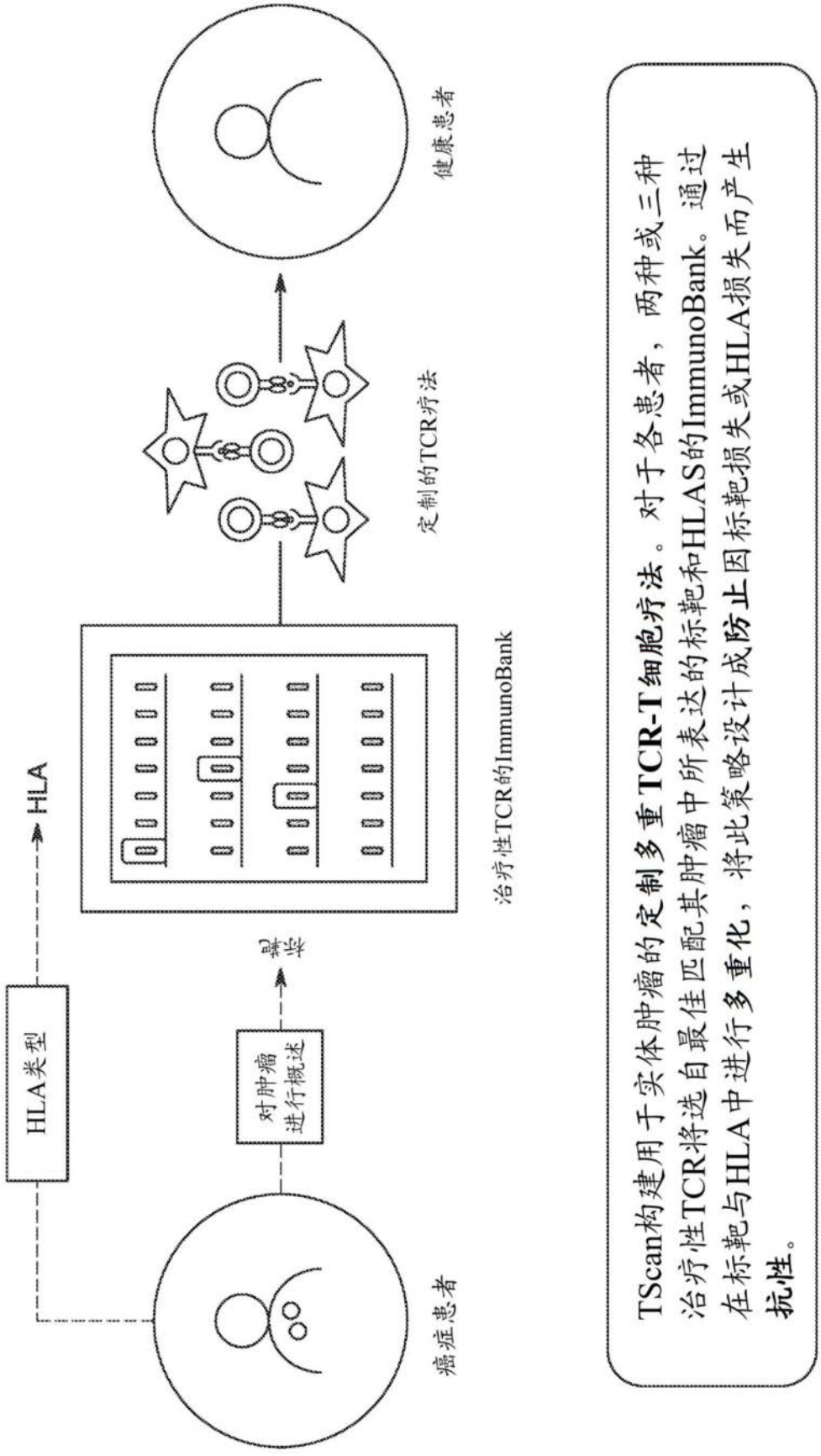

HLA
HLA类型
对肿瘤进行概述
测序
癌症患者
治疗性TCR的ImmunoBank
定制的TCR疗法
健康患者
TScan构建用于实体肿瘤的定制多重TCR-T细胞疗法。对于各患者，两种或三种治疗性TCR将选自最佳匹配其肿瘤中所表达的标靶和HLAS的ImmunoBank。通过在标靶与HLA中进行多重化，将此策略设计成防止因标靶损失或HLA损失而产生抗性。

图6(续)

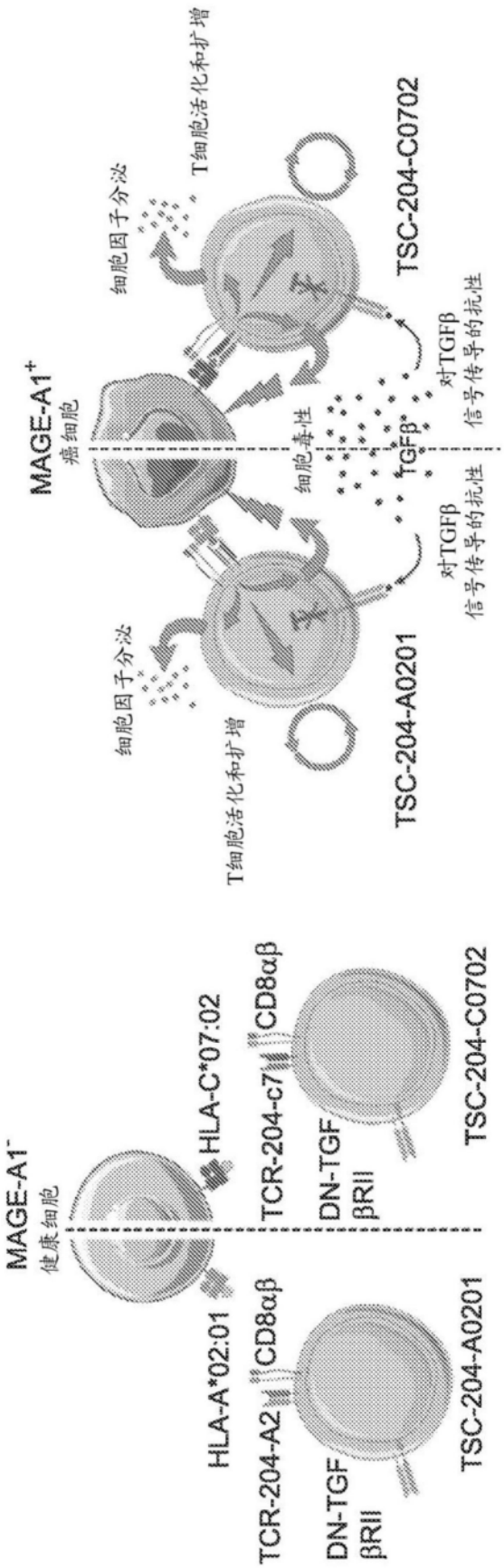

MAGE-A1⁻
健康细胞
HLA-C*07:02
CD8αβ
TCR-204-c7
DN-TGF
βRII
TSC-204-C0702
HLA-A*02:01
CD8αβ
TCR-204-A2
DN-TGF
βRII
TSC-204-A0201
MAGE-A1⁺
癌细胞
细胞因子分泌
T细胞活化和扩增
细胞毒性
TGFβ
对TGFβ
信号传导的抗性
TSC-204-C0702
TSC-204-A0201
细胞因子分泌
T细胞活化和扩增
对TGFβ
信号传导的抗性

图7

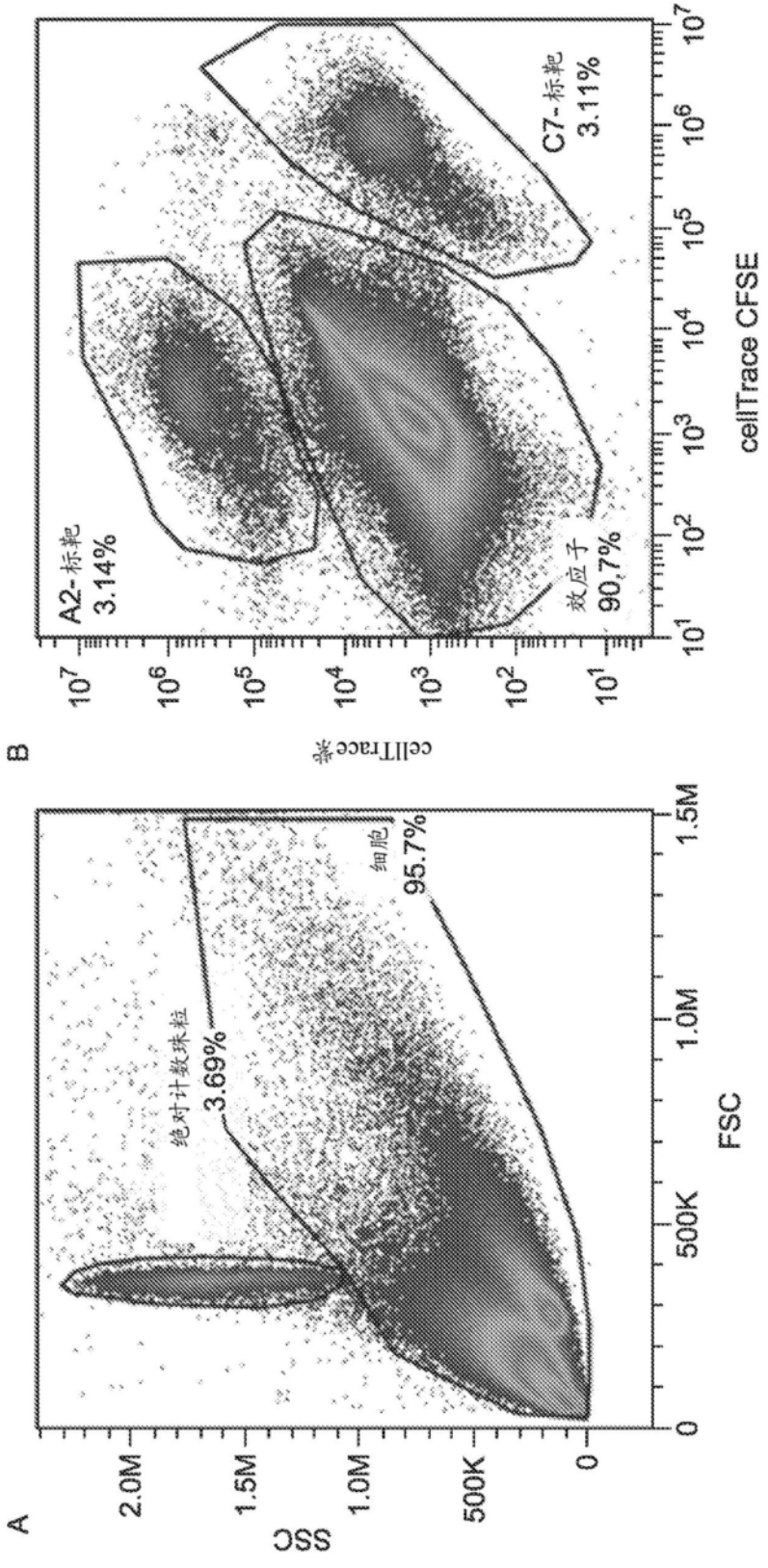

A
SSC
2.0M
1.5M
1.0M
500K
0
FSC
0
500K
1.0M
1.5M
绝对计数珠粒
3.69%
细胞
95.7%
B
cellTrace※
A2-标靶
3.14%
C7-标靶
3.11%
效应子
90.7%
cellTrace CFSE

图8

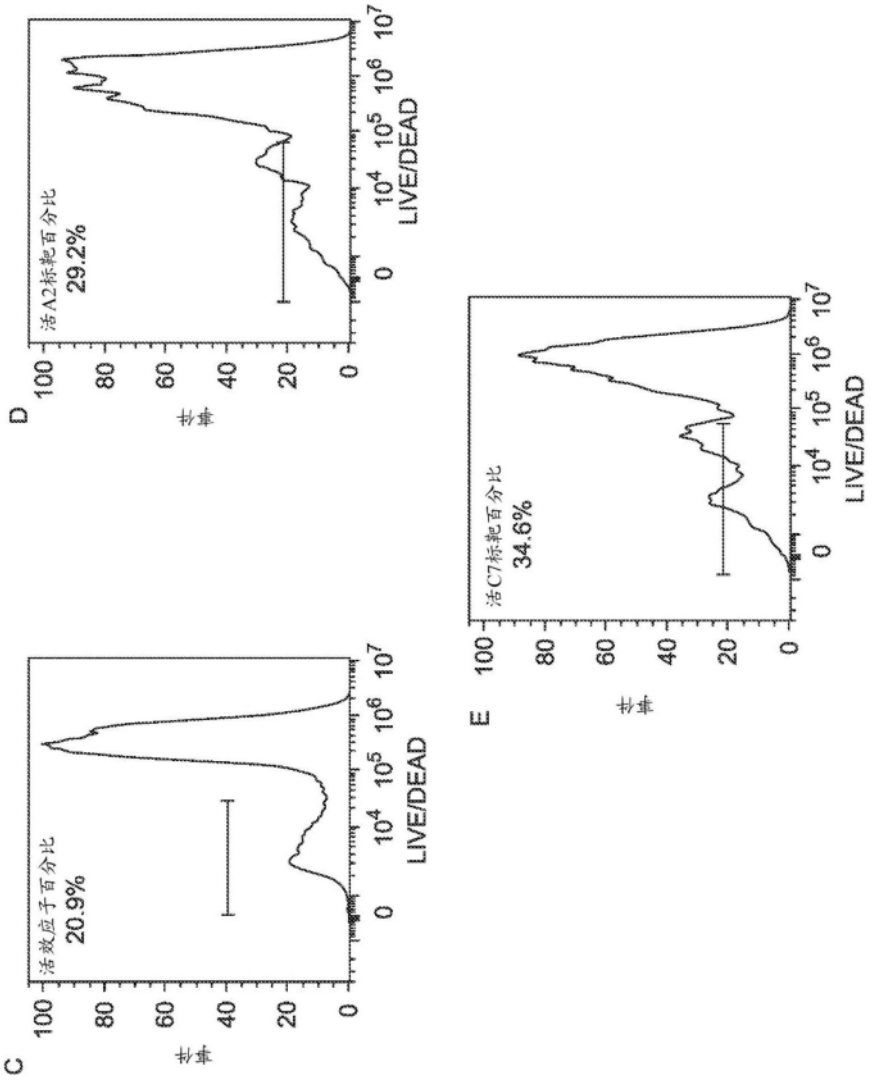

C
活效应子百分比
20.9%
事件
LIVE/DEAD
D
活A2标靶百分比
29.2%
事件
LIVE/DEAD
E
活C7标靶百分比
34.6%
事件
LIVE/DEAD

图8(续)

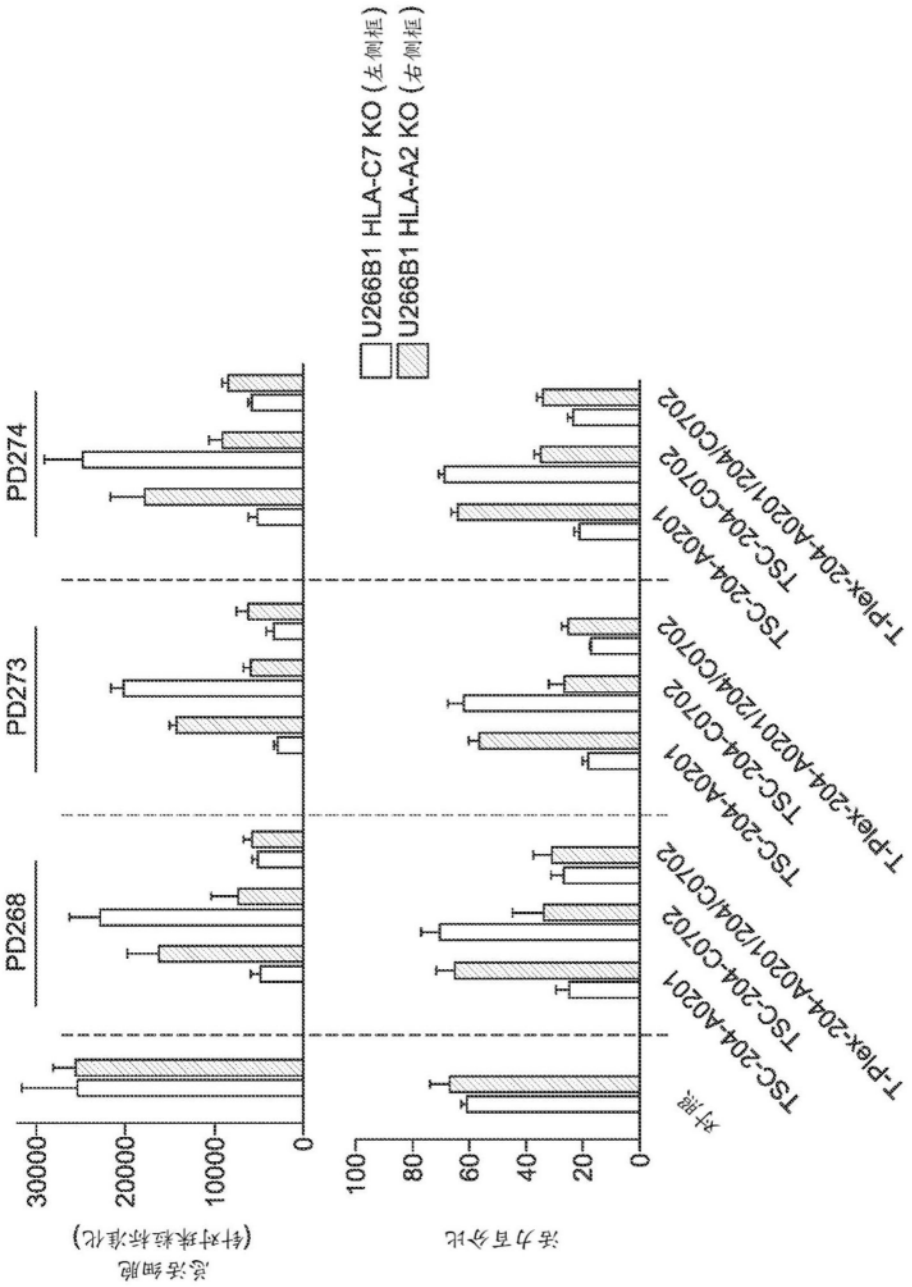

U266B1 HLA-C7 KO (左侧框)
U266B1 HLA-A2 KO (右侧框)
PD268
PD273
PD274
总活细胞 (针对珠粒标准化)
活力百分比
0
10000
20000
30000
0
20
40
60
80
100
对照
TSC-204-A0201
TSC-204-C0702
T-Plex-204-A0201/204/C0702

图9