202340224

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202340224 A

(43)公開日： 中華民國 112 (2023) 年 10 月 16 日

(21)申請案號：111143030 (22)申請日： 中華民國 111 (2022) 年 11 月 10 日

(51)Int. Cl.： *C07K7/06 (2006.01)* *C07K14/725 (2006.01)*
A61K38/08 (2019.01) *A61K39/395 (2006.01)*
A61P35/00 (2006.01) *G01N33/574 (2006.01)*

(30)優先權：2021/11/10 美國 63/277,924
2022/03/07 美國 63/317,337
2022/05/16 美國 63/342,415

(71)申請人：美商帝斯肯醫療公司 (美國) TSCAN THERAPEUTICS, INC. (US)
美國
美商達納 法伯癌症協會 (美國) DANA-FARBER CANCER INSTITUTE, INC. (US)
美國

(72)發明人：王伊帆 WANG, YIFAN (CN)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：142 項 圖式數：11 共 287 頁

(54)名稱

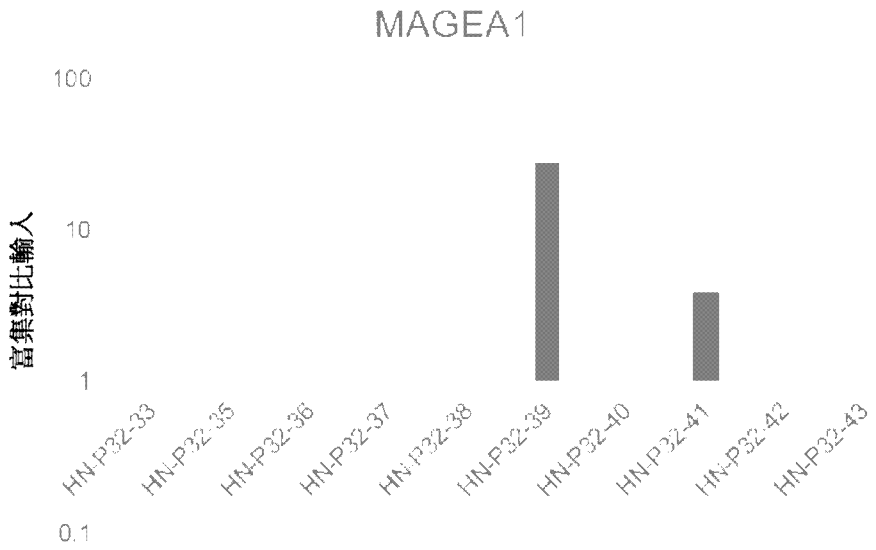
ＭＡＧＥＡ１免疫原性肽、識別ＭＡＧＥＡ１免疫原性肽之結合蛋白及其用途

(57)摘要

本文提供 MAGEA1 免疫原性肽、識別 MAGEA1 免疫原性肽之結合蛋白及其用途。

Provided herein are MAGEA1 immunogenic peptides, binding proteins recognizing MAGEA1 immunogenic peptides, and uses thereof.

指定代表圖：



【圖 3B】

【發明摘要】

【中文發明名稱】MAGEA1 免疫原性肽、識別 MAGEA1 免疫原性肽之結合蛋白及其用途

【英文發明名稱】MAGEA1 IMMUNOGENIC PEPTIDES, BINDING PROTEINS RECOGNIZING MAGEA1 IMMUNOGENIC PEPTIDES, AND USES THEREOF

【中文】

本文提供 MAGEA1 免疫原性肽、識別 MAGEA1 免疫原性肽之結合蛋白及其用途。

【英文】

Provided herein are MAGEA1 immunogenic peptides, binding proteins recognizing MAGEA1 immunogenic peptides, and uses thereof.

【指定代表圖】圖 3B

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】MAGEA1 免疫原性肽、識別 MAGEA1 免疫原性肽之結合蛋白及其用途

【英文發明名稱】MAGEA1 IMMUNOGENIC PEPTIDES, BINDING PROTEINS RECOGNIZING MAGEA1 IMMUNOGENIC PEPTIDES, AND USES THEREOF

【技術領域】

【先前技術】

【0001】 使用經工程改造之 T 細胞的授受性細胞轉移(ACT)在治療某些類型之液體腫瘤方面顯示出巨大功效，且有望用於治療實體腫瘤。經 T 細胞受體工程改造之 T 細胞(TCR-T)係表現識別癌細胞中存在之抗原之外源性 TCR 的 T 細胞。TCR-抗原相互作用係使 TCR-T 細胞殺死癌細胞之靶向機制的核心組成部分。廣泛測試及採用 TCR-T 療法之挑戰之一為缺乏適用於廣泛患者及適應症之 TCR-抗原對。儘管在臨床試驗中已探索若干種 TCR 及抗原，但大多數追求之抗原僅限於一個 HLA 對偶基因，亦即 HLA-A*02:01，此限制有資格進行療法之患者的數量，且亦允許癌細胞藉由使 HLA-A*02:01 對偶基因發生突變而可能產生抗性。

【0002】 此外，由於難以發現通常需要預測 MHC 呈現之抗原決定基的新穎 TCR-抗原對，所追求之抗原的數量有限。然而，此類抗原決定基可能並非免疫原性的，因此難以鑑定反應性 TCR，或者抗原決定基可能不會被癌細胞加工及呈現。因此，所屬領域非常需要在多種廣泛適用之 HLA 對偶基因之背景下鑑定 TCR-抗原對，以開發有用之試劑來診斷、預後、治療以表現該等抗原為特徵之病症及篩選與該等病症相關的藥劑。

【發明內容】

【0003】 本發明至少部分基於根據用於發現自患有與 MAGEA1 表現相關之

病症之個體(例如，患有黑色素瘤、頭頸癌、肺癌、子宮頸癌、肝細胞癌、大腸直腸癌、胃腸道癌、侵襲性乳癌或膀胱尿路上皮癌之個體)鑑定的 TCR 純系型之抗原的無偏功能篩選對 MAGEA1 免疫原性肽及識別此類 MAGEA1 免疫原性肽之結合蛋白的發現。在各種 HLA 對偶基因(例如，HLA-C*07:02)之情況下，所鑑定之 TCR 識別 MAGEA1 免疫原性肽，諸如表 1 中所列之彼等免疫原性肽。MAGEA1 在本文中經證實在癌症及睪丸組織中選擇性地表現，但在正常體細胞組織中不表現，藉此使得其成為 ACT 之理想標靶。MAGEA1 結合蛋白(例如本文所述之 TCR)結合 MAGEA1 免疫原性肽及引發殺死表現 MAGEA1 之細胞(例如癌細胞)之免疫反應的能力證明此類結合蛋白在多種用途中之效用，包括診斷、預後、治療以 MAGEA1 表現為特徵之病症及篩選與該等病症相關之藥劑的方法。

【0004】 在一個態樣中，提供一種免疫原性肽，其包含選自表 1 中所列之肽序列之肽抗原決定基。

【0005】 在另一態樣中，提供一種免疫原性肽，其由選自表 1 中所列之肽序列之肽抗原決定基組成。

【0006】 進一步提供多個實施例，其可應用於本發明涵蓋之任何態樣及/或與本文所述之任何其他實施例組合。舉例而言，在一個實施例中，免疫原性肽係源自 MAGEA1 蛋白，視情況其中該免疫原性肽之長度為 8 個、9 個、10 個、11 個、12 個、13 個、14 個、15 個、16 個、17 個、18 個、19 個、20 個、21 個、22 個、23 個、24 個或 25 個胺基酸。在另一實施例中，免疫原性肽能夠在個體中引發針對 MAGEA1 及/或表現 MAGEA1 之細胞之免疫反應，視情況其中該免疫反應係 i) T 細胞反應及/或 CD8+ T 細胞反應及/或 ii)選自由 T 細胞擴增(例如增殖)、細胞介素釋放及/或細胞毒性殺傷組成之群。

【0007】 在另一態樣中，提供一種免疫原性組合物，其包含至少一種本文所

述之免疫原性肽。

【0008】　進一步提供多個實施例，其可應用於本發明涵蓋之任何態樣及/或與本文所述之任何其他實施例組合。舉例而言，在一個實施例中，免疫原性組合物進一步包含佐劑。在另一實施例中，免疫原性組合物能夠在個體中引發針對 MAGEA1 及/或表現 MAGEA1 之細胞之免疫反應，視情況其中該免疫反應係 i) T 細胞反應及/或 CD8+ T 細胞反應及/或 ii)選自由 T 細胞擴增(例如增殖)、細胞介素釋放及/或細胞毒性殺傷組成之群。

【0009】　在又一態樣中，提供一種組合物，其包含選自表 1 中所列之肽序列之肽抗原決定基，及 MHC 分子。

【0010】　進一步提供多個實施例，其可應用於本發明涵蓋之任何態樣及/或與本文所述之任何其他實施例組合。舉例而言，在一個實施例中，MHC 分子為 MHC 多聚體，視情況其中該 MHC 多聚體為四聚體。在另一實施例中，MHC 分子為 MHC I 類分子。在另一實施例中，MHC 分子包含 MHC α 鏈，該鏈為選自由 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 及 HLA-C*18 組成之群的 HLA 血清型，視情況其中 HLA 對偶基因係選自由以下組成之群：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 對偶基因、HLA-A*0301、HLA-A*0302、HLA-A*0305、HLA-A*0307、HLA-A*0101、HLA-A*0102、HLA-A*0103、HLA-A*0116 對偶基因、HLA-A*1101、HLA-A*1102、HLA-A*1103、HLA-A*1104、HLA-A*1105、HLA-

A*1119 對偶基因、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 對偶基因、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 及 HLA-C*1403 對偶基因。

【0011】　在另一態樣中，提供一種穩定 MHC-肽複合物，其包含在 MHC 分子背景中之本文所述之免疫原性肽。

【0012】　進一步提供多個實施例，其可應用於本發明涵蓋之任何態樣及/或與本文所述之任何其他實施例組合。舉例而言，在一個實施例中，MHC 分子為 MHC 多聚體，視情況其中該 MHC 多聚體為四聚體。在另一實施例中，MHC 分子為 MHC I 類分子。在另一實施例中，MHC 分子包含 MHC α 鏈，該鏈為選自由 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 及 HLA-C*18 組成之群的 HLA 血清型，視情況其中 HLA 對偶基因係選自由以下組成之群：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 對偶基因、HLA-A*0301、HLA-A*0302、HLA-A*0305、HLA-

A*0307、HLA-A*0101、HLA-A*0102、HLA-A*0103、HLA-A*0116 對偶基因、HLA-A*1101、HLA-A*1102、HLA-A*1103、HLA-A*1104、HLA-A*1105、HLA-A*1119 對偶基因、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 對偶基因、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 及 HLA-C*1403 對偶基因。在又一實施例中，肽抗原決定基及 MHC 分子經共價連接及/或其中 MHC 分子之 α 及 β 鏈經共價連接。在另一實施例中，穩定 MHC-肽複合物包含可偵測標記，視情況其中該可偵測標記為螢光團。

【0013】　在另一態樣中，提供一種免疫原性組合物，其包含本文所述之穩定 MHC-肽複合物及佐劑。

【0014】　在又一態樣中，提供一種經分離之核酸，其編碼本文所述之免疫原性肽或其補體。

【0015】　在另一態樣中，提供一種載體，其包含本文所述之經分離之核酸。

【0016】　在另一態樣中，提供一種細胞，其 a)包含本文所述之經分離之核酸，b)包含本文所述之載體，及/或 c)產生一或多種本文所述之免疫原性肽及/或在細胞表面上呈現一或多種本文所述之穩定 MHC-肽複合物，視情況其中該細胞經基因工程改造。

【0017】　在又一態樣中，提供一種裝置或套組，其包含 a)一或多種本文所述

之免疫原性肽及/或 b)一或多種本文所述之穩定 MHC-肽複合物，該裝置或套組視情況包含偵測 a)及/或 b)與結合蛋白之結合的試劑，視情況其中該結合蛋白為抗體、抗體之抗原結合片段、TCR、TCR 之抗原結合片段、單鏈 TCR (scTCR)、嵌合抗原受體(CAR)或包含 TCR 及效應域之融合蛋白。

【0018】 在另一態樣中，提供一種偵測結合穩定 MHC-肽複合物之 T 細胞的方法，其包括：a)使包含 T 細胞之樣品與本文所述之穩定 MHC-肽複合物接觸；及 b)偵測 T 細胞與該穩定 MHC-肽複合物之結合，視情況進一步測定與該穩定 MHC-肽複合物結合之穩定 MHC-肽特異性 T 細胞之百分率，視情況其中該樣品包含周邊血液單核細胞(PBMC)。

【0019】 進一步提供多個實施例，其可應用於本發明涵蓋之任何態樣及/或與本文所述之任何其他實施例組合。舉例而言，在一個實施例中，T 細胞為 CD8+ T 細胞。在另一實施例中，偵測及/或測定係使用螢光活化細胞分選(FACS)、酶聯免疫吸附劑分析(ELISA)、放射免疫分析(RIA)、免疫化學、西方墨點法(Western blot)或細胞內流式分析來執行。在另一實施例中，樣品包含接觸或懷疑接觸過一或多種 MAGEA1 蛋白或其片段之 T 細胞。

【0020】 在另一態樣中，提供一種確定 T 細胞是否已暴露於 MAGEA1 之方法，其包括：a)將包含 T 細胞之細胞群體與本文所述之免疫原性肽或本文所述之穩定 MHC-肽複合物一起培育；及 b)偵測反應性之存在或水準，其中與對照水準相比存在反應性或反應性水準更高表明該 T 細胞已暴露於 MAGEA1，視情況其中該包含 T 細胞之細胞群體係自個體獲得。

【0021】 在又一態樣中，提供一種用於預測罹患以 MAGEA1 表現為特徵之病症之個體的臨床結果的方法，其包括：a)測定自該個體獲得之 T 細胞與一或多種本文所述之免疫原性肽或一或多種本文所述之穩定 MHC-肽複合物之間的反應性之存在或水準；及 b)將該反應性之存在或水準與來自對照之反應性進行比較，

其中該對照係自具有良好臨床結果之個體獲得，其中與該對照相比，該個體樣品中存在反應性或反應性水準更高表明該個體具有良好臨床結果。

【0022】 在另一態樣中，提供一種評估療法對以 MAGEA1 表現為特徵之病症之功效的方法，其包括：a)在向個體提供該療法之至少一部分之前，在自個體獲得之第一樣品中，測定自個體獲得之 T 細胞與一或多種本文所述之免疫原性肽或一或多種本文所述之穩定 MHC-肽複合物之間的反應性之存在或水準，及 b)測定一多種本文所述之免疫原性肽或一或多種本文所述之穩定 MHC-肽複合物與自個體獲得之 T 細胞之間的反應性之存在或水準，該等 T 細胞存在於在向個體提供該療法之後自個體獲得之第二樣品中，其中相對於第一樣品，第二樣品中存在反應性或反應性水準更高表明該療法有效治療個體之以MAGEA1表現為特徵之病症。

【0023】 進一步提供多個實施例，其可應用於本發明涵蓋之任何態樣及/或與本文所述之任何其他實施例組合。舉例而言，在一個實施例中，反應性水準由 a)結合之存在及/或 b)T 細胞活化及/或效應功能指示，視情況其中該 T 細胞活化或效應功能為 T 細胞增殖、殺傷或細胞介素釋放。在另一實施例中，方法進一步包括在後續時間點重複步驟 a)及 b)，視情況其中該個體已在第一時間點與後續時間點之間進行治療以改善以 MAGEA1 表現為特徵之病症。在另一實施例中，T 細胞結合、活化及/或效應功能係使用螢光活化細胞分選(FACS)、酶聯免疫吸附劑分析(ELISA)、放射免疫分析(RIA)、免疫化學、西方墨點法或細胞內流式分析來偵測。在又一實施例中，對照水準為參考數字。在另一實施例中，對照水準為未患該以 MAGEA1 表現為特徵之病症之個體的水準。

【0024】 在另一態樣中，一種預防及/或治療個體之以 MAGEA1 表現為特徵之病症的方法，其包括向該個體投與治療有效量之本文所述之組合物。

【0025】 在又一態樣中，提供一種鑑定與選自表 1 中所列之肽序列之肽抗原

決定基結合的肽結合分子或其抗原結合片段的方法，其包括：a)提供細胞，該細胞在該細胞之表面上呈現在 MHC 分子背景中的選自表 1 中所列之肽序列之肽抗原決定基；b)測定該細胞上複數種候選肽結合分子或其抗原結合片段與在該 MHC 分子背景中之該肽抗原決定基之結合；及 c)鑑定與在該 MHC 分子背景中之該肽抗原決定基結合之一或多種肽結合分子或其抗原結合片段。

【0026】 進一步提供多個實施例，其可應用於本發明涵蓋之任何態樣及/或與本文所述之任何其他實施例組合。舉例而言，在一個實施例中，步驟 a)包括使該細胞之表面上之 MHC 分子與選自表 1 中所列之肽序列之肽抗原決定基接觸。在另一實施例中，步驟 a)包括在該細胞中使用包含編碼該肽抗原決定基之異源序列之載體表現選自表 1 中所列之肽序列之肽抗原決定基。

【0027】 在另一態樣中，提供一種鑑定與選自表 1 中所列之肽序列之肽抗原決定基結合的肽結合分子或其抗原結合片段的方法，其包括：a)提供單獨或呈穩定 MHC-肽複合物之肽抗原決定基，其包含單獨或在 MHC 分子背景中的選自表 1 中所列之肽序列之肽抗原決定基；b)測定複數種候選肽結合分子或其抗原結合片段與該肽或該穩定 MHC-肽複合物之結合；及 c)鑑定與該肽抗原決定基或該穩定 MHC-肽複合物結合之一或多種肽結合分子或其抗原結合片段，視情況其中該 MHC 或該 MHC-肽複合物如本文所述。

【0028】 進一步提供多個實施例，其可應用於本發明涵蓋之任何態樣及/或與本文所述之任何其他實施例組合。舉例而言，在一個實施例中，複數種候選肽結合分子包含抗體、抗體之抗原結合片段、TCR、TCR 之抗原結合片段、單鏈 TCR (scTCR)、嵌合抗原受體(CAR)或包含 TCR 及效應域之融合蛋白。在另一實施例中，複數種候選肽結合分子包含至少 2 種、5 種、10 種、100 種、10^3 種、10^4 種、10^5 種、10^6 種、10^7 種、10^8 種、10^9 種或更多種不同候選肽結合分子。在另一實施例中，複數種候選肽結合分子包含自來自個體或個體群體之樣品獲得的一或

多種候選肽結合分子；或該複數種候選肽結合分子包含一或多種包含自來自個體之樣品獲得之親本支架肽結合分子中的突變的候選肽結合分子。在又一實施例中，個體或個體群體 a)未患以 MAGEA1 表現為特徵之病症及/或已自以 MAGEA1 表現為特徵之病症中恢復，或 b)罹患以 MAGEA1 表現為特徵之病症。在另一實施例中，已向個體或個體群體投與本文所述之組合物。在另一實施例中，個體為以 MAGEA1 表現為特徵之病症之動物模型及/或哺乳動物，視情況其中該哺乳動物為人類、靈長類動物或嚙齒類動物。在又一實施例中，個體為以 MAGEA1 表現為特徵之病症之動物模型、HLA 轉殖基因小鼠及/或人類 TCR 轉殖基因小鼠。在另一實施例中，樣品包含周邊血液單核細胞(PBMC)、T 細胞及/或 CD8+ 記憶 T 細胞。

【0029】　在另一態樣中，提供根據本文所述之方法鑑定之肽結合分子或其抗原結合片段，視情況其中該肽結合分子或其抗原結合片段為抗體、抗體之抗原結合片段、TCR、TCR 之抗原結合片段、單鏈 TCR (scTCR)、嵌合抗原受體(CAR)或包含 TCR 及效應域之融合蛋白。

【0030】　在又一態樣中，提供一種治療個體之以 MAGEA1 表現為特徵之病症的方法，其包括向該個體投與治療有效量之經基因工程改造之 T 細胞，該等 T 細胞表現肽結合分子或其抗原結合片段，該肽結合分子或其抗原結合片段 i)與選自表 1 中所列之序列之肽抗原決定基結合，ii)根據本文所述之方法鑑定，及/或 iii)與包含在 MHC 分子背景中之選自表 1 中所列之序列之肽抗原決定基的穩定 MHC-肽複合物結合，視情況其中該肽結合分子或其抗原結合片段為抗體、抗體之抗原結合片段、TCR、TCR 之抗原結合片段、單鏈 TCR (scTCR)、嵌合抗原受體(CAR)或包含 TCR 及效應域之融合蛋白，視情況其中該 MHC 或該 MHC-肽複合物如本文所述。

【0031】　進一步提供多個實施例，其可應用於本發明涵蓋之任何態樣及/或與

本文所述之任何其他實施例組合。舉例而言，在一個實施例中，T細胞係自以下各者分離：a)該個體，b)未患該以 MAGEA1 表現為特徵之病症的供體，或 c)自以 MAGEA1 表現為特徵之病症中恢復之供體。

【0032】 在另一態樣中，提供一種治療個體之以 MAGEA1 表現為特徵之病症的方法，其包括向該個體輸注抗原特異性 T 細胞，其中該等抗原特異性 T 細胞藉由以下方式產生：a)用本文所述之組合物刺激來自個體之免疫細胞；及 b)在活體外或離體擴增抗原特異性 T 細胞，視情況 i)在刺激該等免疫細胞之前自該個體分離免疫細胞及/或 ii)其中該等免疫細胞包含 PBMC、T 細胞、CD8+ T 細胞、初始 T 細胞、中央記憶 T 細胞及/或效應記憶 T 細胞。

【0033】 進一步提供多個實施例，其可應用於本發明涵蓋之任何態樣及/或與本文所述之任何其他實施例組合。舉例而言，在一個實施例中，該等劑在適合肽抗原決定基、免疫原性肽、穩定 MHC-肽複合物、T 細胞受體及/或免疫細胞之間形成至少一種免疫複合物的條件下及時間內接觸置放。在另一實施例中，肽抗原決定基、免疫原性肽、穩定 MHC-肽複合物及/或 T 細胞受體由細胞表現且該等細胞在一或多個步驟期間擴增及/或分離。在另一實施例中，以 MAGEA1 表現為特徵之病症為癌症或其復發，視情況其中該癌症係選自由以下組成之群：黑色素瘤、頭頸癌、肺癌、子宮頸癌、肝細胞癌、大腸直腸癌、胃腸道癌、侵襲性乳癌及膀胱尿路上皮癌。在又一實施例中，個體為以 MAGEA1 表現為特徵之病症之動物模型及/或哺乳動物，視情況其中該哺乳動物為人類、靈長類動物或嚙齒類動物。

【0034】 在另一態樣中，提供一種結合蛋白，其結合包含本文所述之免疫原性肽序列、本文所述之免疫原性肽及/或本文所述之穩定 MHC-肽複合物的多肽，視情況其中該結合蛋白為抗體、抗體之抗原結合片段、TCR、TCR 之抗原結合片段、單鏈 TCR (scTCR)、嵌合抗原受體(CAR)或包含 TCR 及效應域之融合蛋白。

【0035】 進一步提供多個實施例，其可應用於本發明涵蓋之任何態樣及/或與本文所述之任何其他實施例組合。舉例而言，在一個實施例中，結合蛋白包含：a)與選自由表 2 中所列之 TCR α 鏈 CDR 序列組成之群的 TCR α 鏈 CDR 序列具有至少約 80%一致性的 T 細胞受體(TCR) α 鏈 CDR 序列；及/或 b)與選自由表 2 中所列之 TCR β 鏈 CDR 序列組成之群的 TCR β 鏈 CDR 序列具有至少約 80%一致性的 TCR β 鏈 CDR 序列，其中該結合蛋白能夠與 MAGEA1 免疫原性肽-MHC (pMHC)複合物結合，視情況其中結合親和力之 K_d 小於或等於約 5×10^{-4} M。在另一實施例中，結合蛋白包含：a)與選自由表 2 中所列之 TCR V_α 域序列組成之群的 TCR V_α 域序列具有至少約 80%一致性的 TCR α 鏈可變(V_α)域序列；及/或 b)與選自由表 2 中所列之 TCR V_β 域序列組成之群的 TCR V_β 域序列具有至少約 80%一致性的 TCR β 鏈可變(V_β)域序列，其中該結合蛋白能夠與 MAGEA1 免疫原性肽-MHC (pMHC)複合物結合，視情況其中結合親和力之 K_d 小於或等於約 5×10^{-4} M。在另一實施例中，結合蛋白包含：a)與選自由表 2 中所列之 TCR α 鏈序列組成之群的 TCR α 鏈序列具有至少約 80%一致性的 TCR α 鏈序列；及/或 b)與選自由表 2 中所列之 TCR β 鏈序列組成之群的 TCR β 鏈序列具有至少約 80%一致性的 TCR β 鏈序列，其中該結合蛋白能夠與 MAGEA1 免疫原性肽-MHC (pMHC)複合物結合，視情況其中結合親和力之 K_d 小於或等於約 5×10^{-4} M。在又一實施例中，結合蛋白包含：a)選自由表 2 中所列之 TCR α 鏈 CDR 序列組成之群的 TCR α 鏈 CDR 序列；及/或 b)選自由表 2 中所列之 TCR β 鏈 CDR 序列組成之群的 TCR β 鏈 CDR 序列，其中該結合蛋白能夠與 MAGEA1 免疫原性肽-MHC (pMHC)複合物結合，視情況其中結合親和力之 K_d 小於或等於約 5×10^{-4} M。在又一實施例中，提供結合蛋白，其包含：a)選自由表 2 中所列之 TCR V_α 域序列組成之群的 TCR α 鏈可變(V_α)域序列；及/或 b)選自由表 2 中所列之 TCR V_β 域序列組成之群的 TCR β 鏈可變(V_β)域序列，其中該結合蛋白能夠與 MAGEA1 免疫

原性肽-MHC (pMHC)複合物結合，視情況其中結合親和力之 K_d 小於或等於約 5×10^{-4} M。在另一實施例中，提供結合蛋白，其包含：a)選自由表 2 中所列之 TCR α 鏈序列組成之群的 TCR α 鏈序列；及/或 b)選自由表 2 中所列之 TCR β 鏈序列組成之群的 TCR β 鏈序列，其中該結合蛋白能夠與 MAGEA1 免疫原性肽-MHC (pMHC)複合物結合，視情況其中結合親和力之 K_d 小於或等於約 5×10^{-4} M。在另一實施例中，1) TCR α 鏈 CDR、TCR V_α 域及/或 TCR α 鏈由選自表 2 中所列之 TRAV、TRAJ 及 TRAC 基因之群的 TRAV、TRAJ 及/或 TRAC 基因或其片段編碼，及/或 2) TCR β 鏈 CDR、TCR V_β 域及/或 TCR β 鏈由選自表 2 中所列之 TRBV、TRBJ 及 TRBC 基因之群的 TRBV、TRBJ 及/或 TRBC 基因或其片段編碼，及/或 3)與表 2 中所列之同源參考 CDR 序列相比，該結合蛋白之各 CDR 具有至多五個胺基酸取代、插入、缺失或其組合。在另一實施例中，結合蛋白為嵌合、人類化或人類的。在又一實施例中，結合蛋白包含具有跨膜域之結合域及細胞內效應域。在另一實施例中，TCR α 鏈及 TCR β 鏈經共價連接，視情況其中 TCR α 鏈及 TCR β 鏈經由連接子肽共價連接。在另一實施例中，TCR α 鏈及/或 TCR β 鏈共價連接至部分，視情況其中共價連接之部分包含親和力標籤或標記。在又一實施例中，親和力標籤係選自由以下組成之群：CD34 富集標籤、麩胱甘肽-S-轉移酶(GST)、鈣調蛋白結合蛋白(CBP)、蛋白 C 標籤、Myc 標籤、HaloTag、HA 標籤、Flag 標籤、His 標籤、生物素標籤及 V5 標籤，及/或其中標記為螢光蛋白。在另一實施例中，共價連接之部分係選自由以下組成之群：致炎因子、細胞介素、毒素、細胞毒性分子、放射性同位素或抗體或其抗原結合片段。在另一實施例中，結合蛋白與細胞表面上之 pMHC 複合物結合。在又一實施例中，MHC 或 MHC-肽複合物如本文所述。在另一實施例中，結合蛋白與 MAGEA1 肽-MHC (pMHC)複合物之結合引發免疫反應，視情況其中該免疫反應係 i) T 細胞反應及/或 CD8+ T 細胞反應及/或 ii)選自由 T 細胞擴增、細胞介素釋放及/或細胞毒性殺

傷組成之群。在另一實施例中，結合蛋白能夠以小於或等於約 1×10^{-4} M、小於或等於約 5×10^{-5} M、小於或等於約 1×10^{-5} M、小於或等於約 5×10^{-6} M、小於或等於約 1×10^{-6} M、小於或等於約 5×10^{-7} M、小於或等於約 1×10^{-7} M、小於或等於約 5×10^{-8} M、小於或等於約 1×10^{-8} M、小於或等於約 5×10^{-9} M、小於或等於約 1×10^{-9} M、小於或等於約 5×10^{-10} M、小於或等於約 1×10^{-10} M、小於或等於約 5×10^{-11} M、小於或等於約 1×10^{-11} M、小於或等於約 5×10^{-12} M 或小於或等於約 1×10^{-12} M 之 K_d 與 MAGEA1 免疫原性肽-MHC (pMHC)複合物特異性及/或選擇性地結合。在又一實施例中，與已知之 T 細胞受體相比，結合蛋白對該肽-MHC (pMHC)具有更高結合親和力，視情況其中該更高結合親和力至少高出 1.05 倍。在另一實施例中，當與具有 MAGEA1 雜合表現之標靶細胞接觸時，與已知之 T 細胞受體相比，結合蛋白誘導更高 T 細胞擴增、細胞介素釋放及/或細胞毒性殺傷，視情況其中誘導至少高出 1.05 倍。如本文所用，在一些實施例中，對倍數變化之提及可與任何所關注之參考模式進行比較，諸如與不同結合蛋白進行比較；與不同背景下相同結合蛋白進行比較，如與本文所述之其他藥劑組合，相同結合蛋白在不同免疫細胞中以不同水準表現；或其類似方面。在另一實施例中，細胞毒性殺傷係針對標靶癌細胞。在又一實施例中，癌症係選自由以下組成之群：黑色素瘤、頭頸癌、肺癌、子宮頸癌、肝細胞癌、大腸直腸癌、胃腸道癌、侵襲性乳癌及膀胱尿路上皮癌。在另一實施例中，結合蛋白不與包含 LAMB4-IR、TLE3、SLC16A2、SLC6A13、BTBD2、RXFP1 及/或 PIGO 肽抗原決定基之肽-MHC (pMHC)複合物結合。此等基因係熟知的且所屬領域中公認根據以下 NCBI 基因 ID 編號進行注釋，各編號可在全球資訊網 ncbi.nlm.nih.gov/gene 獲得：TLE3：基因 ID 7090 及 NM_005078.4 NP_005069.2 作為代表性純系；SLC16A2：基因 ID 6567 及 NM_006517.5 及 NP_006508.2 作為代表性純系；SLC6A13：基因 ID 6540 及 NM_016615.5 及 NP_057699.2 作為代表性純系；BTBD2：基因 ID 55643 及

NM_017797.4 及 NP_060267.2 作為代表性純系；RXFP1：基因 ID 59350 及 NM_021634.4 及 NP_067647.2 作為代表性純系；以及 PIGO：基因 ID 84720 及 NM_032634.4 及 NP_116023.2 作為代表性純系。LAMB4-IR 係在生物資訊學上預測之轉錄本，尚有待在細胞中鑑定且其編碼(CDS)和蛋白質序列提供於下表 3 中。LAMB4-IR 具有 chr7: 108043489-108123164 之染色體位置，如根據人類基因組參考聯盟 GRCh38.p13 (GCA_000001405.28) (UCSC HG38)集合(可在全球資訊網 ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCA_000001405.28/獲得)提及。

【0036】 在又一態樣中，提供 TCR α 鏈及/或 β 鏈，其選自由表 2 中所列之 TCR α 鏈及 β 鏈序列組成之群。

【0037】 在另一態樣中，提供一種經分離之核酸分子，其 i)在嚴格條件下與編碼選自由表 2 中所列之多肽序列組成之群的多肽的核酸之補體雜交，ii)序列與編碼選自由表 2 中所列之多肽序列組成之群的多肽的核酸具有至少約 80%同源性，及/或 iii) ii)序列與編碼表 2 中所列之核酸具有至少約 80%同源性，視情況其中該經分離之核酸分子包含 1)選自表 2 中所列之 TRAV、TRAJ 及 TRAC 基因之群的 TRAV、TRAJ 及/或 TRAC 基因或其片段及/或 2)選自表 2 中所列之 TRBV、TRBJ 及 TRBC 基因之群的 TRBV、TRBJ 及/或 TRBC 基因或其片段。

【0038】 進一步提供多個實施例，其可應用於本發明涵蓋之任何態樣及/或與本文所述之任何其他實施例組合。舉例而言，在一個實施例中，核酸經密碼子最佳化以在宿主細胞中表現。

【0039】 在另一態樣中，提供一種載體，其包含本文所述之經分離之核酸，視情況其中 i)該載體為選殖載體、表現載體或病毒載體及/或 ii)該載體包含表 3 中所列之載體序列。

【0040】 進一步提供多個實施例，其可應用於本發明涵蓋之任何態樣及/或與本文所述之任何其他實施例組合。舉例而言，在一個實施例中，載體進一步包含

編碼 CD8α、CD8β、顯性負性 TGFβ 受體 II (DN-TGFβRII)、可選擇蛋白質標記物之核酸序列，視情況其中該可選擇蛋白質標記物為二氫葉酸還原酶(DHFR)。在另一實施例中，編碼 CD8α、CD8β、DN-TGFβRII 及/或可選擇蛋白質標記物之核酸序列可操作地連接至編碼標籤之核酸。在另一實施例中，編碼標籤之核酸處於編碼 CD8α、CD8β、DN-TGFβRII 及/或可選擇蛋白質之核酸序列上游之 5’，使得該標籤與 CD8α、CD8β、DN-TGFβRII 及/或可選擇蛋白質標記物之 N 端融合。在又一實施例中，標籤為 CD34 富集標籤。在另一實施例中，單獨或與編碼 CD8α、CD8β、DN-TGFβRII 及/或可選擇蛋白質標記物之核酸序列組合的本文所述之經分離之核酸與內部核糖體進入位點或編碼自裂解肽之核酸序列相互連接。在另一實施例中，自裂解肽為 P2A、E2A、F2A 或 T2A。

【0041】　在又一態樣中，提供一種宿主細胞，其包含本文所述之經分離之核酸，包含本文所述之載體，及/或表現本文所述之結合蛋白，視情況其中該細胞經基因工程改造。

【0042】　進一步提供多個實施例，其可應用於本發明涵蓋之任何態樣及/或與本文所述之任何其他實施例組合。舉例而言，在一個實施例中，宿主細胞包含 TCR 基因、HLA 基因或兩者之染色體基因剔除。在另一實施例中，宿主細胞包含選自以下之 HLA 基因之剔除：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 微球蛋白基因及其組合。在另一實施例中，宿主細胞包含選自 TCR α 可變區基因、TCR β 可變區基因、TCR 恆定區基因及其組合之 TCR 基因之剔除。在又一實施例中，宿主細胞表現 CD8α、CD8β、DN-TGFβRII 及/或可選擇蛋白質標記物，視情況其中該可選擇蛋白質標記物為 DHFR，且進一步視情況其中 CD8α、CD8β、DN-TGFβRII 及/或可選擇蛋白質標記物與 CD34 富集標籤融合。在另一實施例中，宿主細胞使用 CD34 富集標籤進行富集。在另一實施例中，宿主細胞為造血先驅細胞、周邊血液單核細胞

(PBMC)、臍帶血細胞或免疫細胞。在又一實施例中，免疫細胞為 T 細胞、細胞毒性淋巴球、細胞毒性淋巴球前驅細胞、細胞毒性淋巴球先驅細胞、細胞毒性淋巴球幹細胞、$CD4^+$ T 細胞、$CD8^+$ T 細胞、CD4/CD8 雙陰性 T 細胞、γδ (gamma delta) T 細胞、自然殺手(NK)細胞、NK-T 細胞、樹突狀細胞或其組合。在又一實施例中，T 細胞為初始 T 細胞、中央記憶 T 細胞、效應記憶 T 細胞或其組合。在另一實施例中，T 細胞為初級 T 細胞或 T 細胞株之細胞。在另一實施例中，T 細胞不表現內源性 TCR 或具有內源性 TCR 之較低表面表現。在又一實施例中，宿主細胞在與標靶細胞接觸時能夠產生細胞介素或細胞毒性分子，該標靶細胞包括包含在 MHC 分子背景中之 MAGEA1 肽抗原決定基之肽-MHC (pMHC)複合物。在另一實施例中，宿主細胞在活體外、離體或活體內與標靶細胞接觸。在另一實施例中，細胞介素為 TNF-α、IL-2 及/或 IFN-γ。在又一實施例中，細胞毒性分子為穿孔蛋白及/或顆粒酶，視情況其中細胞毒性分子為顆粒酶 B。在另一實施例中，宿主細胞在與具有 MAGEA1 雜合表現之標靶細胞接觸時能夠產生更高水準之細胞介素或細胞毒性分子。在另一實施例中，宿主細胞能夠產生至少高出 1.05 倍水準之細胞介素或細胞毒性分子。在又一實施例中，宿主細胞能夠殺傷包括包含在 MHC 分子背景中之 MAGEA1 肽抗原決定基之肽-MHC (pMHC)複合物的標靶細胞。在另一實施例中，殺傷係藉由殺傷分析來測定。在另一實施例中，殺傷分析中宿主細胞與標靶細胞之比率為 20:1 至 1:4。在又一實施例中，標靶細胞為用 1 μg/mL 至 50 pg/mL MAGEA1 肽進行脈衝輸送之標靶細胞，視情況其中標靶細胞為與 MAGEA1 肽匹配之 MHC 的單對偶基因細胞。在另一實施例中，宿主細胞在與具有 MAGEA1 雜合表現之標靶細胞接觸時能夠殺傷更高數目之標靶細胞，視情況其中該細胞殺傷至少高出 1.05 倍。在另一實施例中，標靶細胞為細胞株或初級細胞，視情況其中標靶細胞係選自由以下組成之群：HEK293 來源之細胞株、癌細胞株、初級癌細胞、經轉型之細胞株及永生化細胞株。在又一

實施例中，MAGEA1 免疫原性肽如本文所述及/或其中 MHC 或 MHC-肽複合物如本文所述。在另一實施例中，宿主細胞在與包括包含 LAMB4-IR、TLE3、SLC16A2、SLC6A13、BTBD2、RXFP1 及/或 PIGO 肽抗原決定基之肽-MHC (pMHC)複合物的標靶細胞接觸時不誘導 T 細胞擴增、細胞介素釋放或細胞毒性殺傷。在另一實施例中，宿主細胞不表現 MAGEA1 抗原，未被本文所述之結合蛋白識別，不屬於血清型 HLA-C*07，及/或不表現 HLA-C*07 對偶基因。

【0043】 在另一態樣中，提供本文所述之宿主細胞之群體。

【0044】 在另一態樣中，提供一種組合物，其包含 a)本文所述之結合蛋白、b)本文所述之經分離之核酸、c)本文所述之載體、d)本文所述之宿主細胞及/或 e)本文所述之宿主細胞之群體，及載劑。

【0045】 在又一態樣中，提供一種裝置或套組，其包含 a)本文所述之結合蛋白、b)本文所述之經分離之核酸、c)本文所述之載體、d)本文所述之宿主細胞，及/或 e)本文所述之宿主細胞之群體，該裝置或套組視情況包含偵測 a)、d)及/或 e)與 pMHC 複合物之結合之試劑。

【0046】 在另一態樣中，提供一種產生本文所述之結合蛋白的方法，其中該方法包括以下步驟：(i)在適合允許該結合蛋白表現之條件下培養經轉型之宿主細胞，該宿主細胞已藉由包含編碼本文所述之結合蛋白之序列的核酸轉型；及(ii)回收所表現之結合蛋白。

【0047】 在另一態樣中，提供一種產生表現本文所述之結合蛋白之宿主細胞的方法，其中該方法包括以下步驟：(i)將包含編碼本文所述之結合蛋白之序列的核酸引入宿主細胞中；及(ii)在適合允許該結合蛋白表現之條件下培養經轉型之宿主細胞。

【0048】 在又一態樣中，提供一種偵測 MAGEA1 抗原及/或表現 MAGEA1 之細胞之存在或不存在的方法，視情況其中該細胞為過度增殖細胞，該方法包括藉

由使用至少一種本文所述之結合蛋白、至少一種本文所述之宿主細胞或本文所述之宿主細胞之群體來偵測樣品中該 MAGEA1 抗原之存在或不存在，其中偵測到 MAGEA1 抗原表明存在 MAGEA1 抗原及/或表現 MAGEA1 之細胞。

【0049】　進一步提供多個實施例，其可應用於本發明涵蓋之任何態樣及/或與本文所述之任何其他實施例組合。舉例而言，在一個實施例中，至少一種結合蛋白或至少一種宿主細胞與在 MHC 分子背景中之 MAGEA1 肽形成複合物，且以螢光活化細胞分選(FACS)、酶聯免疫吸附劑分析(ELISA)、放射免疫分析(RIA)、免疫化學、西方墨點法或細胞內流式分析之形式偵測複合物。在另一實施例中，方法進一步包括自個體獲得樣品。

【0050】　在另一態樣中，提供一種偵測個體中以 MAGEA1 表現為特徵之病症之程度的方法，其包括：a)使自個體獲得之樣品與至少一種本文所述之結合蛋白、至少一種本文所述之宿主細胞或本文所述之宿主細胞之群體接觸；及 b)偵測反應性水準，其中與對照水準相比存在反應性或反應性水準更高指示該個體中以 MAGEA1 表現為特徵之病症之程度。

【0051】　進一步提供多個實施例，其可應用於本發明涵蓋之任何態樣及/或與本文所述之任何其他實施例組合。舉例而言，在一個實施例中，對照水準為參考數字。在另一實施例中，對照水準為來自未患以 MAGEA1 表現為特徵之病症之個體的水準。

【0052】　在另一態樣中，提供一種用於監測個體中以 MAGEA1 表現為特徵之病症之進展的方法，該方法包括：a)偵測在個體樣品中自該個體獲得之樣品與至少一種本文所述之結合蛋白、至少一種本文所述之宿主細胞或本文所述之宿主細胞之群體之間的反應性之存在或水準；b)在後續時間點重複步驟 a)；及 c)比較在步驟 a)及 b)中偵測到之 MAGEA1 水準或表現 MAGEA1 之所關注細胞以監測該個體中以 MAGEA1 表現為特徵之病症之進展，其中與步驟 a)相比，步驟 b)中

偵測到之 MAGEA1 水準或表現 MAGEA1 之所關注細胞的不存在或降低表明該個體中以 MAGEA1 表現為特徵之病症的進展受到抑制，且與步驟 a)相比，步驟 b)中偵測到之 MAGEA1 水準或表現 MAGEA1 之所關注細胞的存在或增加表明該個體中以 MAGEA1 表現為特徵之病症發生進展。

【0053】 進一步提供多個實施例，其可應用於本發明涵蓋之任何態樣及/或與本文所述之任何其他實施例組合。舉例而言，在一個實施例中，個體已在第一時間點與該後續時間點之間進行治療以治療以 MAGEA1 表現為特徵之病症。

【0054】 在又一態樣中，提供一種用於預測罹患以 MAGEA1 表現為特徵之病症之個體的臨床結果的方法，其包括：a)測定自該個體獲得之樣品與至少一種本文所述之結合蛋白、至少一種本文所述之宿主細胞或本文所述之宿主細胞之群體的反應性之存在或水準；及 b)將反應性之存在或水準與來自對照之反應性進行比較，其中該對照係自具有良好臨床結果之個體獲得；其中與對照相比，該個體樣品中不存在反應性或反應性水準降低表明該個體具有良好臨床結果。

【0055】 在另一態樣中，提供一種評估療法對以 MAGEA1 表現為特徵之病症之功效的方法，其包括：a)在針對以 MAGEA1 表現為特徵之病症向該個體提供該療法之至少一部分之前自該個體獲得之第一樣品中，測定自該個體獲得之樣品與至少一種本文所述之結合蛋白、至少一種本文所述之宿主細胞或本文所述之宿主細胞之群體之間的反應性之存在或水準，及 b)在針對以 MAGEA1 表現為特徵之病症提供該療法之後自該個體獲得之第二樣品中，測定自該個體獲得之樣品與至少一種本文所述之結合蛋白、至少一種本文所述之宿主細胞或本文所述之宿主細胞之群體之間的反應性之存在或水準，其中相對於該第一樣品，該第二樣品中不存在反應性或反應性水準降低表明該療法有效治療該個體之以 MAGEA1 表現為特徵之病症，且其中相對於該第一樣品，該第二樣品中存在反應性或反應性水準增加表明該療法未有效治療該個體之以 MAGEA1 表現為特徵

之病症。

【0056】　進一步提供多個實施例，其可應用於本發明涵蓋之任何態樣及/或與本文所述之任何其他實施例組合。舉例而言，在一個實施例中，反應性水準由 a)結合之存在及/或 b)T 細胞活化及/或效應功能指示，視情況其中該 T 細胞活化或效應功能為 T 細胞增殖、殺傷或細胞介素釋放。在另一實施例中，T 細胞結合、活化及/或效應功能係使用螢光活化細胞分選(FACS)、酶聯免疫吸附劑分析(ELISA)、放射免疫分析(RIA)、免疫化學、西方墨點法或細胞內流式分析來偵測。

【0057】　在另一態樣中，提供一種預防及/或治療以 MAGEA1 表現為特徵之病症的方法，其包括使表現 MAGEA1 之標靶細胞與治療有效量的包含表現至少一種本文所述之結合蛋白之細胞的組合物接觸，視情況其中該組合物投與至個體。

【0058】　進一步提供多個實施例，其可應用於本發明涵蓋之任何態樣及/或與本文所述之任何其他實施例組合。舉例而言，在一個實施例中，細胞為同種異體細胞、同基因型細胞或自體同源細胞。在另一實施例中，細胞為本文所述之宿主細胞或本文所述之宿主細胞之群體。在另一實施例中，標靶細胞為表現 MAGEA1 之癌細胞。在又一實施例中，細胞組合物進一步包含醫藥學上可接受之載劑。在另一實施例中，細胞組合物在個體中誘導針對表現 MAGEA1 之標靶細胞之免疫反應。在另一實施例中，細胞組合物在個體中誘導針對表現 MAGEA1 之標靶細胞之抗原特異性 T 細胞免疫反應。在又一實施例中，抗原特異性 T 細胞免疫反應包含 $CD4^+$輔助 T 淋巴球(Th)反應及 CD8+細胞毒性 T 淋巴球(CTL)反應中之至少一者。在另一實施例中，方法進一步包括投與至少一種針對以 MAGEA1 表現為特徵之病症的額外治療，視情況其中該至少一種針對以 MAGEA1 表現為特徵之病症的額外治療與該組合物同時或依次投與。在另一實施例中，以 MAGEA1 表現為特徵之病症為癌症或其復發，視情況其中該癌症係選自由以下組成之群：

黑色素瘤、頭頸癌、肺癌、子宮頸癌、肝細胞癌、大腸直腸癌、胃腸道癌、侵襲性乳癌及膀胱尿路上皮癌。在又一實施例中，個體為以 MAGEA1 表現為特徵之病症之動物模型及/或哺乳動物，視情況其中該哺乳動物為人類、靈長類動物或嚙齒類動物。

【圖式簡單說明】

【0059】

圖 1 示出 MAGEA1 在廣泛腫瘤類型及正常組織中之核酸基因表現，且進一步證實 MAGEA1 常在若干標靶適應症中表現，此使得多路 TCR-T 成為可能。

圖 2A-圖 2E 展示 MAGEA1 抗原肽及 HLA 限制之鑑定。評估來自 MAGEA1 之重疊肽序列與 HLA-C*07:02 之預測結合。合成最高預測之 MHC 結合肽，且用於對表現 HLA-C*07:02 之 HEK293T 細胞進行脈衝輸送。使用顆粒酶-IFP 報導基因量測經 TCR 轉導之 T 細胞之反應性。圖 2A 示出與 HEK293T 細胞共培養之經 TCR 轉導之 T 細胞池的結果及頻率，該等 HEK293T 細胞表現顆粒酶活化之螢光報導基因、六種 HLA 對偶基因 A*01:01、A*03:01、B*07:02、B*08:01、C*07:01 及 C*07:02 以及跨越人類蛋白質體之約 600,000 種 90 聚體肽之重疊文庫。富集倍數 > 2.5 且具有一致重疊肽序列區域之瓦塊以點突出顯示，對應於底層共享基因。圖 2B 展示 MAGEA1 至 C*07:02 之 HLA 解褶積。將表現顆粒酶活化之螢光報導基因和所指示之個別 HLA 對偶基因或如圖 2A 中所用之所有六種 HLA 對偶基因(Pt.32 6Mer)的 HEK293T 細胞經或未經 MAGEA1 90 聚體轉導，且與經 TCR 轉導之 T 細胞池共培養。表示各共培養條件之 IFP+細胞%的熱圖一式三份展示。各列表示表現所指示之 HLA 的報導細胞株。右側圖例指示 IFP 信號之範圍。圖 2C 示出篩選資料中鑑定之 MAGEA1 肽之代表性序列。分析重疊序列(實心框)與 HLA-C*07:02 之預測結合，以鑑定具有序列 VRFFFPSL 之最高預測結合序列。圖 2D 及 2E (左圖)展示量測的經 TCR 轉導之 T 細胞之反應性，

該等 T 細胞與用所指示之肽進行脈衝輸送的表現顆粒酶活化之螢光報導基因之 HLA-C*07:02 單對偶基因 HEK293T 細胞共培養，經證實 VRFFFPSL 為最小 MAGEA1 抗原決定基。圖 2E (右圖)展示 TCR39 與 TCR41 顯示對脈衝輸送至懸浮 HEK293 細胞中之肽 VRFFFPSL 的親和力類似。各點展示量測 IFNg 水準之 2-3 次技術重複實驗之平均值，指示標準差。

圖 3A 及**圖 3B** 示出自經 TCR 轉導之 t 細胞池中鑑定 MAGEA1 反應性 TCR。用來自 MAGEA1 之 90 聚體轉導標靶細胞，且與經 TCR 轉導之 T 細胞池共培養。藉由對來自分選之 CD137/CD69 雙重陽性細胞之外源性 TCR 進行定序來鑑定反應性 TCR。圖 3A 示出在輸入(左)及分選細胞(右) (分別標記為「39」及「41」之 TCR 32-39 及 TCR 32-41)中表現所指示 TCR 之細胞的比例。圖 3B 示出在輸入文庫上對經 MAGEA1 轉導之細胞反應的分選之 TCR 之富集倍數。

圖 4A-圖 4C 展示 TCR 32-39 (亦稱 TCR 39)及 TCR 32-41 (亦稱 TCR 41)識別表現 MAGEA1 之癌細胞。圖 4A 報導來自公眾可獲得之資料集(CCLE 癌細胞株百科全書(CCLE Cancer cell line encyclopedia))之 mRNA 表現資料，以轉錄本/百萬(TPM)計。圖 4B 顯示藉由 IFNγ 釋放量測之 TCR 與癌細胞株之反應性。圖 4C 顯示藉由 CD137/CD69 雙重陽性染色量測之 TCR 與癌細胞株之反應性。

圖 5A-圖 5C 展示轉導至全 T 細胞(CD3+：包括 CD4+或 CD8+ T 細胞) (「TSC-204-C7」)之 TCR 32-41 識別表現 MAGEA1 之癌細胞。如以下進一步描述，術語「TSC-204-C7」係指一種經工程改造之全 T 細胞群體，包括 CD8+ T 細胞及 CD4+ T 細胞，且除包括 CD8α、CD8β 及 CD34 富集標籤之其他組分之外，均表現 TCR 32-41。在一些實施例中，TSC-204-C7 可進一步表現 DN-TGF βRII。圖 5A 報導來自公眾可獲得之資料集(CCLE 癌細胞株百科全書)之 mRNA 表現資料，以轉錄本/百萬(TPM)計。圖 5B 顯示藉由所指示之細胞介素(IFNg、TNFa 及顆粒酶 B)之分泌量測的轉導至 CD3+或 CD8+ T 細胞之 TCR 與癌細胞株的反應性。繪製平

均值±標準差(n = 3)。圖 5C 提供來自圖 5B 之 TCR 41 CD3 資料之總結描繪。

圖 6A-圖 6C 顯示 TCR 32-39 或 32-41 對表現可變水準之 MAGEA1 之細胞株的細胞毒活性。圖 6A 展示 TCR 32-39 及 32-41 殺死表現高水準至中等水準之 MAGEA1 的癌細胞株(TPM 針對各細胞株來指示)。圖 6B 展示 TCR 32-41 不殺死低至零 MAGEA1 表現之細胞株。所指示之細胞株經 Incucyte® NucLight™ Red 轉導且與 TCR 32-39 (三角形)、TCR 32-41 (圓形)，在未轉導之供體 T 細胞(菱形)下或在無 T 細胞(正方形)下共培養。在測定開始時 T 細胞以指示之 E:T 比率添加。用 Incucyte®儀器隨時間推移量測紅色螢光，且展現為相對於時間點 0 正規化之總紅色累積強度/孔。在各細胞存活圖下方展示呈橫條圖呈現之總結資料，且指示在 72 小時細胞存活之平均水準，誤差條表示範圍之 0.5 (n = 2)。圖 6C 提供來自圖 6A 及 6B 之資料之簡化描繪，但僅展示 1:1 之 E:T 下的 TCR 41 資料。

圖 7 展示 TCR 32-41 對 110 種最常見 MHC 對偶基因(HLA 型)未顯示同種異體反應性。將表現 TCR 32-41 之全 T 細胞或未經轉導之對照 T 細胞與無 MHC 之 HEK293T 細胞共培養 48 小時，該等 HEK293T 細胞再表現 110 種在美國群體中最頻繁遇到之 MHC I 類之一。篩選中包括陽性對照物，其由表現含有抗原決定基(VRFFFPSL)之 MAGE-A1 之片段與 HLA-C*07:02 兩者的 HEK293T 細胞組成。在 48 小時共培養之後，量測相對於未經轉導之對照 T 細胞，表現 TCR 32-41 之全 T 細胞對標靶細胞之抑制，作為 TCR 32-41 對同種異體 MHC 分子之反應性的讀出資料。指示陽性對照物。

圖 8 展示全基因組 *SafetyScan* 篩選鑑定 TCR 32-41 之推定脫靶的結果。展示 TCR 32-41 之 *SafetyScan* 篩選資料，其在跨越每種野生型(w.t.)人類蛋白質之>600,000 個蛋白質片段之篩選中鑑定七個潛在脫靶。該篩選經設計以藉由過度表現 90-aa 蛋白質片段來過度預測脫靶，該等蛋白質片段比全長蛋白質更有效地加工。藉由基因名稱鑑定推定脫靶。LAMB4-IR 為預測之癌症特異性內含子保留轉錄本，其

從未被鑑定為在正常細胞中表現。使用正常組織樣品之 RNA-seq 分析(Human Protein Atlas)未偵測到此變異體之表現。

圖 9 展示 TCR 32-41 之推定脫靶未被識別為全長蛋白質。圖 9A 展示除 LAMB4-IR 外，表現 32-41 之 T 細胞與表現所指示之全長蛋白質的 C*07:02 HEK 報導細胞共培養未顯示活化該報導基因，量測為 IFP%。當用來自 LAMB4-IR 之可交叉反應肽之稀釋液激發時，圖 9B 展示 TCR 32-41 與 LAMB4-IR 肽之不良反應性，低於 2,000 ng/mL。展示概述自全基因組 *SafetyScan* 篩選評估預測之脫靶而獲得之結果的表。

圖 10 展示 TCR 32-41 未顯示與正常人類細胞之反應性。測試表現 TCR 32-41 之全 T 細胞或未經轉導之(NTD)細胞與來自健康 HLA-C*07:02+人類供體之初級細胞的反應性。用 MAGE-A1 肽進行脈衝輸送或未經脈衝之標靶細胞與 TCR 32-41 或 NTD 細胞共培養。培養上清液中之 IFNγ 分泌用作 TCR 32-41 對標靶細胞之反應性的讀出資料。條反映一式三份之平均值 ± SD。

圖 11 提供本發明涵蓋之增強之 TCR-T 細胞產物的概述。

除非另外指示，否則對於顯示條柱狀圖、曲線或與圖例相關之其他資料的任何圖，每個指示自左至右呈現之條柱、曲線或其他資料直接且按順序對應於圖例中自上至下或自左至右之框。

【實施方式】

相關申請案之交叉引用

【0060】 本申請案主張 2022 年 5 月 16 日申請之美國臨時申請案第 63/342,415 號、2022 年 3 月 7 日申請之美國臨時申請案第 63/317,337 號及 2021 年 11 月 10 日申請之美國臨時申請案第 63/277,924 號之權益；該等申請案之完整內容以引用之方式整體併入本文中。

【0061】 本發明至少部分基於識別 MAGEA1 抗原之 MAGEA1 免疫原性肽(例

如，包含表 1 中所列之序列或由該序列組成之彼等免疫原性肽)、結合蛋白(例如，具有表 2 中所列之序列之彼等結合蛋白)之發現，及其用途。進行系統性綜合調查以對由初始之所關注 T 細胞池識別之精確 T 細胞標靶定位。

【0062】 因此，本發明部分關於治療相關之 MAGEA1 蛋白的經鑑定之抗原決定基(免疫優勢肽)及相關組合物(例如，免疫優勢肽、疫苗及其類似物)；包含單獨或與 MHC 分子一起之免疫原性肽之組合物；穩定 MHC-肽複合物；診斷、預後及監測對以 MAGEA1 表現為特徵之病症之免疫反應的方法；以及用於預防及/或治療以 MAGEA1 表現為特徵之病症之方法。本發明亦部分關於經鑑定之結合蛋白(例如，TCR)；表現結合蛋白(例如，TCR)之宿主細胞；包含結合蛋白(例如，TCR)及表現結合蛋白(例如，TCR)之宿主細胞之組合物；診斷、預後及監測 T 細胞對表現 MAGEA1 之細胞之反應的方法；以及用於預防及/或治療以 MAGEA1 表現為特徵之病症之方法。

I. 定義

【0063】 為方便起見，此處收集本說明書、實例及隨附申請專利範圍中所用之某些術語。

【0064】 冠詞「一(a/an)」在本文中用於指該冠詞之一個或超過一個(亦即，至少一個)語法對象。舉例而言，「一要素」意謂一種要素或超過一種要素。此外，除非另有說明，否則對本文提供之表格之引用涵蓋該表格之所有子表格。

【0065】 術語「投與」意謂向個體提供醫藥劑或組合物，且包括但不限於由醫學專業人員投與及自我投與。此涉及使用所屬領域技術人員已知之各種方法及遞送系統中之任一種將包含治療劑之組合物物理引入個體。在一些實施例中，本文所述之結合蛋白之投與途徑包括靜脈內、腹膜內、肌肉內、皮下、脊髓或其他非經腸投與途徑，例如藉由注射或輸注。如本文所用，片語「非經腸投與」意謂除腸內及局部投與以外之投與模式，通常藉由注射，且包括不限於靜脈內、腹膜

內、肌肉內、動脈內、鞘內、淋巴管內、病灶內、囊內、眶內、心內、皮內、經氣管、皮下、表皮下、關節內、包膜下、蛛網膜下腔、脊髓內、硬膜外及胸骨內註射及輸注，以及活體內電穿孔。或者，本文所述之結合蛋白可經由非注射途徑(non-parenteral route)投與，諸如局部、表皮或黏膜投與途徑，例如鼻內、口服、陰道、直腸、舌下或局部。施用亦可例如進行一次、複數次及/或在一或多個延長時段內進行。

【0066】　如本文所用，術語「抗原」係指任何天然或合成之免疫原性物質，諸如蛋白質、肽或半抗原。抗原可為 MAGEA1 抗原或其片段，需要針對其進行保護性或治療性免疫反應。「抗原決定基」為與天然或合成物質結合之抗原部分。

【0067】　如本文所用，術語「佐劑」係指與單獨投與抗原相比，當在投與抗原之前、同時或之後投與時促進、延長及/或增強對抗原之免疫反應之品質及/或強度的物質。佐劑可增加由疫苗接種誘導之免疫反應之量級及持續時間。

【0068】　如本文所用之術語「抗體」包括全抗體及其任何抗原結合片段(亦即，「抗原結合部分」)或單鏈。在一個實施例中，「抗體」係指包含藉由二硫鍵相互連接之至少兩條重(H)鏈及兩條輕(L)鏈之糖蛋白，或其抗原結合部分。各條重鏈由重鏈可變區(本文縮寫為 V_H)及重鏈恆定區構成。在某些天然存在之抗體中，重鏈恆定區由三個域，CH1、CH2 及 CH3 構成。在某些天然存在之抗體中，各條輕鏈由輕鏈可變區(本文縮寫為 V_L)及輕鏈恆定區構成。輕鏈恆定區由一個域 CL 構成。V_H 及 V_L 區可進一步細分為高變區，稱為互補決定區(CDR)，其中散佈更保守之區域，稱為構架區(FR)。V_H 及 V_L 各由三個 CDR 及四個 FR 構成，自胺基端至羧基端按以下順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鏈及輕鏈之可變區含有與抗原相互作用之結合域。抗體之恆定區可介導免疫球蛋白與宿主組織或因子之結合，包括免疫系統之各種細胞(例如效應細胞)及經典補體系統之第一組分(Clq)。

【0069】　術語「抗原呈現細胞」或「APC」包括專職抗原呈現細胞(例如，B 淋巴球、單核球、樹突狀細胞、朗格漢斯細胞(Langerhans cell))，以及其他抗原呈現細胞(例如，角質細胞、內皮細胞、星形細胞、纖維母細胞及寡樹突細胞)。

【0070】　如本文所用，諸如 TCR 之結合蛋白之術語「抗原結合部分」係指 TCR 之一或多個保留結合(例如，特異性及/或選擇性)抗原(例如，MAGEA1 抗原)之能力的部分。此類部分之長度例如為約 8 至約 1,500 個胺基酸，長度合適為約 8 至約 745 個胺基酸，長度合適為約 8 至約 300 個，例如約 8 至約 200 個胺基酸，或約 10 至約 50 個或 100 個胺基酸。已顯示，TCR 之抗原結合功能可由全長 TCR 之片段執行。涵蓋在 TCR 之術語「抗原結合部分」內之結合部分之實例包括：(i)由 TCR 之 V_α 及 V_β 域組成之 Fv 片段；(ii)分離之互補決定區(CDR)；或(iii)兩個或更多個分離之 CDR 之組合，其可視情況藉由合成連接子接合。此外，雖然 V_α 及 V_β 由分開之基因編碼，但可使用重組方法藉由合成連接子將其接合，使其能夠製成單個蛋白質鏈，其中 V_α 及 V_β 區域配對形成單價分子(稱為單鏈 TCR (scTCR))。此類單鏈 TCR 亦意欲涵蓋在術語 TCR 之「抗原結合部分」內。此等 TCR 片段可使用所屬領域技術人員已知之習知技術獲得，且以與完全結合蛋白相同之方式針對實用性來篩選該等片段。抗原結合部分可藉由重組 DNA 技術或藉由完整免疫球蛋白之酶促或化學裂解產生。

【0071】　術語「互補決定區」及「CDR」與「高變區」或「HVR」同義，且在所屬領域中已知係指某些結合蛋白，諸如 TCR 可變區內之非連續胺基酸序列，其賦予抗原特異性及/或結合親和力。對於 TCR，一般而言，各 α 鏈可變區(αCDR1、αCDR2 及 αCDR3)中存在三個 CDR，且各 β 鏈可變區(βCDR1、βCDR2 及 βCDR3)中存在三個 CDR。據信 CDR3 係負責識別經加工抗原之主要 CDR。CDR1 及 CDR2 主要與 MHC 相互作用。

【0072】　術語「體液」係指自身體排泄或分泌之流體，以及通常不自身體排泄

或分泌之流體(例如，羊水、水樣液、膽汁、血液及血漿、腦脊髓液、耵聹及耳垢、考珀液(cowper's fluid)或射精前液、乳糜、食糜、糞便、女性射液、間隙液、細胞內液、淋巴液、月經、母乳、黏液、胸水、膿液、唾液、皮脂、精液、血清、汗液、滑液、淚液、尿液、陰道潤滑液、玻璃樣液、嘔吐物)。在一些實施例中，體液包含免疫細胞，視情況其中免疫細胞為細胞毒性淋巴球，諸如細胞毒性 T 細胞及/或 NK 細胞、CD4+T 細胞及其類似細胞。

【0073】　術語「編碼區」係指核苷酸序列中包含轉譯成胺基酸殘基之密碼子之區域，而術語「非編碼區」係指核苷酸序列中不轉譯成胺基酸之區域(例如，5'及 3'非轉譯區)。

【0074】　術語「互補」係指兩條核酸股之區域之間或同一核酸股之兩個區域介於兩者之間的序列互補性之廣泛概念。已知第一核酸區之腺嘌呤殘基在第二核酸區之殘基為胸腺嘧啶或尿嘧啶之情況下能夠與同第一區反向平行之第二核酸區之殘基形成特定氫鍵(「鹼基配對」)。類似地，已知第一核酸股之胞嘧啶殘基在第二核酸股之殘基為鳥嘌呤之情況下能夠與同第一股反向平行之第二核酸股之殘基進行鹼基配對。若當核酸之第一區與相同或不同核酸之第二區以反向平行之方式排列時，第一區之至少一個核苷酸殘基能夠與第二區之殘基進行鹼基配對，則該兩個區域互補。在一些實施例中，第一區包含第一部分且第二區包含第二部分，其中當第一部分及第二部分以反向平行之方式排列時，第一部分之核苷酸殘基之至少約 50%且在其他實施例中至少約 75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多或介於兩者之間的任何範圍(包括端點)，諸如至少約 80%-100%能夠與第二部分中之核苷酸殘基進行鹼基配對。在一些實施例中，第一部分之所有核苷酸殘基均能夠與第二部分中之核苷酸殘基進行鹼基配對。

【0075】 如本文所用，關於經活化之免疫細胞之術語「共刺激」包括共刺激分子提供誘導增殖或效應功能之非活化受體介導之第二信號(「共刺激信號」)的能力。例如，共刺激信號可能例如在已接收到 T 細胞受體介導之信號之 T 細胞中引起細胞介素分泌。已接收到例如經由活化受體的細胞受體介導之信號之免疫細胞在本文中稱為「經活化之免疫細胞」。

【0076】 「CD3」在所屬領域中已知為具有六條鏈之多蛋白複合物(參見 Abbas 及 Lichtman, Cellular and Molecular Immunology (第 9 版) (2018)；Janeway 等人 (Immunobiology) (第 9 版) (2016))。在哺乳動物中，複合物包含一條 CD3γ 鏈、一條 CD3δ 鏈、兩條 CD3ε 鏈、及 CD3ζ 鏈之一種同源二聚體。CD3γ、CD3δ 及 CD3ε 鏈係含有單個免疫球蛋白域之免疫球蛋白超家族之相關細胞表面蛋白。CD3γ、CD3δ 及 CD3ε 鏈之跨膜區帶負電荷，該特徵據信允許此等鏈與 T 細胞受體鏈之帶正電荷區域或殘基締合。CD3γ、CD3δ 及 CD3ε 鏈之細胞內尾部各含有單個保守模體，稱為基於免疫受體酪胺酸之活化模體或 IT AM，而各 CD3ζ 鏈具有三個 ITAM。不希望受理論束縛，鹹信 IT AM 對於 TCR 複合物之信號傳導能力很重要。根據本發明使用之 CD3 可來自各種動物物種，包括人類、小鼠、大鼠或其他哺乳動物。

【0077】 如本文所用，「TCR 複合物之組分」係指 TCR 鏈(亦即，TCRα、TCRβ、TCRγ 或 TCRδ)、CD3 鏈(亦即，CD3γ、CD3δ、CD3ε 或 CD3ζ)或由兩條或更多條 TCR 鏈或 CD3 鏈形成之複合物(例如 TCRα 及 TCRβ 之複合物、TCRγ 及 TCRδ 之複合物、CD3ε 及 CD3δ 之複合物、CD3γ 及 CD3ε 之複合物、或 TCRα、TCRβ、CD3γ、CD3δ 及兩條 CD3ε 鏈之子 TCR 複合物)。

【0078】 術語「嵌合抗原受體」或「CAR」係指一種融合蛋白，其經工程改造以含有兩個或更多個以非天然存在或非天然存在於宿主細胞中之方式連接在一起的胺基酸序列，該融合蛋白在存在於細胞表面上時可用作受體。本發明所涵蓋

之 CAR 可包括細胞外部分，其包含抗原結合域(亦即，獲自或源自免疫球蛋白或免疫球蛋白樣分子，諸如對 MAGEA1 抗原具有特異性之 TCR、單鏈 TCR 來源之結合蛋白、源自抗體之 scFv、源自或獲自來自 NK 細胞之殺手免疫受體之抗原結合域)，該抗原結合域與跨膜域及一或多個細胞內信號傳導域(諸如效應域，視情況含有共刺激域)連接(參見例如 Sadelain 等人 (2013) *Cancer Discov.* 3:388；亦參見 Harris 及 Kranz (2016) *Trends Pharmacol. Sci.* 37: 220；Stone 等人 (2014) *Cancer Immunol. Immunother.* 63:1163)。

【0079】 如本文所用，術語「細胞毒性 T 淋巴球(CTL)反應」係指由細胞毒性 T 細胞誘導之免疫反應。CTL 反應主要由 $CD8^+$ T 細胞介導。

【0080】 術語「基本上由……組成」不等同於「包含」，且係指申請專利範圍之具體材料或步驟，或不實質影響所主張之主題之基本特徵的彼等材料或步驟。例如，蛋白質域、區域或模組(例如，結合域、鉸鏈區、連接子模組)或蛋白質(可能具有一或多個域、區域或模組)在域、區域、模組或蛋白質之胺基酸序列包括在組合下最多佔域、區域、模組或蛋白質長度之 20% (例如，最多 15%、10%、8%、6%、5%、4%、3%、2%或 1%)且不顯著影響(亦即，不使活性降低超過 50%，例如不超過 40%、30%、25%、20%、15%、10%、5%或 1%)域、區域、模組或蛋白質之活性(例如，結合蛋白之標靶結合親和力)的延伸、缺失、突變或其組合(例如，在胺基端或羧基端或域介於兩者之間的胺基酸)時「基本上由特定胺基酸序列組成」。

【0081】 術語「確定適合個體之治療方案」意謂確定用於個體之治療方案(亦即，用於預防及/或治療個體之病毒感染之單一療法或不同療法之組合)，該治療方案係基於或基本上基於或至少部分基於根據本發明之分析結果開始、進行修改及/或結束。一個實例係在手術之後開始輔助療法，其目的為降低復發風險，另一實例將為修改特定化學療法之劑量。除根據本發明之分析結果以外，該確定

亦可基於待治療個體之個人特徵。在大多數情況下，將由主治醫師或醫生執行對適合個體之治療方案之實際確定。

【0082】 術語「顯性負性 TGFβ 受體」或「DN-TGFβR」係指抵抗 TGFβ 信號傳導之轉型生長因子(TGF) β 受體變異體或突變體。存在五種 II 型受體(活化受體)及七種 I 型受體(信號傳播受體)。活性 TGFβ 受體為異四聚體，由兩個 TGF β 受體 I (TGFβRI)及兩個 TGFβ 受體 II (TGFβRII)組成。在一些實施例中，DN-TGFβR 為 DN-TGFβRII (亦即 TGFβ 受體 II 變異體或突變體)。在一些實施例中，抵抗 TGFβ 信號傳導在諸如 T 細胞之免疫細胞上的抑制作用，該 TGFβ 可由癌細胞產生，或由細胞環境內之其他免疫細胞，諸如由基質細胞、巨噬細胞、骨髓細胞、上皮細胞、自然殺手細胞及其類似細胞產生。TGFβ 信號傳導抑制劑為所屬領域中熟知的，且包括不限於螯合受體且藉此抑制信號傳導之突變 TGFβ；與 TGFβ 和/或 TGFβ 受體結合之抗體(例如樂德木單抗(lerdelimumab)、麥力木單抗(metlimumab)、非蘇木單抗(fressolimumab)及其類似物)；可溶性 TGFβ 結合蛋白，諸如螯合 TGFβ 之 TGFβ 受體之部分(例如 TGFβRII-Fc 融合蛋白)；或其他結合劑，諸如 β-聚糖。代替本文所述之 DN-TGFβR (例如 DN-TGFβRII)或除其之外，可使用任何及所有已知之 TGFβ 信號傳導抑制劑。在一些實施例中，DN-TGFβR 缺乏 TGFβ 介導之信號傳導所需的細胞內部分，諸如整個細胞內域、激酶信號傳導域等。DN-TGFβR 構築體為所屬領域中熟知的。(代表性非限制性實施例參見 Brand 等人 (1993) *J. Biol. Chem.* 268:11500-11503；Weiser 等人 (1993) *Mol. Cell Biol.* 13:7239-7247；Bollard 等人 (2002) *Blood* 99::3179-3187；PCT 公開案 WO 2009/152610；PCT 公開案 WO 2017/156484；Kloss 等人 (2018) *Mol. Ther.* 26:1855-1866；PCT 公開案 WO. 2019/089884；PCT 公開案 WO 2020/042647；以及 PCT 公開案 WO 2020/042648。

【0083】 在一些實施例中，包含一或多種本文所述之結合蛋白(例如 TCR)之

免疫細胞產物(例如經工程改造之 T 細胞)對 β 介導之免疫抑制具有抗性。如上文及本文中進一步所述，TGFβ 為一種免疫抑制性細胞介素，由腫瘤細胞及腫瘤微環境中之細胞產生。TGFβ 抑制細胞毒性及 Th1 輔助性 T 細胞之功能及擴增，導致對腫瘤特異性 T 細胞反應之抑制(Dahmani 及 Delisle (2018) Cancers 10:194)。T 細胞中之 TGFβ 信號傳導可藉由顯性負性 TGFβ II 型受體(DN-TGFβRII)之表現而廢除(Wieser 等人(1993) *Mol. Cell. Biol.* 13:7239-7247；Bollard 等人(2002) *Blood* 99:3179-3187)。在與 TGFβ 結合時，野生型 TGFβRII 發生磷酸化且藉此活化 TGFβRI 且引發細胞內信號傳輸。在表現缺乏細胞內激酶域之截短 TGFβRII (DN-TGFβRII)的細胞中此信號傳導級聯間斷，藉此導致細胞對 TGFβ 之抑制有抗性。DN-TGFβRII 阻斷經工程改造之 T 細胞(CAR-T 與 TCR-T 細胞)中的 TGFβ 信號傳導(Bollard 等人 (2002) *Blood* 99:3179-3187；Foster 等人 (2008) *J. Immunother.* 31:500-505；Kloss 等人 (2018) *Mol. Ther.* 26:1855-1866；Alabanza 等人 (2022) *Front. Immunol.* 13:832645；Silk 等人 (2022) *J. Immunol.* 208:169-180；Li 等人 (2020) *Front. Oncol.* 10:1117)。在代表性研究中，用於治療霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin lymphoma)之裝備有 DN-TGFβRII 之 EBV 特異性 T 細胞的評估顯示經 DN-TGFβRII 工程改造之 T 細胞為安全且有效的(Bollard 等人 (2018) *J. Clin. Oncol.* 36:1128-1139)。

【0084】 如本文所用，「造血先驅細胞」為可源自造血幹細胞或胎兒組織且能夠進一步分化成成熟細胞類型(例如免疫系統細胞)之細胞。示例性造血先驅細胞包括具有 $CD24^{Lo}$ Lin- $CD117^{+}$表型之彼等造血先驅細胞或在胸腺中發現之彼等造血先驅細胞(稱為先驅胸腺細胞)。

【0085】 如本文所用，「同源」係指同一核酸股之兩個區域之間或兩個不同核酸股之區域介於兩者之間的核苷酸序列相似性。當兩個區域中之核苷酸殘基位置由相同核苷酸殘基佔據時，則該等區域在彼位置處係同源的。若各區域之至少

一個核苷酸殘基位置由相同殘基佔據，則第一區與第二區同源。兩個區域介於兩者之間的同源性以兩個區域之核苷酸殘基位置由相同核苷酸殘基佔據之比例表述。舉例而言，具有核苷酸序列 5'-ATTGCC-3'之區域及具有核苷酸序列 5'-TATGGC-3'之區域共享 50%同源性。在一些實施例中，第一區域包含第一部分且第二區域包含第二部分，其中各部分之核苷酸殘基位置之至少約 50%且在其他實施例中至少約 75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多或介於兩者之間的任何範圍(包括端點)，諸如至少約 80%-100%由相同核苷酸殘基佔據。在一些實施例中，各部分之所有核苷酸殘基位置均由相同核苷酸殘基佔據。

【0086】 術語「免疫反應」包括 T 細胞介導及/或 B 細胞介導之免疫反應。示例性免疫反應包括 T 細胞反應，例如細胞介素產生及細胞毒性。此外，術語免疫反應包括受 T 細胞活化間接影響之免疫反應，例如抗體產生(體液反應)及細胞介素反應性細胞(例如巨噬細胞)之活化。

【0087】 T 細胞共刺激受體之促效活性增強及/或抑制性受體之拮抗活性增強可能引起刺激免疫反應或免疫系統之能力增強。刺激免疫反應或免疫系統之能力增強可由 EC_{50} 之增加倍數或量測免疫反應之分析中之最大活性水準來反映，該分析例如量測細胞介素或趨化介素釋放、細胞溶解活性(直接在標靶細胞上測定或經由偵測 CD107a 或顆粒酶間接測定)及增殖之變化的分析。刺激免疫反應或免疫系統活性之能力可增強至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、110%、120%、130%、140%、150%、160%、170%、180%、190%、200%、250%、300%、350%、400%、500%或更多。

【0088】 術語「免疫治療劑」可包括可刺激個體中宿主免疫系統對病毒感染產生免疫反應之任何分子、肽、抗體或其他藥劑。各種免疫治療劑可用於本文所

述之組合物及方法。

【0089】　術語「免疫細胞」係指源自骨髓中之造血幹細胞之任何免疫系統細胞，其產生兩種主要譜系：骨髓先驅細胞(產生骨髓細胞，諸如單核球、巨噬細胞、樹突狀細胞、巨核細胞及顆粒球)；及淋巴先驅細胞(產生淋巴樣細胞，諸如T細胞、B細胞及自然殺手(NK)細胞)。示例性免疫系統細胞包括$CD4^+$ T細胞、$CD8^+$ T細胞、CD4 CD8雙陰性T細胞、gd T細胞、調控性T細胞、自然殺手細胞及樹突狀細胞。巨噬細胞及樹突狀細胞可稱為「抗原呈現細胞」或「APC」，其為特化細胞，當APC表面上與肽複合之主要組織相容性複合體(MHC)受體與T細胞表面之TCR相互作用時，該等細胞可活化T細胞。

【0090】　「經分離之蛋白質」係指在自細胞中分離或藉由重組DNA技術產生時實質上不含其他蛋白質、細胞材料、分離介質及培養基之蛋白質，或在化學合成時實質上不含化學前驅物或其他化學物質之蛋白質。「經分離」或「經純化」之蛋白質或其生物活性部分實質上不含來自產生結合蛋白、抗體、多肽、肽或融合蛋白之細胞或組織來源的細胞材料或其他污染蛋白，或在化學合成時實質上不含化學前驅物或其他化學物質。用語「實質上不含細胞材料」包括生物標記物多肽或其片段之製劑，其中蛋白質係自分離出或重組產生該蛋白質之細胞之細胞組分中分離。在一實施例中，用語「實質上不含細胞材料」包括生物標記物蛋白或其片段之製劑，其具有少於約30% (以乾重計)之非生物標記物蛋白(本文中亦稱為「污染蛋白」)，或在一些實施例中，少於約25%、20%、15%、10%、5%、1%或更少或介於兩者之間的任何範圍(包括端點)，諸如少於約1%至5%之非生物標記物蛋白。當重組產生結合蛋白、抗體、多肽、肽或融合蛋白或其片段(例如其生物活性片段)時，其可實質上不含培養基，亦即，培養基佔蛋白質製劑之體積不到約20%、15%、10%、5%、1%或更少或介於兩者之間的任何範圍(包括端點)，諸如少於約1%至5%。

【0091】 如本文所用，術語「同型」係指由重鏈恒定區基因編碼之抗體類別(例如，IgM、IgG1、IgG2C 及其類似類別)。

【0092】 如本文所用，術語「K_D」意欲指特定結合蛋白-抗原相互作用之解離平衡常數。可藉由標準結合蛋白-標靶分析，例如競爭分析、飽和分析或諸如 ELISA 或 RIA 之標準免疫分析來量測或測定本發明所涵蓋之結合蛋白之結合親和力。相對較低之 Kd 值指示相對較高之結合親和力(例如，小於或等於約 5×10^{-4} M (500 uM)之 Kd 值包括 1×10^{-4} M (100 uM)之 Kd 值且 100 uM Kd 指示與 500 uM Kd 相比結合親和力相對較高)。

【0093】 「套組」係包含至少一種試劑，例如探針或小分子之任何製品(例如，包裝或容器)，該至少一種試劑用於偵測及/或影響本發明所涵蓋之標記物的表現。套組可作為用於執行本發明所涵蓋之方法之單元來推銷、分售或銷售。套組可包含表現可用於本發明所涵蓋之方法之組合物所必需的一或多種試劑。在某些實施例中，套組可進一步包含參考標準，例如編碼不影響或調控控制細胞生長、分裂、遷移、存活或凋亡之信號傳導路徑之蛋白質的核酸。所屬領域之技術人員可設想許多此類對照蛋白，包括但不限於常見分子標籤(例如，綠色螢光蛋白及 β-半乳糖苷酶)、未藉由 GeneOntology 參考歸類於任何涵蓋細胞生長、分裂、遷移、存活或凋亡之路徑中的蛋白質或者普遍存在之持家蛋白。套組中之試劑可在個別容器中提供，或在單一容器中以兩種或更多種試劑之混合物形式提供。此外，可包括描述套組內之組合物之用途的指導性材料。

【0094】 如本文所用，術語「連接」係指兩個或更多個分子之締合。連接可為共價或非共價的。連接亦可為基因的(亦即，重組融合)。此類連接可使用多種公認之技術實現，諸如化學結合及重組蛋白產生。

【0095】 在一些實施例中，「連接子」可指連接兩個蛋白質、多肽、肽、域、區域或模體之胺基酸序列，且可提供與兩個子結合域之相互作用相容的間隔功

能，從而所得多肽保留對標靶分子之特異性結合親和力(例如，scTCR)或保留信號活性(例如，TCR 複合物)。在一些實施例中，連接子由例如約 2 至約 35 個胺基酸或約 4 至約 20 個胺基酸或約 8 至約 15 個胺基酸或約 15 至約 25 個胺基酸構成。

【0096】 術語「MAGEA1」係指簇集在人類染色體 Xq28 (例如，染色體 X:153,179,284-153,183,880 正鏈◦GRCh38:CM000685.2)上之黑色素瘤抗原基因家族之特定成員，亦稱為癌症/睪丸抗原 1.1 (CT1.1)；黑色素瘤相關抗原 1；MAGE1；黑色素瘤抗原家族 A 1 (指導抗原 MZ2-E 之表現)；癌症/睪丸抗原家族 1 成員 1；黑色素瘤相關抗原 MZ2-E；黑色素瘤抗原家族 A1；癌症/睪丸抗原 1.1；黑色素瘤抗原 MAGE-1；MAGE-1 抗原；抗原 Z2-E、MGC9326；及 MAGE1A (Mao 等人 (2019) *J. Hematol. Oncol.* 12:106；Fanipakdel 等人 (2019) *J. Cell Physiol.* 234:12080-12086；Gu 等人 (2018) *Thorac. Cancer* 9:431-438；Mecklenburg 等人 (2017) *Clin. Cancer Res.* 23:1213-1219；Wang 等人 (2016) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 473:959-965；Kozakova 等人 (2015) *Cell Cycle* 14:920-930；Cannuyer 等人 (2013) *PLoS One* 8:e5874；Pereira 等人 (2012) *Oncol. Rep.* 27:1843-1848；Ogata 等人 (2011) *Ann. Surg. Oncol.* 18:1195-1203；Roch 等人 (2010) *Anticancer Res.* 30:1617-1623；Dango 等人 (2010) *Lung Cancer* 67:290-295；van der Bruggen 等人 (1991) *Science* 254:1643-1647)。MAGEA1 為溶細胞性 T 淋巴球識別之黑色素瘤抗原且鹹信經由與 SNW1 相互作用及募集組蛋白去乙醯酶 HDAC1 而與轉錄調節有關，且抑制 notch 細胞內域(NICD)反式活化、胚胎發育、引起一些遺傳性病症(例如先天性角化不良)及/或腫瘤轉型或腫瘤進展態樣(例如胃癌、肝細胞癌等)。MAGEA1 在除睪丸外之正常組織中不高度表現，且在各種組織學類型之腫瘤中表現，諸如黑色素瘤、頭頸癌、肺癌、子宮頸癌、肝細胞癌、大腸直腸癌、胃腸道癌、大腸直腸癌、胃腸道癌、侵襲性乳癌及膀胱尿路上皮癌。

【0097】 術語「MAGEA1」旨在包括其片段、變異體(例如對偶基因變異體)及衍生物。代表性人類 MAGEA1 cDNA 及人類 MAGEA1 蛋白序列為所屬領域熟知的且可自國家生物技術信息中心(National Center for Biotechnology Information，NCBI)公開獲得(參見例如 ncbi.nlm.nih.gov/gene/4100)。舉例而言，人類 MAGEA1 (NP_004979.3)可由轉錄本(NM_004988.5)編碼。MAGEA1 直系同源物在人類以外之生物體中之核酸及多肽序列為熟知的，且包括例如黑猩猩 MAGEA1 (XM_529226.2 及 XP_529226.2)及小鼠 MAGEA1 (染色體 X:155088686-155089793；Ensembl 小家鼠(mus musculus)型式 104.39 (GRCm39))。MAGEA1 序列之代表性序列呈現於下文表 3 中。

【0098】 適用於偵測 MAGEA1 蛋白之抗 MAGEA1 抗體為所屬領域熟知的，且包括例如抗體 AM32863PU、AM50138PU、AP06212PU、AP13128PU-TA312178、TA39275、TA339275、TA339276 及 TA347677 (OriGene, Rockville, MD)；抗體 orb167376 及 orb11016 (Biorbyt, Cambridge, United Kingdom)；抗體 A03570 及 AO3570-1 (Boster Bio, Pleasanton, CA)；抗體 E22-11B2-E9 及 N1C3 (GeneTex, Irvince, CA)；抗體 AFLGC-MAGEA1、MA5-37821 及 MA1-91067 (Invitrogen, Waltham, MA)；抗體 ABIN2782493 及 ABIN2782494 (Antibodies-online, Limerick, PA)；及抗體 MA454 及 6C1 (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX)。此外，用於偵測 MAGEA1 表現之試劑為熟知的。此外，用於調節 MAGEA1 表現之多種 siRNA、shRNA、CRISPR 構築體可在多家公司之商業產品列表中找到，諸如開讀框(ORF)純系 MG212171、MR212171、MR212171L3、MR212171L3V、MR212171L4、MR212171L4V、RC202134、RC202134L3、RC202134L3V、RC202134L4、RC202134L4V 及 RG202134 (OriGene, Rockville, MD)；CRISPR 剔除 GA102785、GA202555、KN202134、KN202134BN、KN202134LP、KN202134RB、KN402134 及 KN509652 (OriGene, Rockville, MD)；

及 RNA 幹擾(RNAi)純系，諸如 siRNA 及 shRNA 純系，包括 SR302776、TL311617、SR410578 、TL311617V 、TTL516288 、TL516288V 、TL704467 、TL04467V 、TR311617 、TR516288 及 TR704467 (OriGene, Rockville, MD)。應當注意，該術語可進一步用於指代本文所述之關於 MAGEA1 分子之特徵的任何組合。例如，序列組成、一致性百分比、序列長度、域結構、功能活性等之任何組合可用於描述本發明所涵蓋之 MAGEA1 分子。

【0099】 術語「MAGEA1 抗原」或「MAGEA1 肽抗原」或「含有 MAGEA1 之肽抗原」或「MAGEA1 抗原決定基」或「MAGEA1 肽抗原決定基」或「MAGEA1 肽」係指天然或合成產生之 MAGEA1 免疫原性部分。在一些實施例中，MAGEA1 抗原蛋白之長度範圍可為約 7 個、8 個、9 個、10 個、11 個、12 個、13 個、14 個、15 個、16 個、17 個、18 個、19 個、20 個、21 個、22 個、23 個、24 個、25 個胺基酸或介於兩者之間的任何範圍，諸如 8-15 個胺基酸。在一些實施例中，MAGEA1 抗原蛋白可與 MHC (例如，HLA)分子形成複合物，使得識別 MAGEA1 肽:MHC (例如，HLA)複合物之本揭示案之結合蛋白可與此類複合物結合(例如，特異性及/或選擇性地)。表 1 中示出代表性 MAGEA1 肽抗原序列。

【0100】 術語「主要組織相容性複合體」(MHC)係指將肽抗原遞送至細胞表面之糖蛋白。MHC I 類分子為異二聚體，具有跨鏈之膜(具有三個域)及非共價締合之 b2 微球蛋白。MHC II 類分子由兩種跨膜糖蛋白 a 及 b 構成，該兩種糖蛋白均跨越膜。各條鏈具有兩個域。MHC I 類分子將源自胞質液之肽遞送至細胞表面，在表面上肽抗原-MHC (pMHC)複合物由 $CD8^+$ T 細胞識別。MHC II 類分子將源自囊泡系統之肽遞送至細胞表面，在表面上其由 $CD4^+$ T 細胞識別。人類 MHC 被稱為人類白血球抗原(HLA)。

【0101】 術語「預防(prevent/preventing/prevention)」、「預防性治療」及其類似術語係指降低個體發展疾病、病症或疾患之概率，該個體未患但有風險或容易

發展疾病、病症或疾患。

【0102】 術語「預後」包括對病毒感染之可能過程及結果或自疾病恢復之可能性的預測。在一些實施例中，統計演算法之使用提供對個體中病毒感染之預後。舉例而言，預後可為手術、病毒感染之臨床亞型之發展、一或多種臨床因素之發展或自疾病恢復。

【0103】 如本文所用，胺基酸序列之間的「一致性百分比」與「同源性百分比」同義，其可使用由 Karlin 及 Altschul 修改((1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-5877)之 Karlin 及 Altschul 演算法((1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:2264-2268)測定。將所提及之演算法併入至 Altschul 等人((1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410)之 NBLAST 及 XBLAST 程式。用 NBLAST 程式執行 BLAST 核苷酸搜索，分數=100，字長=12，以獲得與本文所述之多核苷酸同源之核苷酸序列。用 XBLAST 程式執行 BLAST 蛋白質搜索，分數=50，字長=3，以獲得與參考多肽同源之胺基酸序列。為獲得間隙比對以達成比較目的，使用間隙 BLAST，如 Altschul 等人 (1997) *Nuc. Acids Res.* 25:3389-3402 所述。當使用 BLAST 及間隙 BLAST 程式時，使用各別程式(例如，XBLAST 及 NBLAST)之預設參數。

【0104】 如本文所用，片語「醫藥學上可接受之載劑」意謂參與將本發明化合物自身體之一個器官或部分攜帶或轉運至身體之另一個器官或部分的醫藥學上可接受之材料、組合物或媒劑，諸如液體或固體填充劑、稀釋劑、賦形劑或溶劑囊封材料。

【0105】 術語「比率」係指兩個數字(例如，分數、總和等)之間的關係。儘管比率可按特定順序(例如，a 比 b 或 a:b)表示，但所屬領域普通技術人員將認識到，數字之間的基本關係可按任何順序表示，基本關係不會失去意義，儘管基於該比率之趨勢觀測及相關性可能會顛倒。

【0106】 術語「重組宿主細胞」(或簡稱「宿主細胞」)係指包含非天然存在於

細胞中之核酸之細胞，諸如已引入重組表現載體之細胞。應當理解，根據本發明之細胞不僅係指特定之主題細胞，且亦涵蓋此類細胞之後代。因為由於突變或環境影響可能在後世代中發生某些修飾，所以此類後代實際上可能與親代細胞不同，但仍包括在根據本發明之術語細胞之範圍內。

【0107】　術語「癌症反應」、「對免疫療法之反應」或「對 T 細胞介導之細胞毒性調節劑/免疫療法組合療法之反應」係指過度增生性疾病(例如癌症)對癌症藥劑(諸如 T 細胞介導之細胞毒性調節劑及免疫療法)之任何反應，較佳係指在新輔助或輔助療法開始後腫瘤質量及/或體積之變化。術語「新輔助療法」係指在主要治療之前給予之治療。新輔助療法之實例可包括化學療法、放射療法及激素療法。可例如針對療效或在新輔助或輔助情況下評估過度增生性病症反應，其中藉由 CT、PET、乳房 X 光攝影、超音波或觸診量測，全身介入後之腫瘤大小可與初始大小及尺寸進行比較。反應亦可藉由卡尺量測或生檢或手術切除後之腫瘤病理學檢查來評估。反應可以定量方式(如腫瘤體積變化百分比)或定性方式(如「病理完全反應」(pCR)、「臨床完全緩解」(cCR)、「臨床部分緩解」(cPR)、「臨床穩定疾病」(cSD)、「臨床進展性疾病」(cPD)或其他定性標準)記錄。過度增生性病症反應之評估可在新輔助或輔助療法開始後早期進行，例如在幾小時、幾天、幾週或較佳幾個月之後進行。反應評估之典型終點為新輔助化學療法終止或手術切除殘留腫瘤細胞及/或腫瘤床時。此通常為在開始新輔助療法後三個月。在一些實施例中，本文所述之治療性治療之臨床功效可藉由量測臨床受益率(CBR)來確定。臨床受益率藉由確定以下各者之總和來量測：在距離療法結束至少 6 個月之時間點的完全緩解(CR)患者百分比、部分緩解(PR)患者數量及穩定疾病(SD)患者數量。此公式之簡寫為 CBR=6 個月內 CR+PR+SD。在一些實施例中，特定癌症治療方案之 CBR 為至少 25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或更多。評估對癌症療法反應之其他標準與

「存活」有關，包括以下所有內容：存活至死亡，亦稱為總存活期(其中死亡可能不考慮原因或與腫瘤相關)；「無復發存活期」(其中術語復發應包括局部復發及遠處復發)；無轉移存活期；無病存活期(其中術語疾病應包括癌症及與之相關之疾病)。該存活之長度可藉由參考定義之起點(例如診斷時間或治療開始時間)及終點(例如死亡、復發或轉移)來計算。此外，治療功效之標準可擴大到包括對化學療法之反應、存活概率、給定時段內之轉移概率及腫瘤復發概率。舉例而言，為確定適當閾值，可將特定癌症治療方案投與至個體群體且結果可與在投與任何癌症療法之前測定之生物標記物量測值相關。結果量測可能為對在新輔助環境中給與之療法的病理反應。或者，可在癌症療法後的一段時間內監測生物標記物量測值已知之個體之結果量測，諸如總存活期及無病存活期。在某些實施例中，投與之劑量為所屬領域已知之癌症治療劑之標準劑量。監測個體之時段可能有所不同。例如，可監測個體至少 2 個月、4 個月、6 個月、8 個月、10 個月、12 個月、14 個月、16 個月、18 個月、20 個月、25 個月、30 個月、35 個月、40 個月、45 個月、50 個月、55 個月或 60 個月。與癌症療法結果相關之生物標記物量測閾值可使用所屬領域熟知之方法，諸如實例部分中描述之彼等方法來確定。

【0108】　如所指出，該等術語亦可指改善之預後，例如反映在複發時間增加，其為第一次復發之時期，將第二原發性癌症作為無復發證據之第一次事件或死亡進行審查；或總存活期增加，亦即自治療至任何原因死亡之時期。反應或做出反應意謂當暴露於刺激時達到有益終點。或者，負面或有害症狀在暴露於刺激時最小化、減輕或減弱。應當理解，評估腫瘤或個體將展現有利反應之可能性等同於評估腫瘤或個體將不會展現有利反應(亦即，將展現缺乏反應或無反應)之可能性。

【0109】　術語「抗性」係指癌症樣品或哺乳動物對癌症療法之獲得性或天然抗性(亦即，對治療性治療無反應或對治療性治療之反應降低或有限)，諸如對治

療性治療之反應降低 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%或更多，諸如 2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、10 倍、15 倍、20 倍或更多，或兩者之間的任何範圍(包括端點)。可藉由與獲得抗性之前的相同癌症樣品或哺乳動物進行比較，或藉由與已知對治療性治療無抗性之不同癌症樣品或哺乳動物進行比較來量測反應之降低。對化學療法之典型獲得性抗性稱為「多重抗藥性」。多重抗藥性可能由 P-糖蛋白介導，或者可能由其他機制介導，或者可能在哺乳動物感染多重抗藥性微生物或微生物組合時發生。對治療性治療之抗性的測定係所屬領域中常規的，且在普通臨床醫師之技能範圍內，例如，可藉由如本文中描述為「敏化」之細胞增殖分析及細胞死亡分析來量測。在一些實施例中，術語「逆轉抗藥性」意謂在與未治療腫瘤之腫瘤體積相比，單獨主要癌症療法(例如，化學治療或放射療法)不能產生統計學上顯著之腫瘤體積減少的情況下，與未治療腫瘤之腫瘤體積相比，第二種藥劑與主要癌症療法(例如，化學治療或放射療法)組合使用能夠在統計顯著性程度上產生顯著腫瘤體積減少(例如，$p<0.05$)。此通常適用於在未治療腫瘤呈對數生長時進行之腫瘤體積量測。

【0110】　用於偵測或測定至少一種生物標記物之不存在、存在或水準之術語「樣品」通常為腦組織、腦脊髓液、全血、血漿、血清、唾液、尿液、糞樣(stool)(例如糞便(feces))、淚液及任何其他體液(例如，如上文在「體液」之定義下所描述)，或組織樣品(例如，活體組織切片)，諸如皮膚、結腸樣品或手術切除組織。在一些實施例中，本發明所涵蓋之方法進一步包括在偵測或測定樣品中之至少一種標記物之不存在、存在或水準之前自個體獲得樣品。

【0111】　術語「敏化」意謂以允許用癌症療法(例如，抗免疫檢查點、化學治療及/或放射療法)更有效地治療相關癌症之方式改變癌細胞或腫瘤細胞。在一些實施例中，正常細胞不會被影響至導致正常細胞受到療法過度損傷之程度。根據

所屬領域已知之用於下文所述之特定治療及方法的方法量測對治療性治療之敏感性的增加或敏感性的降低，包括但不限於細胞增殖分析(Tanigawa 等人 (1982) *Cancer Res.* 42:2159-2164)及細胞死亡分析(Weisenthal 等人 (1984) *Cancer Res.* 94:161-173；Weisenthal 等人 (1985) *Cancer Treat Rep.* 69:615-632；Weisenthal 等人, Kaspers G J L, Pieters R, Twentyman P R, Weisenthal L M, Veerman A J P 編輯, Drug Resistance in Leukemia and Lymphoma. Langhorne, P A: Harwood Academic Publishers, 1993:415-432；Weisenthal (1994) *Contrib. Gynecol. Obstet.* 19:82-90)。亦可藉由量測一段時間內腫瘤大小之減小來量測動物之敏感性或抗性，例如，人類為 6 個月，且小鼠為 4-6 週。若與組合物或方法不存在下之治療敏感性或抗性相比，治療敏感性增加或抗性降低 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%或更多，諸如 2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、10 倍、15 倍、20 倍或更多，或介於兩者之間的任何範圍(包括端點)，則此類組合物或方法敏化對治療性治療之反應。對治療性治療之敏感性或抗性的測定係所屬領域中常規的，且在普通臨床醫師之技能範圍內。應當理解，本文所述之用於增強癌症療法功效之任何方法可同樣應用於使過度增生性或其他癌細胞(例如，抗性細胞)對癌症療法敏感之方法。

【0112】　術語「小分子」為所屬領域之術語且包括分子量小於約 1000 或分子量小於約 500 之分子。在一實施例中，小分子不僅僅包含肽鍵。在另一實施例中，小分子並非寡聚物。可針對活性進行篩選之示例性小分子化合物包括但不限於肽、肽模擬物、核酸、碳水化合物、小有機分子(例如聚乙醯類) (Cane 等人 (1998) *Science* 282:63-68)及天然產物提取物文庫。在另一實施例中，化合物為小有機非肽化合物。在另一實施例中，小分子並非生物合成的。

【0113】　術語「特異性結合」係指結合蛋白與預定抗原結合。通常，當藉由結合分析，諸如表面電漿子共振(SPR)技術，在 BIAcore™分析儀器中使用所關注

抗原作為分析物且結合蛋白作為配位體測定時，結合蛋白以約小於或等於約 5×10^{-4} M、小於或等於約 1×10^{-4} M、小於或等於約 5×10^{-5} M、小於或等於約 1×10^{-5} M、小於或等於約 5×10^{-6} M、小於或等於約 1×10^{-6} M、小於或等於約 5×10^{-7} M、小於或等於約 1×10^{-7} M、小於或等於約 5×10^{-8} M、小於或等於約 1×10^{-8} M、小於或等於約 5×10^{-9} M、小於或等於約 1×10^{-9} M、小於或等於約 5×10^{-10} M、小於或等於約 1×10^{-10} M、小於或等於約 5×10^{-11} M、小於或等於約 1×10^{-11} M、小於或等於約 5×10^{-12} M、小於或等於約 1×10^{-12} M 或更低，或介於兩者之間的任何範圍(包括端點)，諸如約 1-50 微莫耳、1-100 微莫耳、0.1-500 微莫耳及其類似值之親和力(K_D)結合。在一些實施例中，結合蛋白以比其結合除預定抗原或密切相關之抗原以外之非特異性抗原(例如，BSA、酪蛋白)的親和力大至少 1.1 倍、1.2 倍、1.3 倍、1.4 倍、1.5 倍、1.6 倍、1.7 倍、1.8 倍、1.9 倍、2.0 倍、2.5 倍、3.0 倍、3.5 倍、4.0 倍、4.5 倍、5.0 倍、6.0 倍、7.0 倍、8.0 倍、9.0 或 10.0 倍的親和力與預定抗原結合。片語「識別抗原之結合蛋白」及「對抗原具特異性之結合蛋白」在本文中可與術語「與抗原特異性結合之結合蛋白」互換使用。選擇性結合係一個相對術語，係指結合蛋白區分一種抗原與另一種抗原之結合，諸如特定家族成員或抗原標靶與相關家族成員或抗原標靶之結合的能力。舉例而言，實例部分中提供之分析資料表明，本文所述之結合蛋白特異性地結合 MAGEA1 免疫原性抗原決定基及/或選擇性地結合許多相關抗原決定基(例如，MAGEA1 免疫原性抗原決定基及密切相關之序列)，從而區分此類標靶與人類基因組中可用之眾多其他可能之抗原決定基。

【0114】　術語「個體」係指任何健康動物、哺乳動物或人類，或任何罹患以 MAGEA1 表現為特徵之病症之動物、哺乳動物或人類。術語「個體」可與「患者」互換。

【0115】　術語「存活」包括以下所有內容：存活至死亡，亦稱為總存活期(其

中死亡可能不考慮原因或與腫瘤相關)；「無復發存活期」(其中術語復發應包括局部復發及遠處復發)；無轉移存活期；無病存活期(其中術語疾病應包括癌症及與之相關之疾病)。該存活之長度可藉由參考定義之起點(例如診斷時間或治療開始時間)及終點(例如死亡、復發或轉移)來計算。此外，治療功效之標準可擴大到包括對化學療法之反應、存活概率、給定時段內之轉移概率及腫瘤復發概率。

【0116】 術語「協同作用」係指兩種或更多種藥劑(例如，本文所述之 MAGEA1 相關藥劑及用於治療與 MAGEA1 表現相關之病症之另一種療法)之組合作用大於單獨癌症藥劑/療法之單獨作用的總和。

【0117】 如本文所用，術語「T 細胞介導之反應」係指由 T 細胞介導之反應，包括效應 T 細胞(例如 $CD8^+$細胞)及輔助 T 細胞(例如 $CD4^+$細胞)。T 細胞介導之反應包括例如 T 細胞細胞毒性及增殖。

【0118】 「經轉錄之多核苷酸」或「核苷酸轉錄本」係與成熟 mRNA 之全部或一部分互補或同源之多核苷酸(例如，mRNA、hnRNA、cDNA 或此類 RNA 或 cDNA 之類似物)，該成熟 mRNA 藉由生物標記物核酸之轉錄及(若存在) RNA 轉錄本之正常轉錄後加工(例如剪接)以及 RNA 轉錄本之逆轉錄製成。

【0119】 「T 細胞」係一種免疫系統細胞，其在胸腺中成熟且產生 T 細胞受體(TCR)。T 細胞可為初始 T 細胞(未暴露於抗原；與 T_{CM} 相比，CD62L、CCR7、CD28、CD3、CD 127 及 CD45RA 表現增加，且 CD45RO 表現減少)、記憶 T 細胞(T_M) (經歷過抗原及壽命長)及效應細胞(經歷過抗原、細胞毒性)。T_M 可進一步分為中央記憶 T 細胞(T_{CM}，與初始 T 細胞相比，CD62L、CCR7、CD28、CD127、CD45RO 及 CD95 表現增加，且 CD54RA 表現減少)及效應記憶 T 細胞(T_{EM}，與初始 T 細胞或 T_{CM} 相比，CD62L、CCR7、CD28、CD45RA 表現減少，且 CD127 表現增加)子集。效應 T 細胞(T_E)係指經歷過抗原之 CD8+細胞毒性 T 淋巴球，與 T_{CM} 相比，CD62L、CCR7、CD28 之表現減少，且對顆粒酶及穿孔蛋白呈陽性。

其他示例性 T 細胞包括調控性 T 細胞，諸如 $CD4^+$ $CD25^+$ ($Foxp3^+$)調控性 T 細胞及 Tregl7 細胞，以及 Trl、Th3、$CD8^+CD28$ 及 Qa-1 限制性 T 細胞。

【0120】 習知 T 細胞(亦稱為 Tconv 或 Teff)具有效應功能(例如，分泌細胞介素、細胞毒性活性、抗自我識別及其類似功能)以藉助於其對一或多種 T 細胞受體之表現來增加免疫反應。Tcon 或 Teff 一般定義為任何非 Treg 之 T 細胞群體且包括例如初始 T 細胞、活化 T 細胞、記憶 T 細胞、靜息 Tcon 或已分化為例如 Th1 或 Th2 譜系之 Tcon。在一些實施例中，Teff 為非 Treg T 細胞之子集。在一些實施例中，Teff 為 CD4+ Teff 或 CD8+ Teff，諸如 CD4+輔助 T 淋巴球(例如，Th0、Th1、Tfh 或 Th17)及 CD8+細胞毒性 T 淋巴球。如本文進一步所述，細胞毒性 T 細胞為 CD8+ T 淋巴球。「初始 Tcon」為已在骨髓中分化且在胸腺中成功進行正向及負向中央選擇過程，但尚未藉由暴露於抗原而活化的 $CD4^+$ T 細胞。初始 Tcon 之特徵通常在於 L-選擇素(CD62L)之表面表現、活化標記物(諸如 CD25、CD44 或 CD69)之缺乏以及記憶標記物(諸如 CD45RO)之缺乏。因此，鹹信初始 Tcon 為靜止且非分裂的，需要介白素 7 (IL-7)及介白素 15 (IL-15)進行體內恆定存活(至少參見 WO 2010/101870)。在抑制免疫反應之背景下，此類細胞之存在及活性為非所需的。與 Treg 不同，Tcon 並非無反應性的且可回應於基於抗原之 T 細胞受體活化而增生(Lechler 等人 (2001) *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Biol. Sci.* 356:625-637)。

【0121】 「T 效應」(「T_{eff}」或「T_E」)細胞係指具有細胞溶解活性之 T 細胞(例如 CD4+及 CD8+ T 細胞)，以及分泌細胞介素且活化及指導其他免疫細胞之 T 輔助(Th)細胞，但不包括調控性 T 細胞(Treg 細胞)。

【0122】 「T 細胞受體」或「TCR」係指能夠結合(例如，特異性及/或選擇性)與 MHC 受體結合之抗原肽的免疫球蛋白超家族成員(具有可變結合域、恆定域、跨膜區及短細胞質尾；參見例如 Janeway 等人 (1997) *Curr. Biol. Publ.* 4:33)。TCR

可在細胞表面發現或以可溶形式存在，且通常由具有 α 及 β 鏈(亦分別稱為 TCRα 及 TCRβ)或 γ 及 δ 鏈(亦分別稱為 TCRγ 及 TCRδ)之異二聚體構成。與免疫球蛋白(例如抗體)一樣，TCR 鏈之胞外部分(例如 α 鏈及 β 鏈)含有兩個免疫球蛋白域：N 端之可變域(例如 α 鏈可變域或 V_α 及 β 鏈可變域或 V_β；通常為基於 Kabat 編號之胺基酸 1 至 116 (Kabat 等人 (1991)「Sequences of Proteins of lmmunological Interest, US Dept. Health and Human Services, Public Health Service National Institutes of Health, 第 5 版)，及在 C 端且與細胞膜相鄰之一個恆定域(例如，α 鏈恆定域或 C_α，通常為基於 Kabat 之胺基酸 117 至 259；β 鏈恆定域或 C_β，通常為基於 Kabat 之胺基酸 117 至 295)。亦與免疫球蛋白一樣，可變域含有由構架區(「FR」)分隔之互補決定區(「CDR」，亦稱為高變區或「HVR」)(參見例如 Fores 等人 (1990) *Proc. Natl. Acad Sci. US.A.* 87:9138；Chothia 等人 (1988) *EMBO J.* 7:3745；Lefranc 等人 (2003) *Dev. Comp. Immunol.* 27:55)。在一些實施例中，在 T 細胞(或 T 淋巴細胞)之表面上發現 TCR，且與 CD3 複合物締合。本發明涵蓋之 TCR 之來源可來自各種動物物種，諸如人類、小鼠、大鼠、兔或其他哺乳動物。

【0123】　術語「T 細胞受體」或「TCR」應理解為涵蓋完整 TCR 以及其抗原結合部分或抗原結合片段。在一些實施例中，TCR 為完整或全長 TCR，包括呈 αβ 形式或 γδ 形式之 TCR。在一些實施例中，TCR 為小於全長 TCR 但與 MHC 分子中結合之特定肽結合，諸如與 MHC-肽複合物結合之抗原結合部分。在一些情況下，TCR 之抗原結合部分或片段可僅含有全長或完整 TCR 之部分域，但仍能夠結合完整 TCR 所結合之肽抗原決定基，諸如 MHC-肽複合物。在一些情況下，抗原結合部分含有 TCR 之可變域，諸如 TCR 之可變 α 鏈及可變 β 鏈，該等可變域足以形成與特定 MHC-肽複合物結合之結合位點。一般而言，TCR 之可變鏈含有參與肽、MHC 及/或 MHC-肽複合物之識別的互補決定區(CDR)。

【0124】　國際免疫遺傳學資訊系統(IMGT)建立命名法(亦參見 Scaviner 及

Lefranc (2000) *Exp. Clin. Immunogenet.* 17:83-96 及 97-106；Folch 及 Lefranc (2000) *Exp. Clin. Immunogenet,* 17:107-114；T Cell Receptor Factsbook」, (2001) LeFranc 及 LeFranc, Academic Press, ISBN 0-12-441352-8)。IMGT 提供用於描述 TCR 之獨特序列，且本文所述之序列可藉由參考本文提供之此類獨特序列來鑑定。TCR 序列可在 imgt.org 之 IMGT 資料庫中公開獲得。

【0125】　如上所述，天然 α/β 異二聚體 TCR 具有 α 鏈及 β 鏈。廣義上，各條鏈包含可變區、接合區及恆定區，且 β 鏈通常在可變區與接合區之間亦含有短的多樣性區，但此多樣性區通常被認為係接合區之一部分。各可變區包含嵌入構架序列中之三個高變 CDR (互補決定區)。熟知 CDR3 為抗原識別之主要介體。存在若干種類型之 α 鏈可變(Vα)區及若干種類型之 β 鏈可變(Vβ)區，其藉由其構架、CDR1 及 CDR2 序列以及部分定義之 CDR3 序列來區分。Vα 類型在 IMGT 命名法中由獨特 TRAV 編號表示。例如，「TRAV4」定義一種 TCR Vα 區，其具有獨特構架及 CDR1 及 CDR2 序列，以及由在 TCR 之間保守之胺基酸序列部分定義但亦包括在 TCR 之間發生變化之胺基酸序列的 CDR3 序列。類似地，「TRBV2」定義一種 TCR Vβ 區，其具有獨特構架及 CDR1 及 CDR2 序列，但僅具有部分定義之 CDR3 序列。已知在 α 及 β 基因座內分別存在 54 個 α 可變基因，其中 44 個為功能性的，及 67 個 β 可變基因，其中 42 個為功能性的。

【0126】　類似地，TCR 之接合區由獨特 IMGT TRAJ 及 TRBJ 命名法定義，且恆定區由 IMGT TRAC 及 TRBC 命名法定義。β 鏈多樣性區在 IMGT 命名法中簡稱為 TRBD，且如前所述，串聯之 TRBD/TRBJ 區通常被一起視為接合區。

【0127】　編碼 TCR α 及 β 鏈之基因池位於不同染色體上，且含有獨立之 V、(D)、J 及 C 基因區段，此等基因區段在 T 細胞發育過程中藉由重排而聚集在一起。由於 54 個 TCR α 可變基因與 61 個 α J 基因之間或 67 個 β 可變基因、兩個 β D 基因及 13 個 β J 基因之間發生大量可能重組事件，所以此引起 T 細胞 α 及 β

鏈極高多樣性。重組過程並不精確，且在 CDR3 區內引入進一步多樣性。各 α 及 β 可變基因亦可包含對偶基因變異體，在 IMGT 命名法中分別指定為 TRAVxx*01 及*02，或 TRBVx-x*01 及*02，從而進一步增加變異量。同樣，一些 TRBJ 序列具有兩種已知之變異。(請注意，缺乏「*」限定符意謂相關序列只有一個對偶基因已知)。由重組及胸腺選擇產生之人類 TCR 之天然譜系估計包含大約 10^6 個獨特 β 鏈序列，由 CDR3 多樣性確定(Arstila 等人 (1999) *Science* 286:958-961)，且甚至可能更高(Robins 等人 (2009) *Blood* 114:4099-4107)。估計各 β 鏈與至少 25 條不同 α 鏈配對，從而產生進一步多樣性(Arstila 等人 (1999) Science 286:958-961)。

【0128】 因此，術語「TCR α 可變域」係指 TRAV 區及 TRAJ 區之串聯；僅 TRAV 區；或 TRAV 及部分 TRAJ 區，且術語 TCR α 恆定域係指胞外 TRAC 區，或 C 端截短或全長 TRAC 序列。同樣，術語「TCR β 可變域」係指 TRBV 區及 TRBD/TRBJ 區之串聯；僅 TRBV 區及 TRBD 區；僅 TRBV 區及 TRBJ 區；或 TRBV 區及部分 TRBD 區及/或 TRBJ 區，且術語 TCR β 恆定域係指胞外 TRBC 區，或 C 端截短或全長 TRBC 序列。此等 TCR α 可變域及 TCR β 可變域命名法分別類似地適用於 γ/δ TCR 之 TCR γ 及 TCR δ 鏈之可變域。普通技術人員可例如藉由可公開獲得之 IMGT 資料庫獲得 TRAV、TRAJ、TRAC、TRBV、TRBJ 及 TRBC 基因序列。

【0129】 術語「TCR 複合物」係指 CD3 與 TCR 締合形成之複合物。例如，TCR 複合物可由 CD3γ 鏈、CD3δ 鏈、兩條 CD3ε 鏈、CD3ζ 鏈之同源二聚體、TCRα 鏈及 TCRβ 鏈組成。或者，TCR 複合物可由 CD3γ 鏈、CD3δ 鏈、兩條 CD3ε 鏈、CD3ζ 鏈之同源二聚體、TCRγ 鏈及 TCRδ 鏈組成。

【0130】 術語「治療作用」係指藥理學活性物質在動物，尤其是哺乳動物，且更尤其在人類中引起之局部或全身作用。因此，該術語意謂意欲用於診斷、治癒、

緩解、治療或預防動物或人類之疾病或用於增強其所需身體或精神發育及狀況之任何物質。

【0131】 術語「治療有效量」及「有效量」意謂一種物質以適於任何治療之合理效益/風險比在動物中之至少一個細胞亞群中產生一些所需作用，諸如所需局部或全身治療作用的量。在一些實施例中，物質之治療有效量將視該物質之治療指數、溶解度、藥物動力學、半衰期及其類似因素而定。可在細胞培養物或實驗動物中藉由例如用於測定 LD_{50} 及 ED_{50} 之標準醫藥學程序來測定主題化合物之毒性及治療功效。在一些實施例中，使用展現大治療指數之組合物。在一些實施例中，可量測 LD_{50} (致死劑量)，且相對於不投與藥劑，其在投與藥劑時可例如降低至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%或更多。類似地，可量測 ED_{50} (亦即，達成症狀之半最大抑制之濃度)，且相對於不投與藥劑，其在投與藥劑時可例如增加至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%或或更多。類似地，亦可量測 IC_{50}，且相對於不投與藥劑，其在投與藥劑時可例如增加至少 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%、1000%或更多。在一些實施例中，在一種分析中，T 細胞免疫反應可增加至少約 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或甚至 100%。在另一實施例中，可實現病毒負荷量降低至少約 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或甚至 100%。

【0132】 術語「治療」係指所關注之疾患(例如，疾病或病症)的治療性管理或改善。治療可包括但不限於向個體投與藥劑或組合物(例如醫藥組合物)。通常進

行治療以努力以對個體有益之方式改變疾病之進程(該術語用於指示任何疾病、病症、症候群或需要或可能需要療法之不良狀況)。治療效果可包括逆轉、減輕疾病或疾病之一或多種症狀或表現、降低其嚴重性、延遲其發作、治癒其、抑制其進展及/或降低其發生或複發之可能性。理想之治療效果包括但不限於預防疾病發生或複發、減輕症狀、減少疾病之任何直接或間接病理後果、預防轉移、降低疾病進展速率、改善或緩解疾病狀態及緩解或改善預後。治療劑可投與至患有疾病或相對於一般人群成員具有增加之疾病發展風險之個體。在一些實施例中，可將治療劑投與至患有疾病但不再顯示疾病證據之個體。可投與藥劑，例如以降低明顯疾病復發之可能性。可預防性地投與治療劑，亦即，在疾病之任何症狀或表現出現之前投與。「預防性治療」係指為尚未患疾病或未顯示疾病證據之個體提供醫療及/或手術治療，以例如降低疾病發生之可能性或降低疾病發生時之嚴重程度。個體可能已被鑑定為處於顯現疾病之風險中(例如，相對於普通人群具有增加之風險或具有增加顯現疾病可能性之風險因素。

【0133】　術語「無反應性」包括癌細胞對療法之折射性，或治療性細胞，諸如免疫細胞對刺激，例如經由活化受體或細胞介素之刺激的折射性。可能會出現無反應性，例如由於暴露於免疫抑製劑或暴露於高劑量之抗原。如本文所用，術語「無能」或「耐受性」包括對活化受體介導之刺激的折射性。此折射性通常為抗原特異性的，且在停止暴露於耐受性抗原後仍然存在。舉例而言，T 細胞無能(與無反應性相對)之特徵在於缺乏例如 IL-2 之細胞介素之產生。當 T 細胞暴露於抗原且在無第二信號(共刺激信號)之情況下接收第一信號(T 細胞受體或 CD-3 介導之信號)時，會出現 T 細胞無能。在此等條件下，細胞再暴露於相同抗原(即使再暴露在共刺激多肽之存在下發生)導致不能產生細胞介素，因此不能增殖。然而，若與細胞介素(例如，IL-2)一起培養，無能 T 細胞可能會增殖。例如，藉由用 ELISA 或使用指示細胞株之增殖分析法量測到 T 淋巴球不產生 IL-2，亦可觀測到 T 細

胞無能。或者，可使用報導基因構築體。例如，無能 T 細胞無法啟動由 5' IL-2 基因增強子控制下之異源啟動子或增強子內可能發現之 AP1 序列多聚體誘導的 IL-2 基因轉錄(Kang 等人 (1992) *Science* 257:1134)。

【0134】　術語「疫苗」係指引發對所關注抗原之免疫反應之醫藥組合物。疫苗亦可對個體賦予保護性免疫。

【0135】　術語「可變區」或「可變域」係指與免疫球蛋白超家族結合蛋白(例如，TCR)與抗原之結合有關的免疫球蛋白超家族結合蛋白之域(例如，TCR α 鏈或 β 鏈(或對於 γδ TCR 為 γ 鏈及 δ 鏈))。天然 TCR 之 α 鏈及 β 鏈(分別為 V_α 及 V_β)之可變域通常具有相似之結構，各域均包含四個保守構架區(FR)及三個 CDR。V_α 域由兩個獨立之 DNA 區段，亦即可變基因區段及接合基因區段(V-J)編碼；V_β 域由三個獨立之 DNA 區段，亦即可變基因區段、多樣性基因區段及接合基因區段(V-D-J)編碼。單個 V_α 或 V_β 域可能足以賦予抗原結合特異性。此外，可使用 V_α 或 V_β 域自結合抗原之 TCR 中分離出結合特定抗原之 TCR，以分別篩選互補 V_α 或 V_β 域之文庫。

【0136】　術語「載體」係指能夠轉運與其連接之另一核酸之核酸分子。在一些實施例中，載體為游離基因組，亦即能夠進行染色體外複製之核酸。在一些實施例中，載體為能夠自主複製及/或表現與其連接之核酸之彼等載體。能夠引導可操作性連接之基因之表現的載體在本文中稱為「表現載體」。一般而言，在重組 DNA 技術中使用之表現載體通常呈「質體」形式，質體一般係指環狀雙股 DNA 環，其載體形式不與染色體結合。在本說明書中，「質體」及「載體」可互換使用，因為質體為最常用之載體形式。然而，如所屬領域之技術人員將瞭解，本發明意欲包括提供等效功能且隨後在所屬領域中為人所知的此類其他形式之表現載體。

【0137】　特定蛋白質之胺基酸序列與可編碼該蛋白質之核苷酸序列之間存在

已知且確定之對應關係，如由遺傳密碼所定義(如下所示)。同樣，特定核酸之核苷酸序列與由彼核酸編碼之胺基酸序列之間存在已知且確定之對應關係，如由遺傳密碼所定義。

遺傳密碼

丙胺酸(Ala、A)	GCA、GCC、GCG、GCT
精胺酸(Arg、R)	AGA、ACG、CGA、CGC、CGG、CGT
天冬醯胺(Asn、N)	AAC、AAT
天冬胺酸(Asp、D)	GAC、GAT
半胱胺酸(Cys、C)	TGC、TGT
麩胺酸(Glu、E)	GAA、GAG
麩醯胺(Gln、Q)	CAA、CAG
甘胺酸(Gly、G)	GGA、GGC、GGG、GGT
組胺酸(His、H)	CAC、CAT
異白胺酸(Ile、I)	ATA、ATC、ATT
白胺酸(Leu、L)	CTA、CTC、CTG、CTT、TTA、TTG
離胺酸(Lys、K)	AAA、AAG
甲硫胺酸(Met、M)	ATG
苯丙胺酸(Phe、F)	TTC、TTT
脯胺酸(Pro、P)	CCA、CCC、CCG、CCT
絲胺酸(Ser、S)	AGC、AGT、TCA、TCC、TCG、TCT
蘇胺酸(Thr、T)	ACA、ACC、ACG、ACT
色胺酸(Trp、W)	TGG
酪胺酸(Tyr、Y)	TAC、TAT
纈胺酸(Val、V)	GTA、GTC、GTG、GTT

終止信號(末端)　　TAA、TAG、TGA

【0138】　遺傳密碼之一個重要且熟知之特徵為其冗餘性，由此，對於用於製備蛋白質之大多數胺基酸而言，可採用多於一個編碼核苷酸三聯體(如上文所說明)。因此，許多不同核苷酸序列可編碼既定胺基酸序列。此類核苷酸序列被視為在功能上等效，因為其在所有生物體中產生相同胺基酸序列(儘管某些生物體可能比其他生物體更有效地轉譯一些序列)。此外，有時可在既定核苷酸序列中發現嘌呤或嘧啶之甲基化變異體。此類甲基化不影響三核苷酸密碼子與對應胺基酸之間的編碼關係。

【0139】　鑑於前述，可使用編碼生物標記物核酸(或其任何部分)之 DNA 或 RNA 之核苷酸序列，使用遺傳密碼將 DNA 或 RNA 轉譯成胺基酸序列來衍生多肽胺基酸序列。同樣，對於多肽胺基酸序列，可自遺傳密碼推斷出可編碼該多肽之對應核苷酸序列(由於其冗餘性，其將產生用於任何既定胺基酸序列之多個核酸序列)。因此，本文中對編碼多肽之核苷酸序列之描述及/或揭示應被視為亦包括對由該核苷酸序列編碼之胺基酸序列之描述及/或揭示。類似地，本文中對多肽胺基酸序列之描述及/或揭示應被視為亦包括對可編碼該胺基酸序列之所有可能核苷酸序列之描述及/或揭示。

II. 肽

【0140】　在某些態樣中，本文提供用於經由誘導針對 MAGEA1 或表現 MAGEA1 之細胞之免疫反應來治療及/或預防與 MAGEA1 表現相關之病症的方法及組合物，其涉及投與本文所述之 MAGEA1 免疫原性肽、編碼 MAGEA1 免疫原性肽之核酸及/或表現 MAGEA1 免疫原性肽之細胞。

【0141】　在某些實施例中，MAGEA1 免疫原性肽包含選自表 1，諸如表 1A 中所列之肽序列之肽抗原決定基(例如，由其組成)。本文所述之肽抗原決定基可與 MHC 分子，諸如具有特定 HLA α 鏈對偶基因之特定 HLA 分子組合。舉例而言，

表 1A 肽經鑑定與 α 鏈具有 HLA-C*07 血清型之 MHC，諸如由 HLA-C*0702 對偶基因編碼之 MHC 締合，如實例部分中進一步描述。在一些實施例中，MAGEA1 免疫原性肽可與 MHC 分子組合，其中該 MHC 分子包含 MHC α 鏈，該鏈為選自由 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 及 HLA-C*18 組成之群的 HLA 血清型，視情況其中 HLA 對偶基因係選自由以下組成之群：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 對偶基因、HLA-A*0301、HLA-A*0302、HLA-A*0305、HLA-A*0307、HLA-A*0101、HLA-A*0102、HLA-A*0103、HLA-A*0116 對偶基因、HLA-A*1101、HLA-A*1102、HLA-A*1103、HLA-A*1104、HLA-A*1105、HLA-A*1119 對偶基因、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 對偶基因、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 及 HLA-C*1403 對偶基因。在一些實施例中，MAGEA1 免疫原性肽源自人類 MAGEA1 蛋白及/或表 3 中所

示之 MAGEA1 蛋白。在一些實施例中，一或多種 MAGEA1 免疫原性肽單獨或與佐劑組合投與。

【0142】　在某些態樣中，提供包含一或多種本文所述之 MAGEA1 免疫原性肽及佐劑的組合物。

表 1：MAGEA1 抗原決定基

表 1A

由 HLA 血清型 HLA-C*07 呈現之 MAGEA1 抗原決定基(粗體抗原決定基突出顯示本文所述之反應性)

肽抗原決定基
VRFFFPSL
FFFPSLREA
ARVRFFFPSL
VRFFFPSLR
RVRFFFPSL
RVRFFFPSLR
FFPSLREA
ARVRFFFPSLR
SARVRFFF
VRFFFPSLREA
RFFFPSLREA

*表 1，諸如表 1A 中包括肽抗原決定基，以及包含在全長上與表 1，諸如表 1A 中所列之任何序列之胺基酸序列或其一部分具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或更大一致性的胺基酸序列的多肽分子。此類多肽可具有本文進一步描述之全長肽或多肽之功能。

【0143】　在一些實施例中，本文提供 MAGEA1 多肽及/或編碼 MAGEA1 多肽之核酸。在一些實施例中，MAGEA1 多肽為包括長度足以引發 MAGEA1 特異性免疫反應之胺基酸序列之多肽。在某些實施例中，MAGEA1 多肽亦包括不對應於該胺基酸序列之胺基酸(例如，包含 MAGEA1 胺基酸序列及對應於非 MAGEA1 蛋白或多肽之胺基酸序列的融合蛋白)。在一些實施例中，MAGEA1 多

肽僅包括對應於 MAGEA1 蛋白或其片段之胺基酸序列。

【0144】 在一些實施例中，MAGEA1 多肽之胺基酸序列包含、基本上由以下組成或由以下組成：MAGEA1 蛋白胺基酸序列，諸如表 3 中所闡述之彼等胺基酸序列的至少 8 個、9 個、10 個、11 個、12 個、13 個、14 個、15 個、16 個、17 個、18 個、19 個、20 個、21 個、22 個、23 個、24 個、25 個、26 個、27 個、28 個、29 個、30 個、31 個、32 個、33 個、34 個、35 個、36 個、37 個、38 個、39 個、40 個、41 個、42 個、43 個、44 45 個、46 個、47 個、48 個、49 個、50 個、51 個、52 個、53 個、54 個、55 個、56 個、57 個、58 個、59 個、60 個、61 個、62 個、63 個、64 個、65 個、66 個、67 個、68 個、69 個、70 個、71 個、72 個、73 個、74 個、75 個、76 個、77 個、78 個、79 個、80 個、81 個、82 個、83 個、84 個、85 個、86 個、87 個、88 個、89 個、90 個、91 個、92 個、93 個、94 個、95 個、96 個、97 個、98 個、99 個、100 個、110 個、120 個、130 個、140 個、150 個、160 個、170 個、180 個、190 個、200 個、210 個、220 個、230 個、240 個、250 個、260 個、270 個、280 個、290 個、300 個、310 個、320 個、330 個、340 個、350 個、360 個、370 個、373 個或更多個，或介於兩者之間的任何範圍(例如，7-25、8-22、9-22 等) (包括端點)連續胺基酸。在一些實施例中，連續胺基酸與表 3 中所闡述之 MAGEA1 之胺基酸序列一致。在一些實施例中，MAGEA1 多肽包含選自由表 1，諸如表 1A 中所列之 MAGEA1 肽抗原決定基組成之群的一或多種肽抗原決定基，基本上由其組成或由其組成。

【0145】 如所屬領域之技術人員所熟知，具有顯著序列相似性之多肽可在宿主動物中引起一致或非常相似之免疫反應。因此，在一些實施例中，本文所述之 MAGEA1 免疫原性肽或其片段之衍生物、等效物、變異體、片段或突變體亦可適用於本文所提供之方法及組合物。

【0146】 在一些實施例中，本文提供 MAGEA1 免疫原性多肽之變化形式或衍

生物。改變之多肽可具有例如藉由保守取代改變之胺基酸序列，但仍然引發與未改變蛋白質抗原反應之免疫反應，且被視為功能等效物。如本文所用，術語「保守取代」表示胺基酸殘基經另一生物學相似殘基置換。所屬領域中熟知，同一保守組內之胺基酸通常可彼此取代而不實質上影響蛋白質之功能。根據某些實施例，MAGEA1 免疫原性肽之配位體結合域之衍生物、等效物、變異體或突變體為與本文所述之 MAGEA1 免疫原性肽或其片段之序列至少 85%同源的多肽。在一些實施例中，同源性為至少 90%、至少 95%、至少 98%或更高。

【0147】　本發明所涵蓋之免疫原性肽可包含源自 MAGEA1 蛋白之肽抗原決定基，諸如表 1，諸如表 A 中所列之彼等肽抗原決定基。在一些實施例中，免疫原性肽長度為 8 個、9 個、10 個、11 個、12 個、13 個、14 個或 15 個胺基酸。在一些實施例中，肽胺基酸序列經修飾，其可包括保守或非保守突變。肽可包含至多 1 個、2 個、3 個、4 個或更多個突變。在一些實施例中，肽可包含至少 1 個、2 個、3 個、4 個或更多個突變。

【0148】　在一些實施例中，肽可經化學修飾。舉例而言，可使肽發生突變以修飾肽特性，諸如可偵測性、穩定性、生物分佈、藥物動力學、半衰期、表面電荷、疏水性、結合位點、pH、功能及其類似特性。N-甲基化係可在本揭示案之肽中發生之甲基化之一個實例。在一些實施例中，可藉由對遊離胺進行甲基化，諸如藉由用甲醛及氰基硼氫化鈉進行還原甲基化來修飾肽。

【0149】　化學修飾可包含聚合物、聚醚、聚乙二醇、生物聚合物、兩性離子聚合物、聚胺基酸、脂肪酸、樹枝狀聚合物、Fc 區、簡單飽和碳鏈(諸如棕櫚酸酯或肉豆蔻酸酯)或白蛋白。具有 Fc 區之肽之化學修飾可為融合 Fc-肽。聚胺基酸可包括例如具有重複之單個胺基酸之聚胺基酸序列(例如聚甘胺酸)，及具有可遵循或可不遵循一模式之混合聚胺基酸序列之聚胺基酸序列，或前述之任何組合。在一些實施例中，本揭示案所涵蓋之肽可經修飾，使得該修飾增加肽之穩定性及

/或半衰期。在一些實施例中，可使用疏水部分之附接(諸如附接至 N 端、C 端或內部胺基酸)來延長本揭示案所涵蓋之肽之半衰期。在其他實施例中，肽可包括可影響例如血清半衰期之轉譯後修飾(例如，甲基化及/或醯胺化)。在一些實施例中，簡單碳鏈(例如，藉由肉豆蔻醯化及/或棕櫚醯化)可與融合蛋白或肽結合。在一些實施例中，簡單碳鏈可使融合蛋白或肽易於與未結合材料分離。舉例而言，可用於使融合蛋白或肽與未結合材料分離之方法包括但不限於溶劑萃取及逆相層析。親脂部分可經由與血清白蛋白可逆結合來延長半衰期。經結合之部分可為經由與血清白蛋白可逆結合來延長肽之半衰期的親脂部分。在一些實施例中，親脂部分可為膽固醇或膽固醇衍生物，包括膽甾烯、膽甾烷、膽甾二烯及氧化固醇。在一些實施例中，肽可與肉豆蔻酸(十四酸)或其衍生物結合。在其他實施例中，肽可與半衰期修飾劑偶合(例如，結合)。半衰期修飾劑之實例包括但不限於：聚合物、聚乙二醇(PEG)、羥乙基澱粉、聚乙烯醇、水溶性聚合物、兩性離子水溶性聚合物、水溶性聚(胺基酸)、脯胺酸、丙胺酸及絲胺酸之水溶性聚合物、含有甘胺酸、麩胺酸及絲胺酸之水溶性聚合物、Fc 區、脂肪酸、棕櫚酸、或與白蛋白結合之分子。在一些實施例中，間隔子或連接子可與肽偶合，諸如用作間隔子或連接子之 1 個、2 個、3 個、4 個或更多個胺基酸殘基，以便促進與另一分子之結合或融合，以及促進肽自此類結合或融合之分子裂解。在一些實施例中，融合蛋白或肽可與例如可修飾或實現肽之特性之變化的其他部分結合。

【0150】　在一些實施例中，肽可與部分共價連接。在一些實施例中，共價連接之部分包含親和力標籤或標記。親和力標籤可選自由以下組成之群：麩胱甘肽-S-轉移酶(GST)、鈣調蛋白結合蛋白(CBP)、蛋白 C 標籤、Myc 標籤、HaloTag、HA 標籤、Flag®標籤、His 標籤、生物素標籤及 V5 標籤。標記可為螢光蛋白。在一些實施例中，共價連接之部分係選自由以下組成之群：致炎因子、抗炎劑、細胞介素、毒素、細胞毒性分子、放射性同位素或抗體，諸如單鏈 Fv。

【0151】 肽可與用於成像、研究、治療學、治療診斷學、醫藥學、化學療法、螯合療法、靶向藥物遞送及放射療法之劑結合。在一些實施例中，肽可與可偵測劑結合或融合，該等可偵測劑諸如螢光團、近紅外染料、對比劑、奈米粒子、含金屬奈米粒子、金屬螯合物、X 射線對比劑、PET 劑、金屬、放射性同位素、染料、放射性核素螯合劑或可用於成像之另一合適材料。在一些實施例中，1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個或更多個可偵測部分可連接至肽。放射性同位素之非限制性實例包括 α 發射體、β 發射體、正電子發射體及 γ 發射體。在一些實施例中，金屬或放射性同位素係選自由以下組成之群：錒、鋂、鈽、鎘、鉳、鈷、銪、釓、銩、鉛、鐨、錳、鈀、釙、鐳、釕、釤、鍶、鎝、鉑及釔。在一些實施例中，金屬為錒、鈽、鉛、鐳、鍶、釤或釔。在一些實施例中，放射性同位素為錒-225 或鉛-212。在一些實施例中，近紅外染料不容易由生物組織及體液淬滅。在一些實施例中，螢光團係發射波長在 650 nm 與 4000 nm 之間的電磁輻射之螢光劑，此類發射用於偵測此類劑。可用作結合分子之螢光染料之非限制性實例包括 DyLight®-680、DyLight®-750、VivoTag®-750、DyLight®-800、IRDye®-800、VivoTag®-680、Cy5.5、ZQ800 或靛青綠(ICG)。在一些實施例中，近紅外染料通常包括花青染料(例如，Cy7、Cy5.5 及 Cy5)。用作根據本揭示案之結合分子之螢光染料的額外非限制性實例包括吖啶橙或吖啶黃、Alexa Fluors® (例如，Alexa Fluor® 790、750、700、680、660 及 647)及其任何衍生物、7-放線菌素 D、8-苯胺基萘-1-磺酸、ATTO 染料及其任何衍生物、金胺-若丹明染色劑及其任何衍生物、苯蒽酮(bensantrhone)、比曼恩(bimane)、9-10-雙(苯基乙炔基)蒽、5,12-雙(苯基乙炔基)萘、雙苯甲醯亞胺、腦彩虹、鈣黃綠素、羧基螢光素及其任何衍生物、1-氯-9,10-雙(苯基乙炔基)蒽及其任何衍生物、DAPI、DiOC6、DyLight Fluors 及其任何衍生物、艾吡可酮(epicocconone)、溴化乙錠、FlAsH-EDT2、Fluo dye 及其任何衍生物、FluoProbe 及其任何衍生物、螢

光素及其任何衍生物、Fura 及其任何衍生物、GelGreen 及其任何衍生物、GelRed 及其任何衍生物、螢光蛋白及其任何衍生物、m 同功型蛋白及其任何衍生物(諸如 mCherry)、赫他明(hetamethine)染料及其任何衍生物、郝思特(hoeschst)染色劑、亞胺基香豆素、印度黃、indo-1 及其任何衍生物、來若丹(laurdan)、螢光黃及其任何衍生物、螢光素及其任何衍生物、螢光素酶及其任何衍生物、部花青及其任何衍生物、尼羅染料(nile dye)及其任何衍生物、芘、焰紅染料(phloxine)、藻染料及其任何衍生物、碘化丙啶、比染因(pyranine)、若丹明及其任何衍生物、核糖綠、RoGFP、紅螢烯、二苯乙烯及其任何衍生物、磺醯若丹明及其任何衍生物、SYBR™及其任何衍生物、突觸-pH 敏感性綠色螢光蛋白(synapto-pHluorin)、四苯基丁二烯、tris 四鈉、德州紅(Texas Red)、達旦黃(Titan Yellow)、TSQ、纖形酮、紫蔥酮、黃色螢光蛋白及 YOYO-1。其他合適螢光染料包括但不限於螢光素及螢光素染料(例如，異硫氰酸螢光素或 FITC、萘基螢光素、4',5'-二氯-2',7'-二甲氧基螢光素、6-羧基螢光素或 FAM 等)、羧花青、部花青、苯乙烯染料、氧雜菁染料(oxonol dye)、藻紅蛋白、紅螢素、曙紅、若丹明染料(例如，羧基四甲基-若丹明或 TAMRA、羧基若丹明 6G、羧基-X-若丹明(ROX)、麗絲胺若丹明 B (lissamine rhodamine B)、若丹明 6G、若丹明綠、若丹明紅、四甲基若丹明(TMR)等)、香豆素及香豆素染料(例如，甲氧基香豆素、二烷基胺基香豆素、羥基香豆素、胺基甲基香豆素(AMCA)等)、Oregon Green®染料(例如，Oregon Green® 488、Oregon Green® 500、Oregon Green® 514 等)、德州紅、德州紅-X、SPECTRUM RED、SPECTRUM GREEN、花青染料(例如，CY-3、Cy-5、CY-3.5、CY-5.5 等)、ALEXA FLUOR®染料(例如，ALEXA FLUOR® 350、ALEXA FLUOR® 488、ALEXA FLUOR® 532、ALEXA FLUOR® 546、ALEXA FLUOR® 568、ALEXA FLUOR® 594、ALEXA FLUOR® 633、ALEXA FLUOR® 660、ALEXA FLUOR® 680 等)、BODIPY®染料(例如，BODIPY® FL、BODIPY® R6G、BODIPY® TMR、

BODIPY® TR、BODIPY® 530/550、BODIPY® 558/568、BODIPY® 564/570、BODIPY® 576/589、BODIPY® 581/591、BODIPY® 630/650、BODIPY® 650/665等)、IRDye (例如，IRD40、IRD 700、IRD 800 等)及其類似物。額外合適之可偵測劑描述於 PCT/US14/56177 中。放射性同位素之非限制性實例包括 α 發射體、β 發射體、正電子發射體及 γ 發射體。在一些實施例中，金屬或放射性同位素係選自由以下組成之群：鋼、鋂、鉍、鎘、鉿、鈷、銪、釓、銥、鉛、鐒、錳、鈀、釙、鐳、釔、釤、鍶、鎝、鉈及釩。在一些實施例中，金屬為鋼、鉍、鉛、鐳、鍶、釤或釩。在一些實施例中，放射性同位素為鋼-225 或鉛-212。

【0152】　肽可與放射增敏劑或光敏劑結合。放射增敏劑之實例包括但不限於：ABT-263、ABT-199、WEHI-539、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、卡鉑(carboplatin)、順鉑(cisplatin)、奧沙利鉑(oxaliplatin)、吉西他濱(gemcitabine)、依他硝唑(etanidazole)、米索硝唑(misonidazole)、替拉紮明(tirapazamine)及核酸鹼基衍生物(例如，鹵化嘌呤或嘧啶，諸如 5-氟去氧尿苷)。光敏劑之實例包括但不限於：發光時產生熱之螢光分子或珠粒、奈米粒子、卟啉及卟啉衍生物(例如，二氫卟酚、細菌綠素(bacteriochlorin)、異細菌綠素、酞青及萘酞青)、金屬卟啉、金屬酞青、白芷素、硫屬元素呱喃鹽染料(chalcogenapyrrillium dye)、葉綠素、香豆素、黃素及相關化合物(諸如咯嗪及核黃素)、富勒烯(fullerene)、去鎂葉綠素酸(pheophorbide)、焦去鎂葉綠素酸、花青(例如，部花青 540)、去鎂葉綠素、噻吩啉(sapphyrin)、特沙吩啉(texaphyrin)、紫紅素(purpurin)、卟啉烯、吩噻嗪鎓(phenothiazinium)、亞甲藍衍生物、萘二甲醯亞胺、尼羅藍衍生物、醌類、芘醌(例如金絲桃素(hypericin)、竹紅菌素(hypocrellin)及尾孢菌素(cercosporin))、補骨脂素(psoralen)、醌類、類視色素(retinoid)、若丹明、噻吩、威爾丁(verdin)、呫噸染料(xanthene dye) (例如曙紅、紅螢素、孟加拉玫紅(rose bengal))、卟啉之二聚物及寡聚物形式，以及諸如 5-胺基乙醯丙酸之前藥。有利地，此方法允許同時使

用治療劑(例如，藥物)及電磁能(例如，輻射或光)兩者高特異性靶向所關注細胞(例如，免疫細胞)。在一些實施例中，肽與該劑融合，或與該劑共價或非共價連接，例如直接連接或經由連接子連接。

【0153】 在一些實施例中，結合蛋白可經化學修飾。舉例而言，可使結合蛋白發生突變以修飾肽特性，諸如可偵測性、穩定性、生物分佈、藥物動力學、半衰期、表面電荷、疏水性、結合位點、pH、功能及其類似特性。N-甲基化係可在本發明所涵蓋之結合蛋白中發生之甲基化之一個實例。在一些實施例中，可藉由對遊離胺進行甲基化，諸如藉由用甲醛及氰基硼氫化鈉進行還原甲基化來修飾結合蛋白。

【0154】 化學修飾可包含聚合物、聚醚、聚乙二醇、生物聚合物、兩性離子聚合物、聚胺基酸、脂肪酸、樹枝狀聚合物、Fc 區、簡單飽和碳鏈(諸如棕櫚酸酯或肉豆蔻酸酯)或白蛋白。具有 Fc 區之結合蛋白之化學修飾可為融合 Fc-蛋白。聚胺基酸可包括例如具有重複之單個胺基酸之聚胺基酸序列(例如聚甘胺酸)，及具有可遵循或可不遵循一模式之混合聚胺基酸序列之聚胺基酸序列，或前述之任何組合。

【0155】 在一些實施例中，本發明所涵蓋之結合蛋白可經修飾。在一些實施例中，該等修飾與親本結合蛋白具有實質或顯著序列一致性以產生維持親本結合蛋白之一或多種生物物理及/或生物學活性(例如，維持 pMHC 結合特異性)之功能變異體。在一些實施例中，突變為保守胺基酸取代。

【0156】 在一些實施例中，本發明所涵蓋之結合蛋白可包含合成胺基酸來替代一或多個天然存在之胺基酸。此類合成胺基酸係所屬領域中熟知的，且包括例如胺基環己烷甲酸、正白胺酸、a-胺基正癸酸、高絲胺酸、S-乙醯胺基甲基-半胱胺酸、反式-3-羥基脯胺酸及反式-4-羥基脯胺酸、4-胺基苯丙胺酸、4-硝基苯丙胺酸、4-氯苯丙胺酸、4-羧基苯丙胺酸、β-苯基絲胺酸 β-羥基苯丙胺酸、苯基甘胺

酸、a-萘基丙胺酸、環己基丙胺酸、環己基甘胺酸、吲哚啉-2-甲酸、1,2,3,4-四氫異喹啉-3-甲酸、胺基丙二酸、胺基丙二酸單醯胺、N'-苯甲基-N'-甲基-離胺酸、N',N'-二苯甲基-離胺酸、6-羥基離胺酸、鳥胺酸、a-胺基環戊烷甲酸、oc-胺基環己烷甲酸、a-胺基環庚烷甲酸、a-(2-胺基-2-降莰烷)-甲酸、α,γ-二胺基丁酸、β-二胺基丙酸、高苯丙胺酸及 oc-第三丁基甘胺酸。

【0157】 本發明所涵蓋之結合蛋白可經糖基化、醯胺化、羧化、磷酸化、酯化、N-醯化、環化(例如，經由二硫橋)，或轉化為酸加成鹽，及/或視情況二聚化或聚合或結合。

【0158】 在一些實施例中，可使用疏水性部分之附接(諸如附接至 N 端、C 端或內部胺基酸)來延長本發明所涵蓋之肽之半衰期。在其他實施例中，結合蛋白可包括可影響例如血清半衰期之轉譯後修飾(例如，甲基化及/或醯胺化)。在一些實施例中，簡單碳鏈(例如，藉由肉豆蔻醯化及/或棕櫚醯化)可與結合蛋白結合。在一些實施例中，簡單碳鏈可使結合蛋白容易與未結合材料分離。舉例而言，可用於使結合蛋白與未結合材料分離之方法包括但不限於溶劑萃取及逆相層析。親脂部分可經由與血清白蛋白可逆結合來延長半衰期。經結合之部分可為經由與血清白蛋白可逆結合來延長肽之半衰期的親脂部分。在一些實施例中，親脂部分可為膽固醇或膽固醇衍生物，包括膽甾烯、膽甾烷、膽甾二烯及氧化固醇。在一些實施例中，結合蛋白可與肉豆蔻酸(十四烷酸)或其衍生物結合。在其他實施例中，結合蛋白可與半衰期修飾劑偶合(例如，結合)。半衰期修飾劑之實例包括但不限於：聚合物、聚乙二醇(PEG)、羥乙基澱粉、聚乙烯醇、水溶性聚合物、兩性離子水溶性聚合物、水溶性聚(胺基酸)、脯胺酸、丙胺酸及絲胺酸之水溶性聚合物、含有甘胺酸、麩胺酸及絲胺酸之水溶性聚合物、Fc 區、脂肪酸、棕櫚酸、或與白蛋白結合之分子。在一些實施例中，間隔子或連接子可與結合蛋白偶合，諸如用作間隔子或連接子之 1 個、2 個、3 個、4 個或更多個胺基酸殘基，以

便促進與另一分子之結合或融合，以及促進肽自此類結合或融合之分子裂解。在一些實施例中，結合蛋白可與例如可修飾或實現結合蛋白之特性之變化的其他部分結合。

【0159】 蛋白質，諸如肽可諸如藉由固相肽合成或溶液相肽合成以重組或合成方式產生。可藉由已知之合成方法，諸如使用芴基甲氧羰基(Fmoc)化學或藉由丁氧羰基(Boc)化學來進行肽合成。肽片段可以酶或合成方式接合在一起。

【0160】 在本發明所涵蓋之一態樣中，本文提供產生本文所述之蛋白質之方法，其包括以下步驟：(i)在適合允許結合蛋白表現之條件下培養經轉型之宿主細胞，該宿主細胞已藉由包含編碼該結合蛋白之序列之核酸轉型；及(ii)回收所表現之結合蛋白。

【0161】 舉例而言，可用於分離及純化重組產生之結合蛋白之方法可包括自將結合蛋白分泌至培養基中之合適宿主細胞/載體系統獲得上清液，及接著使用市售過濾器濃縮培養基。濃縮後，可將濃縮物應用於單一合適純化基質或一系列合適基質，諸如親和力基質或離子交換樹脂。可採用一或多個逆相 HPLC 步驟來進一步純化重組多肽。當自天然環境中分離免疫原時，亦可使用此等純化方法。用於大規模製造本文所述之一或多種結合蛋白之方法包括批量細胞培養，對其進行監測及控制以維持適當培養條件。可根據本文中所描述且在所屬領域中已知之方法來純化結合蛋白。

【0162】 在一些實施例中，本文提供一種編碼本文所述之 MAGEA1 免疫原性多肽或其片段之核酸，諸如編碼 MAGEA1 免疫原性肽之 DNA 分子。在一些實施例中，組合物包含表現載體，該表現載體包含編碼本文所述之 MAGEA1 免疫原性肽或其片段之開讀框。在一些實施例中，核酸包括表現開讀框所必需之調控元件。此類元件可包括例如啟動子、起始密碼子、終止密碼子及聚腺苷酸化信號。另外，可包括增強子。此等元件可操作地連接至編碼 MAGEA1 免疫原性多肽或

其片段之序列。下文進一步描述用於表現諸如肽之蛋白質之代表性載體、啟動子、調節元件及其類似物。

III. MHC-肽複合物

【0163】 在某些態樣中，提供包含本文所述之 MAGEA1 免疫原性肽及 MHC 分子之組合物。在一些實施例中，MAGEA1 免疫原性肽與 MHC 分子形成穩定複合物。

【0164】 MHC 蛋白可與諸如偵測部分、放射增敏劑、光敏劑及其類似物之試劑結合，及/或可如上文關於肽所述進行化學修飾。

【0165】 在本揭示案所涵蓋之組合物及方法中提供且使用之 MHC 蛋白可為所屬領域中已知之任何合適 MHC 分子。一般而言，其具有式$(\alpha\text{-}\beta\text{-}P)_n$，其中 n 至少為 2，例如在 2-10 之間，例如 4。α 為 I 類或 II 類 MHC 蛋白之 α 鏈。β 為 β 鏈，本文中定義為 II 類 MHC 蛋白之 β 鏈或 MHC I 類蛋白之 β_2 微球蛋白。P 為肽抗原。

【0166】 在一些實施例中，MHC 蛋白為 MHC I 類複合物，諸如 HLA I 複合物。

【0167】 MHC 蛋白可來自任何哺乳動物或鳥類物種，例如靈長類物種，尤其人類；嚙齒類動物，包括小鼠、大鼠及倉鼠；兔；馬、牛、犬、貓等。舉例而言，MHC 蛋白可源自人類 HLA 蛋白或鼠科動物 H-2 蛋白。HLA 蛋白包括 II 類次單元 HLA-DPα、HLA-DPβ、HLA-DQα、HLA-DQβ、HLA-DRα 及 HLA-DRβ，及 I 類蛋白 HLA-A、HLA-B、HLA-C 及 β2-微球蛋白。H-2 蛋白包括 I 類次單元 H-2K、H-2D、H-2L，及 II 類次單元 I-Aα、I-Aβ、I-Eα 及 I-Eβ 及 β2-微球蛋白。一些代表性 MHC 蛋白之序列可見於 Kabat 等人 Sequences of Proteins of Immunological Interest, NIH 公開案第 91-3242 號, 第 724-815 頁中。適合用於本發明之 MHC 蛋白次單元係正常膜結合蛋白之可溶性形式，其如所屬領域中已知

來製備，例如藉由跨膜域及細胞質域之缺失來製備。

【0168】　對於 I 類蛋白，可溶性形式可包括 α1、α2 及 α3 域。可溶性 II 類次單元可包括 α 次單元之 α1 及 α2 域，以及 β 次單元之 β1 及 β2 域。

【0169】　α 及 β 次單元可分開產生且允許活體外締合以形成穩定異源雙股複合物，或兩個次單元可在單一細胞中表現。用於產生 MHC 次單元之方法係所屬領域中已知的。

【0170】　在某些實施例中，MHC-肽複合物包含選自表 1 之肽抗原決定基及 MHC。在一些實施例中，MHC 分子包含 MHC α 鏈，該鏈為選自由 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 及 HLA-C*18 組成之群的 HLA 血清型，視情況其中 HLA 對偶基因係選自由以下組成之群：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 對偶基因、HLA-A*0301、HLA-A*0302、HLA-A*0305、HLA-A*0307、HLA-A*0101、HLA-A*0102、HLA-A*0103、HLA-A*0116 對偶基因、HLA-A*1101、HLA-A*1102、HLA-A*1103、HLA-A*1104、HLA-A*1105、HLA-A*1119 對偶基因、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 對偶基因、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 及 HLA-C*1403 對偶基因。在一些實施例中，MHC-肽複合物包含選自表 1A 之肽抗原決定基及 α 鏈具有 HLA-C*07 血清型之 MHC，諸如由 HLA-C*0702、HLA-C*0701 及/或 HLA-C*0704 對偶基因編碼之 MHC。

【0171】 為製備 MHC-肽複合物，該等次單元可與抗原肽組合，且允許在活體外折疊以形成具有鏈內二硫鍵鍵結域之穩定異源二聚體複合物。肽可包括於初始折疊反應中，或可在隨後步驟中添加至空異源二聚體中。在本發明所涵蓋之組合物及方法中，此肽為 MAGEA1 免疫原性肽或其片段。允許次單元及肽進行折疊及締合之條件係所屬領域中已知的。作為一個實例，可將大致等莫耳量之經溶解 α 及 β 次單元混合在尿素溶液中。藉由稀釋或透析至不含尿素之緩衝溶液中來起始再折疊。可在約 pH 5 至 5.5 下將肽裝載至空 II 類異源二聚體中持續約 1 至 3 天，接著進行中和、濃縮及緩衝液交換。然而，特定折疊條件對於本發明之實踐並非關鍵。

【0172】 單體複合物(α-β-P) (本文為單體)可多聚化，例如 MHC 四聚體。所得多聚體在長時段內穩定。較佳地，可藉由使單體經由 α 或 β 次單元上之特定附接位點與多價實體結合來形成多聚體，如所屬領域中已知(例如，如美國專利第 5,635,363 號中所述)。無論單體形式抑或多聚體形式，MHC 蛋白亦可與珠粒或任何其他支撐物結合。

【0173】 多聚體複合物可經標記，以便在用於免疫染色或所屬領域中已知之其他方法時可直接進行偵測，或可如所屬領域中已知，與特異性及/或選擇性地結合該複合物(例如，與 MHC 蛋白次單元結合)之第二經標記之免疫試劑聯合使用。舉例而言，可偵測標記可為螢光團，諸如異硫氰酸螢光素(FITC)、若丹明、

德州紅、藻紅蛋白(PE)、異藻藍蛋白(APC)、Brilliant Violet™ 421、Brilliant UV™ 395、Brilliant Violet™ 480、Brilliant Violet™ 421 (BV421)、Brilliant Blue™ 515、APC-R700 或 APC-Fire750。在一些實施例中，多聚體複合物由能夠特異性及/或選擇性地結合另一部分之部分標記。舉例而言，標記可為生物素、卵白素、寡核苷酸或配位體。其他所關注標記可包括螢光染料、染料、酶、化學發光劑、粒子、放射性同位素或其他直接或間接可偵測劑。

【0174】 在一些實施例中，藉由用包含將重組或異源抗原編碼至細胞中之核酸之載體(例如，病毒載體)轉染或轉導細胞來產生將在 MHC 分子背景中之免疫原性肽呈現於細胞表面上之細胞。在一些實施例中，載體在如下條件下引入至該細胞中，其中一或多種肽抗原(在一些情況下，包括所表現之異源蛋白之一或多種肽抗原)在主要組織相容性複合體(MHC)分子之背景中由該細胞表現、經加工且呈現於細胞表面上。

【0175】 一般而言，載體接觸之細胞為表現 MHC 之細胞，亦即 MHC 表現細胞。該細胞可為如下細胞，其通常在細胞表面上表現 MHC，經誘導在細胞表面上表現 MHC 及/或上調 MHC 表現，或經工程改造以在細胞表面上表現 MHC 分子。在一些實施例中，MHC 含有在一些情況下可與多肽之肽抗原複合之多型性肽結合位點或結合槽，該等肽抗原包括由細胞機制加工之肽抗原。在一些情況下，MHC 分子可在細胞表面上呈現或表現，包括呈肽複合物，亦即 MHC-肽複合物之形式，從而呈現呈可由 T 細胞上之 TCR 或其他肽結合分子識別之構形的抗原。

【0176】 在一些實施例中，細胞為有核細胞。在一些實施例中，細胞為抗原呈現細胞。在一些實施例中，細胞為巨噬細胞、樹突狀細胞、B 細胞、內皮細胞或纖維母細胞。在一些實施例中，細胞為內皮細胞，諸如內皮細胞株或初級內皮細胞。在一些實施例中，細胞為纖維母細胞，諸如纖維母細胞細胞株或初級纖維母

細胞。

【0177】 在一些實施例中，細胞為人工抗原呈現細胞(aAPC)。通常，aAPC 包括天然 APC 之特徵，包括表現 MHC 分子、刺激及共刺激分子、Fc 受體、黏附分子及/或產生或分泌細胞介素(例如，IL-2)之能力。通常，aAPC 係缺乏上述一或多者之表現之細胞株，且藉由引入(例如，藉由轉染或轉導)以下一或多者而產生：MHC 分子中缺失之元件、低親和力 Fc 受體(CD32)、高親和力 Fc 受體(CD64)、一或多個共刺激信號(例如，CD7、B7-1 (CD80)、B7-2 (CD86)、PD-L1、PD-L2、4-1BBL、OX40L、ICOS-L、ICAM、CD30L、CD40、CD70、CD83、HLA-G、MICA、MICB、HVEM、淋巴毒素 β 受體、ILT3、ILT4、3/TR6 或 B7-H3 配位體；或與 CD27、CD28、4-1BB、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、LFA-1、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、Toll 配位體受體或 CD83 配位體特異性結合之抗體)、細胞黏附分子(例如，ICAM-1 或 LFA-3)及/或細胞介素(例如，IL-2、IL-4、IL-6、IL-7、IL-10、IL-12、IL-15、IL-21、幹擾素-α (IFNα)、幹擾素-β (IFNβ)、幹擾素-γ (IFNγ)、腫瘤壞死因子-α (TNFα)、腫瘤壞死因子-β (TNFβ)、顆粒球巨噬細胞群落刺激因子(GM-CSF)及顆粒球群落刺激因子(GCSF))。在一些情況下，aAPC 通常不表現 MHC 分子，但可經工程改造以表現 MHC 分子，或者在一些情況下，經誘導或可經誘導以表現 MHC 分子，諸如藉由用細胞介素刺激。在一些情況下，aAPC 亦可裝載有刺激配位體，該刺激配位體可包括例如抗 CD3 抗體、抗 CD28 抗體或抗 CD2 抗體。可用作產生 aAPC 之骨架之示例性細胞株為 K562 細胞株或纖維母細胞細胞株。各種 aAPC 係所屬領域中已知的，參見例如美國專利第 8,722,400 號；公開申請案第 US2014/0212446 號；Butler 及 Hirano (2014) *Immunol Rev.* 257:10. 1111/imr.12129；Suhoshki 等人 (2007) *Mol. Ther.* 15:981-988)。

【0178】 測定或鑑定由細胞表現之特定 MHC 或對偶基因完全在熟練技術人

員之水準內。在一些實施例中，在使細胞與載體接觸之前，可評估或確認特定 MHC 分子之表現，諸如藉由使用對特定 MHC 分子具有特異性之抗體。MHC 分子之抗體係所屬領域中已知的，諸如下文所述之任何抗體。

【0179】　在一些實施例中，可選擇細胞以表現所需 MHC 限制之 MHC 對偶基因。在一些實施例中，細胞(諸如細胞株)之 MHC 分型係所屬領域中已知的。在一些實施例中，可使用所屬領域中熟知之程序，諸如藉由使用分子單倍型分析(BioTest ABC SSPtray, BioTest Diagnostics 公司, Denville, N.J.；SeCore Kits, Life Technologies, Grand Island, N.Y.)執行組織分型來測定細胞(諸如自個體獲得之初級細胞)之 MHC 分型。在一些情況下，執行標準細胞分型以諸如藉由使用基於序列之分型(SBT)來測定 HLA 基因型完全在熟練技術人員之水準內(Adams 等人(2004) J. Transl. Med., 2:30；Smith (2012) Methods Mol Biol., 882:67-86)。在一些情況下，已知細胞(諸如纖維母細胞)之 HLA 分型。舉例而言，人類胎兒肺纖維母細胞細胞株 MRC-5 為 HLA-A*0201、A29、B13、B44 Cw7 (C*0702)；人類包皮纖維母細胞細胞株 Hs68 為 HLA-A1、A29、B8、B44、Cw7、Cw16；且 WI-38 細胞株為 A*6801、B*0801 (Solache 等人 (1999) J Immunol, 163:5512-5518；Ameres 等人 (2013) PloS Pathog. 9:e1003383)。人類轉染子纖維母細胞細胞株 M1DR1/Ii/DM 表現 HLA-DR 及 HLA-DM (Karakikes 等人 (2012) FASEB J., 26:4886-96)。

【0180】　在一些實施例中，載體接觸或引入載體之細胞為經工程改造或經轉染以表現 MHC 分子之細胞。在一些實施例中，可藉由基因修飾親本細胞株來製備細胞株。在一些實施例中，細胞通常缺乏特定 MHC 分子且經工程改造以表現此類特定 MHC 分子。在一些實施例中，使用重組 DNA 技術對細胞進行基因工程改造。

【0181】　在一些實施例中，使用本文所述之穩定 MHC-肽複合物來偵測結合

穩定 MHC-肽複合物之 T 細胞。在一些實施例中，使用本文所述之穩定 MHC-肽複合物，例如藉由偵測與經螢光標記之 MHC-肽複合物特異性及/或選擇性地結合之 T 細胞(例如，CD8+ T 細胞)之量及/或百分率來監測個體中之 T 細胞反應。用於產生、標記及使用 MHC-肽複合物(例如，MHC-肽四聚體)偵測 MHC-肽複合物特異性 T 細胞之方法係所屬領域中熟知的。額外描述可見於例如美國專利第 7,776,562 號；美國專利第 8,268,964 號；及美國專利公開案 2019/0085048。

IV. 免疫原性組合物

【0182】 在一些態樣中，本文提供醫藥組合物(例如，疫苗組合物)，其包含 MAGEA1 免疫原性肽及/或編碼 MAGEA1 免疫原性肽之核酸及佐劑。在一些態樣中，本文提供醫藥組合物(例如，疫苗組合物)，其包括包含在 MHC 分子背景中之 MAGEA1 免疫原性肽的穩定 MHC-肽複合物及佐劑。在一些實施例中，該組合物包括多種(例如，兩種或更多種) MAGEA1 免疫原性肽或核酸之組合及佐劑。在一些實施例中，組合物包括多種(例如，兩種或更多種)包含在 MHC 分子背景中之 MAGEA1 免疫原性肽之穩定 MHC-肽複合物的組合及佐劑。在一些實施例中，上述組合物進一步包含醫藥學上可接受之載劑。

【0183】 本文所揭示之醫藥組合物可經特別調配用於以固體或液體形式投與，包括經調適用於以下之彼等形式：(1)經口投與，例如灌服劑(水性或非水性溶液或懸浮液)；錠劑，例如以經頰、舌下及全身吸收為目標之彼等錠劑、施加至舌頭之大丸劑、散劑、顆粒、糊劑；或(2)非經腸投與，例如呈例如無菌溶液或懸浮液或持續釋放調配物形式藉由皮下、肌肉內、靜脈內或硬膜外注射。

【0184】 製備此等調配物或組合物之方法包括使本文所述之 MAGEA1 免疫原性肽及/或核酸與佐劑、載劑及視情況選用之一或多種輔助成分結合之步驟。一般地，藉由以下方式來製備該等調配物：使本文所述之藥劑與液體載劑或精細分散之固體載劑或兩者均勻且緊密地結合，且接著必要時使產物成型。

【0185】　適於非經腸投與之醫藥組合物包含本文所述之 MAGEA1 免疫原性肽及/或核酸與佐劑組合，以及一或多種醫藥學上可接受之無菌等滲水性或非水性溶液、分散液、懸浮液或乳液或者可能在即將使用時復原為無菌可注射溶液或分散液之無菌粉末，其可含有糖、醇、抗氧化劑、緩衝劑、抑菌劑、使調配物與預期接受者之血液等滲之溶質或者懸浮劑或增稠劑。

【0186】　可用於醫藥組合物之合適水性及非水性載劑之實例包括水、乙醇、多元醇(諸如甘油、丙二醇、聚乙二醇及其類似物)及其合適混合物、植物油(諸如橄欖油)以及可注射有機酯(諸如油酸乙酯)。舉例而言，可藉由使用諸如卵磷脂之包衣材料，藉由在分散液之情況下維持所需粒徑，及藉由使用界面活性劑來維持適當流動性。

【0187】　無論所選擇之投與途徑如何，可呈合適水合形式使用之本文所提供之藥劑及/或本文所揭示之醫藥組合物均藉由所屬領域之技術人員已知之習知方法調配成醫藥學上可接受之劑型。

【0188】　在一些實施例中，當投與至個體時，醫藥組合物可引發針對感染 MAGEA1 之細胞之免疫反應。此類醫藥組合物可用作用於預防性及/或治療性治療以 MAGEA1 表現為特徵之疫苗組合物。

【0189】　在一些實施例中，醫藥組合物進一步包含生理學上可接受之佐劑。在一些實施例中，所用佐劑增加醫藥組合物之免疫原性。此類刺激進一步免疫反應之化合物或佐劑可(i)在肽復原且視情況用如上文所定義之油基佐劑乳化之後混合至根據本發明之醫藥組合物，(ii)可為上文所定義之本發明之復原組合物的一部分，(iii)可實體連接至待復原之肽，或(iv)可分開投與至待治療之個體、哺乳動物或人類。佐劑可為提供抗原之緩慢釋放之佐劑(例如，佐劑可為脂質體)，或其可為自身具免疫原性，藉此與抗原(亦即，存在於 MAGEA1 免疫原性肽中之抗原)協同地起作用之佐劑。舉例而言，佐劑可為已知佐劑，或促進抗原攝取、將

免疫系統細胞募集至投與部位或促進起反應之淋巴樣細胞之免疫活化的其他物質。佐劑包括但不限於免疫調節分子(例如，細胞介素)、油及水乳液、氫氧化鋁、葡聚糖、硫酸葡聚糖、氧化鐵、褐藻酸鈉、Bacto-Adjuvant、合成聚合物(諸如聚胺基酸及胺基酸共聚物)、皂苷、石蠟油及胞壁醯二肽。在一些實施例中，佐劑為佐劑 65、α-GalCer、磷酸鋁、氫氧化鋁、磷酸鈣、β-葡聚糖肽、CpG DNA、GM-CSF、GPI-0100、IFA、IFN-γ、IL-17、脂質 A、脂多糖、Lipovant、Montanide、N-乙醯基-胞壁醯基-L-丙胺醯基-D-異麩醯胺酸、Pam3CSK4、quil A、海藻糖二黴菌酸酯或酵母聚糖。

【0190】　在一些實施例中，佐劑為免疫調節分子。舉例而言，免疫調節分子可為經設計以增強免疫反應的重組蛋白細胞介素、趨化介素或免疫刺激劑或編碼細胞介素、趨化介素或免疫刺激劑之核酸。

【0191】　免疫調節細胞介素之實例包括幹擾素(例如，IFNα、IFNβ 及 IFNγ)、介白素(例如，IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-12、IL-17 及 IL-20)、腫瘤壞死因子(例如，TNFα 及 TNFβ)、紅血球生成素(EPO)、FLT-3 配位體、gIp10、TCA-3、MCP-1、MIF、MIP-1α、MIP-1β、Rantes、巨噬細胞群落刺激因子(M-CSF)、顆粒球群落刺激因子(G-CSF)及顆粒球-巨噬細胞群落刺激因子(GM-CSF)，以及前述任一者之功能片段。

【0192】　在一些實施例中，與趨化介素受體(亦即，CXC、CC、C 或 CX3C 趨化介素受體)結合之免疫調節趨化介素亦可包括於此處提供之組合物中。趨化介素之實例包括但不限於 Mip1α、Mip-1β、Mip-3α (Larc)、Mip-3β、Rantes、Hcc-1、Mpif-1、Mpif-2、Mcp-1、Mcp-2、Mcp-3、Mcp-4、Mcp-5、Eotaxin、Tarc、Elc、I309、IL-8、Gcp-2 Gro-α、Gro-β、Gro-γ、Nap-2、Ena-78、Gcp-2、Ip-10、Mig、I-Tac、Sdf-1 及 Bca-1 (Blc)，以及前述任一者之功能片段。

【0193】　在一些實施例中，組合物包含編碼本文所述之 MAGEA1 免疫原性多

肽之核酸，諸如編碼 MAGEA1 免疫原性肽之 DNA 分子。在一些實施例中，組合物包含表現載體，該表現載體包含編碼 MAGEA1 免疫原性肽之開讀框。

【0194】 當由細胞(例如，宿主細胞、抗原呈現細胞(APC)，諸如樹突狀細胞、巨噬細胞等)吸收時，DNA 分子可作為染色體外分子存在於細胞中及/或可整合至染色體中。DNA 可呈質體形式引入至細胞中，其可保持作為獨立遺傳物質。替代地，可將可整合至染色體中之線性 DNA 引入至細胞中。視情況，當將 DNA 引入至細胞中時，可添加促進 DNA 整合至染色體中之試劑。

V. 結合蛋白

【0195】 在一些態樣中，提供一種結合部分，其結合本文所述之肽及/或本文所述之穩定 MHC-肽複合物。舉例而言，提供如 T 細胞受體(TCR)、抗體及其類似物之結合蛋白，其諸如以小於或等於約 10^{-4} M (例如，約 10^{-4}、10^{-5}、10^{-6}、10^{-7}、約 10^{-8}、約 10^{-9}、約 10^{10}、約 10^{-11}、約 10^{-12}、約 10^{-13}、約 10^{-14} 等)之 K_d 與肽及/或穩定 MHC-肽複合物特異性及/或選擇性地結合。

【0196】 在本發明所涵蓋之一態樣中，本文提供結合蛋白，其與包含在 MHC 分子(例如，MHC I 類分子)背景中之 MAGEA1 免疫原性肽的肽-MHC (pMHC)複合物結合(例如，特異性及/或選擇性地)。在一些實施例中，結合蛋白能夠與 MAGEA1 肽-MHC (pMHC)複合物結合(例如，特異性及/或選擇性地)，K_d 小於或等於約 5×10^{-4} M、小於或等於約 1×10^{-4} M、小於或等於約 5×10^{-5} M、小於或等於約 1×10^{-5} M、小於或等於約 5×10^{-6} M、小於或等於約 1×10^{-6} M、小於或等於約 5×10^{-7} M、小於或等於約 1×10^{-7} M、小於或等於約 5×10^{-8} M、小於或等於約 1×10^{-8} M、小於或等於約 5×10^{-9} M、小於或等於約 1×10^{-9} M、小於或等於約 5×10^{-10} M、小於或等於約 1×10^{-10} M、小於或等於約 5×10^{-11} M、小於或等於約 1×10^{-11} M、小於或等於約 5×10^{-12} M、小於或等於約 1×10^{-12} M，或介於兩者之間的任何範圍(包括端點)，諸如約 1-50 微莫耳、1-100 微莫耳、0.1-500 微莫耳及其類似範圍之間。

在一些實施例中，MHC 分子包含 MHC α 鏈，該鏈為選自由 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 及 HLA-C*18 組成之群的 HLA 血清型，視情況其中 HLA 對偶基因係選自由以下組成之群：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 對偶基因、HLA-A*0301、HLA-A*0302、HLA-A*0305、HLA-A*0307、HLA-A*0101、HLA-A*0102、HLA-A*0103、HLA-A*0116 對偶基因、HLA-A*1101、HLA-A*1102、HLA-A*1103、HLA-A*1104、HLA-A*1105、HLA-A*1119 對偶基因、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 對偶基因、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 及 HLA-C*1403 對偶基因。在一些實施例中，HLA 血清型為 HLA-C*07 及/或 HLA 對偶基因係選自由以下組成之群：HLA-C*0702、HLA-C*0701 及 HLA-C*0704 對偶基因。在一特定實施例中，HLA 對偶基因為 HLA-C*0702。在一些實施例中，本文提供之結合蛋白經基因工程改造、分離及

/或純化。

【0197】 在一些實施例中，結合蛋白對 MAGEA1 肽-MHC (pMHC)之結合親和力比已知之 T 細胞受體(例如，來自 van Kunert 等人 (2016) *J. Immunol.* 197:2541-2552 之 TCR 或本文所述之其他 TCR)高。舉例而言，結合蛋白對 MAGEA1 肽-MHC (pMHC)之結合親和力比已知之 T 細胞受體可高至少 1.2 倍、1.5 倍、1.8 倍、2.0 倍、2.2 倍、2.5 倍、2.8 倍、3 倍、3.5 倍、4 倍、4.5 倍、5 倍、5.5 倍、6 倍、6.5 倍、7 倍、7.5 倍、8 倍、8.5 倍、9 倍、9.5 倍、10 倍、11 倍、12 倍、13 倍、14 倍、15 倍、16 倍、17 倍、18 倍、19 倍、20 倍、25 倍、30 倍、35 倍、40 倍、45 倍、50 倍、60 倍、70 倍、80 倍、90 倍、100 倍、1000 倍、5000 倍、10000 倍、50000 倍、100000 倍、500000 倍、1000000 倍或更多，或介於兩者之間的任何範圍(包括端點)，諸如 1.2 倍至 2 倍。

【0198】 在一些實施例中，當與以某一水準或更低水準表現 MAGEA1 之標靶細胞(例如，參見關於以變化水準表現 MAGEA1 之代表性細胞株的實例部分)接觸時，與已知之 T 細胞受體相比，結合蛋白誘導更高 T 細胞擴增、細胞介素釋放及/或細胞毒性殺傷。舉例而言，在本文所述之任何態樣之一些實施例中，MAGEA1 水準可根據每百萬之轉錄本表示，且可例如小於或等於約 1,000 個轉錄本/百萬轉錄本(TPM)、950 TPM、900 TPM、850 TPM、800 TPM、750 TPM、700 TPM、650 TPM、600 TPM、550 TPM、500 TPM、450 TPM、400 TPM、350 TPM、300 TPM、250 TPM、200 TPM、150 TPM、100 TPM、95 TPM、90 TPM、85 TPM、80 TPM、75 TPM、70 TPM、65 TPM、60 TPM、55 TPM、50 TPM、45 TPM、40 TPM、35 TPM、34 TPM、33 TPM、32 TPM、31 TPM、30 TPM、29 TPM、28 TPM、27 TPM、26 TPM、25 TPM、24 TPM、23 TPM、22 TPM、21 TPM、20 TPM、19 TPM、18 TPM、17 TPM、16 TPM、15 TPM、14 TPM、13 TPM、12 TPM、11 TPM、10 TPM、9 TPM、8 TPM、7 TPM、6 TPM、5 TPM、

4 TPM、3 TPM、2 TPM 及 1 TPM，或介於兩者之間的任何範圍(包括端點)，諸如小於或等於約 1,000 TPM 至小於或等於約 73 TPM)。如本文進一步描述，TPM 係根據熟知之技術量測，諸如 RNA-Seq，且多種細胞株、組織類型及其類似物之基因表現 TPM 資料為所屬領域中熟知(參見例如全球資訊網上 portals.broadinstitute.org 之布羅德研究院癌細胞株百科全書(Broad Institute Cancer Cell Line Encyclopedia，CCLE))。在一些實施例中，當與具有 MAGEA1 雜合表現之標靶細胞接觸時，與已知之 T 細胞受體相比，結合蛋白誘導 T 細胞擴增、細胞介素釋放及/或細胞毒性殺傷增加至少 1.2 倍、1.5 倍、1.8 倍、2.0 倍、2.2 倍、2.5 倍、2.8 倍、3 倍、3.5 倍、4 倍、4.5 倍、5 倍、5.5 倍、6 倍、6.5 倍、7 倍、7.5 倍、8 倍、8.5 倍、9 倍、9.5 倍、10 倍、11 倍、12 倍、13 倍、14 倍、15 倍、16 倍、17 倍、18 倍、19 倍、20 倍、25 倍、30 倍、35 倍、40 倍、45 倍、50 倍、60 倍、70 倍、80 倍、90 倍、100 倍、1000 倍或更多倍，或介於兩者之間的任何範圍(包括端點)，諸如 1.2 倍至 2 倍。

【0199】 在一些實施例中，MAGEA1 之表現使用 RNA 定序(RNA-seq)來偵測。RNA-seq 一般包括以下步驟：獲得含有遺傳物質之樣品，自獲得之樣品分離總 RNA，自總 RNA 製備擴增之 cDNA 文庫，對擴增之 cDNA 文庫進行定序，且對擴增之 cDNA 進行分析及剖析以評估不同轉錄本之表現水準。樣品可為細胞群體、組織樣品、生檢樣品、細胞培養物或單細胞。可使用所屬領域已知之任何方法自生物樣品分離總 RNA。在某些實施例中，總 RNA 係自血漿中提取的。血漿 RNA 提取描述於 Enders 等人，「The Concentration of Circulating Corticotropin-Releasing Homer mRNA in Material Plasma Is Inclined in Preclampsia」, Clinr 中。如其中所述，在離心步驟之後收集之血漿與 Trizol LS 試劑(Invitrogen)及氯仿混合。將混合物離心且將水層轉移至新管中。向此水層中添加乙醇。接著將混合物置於 RNeasy 微型管柱(Qiagen)中且根據製造商之建議進行加工。

【0200】　在一些實施例中，本文所述之 RNA-seq 包括自總 RNA 製備擴增之 cDNA 之步驟。例如，製備 cDNA 且在不稀釋之情況下隨機擴增經分離之 RNA 樣品，或者將經分離之 RNA 中之遺傳物質混合物分散至個別反應樣品中。在某些實施例中，擴增在 3'末端隨機開始且貫穿樣品中之整個轉錄組以擴增 mRNA 及未聚腺苷酸化之轉錄本。藉由此種方式，對雙股 cDNA 擴增產物進行最佳化，以產生用於下一代定序平臺之定序文庫。適用於藉由本發明所涵蓋之方法擴增 cDNA 之套組包括例如 Ovation® RNA-Seq 系統。

【0201】　在一些實施例中，本文所述之 RNA-seq 包括對擴增之 cDNA 進行定序之步驟。任何已知之定序方法均可用於對擴增之 cDNA 混合物進行定序，包括單分子定序方法。在某些實施例中，藉由全轉錄組鳥槍法定序對擴增之 cDNA 進行定序。全轉錄組鳥槍法定序可使用各種下一代定序平臺進行，諸如 Illumina® 基因組分析平臺、ABI SOLiD™定序平臺或 Life Science 之 454 定序平臺。

【0202】　在一些實施例中，本文所述之 RNA-seq 進一步包括對 cDNA 進行數位計數及分析。擴增樣品中各轉錄本之擴增序列數量可藉由序列讀取(每一擴增股讀取一次)來量化。在一些實施例中，每百萬之轉錄本(TPM)用於量化特定轉錄本之表現水準。TPM 可按照 Wagner 等人 (2012) *Theory in Biosciences* 131:281-285 中所示來計算，其內容藉以引用之方式整體併入本文中。

【0203】　在某些實施例中，結合蛋白識別與 MHC 分子，諸如具有特定 HLA α 鏈對偶基因之特定 HLA 分子呈複合物形式的 MAGEA1 免疫原性肽。舉例而言，表 2A 中所列之結合蛋白經鑑定為與 α 鏈具有 HLA-C*07 血清型之 MHC，諸如由 HLA-B*0702、HLA-C*0701 及/或 HLA-C*0704 對偶基因編碼之 MHC 締合的 MAGEA1 免疫原性肽之結合劑，如實例部分中進一步描述。在一些實施例中，結合蛋白識別 MAGEA1 免疫原性肽與 MHC 分子之複合物，其中該 MHC 分子包含 MHC α 鏈，該鏈為選自由 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 及 HLA-C*18 組成之群的 HLA 血清型，視情況其中 HLA 對偶基因係選自由以下組成之群：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 對偶基因、HLA-A*0301、HLA-A*0302、HLA-A*0305、HLA-A*0307、HLA-A*0101、HLA-A*0102、HLA-A*0103、HLA-A*0116 對偶基因、HLA-A*1101、HLA-A*1102、HLA-A*1103、HLA-A*1104、HLA-A*1105、HLA-A*1119 對偶基因、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 對偶基因、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 及 HLA-C*1403 對偶基因。在一些實施例中，MAGEA1 免疫原性肽源自人類 MAGEA1 蛋白及/或表 3 中所示之 MAGEA1 蛋白。在一些實施例中，一或多種 MAGEA1 免疫原性肽單獨或與佐劑組合投與。

【0204】 在一些實施例中，本文提供之結合蛋白包括以下(例如，包含以下、基本上由以下組成或由以下組成)：a)與選自由表 2 中所列之 TCR α 序列組成之

群的 TCR α 鏈序列具有至少約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多一致性的 TCR α 鏈序列；及/或 b)與選自由表 2 中所列之 TCR β 鏈序列組成之群的 TCR β 鏈序列具有至少約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多一致性的 TCR β 鏈序列。

【0205】 在一些實施例中，本文提供之結合蛋白包括以下(例如，包含以下、基本上由以下組成或由以下組成)：a)選自由表 2 中所列之 TCR α 鏈序列組成之群的 TCR α 鏈序列；及/或 b)選自由表 2 中所列之 TCR β 鏈序列組成之群的 TCR β 鏈序列。

【0206】 在一些實施例中，本文提供之結合蛋白包括以下(例如，包含以下、基本上由以下組成或由以下組成)：a)與選自由表 2 中所列之 TCR V_α 域序列組成之群的 TCR α 鏈可變(V_α)域序列具有至少約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多一致性的 TCR α 鏈可變(V_α)域序列；及/或 b)與選自由表 2 中所列之 TCR V_β 域序列組成之群的 TCR β 鏈可變(V_β)域序列具有至少約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多一致性的 TCR β 鏈可變(V_β)域序列。

【0207】 在一些實施例中，本文提供之結合蛋白包括以下(例如，包含以下、基本上由以下組成或由以下組成)：a)選自由表 2 中所列之 TCR V_α 域序列組成之群的 TCR α 鏈可變(V_α)域序列；及/或 b)選自由表 2 中所列之 TCR V_β 域序列組成之群的 TCR β 鏈可變(V_β)域序列。

【0208】 在一些實施例中，本文提供之結合蛋白包括(例如，包含至少一種(例如，一種、兩種或三種，諸如單獨 CDR3 或與 CDR1 及 CDR2 組合)、基本上由

其組成或由其組成)與選自由表 2 中所列之 TCR α 鏈 CDR 序列組成之群的 TCR α 鏈 CDR 序列具有至少約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多一致性的 TCR α 鏈互補決定區(CDR)序列。鹹信 CDR3 為負責識別經加工之抗原的主要 CDR，且 CDR1 及 CDR2 主要與 MHC 相互作用，因此，在一些實施例中，提供包含單獨的來自表 2 中所列之 TCR α 鏈之 CDR3 及/或單獨的來自表 2 中所列之 TCR β 鏈之 CDR3 的結合蛋白，各 CDR3 具有如本段所述之序列同源性。

【0209】 在一些實施例中，本文提供之結合蛋白亦可包括(例如，包含至少一種(例如，一種、兩種或三種，諸如單獨 CDR3 或與 CDR1 及 CDR2 組合)、基本上由其組成或由其組成)與選自由表 2 中所列之 TCR β 鏈 CDR 序列組成之群的 TCR β 鏈 CDR 序列具有至少約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多一致性的 TCR β 鏈互補決定區(CDR)序列。如上文所述，鹹信 CDR3 為負責識別經加工之抗原的主要 CDR，且 CDR1 及 CDR2 主要與 MHC 相互作用，因此，在一些實施例中，提供包含單獨的來自表 2 中所列之 TCR β 鏈之 CDR3 及/或單獨的來自表 2 中所列之 TCR α 鏈之 CDR3 的結合蛋白，各 CDR3 具有如本段所述之序列同源性。

【0210】 在一些實施例中，本文提供之結合蛋白包括(例如，包含至少一種(例如，一種、兩種或三種)、基本上由其組成或由其組成)表 2 中所列之 TCR α 鏈互補決定區(CDR)。

【0211】 在一些實施例中，本文提供之結合蛋白亦可包括(例如，包含至少一種(例如，一種、兩種或三種)、基本上由其組成或由其組成)表 2 中所列之 TCR β 鏈互補決定區(CDR)。

【0212】　在一些實施例中，本文提供之結合蛋白包括以下(例如，包含以下、基本上由以下組成或由以下組成)：與表 2 中所列之 TCR Cα 序列具有至少約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多一致性的 TCR α 鏈恆定區(C_α)序列。

【0213】　在一些實施例中，本文提供之結合蛋白亦可包括以下(例如，包含以下、基本上由以下組成或由以下組成)：與表 2 中所列之 TCR C_β 序列具有至少約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多一致性的 TCR β 鏈恆定區(C_β)序列。

【0214】　在一些實施例中，本文提供之結合蛋白包括以下(例如，包含以下、基本上由以下組成或由以下組成)：選自由表 2 中所列之 TCR C_α 序列組成之群的 TCR α 鏈恆定區(C_α)序列。

【0215】　在一些實施例中，本文提供之結合蛋白亦可包括以下(例如，包含以下、基本上由以下組成或由以下組成)：選自由表 2 中所列之 TCR C_β 序列組成之群的 TCR β 鏈恆定區(C_β)序列。

表 2：識別 MAGEA1 抗原之 TCR 序列

表 2A

識別由 HLA 血清型 HLA-C*07 呈現之 MAGEA1 抗原的 TCR 序列

MAGEA1 TCR 32-39 野生型序列

α 鏈：

TRAV29-DV5/TRAJ43/TRAC

α 鏈 DNA 序列

ATGGCCATGCTCCTGGGGGCATCAGTGCTGATTCTGTGGCTTCAGCCAGA

CTGGGTTAACAGTCAACAGAAGAATGATGACCAGCAAGTTAAGCAAAAT

TCACCATCCCTGAGCGTCCAGGAAGGAAGAATTTCTATTCTGAACTGTGA

CTATACT**AACAGCATGTTTGATTAT**TTCCTTTGGTACAAGAAATACCCTG

CTGAAGGTCCTACATTCCTGATTTCT**ATTAGTTCCATTAAGGATAAA**AAT

GAAGATGGAAGATTCACTGTTTTCCTTAACAAAAGTGCCAAGCACCTCTC

TCTGCACATTGTGCCCTCCCAGCCTGGAGACTCTGCAGTGTACTTC**TGTG**

CAGCAAGCGCTCAGAACAATGACATGCGCTTTGGAGCAGGGACCAGA

CTGACAGTTAAACCAAatatccagaaccctgaccctgccgtgtaccagctgagagactctaaatccagtga

caagtctgtctgcctattcaccgattttgattctcaaacaaatgtgtcacaaagtaaggattctgatgtgtatatcacagacaaa

actgtgctagacatgaggtctatggacttcaagagcaacagtgctgtggcctggagcaacaaatctgactttgcatgtgcaa

acgccttcaacaacagcattattccagaagacaccttcttccccagcccagaaagttcctgtgatgtcaagctggtcgagaa

aagctttgaaacagatacgaacctaaactttcaaaacctgtcagtgattgggttccgaatcctcctcctgaaagtggccgggt

ttaatctgctcatgacgctgcggctgtggtccagc

α鏈蛋白質序列

MAMLLGASVLILWLQPDWVNSQQKNDDQQVKQNSPSLSVQEGRISILNCDY

T**NSMFDY**FLWYKKYPAEGPTFLIS**ISSIKDK**NEDGRFTVFLNKSAKHLSLHIV

PSQPGDSAVYF**CAASAQNNDMRF**GAGTRLTVKPNiqnpdpavyqlrdskssdksvclftd

fdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpspesscdvklveksfe

tdtnlnfqnlsvigfrilllkvagfnllmtlrlwss

β鏈：

TRBV18/TRBJ2-7/TRBC1

β鏈DNA序列

ATGGACACCAGACTTCTCTGCTGTGCTGTCATCTGTCTCCTGGGGGCAGG

CCTCTCAAATGCCGGCGTCATGCAGAACCCAAGACACCTGGTCAGGAGG

AGGGGACAGGAGGCAAGACTGAGATGCAGCCCAATG**AAAGGACACAGT**

CATGTTTACTGGTATCGGCAGCTCCCAGAGGAAGGTCTGAAATTCATGGT

TTAT**CTCCAGAAAGAAAATATC**ATTGATGAGTCAGGAATGCCAAAGGAA

CGCTTTTCTGCTGAATTTCCCAAAGAGGGCCCCAGCATCCTGAGGATCCA

GCAGGTTGTGCGCGGAGATTCTGCAGCTTATTTC**TGTGCCAGCTCACCC**

TCCTACGAGCAGTACTTCGGGCCTGGCACCAGGCTCACTGTCACAGagga

cctgaacaaggtgttcccacccgaggtcgctgtgtttgagccatcagaagcagagatctcccacacccaaaaggccacac

tggtgtgcctggccacaggcttcttccctgaccacgtggagctgagctggtgggtgaatgggaaggaggtgcacagtgg

ggtcagcacggacccgcagcccctcaaggagcagcccgccctcaatgactccagatactgcctgagcagccgcctgag

ggtctcggccaccttctggcagaacccccgcaaccacttccgctgtcaagtccagttctacgggctctcggagaatgacga

gtggacccaggatagggccaaacccgtcacccagatcgtcagcgccgaggcctggggtagagcagactgtggctttac

ctcggtgtcctaccagcaaggggtcctgtctgccaccatcctctatgagatcctgctagggaaggccaccctgtatgctgtg

ctggtcagcgcccttgtgttgatggccatggtcaagagaaaggatttc

β鏈蛋白質序列

MDTRLLCCAVICLLGAGLSNAGVMQNPRHLVRRRGQEARLRCSPM**KGHSH**

VYWYRQLPEEGLKFMVY**LQKENI**IDESGMPKERFSAEFPKEGPSILRIQQVV

RGDSAAYF**CASSPSYEQYF**GPGTRLTVTEdlnkvfppevavfepseaeishtqkatlvclatgff

pdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdr

akpvtqivsaeawgradcgftsvsyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf

MAGEA1 TCR 32-41 野生型序列

α鏈：

TRAV27/TRAJ52/TRAC

α鏈 DNA 序列

ATGGTCCTGAAATTCTCCGTGTCCATTCTTTGGATTCAGTTGGCATGGGTG

AGCACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTTAGCATCCAAGAGGG

AGAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCA**AGTGTTTTCTCCAGC**CTTC

AATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCCTCCTGGTGACA**GT**

TGTTACTGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTTACCTTTCAGTTT

GGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGCAGCCCAGCCTGG

TGATACAGGCCTCTACCTC**TGTGCAGGAGATGAAAGTATTAGCTATGG**

AAAGCTGACATTTGGACAAGGGACCATCTTGACTGTCCATCCAAatatccaga

accctgaccctgccgtgtaccagctgagagactctaaatccagtgacaagtctgtctgcctattcaccgattttgattctcaaa

caaatgtgtcacaaagtaaggattctgatgtgtatatcacagacaaaactgtgctagacatgaggtctatggacttcaagagc

aacagtgctgtggcctggagcaacaaatctgactttgcatgtgcaaacgccttcaacaacagcattattccagaagacacct

tcttccccagcccagaaagttcctgtgatgtcaagctggtcgagaaaagctttgaaacagatacgaacctaaactttcaaaa

cctgtcagtgattgggttccgaatcctcctcctgaaagtggccgggtttaatctgctcatgacgctgcggctgtggtccagc

α鏈蛋白質序列

MVLKFSVSILWIQLAWVSTQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSS**SVFSS**LQWY

RQEPGEGPVLLVT**VVTGGEV**KKLKRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGL

YL**CAGDESISYGKLTF**GQGTILTVHPNiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskd

sdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpspesscdvklveksfetdtnlnfqnlsvi

gfrilllkvagfnllmtlrlwss

β鏈：

TRBV12-4/TRBJ1-4/TRBC1

β鏈 DNA 序列

ATGGGCTCCTGGACCCTCTGCTGTGTGTCCCTTTGCATCCTGGTTGCAAAG

CACACAGATGCTGGAGTTATCCAGTCACCCCGGCACGAGGTGACAGAGA

TGGGACAAGAAGTGACTCTGAGATGTAAACCAATT**TCAGGACATGACTA**

CCTTTTCTGGTACAGACAGACCATGATGCGGGGACTGGAGTTGCTCATTT

AC**TTTAACAACAACGTTCCT**ATTGATGATTCAGGGATGCCCGAGGATCG

CTTCTCAGCTAAGATGCCTAATGCATCATTCTCCACTCTGAAGATCCAGCC

CTCAGAACCCAGGGACTCAGCTGTGTACTTC**TGTGCCAGCAGTTTTCTC**

GGCTGGAATGAAAAACTGTTCTTTGGCAGTGGAACCCAGCTCTCTGTCT

TGGaggacctgaacaaggtgttcccacccgaggtcgctgtgtttgagccatcagaagcagagatctcccacacccaaa

aggccacactggtgtgcctggccacaggcttcttccctgaccacgtggagctgagctggtgggtgaatgggaaggaggt

gcacagtggggtcagcacggacccgcagcccctcaaggagcagcccgccctcaatgactccagatactgcctgagcag

ccgcctgagggtctcggccaccttctggcagaaccccccgcaaccacttccgctgtcaagtccagttctacgggctctcgga

gaatgacgagtggacccaggatagggccaaacccgtcacccagatcgtcagcgccgaggcctggggtagagcagact

gtggctttacctcggtgtcctaccagcaaggggtcctgtctgccaccatcctctatgagatcctgctagggaaggccaccct

gtatgctgtgctggtcagcgcccttgtgttgatggccatggtcaagagaaaggatttc

β鏈蛋白質序列

MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPI**SGHDY**LF

WYRQTMMRGLELLIY**FNNNVP**IDDSGMPEDRFSAKMPNASFSTLKIQPSEPR

DSAVYF**CASSFLGWNEKLFF**GSGTQLSVLEdlnkvfppevavfepseaeishtqkatlvclat

gffpdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtq

drakpvtqivsaeawgradcgftsvsyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf

MAGEA1 TCR 32-39 HM 密碼子最佳化序列

α鏈：

TRAV29-DV5/TRAJ43/密碼子最佳化小鼠 TRAC

α鏈 DNA 序列

ATGGCCATGCTCCTGGGGGCATCAGTGCTGATTCTGTGGCTTCAGCCAGA

CTGGGTTAACAGTCAACAGAAGAATGATGACCAGCAAGTTAAGCAAAAT

TCACCATCCCTGAGCGTCCAGGAAGGAAGAATTTCTATTCTGAACTGTGA

CTATACT**AACAGCATGTTTGATTAT**TTCCTTTGGTACAAGAAATACCCTG

CTGAAGGTCCTACATTCCTGATTTCT**ATTAGTTCCATTAAGGATAAA**AAT

GAAGATGGAAGATTCACTGTTTTCCTTAACAAAAGTGCCAAGCACCTCTC

TCTGCACATTGTGCCCTCCCAGCCTGGAGACTCTGCAGTGTACTTC**TGTG**

CAGCAAGCGCTCAGAACAATGACATGCGCTTTGGAGCAGGGACCAGA

CTGACAGTTAAACCAAacattcaaaacccagaacccgccgtctaccagctgaaagacccgaggtctcaag

actctacgttgtgcttgttcaccgatttcgacagtcagataaatgtgcctaagaccatggagagtggcactttcatcactgaca

aatgtgtgttggacatgaaggctatggacagcaagtcaaacggcgcgattgcttggtccaaccaaacttctttcacgtgcca

ggacatcttcaaggagacaaacgccacctatccatcctctgatgttccgtgcgatgcgactcttaccgagaaaagcttcgag

acggacatgaacttgaacttccaaaacctgcttgtgatggtactgcgaatacttcttcttaaggtggcgggcttcaatttgctc

atgacactcagactttggtctagc

α鏈蛋白質序列

MAMLLGASVLILWLQPDWVNSQQKNDDQQVKQNSPSLSVQEGRISILNCDY

T**NSMFDY**FLWYKKYPAEGPTFLIS**ISSIKDK**NEDGRFTVFLNKSAKHLSLHIV

PSQPGDSAVYF**CAASAQNNDMRF**GAGTRLTVKPNiqnpepavyqlkdprsqdstlclftd

fdsqinvpktmesgtfitdkcvldmkamdsksngaiawsnqtsftcqdifketnatypssdvpcdatlteksfetdmn

lnfqnllvmvlrilllkvagfnllmtlrlwss

β鏈：

TRBV18/TRBJ2-7/密碼子最佳化小鼠 TRBC

β鏈 DNA 序列

ATGGACACCAGACTTCTCTGCTGTGCTGTCATCTGTCTCCTGGGGGCAGG

CCTCTCAAATGCCGGCGTCATGCAGAACCCAAGACACCTGGTCAGGAGG

AGGGGACAGGAGGCAAGACTGAGATGCAGCCCAATG**AAAGGACACAGT**

CATGTTTACTGGTATCGGCAGCTCCCAGAGGAAGGTCTGAAATTCATGGT

TTAT**CTCCAGAAAGAAAATATC**ATTGATGAGTCAGGAATGCCAAAGGAA

CGCTTTTCTGCTGAATTTCCCAAAGAGGGCCCCAGCATCCTGAGGATCCA

GCAGGTTGTGCGCGGAGATTCTGCAGCTTATTTC**TGTGCCAGCTCACCC**

TCCTACGAGCAGTACTTCGGGCCTGGCACCAGGCTCACTGTCACAGaagat

cttcgaaacgtaacccctccaaaagtgagtctctttgaaccgagtaaggctgagatcgcgaacaaacaaaaggcgaccct

cgtctgtcttgcgcgaggatttttcccgaccacgtggagttgtcttggtgggtaaacggtaaggaagtacacagcggtgttt

gcaccgaccctcaagcctacaaggaatctaactattcatactgcctttcatcccgacttagggtttctgctacctttggcaca

atccgaggaatcactttaggtgtcaagtacagttccacggattgtcagaggaggataaatggccggagggctccccgaag

ccggttacgcagaacattagtgcggaagcctggggacgagcagactgcggtatcacgtctgccagctatcagcaaggcg

ttctgtcagcgacaattctgtacgaaatacttttgggtaaggctacattgtatgcggtattggtgtctacgctggtagtcatggc

catggtgaaacgaaaaaactca

β鏈蛋白質序列

MDTRLLCCAVICLLGAGLSNAGVMQNPRHLVRRRGQEARLRCSPM**KGHSH**

VYWYRQLPEEGLKFMVY**LQKENI**IDESGMPKERFSAEFPKEGPSILRIQQVV

RGDSAAYF**CASSPSYEQYF**GPGTRLTVTEdlrnvtppkvslfepskaeiankqkatlvclargff

pdhvelswwvngkevhsgvctdpqaykesnysyclssrlrvsatfwhnprnhfrcqvqfhglseedkwpegspkp

vtqnisaeawgradcgitsasyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvstlvvmamvkrkns

完整β及αORF DNA序列(「弗林蛋白酶(Furin)-P2A」位點中帶下劃線之斜體區域編碼允許在單個卡匣中表現兩條多肽鏈之序列」)

ATGGACACCAGACTTCTCTGCTGTGCTGTCATCTGTCTCCTGGGGGCAGG

CCTCTCAAATGCCGGCGTCATGCAGAACCCAAGACACCTGGTCAGGAGG

AGGGGACAGGAGGCAAGACTGAGATGCAGCCCAATG**AAAGGACACAGT**

CATGTTTACTGGTATCGGCAGCTCCCAGAGGAAGGTCTGAAATTCATGGT

TTAT**CTCCAGAAAGAAAATATC**ATTGATGAGTCAGGAATGCCAAAGGAA

CGCTTTTCTGCTGAATTTCCCAAAGAGGGCCCCAGCATCCTGAGGATCCA

GCAGGTTGTGCGCGGAGATTCTGCAGCTTATTTC**TGTGCCAGCTCACCC**

TCCTACGAGCAGTACTTCGGGCCTGGCACCAGGCTCACTGTCACAGaagat

cttcgaaacgtaacccctccaaaagtgagtctctttgaaccgagtaaggctgagatcgcgaacaaacaaaaggcgaccct

cgtctgtcttgcgcgaggatttttcccgaccacgtggagttgtcttggtgggtaaacggtaaggaagtacacagcggtgttt

gcaccgaccctcaagcctacaaggaatctaactattcatactgcctttcatcccgacttagggtttctgctacctttggcaca

atccgaggaatcactttaggtgtcaagtacagttccacggattgtcagaggaggataaatggccggagggctccccgaag

ccggttacgcagaacattagtgcggaagcctggggacgagcagactgcggtatcacgtctgccagctatcagcaaggcg

ttctgtcagcgacaattctgtacgaaatacttttgggtaaggctacattgtatgcggtattggtgtctacgctggtagtcatggc

catggtgaaacgaaaaaactca*AGAGCCAAAAGAAGCGGGAGCGGTGCGACAAACTTTAG*

*CCTGTTGAAACAAGCCGGCGACGTTGAAGAGAACCCCGGACCT*ATGGCCATG

CTCCTGGGGGCATCAGTGCTGATTCTGTGGCTTCAGCCAGACTGGGTTAA

CAGTCAACAGAAGAATGATGACCAGCAAGTTAAGCAAAATTCACCATCC

CTGAGCGTCCAGGAAGGAAGAATTTCTATTCTGAACTGTGACTATACT**AA**

CAGCATGTTTGATTATTTCCTTTGGTACAAGAAATACCCTGCTGAAGGTC

CTACATTCCTGATTTCT**ATTAGTTCCATTAAGGATAAA**AATGAAGATGG

AAGATTCACTGTTTTCCTTAACAAAAGTGCCAAGCACCTCTCTCTGCACAT

TGTGCCCTCCCAGCCTGGAGACTCTGCAGTGTACTTC**TGTGCAGCAAGC**

GCTCAGAACAATGACATGCGCTTTGGAGCAGGGACCAGACTGACAGTT

AAACCAAacattcaaaacccagaacccgccgtctaccagctgaaagacccgaggtctcaagactctacgttgtgctt

gttcaccgatttcgacagtcagataaatgtgcctaagaccatggagagtggcactttcatcactgacaaatgtgtgttggaca

tgaaggctatggacagcaagtcaaacggcgcgattgcttggtccaaccaaacttctttcacgtgccaggacatcttcaagg

agacaaacgccacctatccatcctctgatgttccgtgcgatgcgactcttaccgagaaaagcttcgagacggacatgaactt

gaacttccaaaacctgcttgtgatggtactgcgaatacttcttcttaaggtggcgggcttcaatttgctcatgacactcagactt tggtctagc

完整 β 及 α ORF 蛋白質序列(「弗林蛋白酶-P2A」位點中帶下劃線之斜體區域允許在單個卡匣中表現兩條多肽鏈」)」)

MDTRLLCCAVICLLGAGLSNAGVMQNPRHLVRRRGQEARLRCSPM**KGHSH** VYWYRQLPEEGLKFMVY**LQKENI**IDESGMPKERFSAEFPKEGPSILRIQQVV RGDSAAYF**CASSPSYEQYF**GPGTRLTVTEdlrnvtppkvslfepskaeiankqkatlvclargff pdhvelswwvngkevhsgvctdpqaykesnysyclssrlrvsatfwhnprnhfrcqvqfhglseedkwpegspkp vtqnisaeawgradcgitsasyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvstlvvmamvkrkns*RAKRSGSGATNFS LLKQAGDVEENPGP*MAMLLGASVLILWLQPDWVNSQQKNDDQQVKQNSPS LSVQEGRISILNCDYT**NSMFDY**FLWYKKYPAEGPTFLIS**ISSIKDK**NEDGRFT VFLNKSAKHLSLHIVPSQPGDSAVYF**CAASAQNNDMRF**GAGTRLTVKPNiqn pepavyqlkdprsqdstlclftdfdsqinvpktmesgtfitdkcvldmkamdsksngaiawsnqtsftcqdifketnat ypssdvpcdatlteksfetdmnlnfqnllvmvlrilllkvagfnllmtlrlwss

MAGEA1 TCR 32-41 人類/小鼠混雜(HM)序列(與「MAGEA1 TCR32-41 MGTM」相同之 CDR。在一些實施例中，編碼 TCR 之密碼子最佳化 α 鏈及 β 鏈 DNA 序列可如表 3 中提供之載體，諸如載體 pNVVD142 中所示使用。)

α 鏈：

TRAV27/TRAJ52/密碼子最佳化小鼠 TRAC

α 鏈 DNA 序列

ATGGTCCTGAAATTCTCCGTGTCCATTCTTTGGATTCAGTTGGCATGGGTG AGCACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTTAGCATCCAAGAGGG AGAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCA**AGTGTTTTCTCCAGC**CTTC AATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCCTCCTGGTGACA**GT**

TGTTACTGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTTACCTTTCAGTTT

GGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGCAGCCCAGCCTGG

TGATACAGGCCTCTACCTC**TGTGCAGGAGATGAAAGTATTAGCTATGG**

AAAGCTGACATTTGGACAAGGGACCATCTTGACTGTCCATCCAAacattcaaa

acccagaacccgccgtctaccagctgaaagacccgaggtctcaagactctacgttgtgcttgttcaccgatttcgacagtca

gataaatgtgcctaagaccatggagagtggcactttcatcactgacaaatgtgtgttggacatgaaggctatggacagcaa

gtcaaacggcgcgattgcttggtccaaccaaacttctttcacgtgccaggacatcttcaaggagacaaacgccacctatcc

atcctctgatgttccgtgcgatgcgactcttaccgagaaaagcttcgagacggacatgaacttgaacttccaaaacctgcttg

tgatggtactgcgaatacttcttcttaaggtggcgggcttcaatttgctcatgacactcagactttggtctagc

α鏈蛋白質序列

MVLKFSVSILWIQLAWVSTQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSS**SVFSS**LQWY

RQEPGEGPVLLVT**VVTGGEV**KKLKRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGL

YL**CAGDESISYGKLTF**GQGTILTVHPNiqnpepavyqlkdprsqdstlclftdfdsqinvpktme

sgtfitdkcvldmkamdsksngaiawsnqtsftcqdifketnatypssdvpcdatlteksfetdmnlnfqnllvmvlril

llkvagfnllmtlrlwss

β鏈：

TRBV12-4/TRBJ1-4/密碼子最佳化小鼠 TRBC

β鏈 DNA 序列

ATGGGCTCCTGGACCCTCTGCTGTGTGTCCCTTTGCATCCTGGTTGCAAAG

CACACAGATGCTGGAGTTATCCAGTCACCCCGGCACGAGGTGACAGAGA

TGGGACAAGAAGTGACTCTGAGATGTAAACCAATT**TCAGGACATGACTA**

CCTTTTCTGGTACAGACAGACCATGATGCGGGGACTGGAGTTGCTCATTT

AC**TTTAACAACAACGTTCCT**ATTGATGATTCAGGGATGCCCGAGGATCG

CTTCTCAGCTAAGATGCCTAATGCATCATTCTCCACTCTGAAGATCCAGCC

CTCAGAACCCAGGGACTCAGCTGTGTACTTC**TGTGCCAGCAGTTTTCTC**

GGCTGGAATGAAAAACTGTTCTTTGGCAGTGGAACCCAGCTCTCTGTCT

TGGaagatcttcgaaacgtaacccctccaaaagtgagtctctttgaaccgagtaaggctgagatcgcgaacaaacaaaa

ggcgaccctcgtctgtcttgcgcgaggatttttttcccgaccacgtggagttgtcttggtgggtaaacggtaaggaagtacac

agcggtgtttgcaccgaccctcaagcctacaaggaatctaactattcatactgcctttcatcccgacttagggtttctgctacct

tttggcacaatccgaggaatcactttaggtgtcaagtacagttccacggattgtcagaggaggataaatggccggagggct

ccccgaagccggttacgcagaacattagtgcggaagcctggggacgagcagactgcggtatcacgtctgccagctatca

gcaaggcgttctgtcagcgacaattctgtacgaaatacttttgggtaaggctacattgtatgcggtattggtgtctacgctggt

agtcatggccatggtgaaacgaaaaaactca

β鏈蛋白質序列

MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPI**SGHDY**LF

WYRQTMMRGLELLIY**FNNNVP**IDDSGMPEDRFSAKMPNASFSTLKIQPSEPR

DSAVYF**CASSFLGWNEKLFF**GSGTQLSVLEdlrnvtppkvslfepskaeiankqkatlvclar

gffpdhvelswwvngkevhsgvctdpqaykesnysyclssrlrvsatfwhnprnhfrcqvqfhglseedkwpegs

pkpvtqnisaeawgradcgitsasyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvstlvvmamvkrkns

完整β及α ORF DNA序列(「弗林蛋白酶-P2A」位點中帶下劃線之斜體區域編碼允許在單個卡匣中表現兩條多肽鏈之序列」)

ATGGGCTCCTGGACCCTCTGCTGTGTGTCCCTTTGCATCCTGGTTGCAAAG

CACACAGATGCTGGAGTTATCCAGTCACCCCGGCACGAGGTGACAGAGA

TGGGACAAGAAGTGACTCTGAGATGTAAACCAATT**TCAGGACATGACTA**

CCTTTTCTGGTACAGACAGACCATGATGCGGGGACTGGAGTTGCTCATTT

AC**TTTAACAACAACGTTCCT**ATTGATGATTCAGGGATGCCCGAGGATCG

CTTCTCAGCTAAGATGCCTAATGCATCATTCTCCACTCTGAAGATCCAGCC

CTCAGAACCCAGGGACTCAGCTGTGTACTTC**TGTGCCAGCAGTTTTCTC**

GGCTGGAATGAAAAACTGTTCTTTGGCAGTGGAACCCAGCTCTCTGTCT

TGGaagatcttcgaaacgtaacccctccaaaagtgagtctctttgaaccgagtaaggctgagatcgcgaacaaacaaaa

ggcgaccctcgtctgtcttgcgcgaggatttttttcccgaccacgtggagttgtcttggtgggtaaacggtaaggaagtacac

agcggtgtttgcaccgaccctcaagcctacaaggaatctaactattcatactgcctttcatcccgacttagggtttctgctacct

tttggcacaatccgaggaatcactttaggtgtcaagtacagttccacggattgtcagaggaggataaatggccggagggct

ccccgaagccggttacgcagaacattagtgcggaagcctggggacgagcagactgcggtatcacgtctgccagctatca

gcaaggcgttctgtcagcgacaattctgtacgaaatacttttgggtaaggctacattgtatgcggtattggtgtctacgctggt

agtcatggccatggtgaaacgaaaaaactca*AGAGCCAAAAGAAGCGGGAGCGGTGCGACAA*

*ACTTTAGCCTGTTGAAACAAGCCGGCGACGTTGAAGAGAACCCCGGACCT*ATG

GTCCTGAAATTCTCCGTGTCCATTCTTTGGATTCAGTTGGCATGGGTGAGC

ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTTAGCATCCAAGAGGGAGA

AAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCA**AGTGTTTTCTCCAGC**CTTCAAT

GGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCCTCCTGGTGACA**GTTGT**

TACTGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTTACCTTTCAGTTTGGT

GATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGCAGCCCAGCCTGGTGA

TACAGGCCTCTACCTC**TGTGCAGGAGATGAAAGTATTAGCTATGGAAA**

GCTGACATTTGGACAAGGGACCATCTTGACTGTCCATCCAAacattcaaaaccca

gaacccgccgtctaccagctgaaagacccgaggtctcaagactctacgttgtgcttgttcaccgatttcgacagtcagataa

atgtgcctaagaccatggagagtggcactttcatcactgacaaatgtgtgttggacatgaaggctatggacagcaagtcaa

acggcgcgattgcttggtccaaccaaacttctttcacgtgccaggacatcttcaaggagacaaacgccacctatccatcctc

tgatgttccgtgcgatgcgactcttaccgagaaaagcttcgagacggacatgaacttgaacttccaaaacctgcttgtgatg

gtactgcgaatacttcttcttaaggtggcgggcttcaatttgctcatgacactcagactttggtctagc

完整β及αORF蛋白質序列(「弗林蛋白酶-P2A」位點中帶下劃線之斜體區域允許在單個卡匣中表現兩條多肽鏈」)」)

MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPI**SGHDY**LF

WYRQTMMRGLELLIY**FNNNVP**IDDSGMPEDRFSAKMPNASFSTLKIQPSEPR

DSAVYF**CASSFLGWNEKLFF**GSGTQLSVLEdlrnvtppkvslfepskaeiankqkatlvclar

gffpdhvelswwvngkevhsgvctdpqaykesnysyclssrlrvsatfwhnprnhfrcqvqfhglseedkwpegs

pkpvtqnisaeawgradcgitsasyqqgvlsatilyeillgkatlyavlvstlvvmamvkrkns*RAKRSGSGATN*

*FSLLKQAGDVEENPGP*MVLKFSVSILWIQLAWVSTQLLEQSPQFLSIQEGENLT

VYCNSS**SVFSS**LQWYRQEPGEGPVLLVT**VVTGGEV**KKLKRLTFQFGDARKD

SSLHITAAQPGDTGLYL**CAGDESISYGKLTF**GQGTILTVHPNiqnpepavyqlkdprs

qdstlclftdfdsqinvpktmesgtfitdkcvldmkamdsksngaiawsnqtsftcqdifketnatypssdvpcdatlte

ksfetdmnlnfqnllvmvlrilllkvagfnllmtlrlwss

注意：以下各純系之 CDR1 及 CDR2 序列對於上文所列之相應基礎純系名稱而言為多餘的

MAGEA1 TCR 32-39 MGTM 密碼子最佳化序列

α 鏈：

TRAV29-DV5/TRAJ43/MGTM 修飾之 TRAC

α 鏈 DNA 序列

ATGGCCATGCTCCTGGGGGCATCAGTGCTGATTCTGTGGCTTCAGCCAGA

CTGGGTTAACAGTCAACAGAAGAATGATGACCAGCAAGTTAAGCAAAAT

TCACCATCCCTGAGCGTCCAGGAAGGAAGAATTTCTATTCTGAACTGTGA

CTATACT**AACAGCATGTTTGATTAT**TTCCTTTGGTACAAGAAATACCCTG

CTGAAGGTCCTACATTCCTGATTTCT**ATTAGTTCCATTAAGGATAAA**AAT

GAAGATGGAAGATTCACTGTTTTCCTTAACAAAAGTGCCAAGCACCTCTC

TCTGCACATTGTGCCCTCCCAGCCTGGAGACTCTGCAGTGTACTTC**TGTG**

CAGCAAGCGCTCAGAACAATGACATGCGCTTTGGAGCAGGGACCAGA

CTGACAGTTAAACCAaacatccagaaccccgaccccgccgtgtaccagctgagggactccaagtccagc

gacaagagcgtgtgtctgtttacggacttcgacagccagaccaacgtgagtcaaagcaaggacagcgacgtctacataac

ggataagaccgtgctggacatgcggagcatggacttcaagagcaacagcgccgtggcctggtccaacaagagcgactt

cgcctgcgccaacgccttcaacaacagcatcatccccgaggacaccttcttccccagcagcgacgtgccctgcgacgtg

aaactggtggagaagtccttcgagacagacaccaatctgaactttcagaacctgctggtgatcgtgctgcggattctgctgc

tgaaagtggccggcttcaatctgctgatgaccctgcggctgtggagc

α鏈蛋白質序列

MAMLLGASVLILWLQPDWVNSQQKNDDQQVKQNSPSLSVQEGRISILNCDY

T**NSMFDY**FLWYKKYPAEGPTFLIS**ISSIKDK**NEDGRFTVFLNKSAKHLSLHIV

PSQPGDSAVYF**CAASAQNNDMRF**GAGTRLTVKPNiqnpdpavyqlrdskssdksvclftd

fdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksf

etdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnllmtlrlws

β鏈：

TRBV18/TRBJ2-7/MGTM 修飾之 TRBC1

β鏈 DNA 序列

ATGGACACCAGACTTCTCTGCTGTGCTGTCATCTGTCTCCTGGGGGCAGG

CCTCTCAAATGCCGGCGTCATGCAGAACCCAAGACACCTGGTCAGGAGG

AGGGGACAGGAGGCAAGACTGAGATGCAGCCCAATG**AAAGGACACAGT**

CATGTTTACTGGTATCGGCAGCTCCCAGAGGAAGGTCTGAAATTCATGGT

TTAT**CTCCAGAAAGAAAATATC**ATTGATGAGTCAGGAATGCCAAAGGAA

CGCTTTTCTGCTGAATTTCCCAAAGAGGGCCCCAGCATCCTGAGGATCCA

GCAGGTTGTGCGCGGAGATTCTGCAGCTTATTTC**TGTGCCAGCTCACCC**

TCCTACGAGCAGTACTTCGGGCCTGGCACCAGGCTCACTGTCACAgaagat

ctgaacaaggtgttccctccagaggtggccgtgttcgagccttctaaggccgagatcgcccacacacaaaaagccaccct

cgtgtgcctggccaccggctttttccccgaccacgtggaactgtcttggtgggtcaacggcaaagaggtgcactccggcg

tgtcaacggatccccagcctctgaaagaacagcctgccctgaacgacagccggtactgcctgagctccagactgagagt

gtccgccaccttctggcagaacccccggaaccacttcagatgccaggtgcagttttacggcctgagcgagaacgacgagt

ggacccaggacagagccaagcccgtgacacaaatcgtgtctgccgaagcctggggaagagccgattgcggcatcacc

agcgcctcctatcaccagggcgtgctgagcgccacaatcctgtacgaaatcctgctgggcaaggccaccctgtacgccgt

gctggtgtctgctctggtgctgatggccatggtcaagcggaaggacttt

β鏈蛋白質序列

MDTRLLCCAVICLLGAGLSNAGVMQNPRHLVRRRGQEARLRCSPM**KGHSH**

VYWYRQLPEEGLKFMVY**LQKENI**IDESGMPKERFSAEFPKEGPSILRIQQVV

RGDSAAYF**CASSPSYEQYF**GPGTRLTVTEdlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgff

pdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdr

akpvtqivsaeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf

完整β及α ORF DNA序列

ATGGACACCAGACTTCTCTGCTGTGCTGTCATCTGTCTCCTGGGGGCAGG

CCTCTCAAATGCCGGCGTCATGCAGAACCCAAGACACCTGGTCAGGAGG

AGGGGACAGGAGGCAAGACTGAGATGCAGCCCAATG**AAAGGACACAGT**

CATGTTTACTGGTATCGGCAGCTCCCAGAGGAAGGTCTGAAATTCATGGT

TTAT**CTCCAGAAAGAAAATATC**ATTGATGAGTCAGGAATGCCAAAGGAA

CGCTTTTCTGCTGAATTTCCCAAAGAGGGCCCCAGCATCCTGAGGATCCA

GCAGGTTGTGCGCGGAGATTCTGCAGCTTATTTC**TGTGCCAGCTCACCC**

TCCTACGAGCAGTACTTCGGGCCTGGCACCAGGCTCACTGTCACAgaagat

ctgaacaaggtgttccctccagaggtggccgtgttcgagccttctaaggccgagatcgcccacacacaaaaagccaccct

cgtgtgcctggccaccggctttttccccgaccacgtggaactgtcttggtgggtcaacggcaaagaggtgcactccggcg

tgtcaacggatccccagcctctgaaagaacagcctgccctgaacgacagccggtactgcctgagctccagactgagagt

gtccgccaccttctggcagaacccccggaaccacttcagatgccaggtgcagttttacggcctgagcgagaacgacgagt

ggacccaggacagagccaagcccgtgacacaaatcgtgtctgccgaagcctggggaagagccgattgcggcatcacc

agcgcctcctatcaccagggcgtgctgagcgccacaatcctgtacgaaatcctgctgggcaaggccaccctgtacgccgt

gctggtgtctgctctggtgctgatggccatggtcaagcggaaggactttGGCAGCGGCAGAGCCAAAAG

GTCCGGGAGCGGTGCGACAAACTTTAGCCTGTTGAAACAAGCCGGCGACGTT

GAAGAGAACCCCCGGACCTATGGCCATGCTCCTGGGGGCATCAGTGCTGATT

CTGTGGCTTCAGCCAGACTGGGTTAACAGTCAACAGAAGAATGATGACCA

GCAAGTTAAGCAAAATTCACCATCCCTGAGCGTCCAGGAAGGAAGAATTT

CTATTCTGAACTGTGACTATACT**AACAGCATGTTTGATTAT**TTCCTTTGG

TACAAGAAATACCCTGCTGAAGGTCCTACATTCCTGATTTCT**ATTAGTTC**

CATTAAGGATAAAAATGAAGATGGAAGATTCACTGTTTTCCTTAACAAA

AGTGCCAAGCACCTCTCTCTGCACATTGTGCCCTCCCAGCCTGGAGACTCT

GCAGTGTACTTC**TGTGCAGCAAGCGCTCAGAACAATGACATGCGCTTT**

GGAGCAGGGACCAGACTGACAGTTAAACCAaacatccagaaccccgaccccgccgtgtac

cagctgagggactccaagtccagcgacaagagcgtgtgtctgtttacggacttcgacagccagaccaacgtgagtcaaa

gcaaggacagcgacgtctacataacggataagaccgtgctggacatgcggagcatggacttcaagagcaacagcgccg

tggcctggtccaacaagagcgacttcgcctgcgccaacgccttcaacaacagcatcatccccgaggacaccttcttcccc

agcagcgacgtgccctgcgacgtgaaactggtggagaagtccttcgagacagacaccaatctgaactttcagaacctgct

ggtgatcgtgctgcggattctgctgctgaaagtggccggcttcaatctgctgatgaccctgcggctgtggagc

完整 β 及 α ORF 蛋白質序列

MDTRLLCCAVICLLGAGLSNAGVMQNPRHLVRRRGQEARLRCSPM**KGHSH**

VYWYRQLPEEGLKFMVY**LQKENI**IDESGMPKERFSAEFPKEGPSILRIQQVV

RGDSAAYF**CASSPSYEQYF**GPGTRLTVTEdlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclatgff

pdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtqdr

akpvtqivsaeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf*GSGRAKRSGSG*

*ATNFSLLKQAGDVEENPGP*MAMLLGASVLILWLQPDWVNSQQKNDDQQVKQ

NSPSLSVQEGRISILNCDYT**NSMFDY**FLWYKKYPAEGPTFLIS**ISSIKDK**NEDG

RFTVFLNKSAKHLSLHIVPSQPGDSAVYF**CAASAQNNDMRF**GAGTRLTVKP

Niqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacana

fnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnllmtlrlws

MAGEA1 TCR 32-41 MGTM 密碼子最佳化序列(亦稱為「TCR41」或「41」或「TCR-204-C07」。在一些實施例中，編碼 TCR 之密碼子最佳化 α 鏈及 β 鏈 DNA 序列可如表 3 中提供之載體，諸如載體 pNVVD142 中所示使用。)

α 鏈：

TRAV27/TRAJ52/MGTM 修飾之 TRAC

α 鏈 DNA 序列

ATGGTCCTGAAATTCTCCGTGTCCATTCTTTGGATTCAGTTGGCATGGGTG

AGCACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTTAGCATCCAAGAGGG

AGAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCA**AGTGTTTTCTCCAGC**CTTC

AATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCCTCCTGGTGACA**GT**

TGTTACTGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTTACCTTTCAGTTT

GGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGCAGCCCAGCCTGG

TGATACAGGCCTCTACCTC**TGTGCAGGAGATGAAAGTATTAGCTATGG**

AAAGCTGACATTTGGACAAGGGACCATCTTGACTGTCCATCCAaacatccaga

accccgaccccgccgtgtaccagctgagggactccaagtccagcgacaagagcgtgtgtctgtttacggacttcgacagc

cagaccaacgtgagtcaaagcaaggacagcgacgtctacataacggataagaccgtgctggacatgcggagcatggac

ttcaagagcaacagcgccgtggcctggtccaacaagagcgacttcgcctgcgccaacgccttcaacaacagcatcatcc

ccgaggacaccttcttccccagcagcgacgtgccctgcgacgtgaaactggtggagaagtccttcgagacagacaccaa

tctgaactttcagaacctgctggtgatcgtgctgcggattctgctgctgaaagtggccggcttcaatctgctgatgaccctgc

ggctgtggagc

α鏈蛋白質序列

MVLKFSVSILWIQLAWVSTQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSS**SVFSS**LQWY

RQEPGEGPVLLVT**VVTGGEV**KKLKRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGL

YL**CAGDESISYGKLTF**GQGTILTVHPNiqnpdpavyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskd

sdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedtffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvi

vlrilllkvagfnllmtlrlws

β鏈：

TRBV12-4/TRBJ1-4/MGTM 修飾之 TRBC1

β鏈 DNA 序列

ATGGGCTCCTGGACCCTCTGCTGTGTGTCCCTTTGCATCCTGGTTGCAAAG

CACACAGATGCTGGAGTTATCCAGTCACCCCGGCACGAGGTGACAGAGA

TGGGACAAGAAGTGACTCTGAGATGTAAACCAATT**TCAGGACATGACTA**

CCTTTTCTGGTACAGACAGACCATGATGCGGGGACTGGAGTTGCTCATTT

AC**TTTAACAACAACGTTCCT**ATTGATGATTCAGGGATGCCCGAGGATCG

CTTCTCAGCTAAGATGCCTAATGCATCATTCTCCACTCTGAAGATCCAGCC

CTCAGAACCCAGGGACTCAGCTGTGTACTTC**TGTGCCAGCAGTTTTCTC**

GGCTGGAATGAAAAACTGTTCTTTGGCAGTGGAACCCAGCTCTCTGTCT

TGgaagatctgaacaaggtgttccctccagaggtggccgtgttcgagccttctaaggccgagatcgcccacacacaaaa

agccaccctcgtgtgcctggccaccggctttttccccgaccacgtggaactgtcttggtgggtcaacggcaaagaggtgc

actccggcgtgtcaacggatccccagcctctgaaagaacagcctgccctgaacgacagccggtactgcctgagctccag

actgagagtgtccgccaccttctggcagaaccccccggaaccacttcagatgccaggtgcagttttacggcctgagcgaga

acgacgagtggacccaggacagagccaagcccgtgacacaaatcgtgtctgccgaagcctggggaagagccgattgc

ggcatcaccagcgcctcctatcaccagggcgtgctgagcgccacaatcctgtacgaaatcctgctgggcaaggccaccc

tgtacgccgtgctggtgtctgctctggtgctgatggccatggtcaagcggaaggacttt

β鏈蛋白質序列

MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPI**SGHDY**LF

WYRQTMMRGLELLIY**FNNNVP**IDDSGMPEDRFSAKMPNASFSTLKIQPSEPR

DSAVYF**CASSFLGWNEKLFF**GSGTQLSVLEdlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclat

gffpdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtq

drakpvtqivsaeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf

完整β及α ORF DNA序列

ATGGGCTCCTGGACCCTCTGCTGTGTGTCCCTTTGCATCCTGGTTGCAAAG

CACACAGATGCTGGAGTTATCCAGTCACCCCGGCACGAGGTGACAGAGA

TGGGACAAGAAGTGACTCTGAGATGTAAACCAATT**TCAGGACATGACTA**

CCTTTTCTGGTACAGACAGACCATGATGCGGGGACTGGAGTTGCTCATTT

AC**TTTAACAACAACGTTCCT**ATTGATGATTCAGGGATGCCCGAGGATCG

CTTCTCAGCTAAGATGCCTAATGCATCATTCTCCACTCTGAAGATCCAGCC

CTCAGAACCCAGGGACTCAGCTGTGTACTTC**TGTGCCAGCAGTTTTCTC**

GGCTGGAATGAAAAACTGTTCTTTGGCAGTGGAACCCAGCTCTCTGTCT

TGgaagatctgaacaaggtgttccctccagaggtggccgtgttcgagccttctaaggccgagatcgcccacacacaaaa

agccaccctcgtgtgcctggccaccggctttttccccgaccacgtggaactgtcttggtgggtcaacggcaaagaggtgc

actccggcgtgtcaacggatccccagcctctgaaagaacagcctgccctgaacgacagccggtactgcctgagctccag

actgagagtgtccgccaccttctggcagaaccccccggaaccacttcagatgccaggtgcagttttacggcctgagcgaga

acgacgagtggacccaggacagagccaagcccgtgacacaaatcgtgtctgccgaagcctggggaagagccgattgc

ggcatcaccagcgcctcctatcaccagggcgtgctgagcgccacaatcctgtacgaaatcctgctgggcaaggccaccc

tgtacgccgtgctggtgtctgctctggtgctgatggccatggtcaagcggaaggacttt*GGCAGCGGCAGAGC*

CAAAAGGTCCGGGAGCGGTGCGACAAACTTTAGCCTGTTGAAACAAGCCGGC

*GACGTTGAAGAGAACCCCGGACCT*ATGGTCCTGAAATTCTCCGTGTCCATTC

TTTGGATTCAGTTGGCATGGGTGAGCACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCT

CAGTTTCTTAGCATCCAAGAGGGAGAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTC

CTCA**AGTGTTTTCTCCAGC**CTTCAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAA

GGTCCTGTCCTCCTGGTGACA**GTTGTTACTGGTGGAGAA**GTGAAGAAGC

TGAAGAGACTTACCTTTCAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTC

CACATCACTGCAGCCCAGCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTC**TGTGCAGG**

AGATGAAAGTATTAGCTATGGAAAGCTGACATTTGGACAAGGGACCAT

CTTGACTGTCCATCCAaacatccagaaccccgaccccgccgtgtaccagctgagggactccaagtccagc

gacaagagcgtgtgtctgtttacggacttcgacagccagaccaacgtgagtcaaagcaaggacagcgacgtctacataac

ggataagaccgtgctggacatgcggagcatggacttcaagagcaacagcgccgtggcctggtccaacaagagcgactt

cgcctgcgccaacgccttcaacaacagcatcatccccgaggacaccttcttccccagcagcgacgtgccctgcgacgtg

aaactggtggagaagtccttcgagacagacaccaatctgaactttcagaacctgctggtgatcgtgctgcggattctgctgc

tgaaagtggccggcttcaatctgctgatgaccctgcggctgtggagc

完整 β 及 α ORF 蛋白質序列

MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPI**SGHDY**LF

WYRQTMMRGLELLIY**FNNNVP**IDDSGMPEDRFSAKMPNASFSTLKIQPSEPR

DSAVYF**CASSFLGWNEKLFF**GSGTQLSVLEdlnkvfppevavfepskaeiahtqkatlvclat

gffpdhvelswwvngkevhsgvstdpqplkeqpalndsryclssrlrvsatfwqnprnhfrcqvqfyglsendewtq

drakpvtqivsaeawgradcgitsasyhqgvlsatilyeillgkatlyavlvsalvlmamvkrkdf*GSGRAKRSG*

*SGATNFSLLKQAGDVEENPGP*MVLKFSVSILWIQLAWVSTQLLEQSPQFLSIQE

GENLTVYCNSS**SVFSS**LQWYRQEPGEGPVLLVT**VVTGGEV**KKLKRLTFQFG

DARKDSSLHITAAQPGDTGLYL**CAGDESISYGKLTF**GQGTILTVHPNiqnpdpa

vyqlrdskssdksvclftdfdsqtnvsqskdsdvyitdktvldmrsmdfksnsavawsnksdfacanafnnsiipedt ffpssdvpcdvklveksfetdtnlnfqnllvivlrilllkvagfnllmtlrlws

*表 2 部分提供代表性 TCR 序列，該等 TCR 序列根據 MHC 血清型呈現分組且根據 MHC 血清型呈現且由分小組之 TCR 結合之不同肽分小組。描述及主張個別 TCR，諸如表中代表性示例之彼等 TCR，以及結合單獨或與 MHC 複合之本文所述之肽抗原決定基序列的結合蛋白種類，諸如本文提供之表中分組之彼等結合蛋白。此外，提供本文所述之各條 TCR α 鏈之 TRAV、TRAJ 及 TRAC 基因，以及本文所述之各條 TCR β 鏈之 TRBV、TRBJ 及 TRBC 基因。本文所述之各 TCR 之序列作為各命名 TCR 之同源 α 鏈及 β 鏈對提供。對本文描述之 TCR 序列進行註釋。可變域序列大寫。恆定域序列小寫。CDR1、CDR2 及 CDR3 序列使用粗體及帶下劃線之文字進行註釋。CDR1、CDR2 及 CDR3 按自左(N 端)至右(C 端)之標准出現順序顯示。本文所述之各條 TCR α 鏈之 TRAV、TRAJ 及 TRAC 基因，以及本文所述之各條 TCR β 鏈之 TRBV、TRBJ 及 TRBC 基因根據本文所述之熟知之 IMGT 命名法進行註釋。類似地，TRAV 及 TRBV 之 CDR1 及 CDR2 為所屬領域中熟知，因為其係基於熟知且注釋之 TRAV 及 TRBV 序列(例如，如例如可在 imt.org 獲得之 IMGT 及可在 iedb.org 獲得之 IEDB 的資料庫中所注釋)。

表 3

代表性人類 MAGEA1 cDNA 序列

atgtctcttgagcagaggagtctgcactgcaagcctgaggaagcccttgaggcccaacaagaggccctgggcctggtgt gtgtgcaggctgccacctcctcctcctctcctctggtcctgggcaccctggaggaggtgcccactgctgggtcaacagatc ctccccagagtcctcagggagcctccgcctttcccactaccatcaacttcactcgacagaggcaacccagtgagggttcca gcagccgtgaagaggaggggccaagcacctcttgtatcctggagtccttgttccgagcagtaatcactaagaaggtggct gatttggttggttttctgctcctcaaatatcgagccagggagccagtcacaaaggcagaaatgctggagagtgtcatcaaaa

attacaagcactgttttcctgagatcttcggcaaagcctctgagtccttgcagctggtctttggcattgacgtgaaggaagca

gaccccaccggccactcctatgtccttgtcacctgcctaggtctctcctatgatggcctgctgggtgataatcagatcatgcc

caagacaggcttcctgataattgtcctggtcatgattgcaatggagggcggccatgctcctgaggaggaaatctgggagg

agctgagtgtgatggaggtgtatgatgggagggagcacagtgcctatggggagcccaggaagctgctcacccaagattt

ggtgcaggaaaagtacctggagtaccggcaggtgccggacagtgatcccgcacgctatgagttcctgtggggtccaagg

gccctcgctgaaaccagctatgtgaaagtccttgagtatgtgatcaaggtcagtgca**agagttcgctttttcttcccatccc**

tgcgtgaagcagctttgagagaggaggaagagggagtctga

代表性人類 MAGEA1 蛋白質序列

MSLEQRSLHCKPEEALEAQQEALGLVCVQAATSSSSPLVLGTLEEVPTAGST

DPPQSPQGASAFPTTINFTRQRQPSEGSSSREEEGPSTSCILESLFRAVITKKVA

DLVGFLLLKYRAREPVTKAEMLESVIKNYKHCFPEIFGKASESLQLVFGIDVK

EADPTGHSYVLVTCLGLSYDGLLGDNQIMPKTGFLIIVLVMIAMEGGHAPEE

EIWEELSVMEVYDGREHSAYGEPRKLLTQDLVQEKYLEYRQVPDSDPARYE

FLWGPRALAETSYVKVLEYVIKVSAR**VRFFFPSL**REA

ALREEEEGV*

代表性人類 HLA-C*07:02 DNA 序列

atgcgcgtcatggctccacgcgccctcctcctgctgctctcaggggcctggccctgaccgagacctgggcctgctccca

ctccatgcgctatttcgacaccgccgtgtcccgcccaggccgcggtgagccacgcttcatctcagtgggctacgtggacg

acactcagttcgtgcgcttcgacagcgacgccgccagtcctcgcggggagccacgcgcaccatgggtggagcaggag

ggcctgagtattgggaccgcgagacacagaagtacaagcgccaggcacaggctgaccgcgtgagcctgcgcaacct

gcgcggctactacaaccagagcgaggacgggtctcacaccctccagcgcatgtctggctgcgacctggggcctgacgg

gcgcctcctccgcgggtatgaccagtccgcctacgacggcaaggattacatcgccctgaacgaggacctgcgctcctgg

accgccgctgacaccgccgctcagatcacccagcgcaagttggaggctgcccgcgccgctgagcagctgcgcgcctac

ctggagggcacatgcgtggagtggctccgccgctacctggagaacgggaaggagaccctgcagcgcgcagaaccacc

aaagacacacgtgacccaccaccctctctctgaccatgaggccaccctgcgctgctgggccctgggcttctaccctgctg

agatcacactgacctggcagcgcgatggggaggaccagacccaggacaccgagcttgtggagacccgcccagcaggt

gatggcaccttccagaagtgggcagctgtggtggtgccttctgggcaagagcagcgctacacatgccatatgcagcacg

aggggctgcaagagccactcaccctgagctgggagccatcttcccagccaaccatcccaatcatgggcatcgttgctggc

ctggctgtcctggttgtcctggctgtccttggtgctgtggtcaccgctatgatgtgtcgccgcaagagctcaggtgggaaag

gtgggagctgctctcaggctgcatgcagcaacagtgcccagggctctgatgagtctctcatcacttgtaaagcctga

代表性人類 HLA-C*07:02 蛋白質序列

MRVMAPRALLLLLSGGLALTETWACSHSMRYFDTAVSRPGRGEPRFISVGY

VDDTQFVRFDSDAASPRGEPRAPWVEQEGPEYWDRETQKYKRQAQADRVS

LRNLRGYYNQSEDGSHTLQRMSGCDLGPDGRLLRGYDQSAYDGKDYIALNE

DLRSWTAADTAAQITQRKLEAARAAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETL

QRAEPPKTHVTHHPLSDHEATLRCWALGFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTEL

VETRPAGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHMQHEGLQEPLTLSWEPSSQPT

IPIMGIVAGLAVLVVLAVLGAVVTAMMCRRKSSGGKGGSCSQAACSNSAQG

SDESLITCKA*

代表性人類 LAMB4-內含子保留之 DNA 序列(編碼序列；CDS) (內含子保留以大寫文字顯示)

atgcaatttcaactgacccttttttgcaccttgggtggctcagttactcaaaagctcaagatgactgcaacaggggtgcctgt

catcccaccactggtgatctcctggtgggcaggaacacgcagcttatggcttcttctacctgtgggctgagcagagcccag

aaatactgcatcctcagttacctggagggggaacaaaaatgcttcatctgtgactctagatttccatatgatccgtatgaccaa

cccaacagccacaccattgagaatgtcattgtaagttttgaaccagacagagaaaagaaatggtggcaatctgaaaatggt

cttgatcatgtcagcatcagactggacttagaggcattatttcggttcagccaccttatcctgacctttaagacttttcggcctg

ctgcaatgttagttgaacgttccacagactatggacacaactggaaagtgttcaaatattttgcaaaagactgtgccacttcct

ttcctaacatcacatctggccaggcccagggagtgggagacattgtttgtgactccaaatactcggatattgaaccctcaac

aggtggagaggttgttttaaaagttttggatcccagttttgaaattgaaaaacccttatagcccctacatccaagaccttgtgaca

ttgacaaacctgaggataaactttaccaagctccacacccttggggatgctttgcttggaaggaggcaaaatgattcccttga

taaatactactatgctctgtacgagatgattgttcggggaagctgcttttgcaatggccatgctagcgaatgtcgccctatgca

gaagatgcggggagatgttttcagccctcctggaatggttcacggtcagtgtgtgtgtcagcacaatacagatggtccgaa

ctgtgagagatgcaaggacttcttccaggatgctccttggaggccagctgcagacctccaggacaacgcttgcagatcgt

gcagctgtaatagccactccagccgctgtcactttgacatgactacgtacctggcaagcggtggcctcagcgggggcgtg

tgtgaagactgccagcacaacactgaggggcagcactgcgaccgctgcagacccctcttctacagggacccgctcaaga

ccatctcagatccctacgcgtgcattccttgtgaatgtgaccccgatgggaccatatctggtggcatttgtgtgagccactct

gatcctgccttagggtctgtggccggccagtgcctttgtaaagagaacgtggaaggagccaaatgcgaccagtgcaaacc

caaccactacggactaagcgccaccgacccccctgggctgccagccctgcgactgtaacccccttgggagtctgccattct

tgacctgtgatgtggatacaggccaatgcttgtgcctgtcatatgtcaccggagcacactgcgaagaatgcactgttggata

ctggggcctgggaaatcatctccatgggtgttctccctgtgactgtgatattggaggtgcttattctaacgtgtgctcacccaa

gaatgggcagtgtgaatgccgcccacatgtcactggccgtagctgctctgaaccagcccctggctacttctttgctcctttga

atttctatctctacgaggcagaggaagccacaacactccaaggactggcgcctttgggctcggagacgtttggccagagtc

ctgctgttcacgttgttttaggagagccagttcctgggaaccctgttacatggactggacctggatttgccagggttctccctg

gggctggcttgagatttgctgtcaacaacattccctttcctgtggacttcaccattgccattcactatgaaacccagtctgcag

ctgactggactgtccagattgtggtgaaccccccctggagggagtgagcactgcatacccaagactctacagtcaaagcct

cagtcttttgccttaccagcggctacgagaatcatgctgcttcccacacccatctgtttagaaccagatgtacaatattccata

gatgtctatttttctcagcctttgcaaggagagtcccacgctcattcacatgtcctggtggactctcttggccttattccccaaat

caattcattggagaatttctgcagcaagcaggacttagatgagtatcagcttcacaactgtgttgaaattgcctcagcaatgg

gacctcaagtgctcccgggtgcctgtgaaaggctgatcatcagcatgtctgccaagctgcatgatggggctgtggcctgc

aagtgtcacccccagggctcagtcggatccagctgcagccgacttggaggccagtgccagtgtaaacctcttgtggtcgg

gcgctgctgtgacaggtgctcaactggaagctatgatttggggcatcacggctgtcacccatgtcactgccatcctcaagg

atcaaaggacactgtatgtgaccaagtaacaggacagtgcccctgccatggagaggtgtctggccgccgctgtgatcgct

gcctggcaggctactttggatttcccagctgccacccttgcccttgtaataggtttgctgaactttgtgatcctgagacagggt

catgcttcaattgtggaggctttacaactggcagaaactgtgaaaggtgtattgatggttactatggaaatccttcttcaggac

agccctgtcgtccttgcctgtgtccagatgatccctcaagcaatcagtattttgcccattcctgttatcagaatctgtggagctc

agatgtaatctgcaattgtcttcaaggttatacgggtactcagtgtggagaatgctctactggtttctatggaaatccaagaatt

tcaggagcaccttgccaaccatgtgcctgcaacaacaacatagatgtaaccgatccagagtcctgcagccgggtaacagg

ggagtgccttcgatgtttgcacaacactcagggcgcaaactgccagctctgcaaaccaggtcactatggatcagccctcaa

tcagacctgcagaagatgctcctgccatgcttccggcgtgagtcccatggagtgtccccctggtgggggagcttgcctctg

tgaccctgtcactggtgcatgtccttgtctgccgaatgtcacaggcctggcctgtgaccgttgtgctgatggatactggaatc

tggtccctggcagaggatgtcagtcatgtgactgtgaccctaggacctctcaaagtagccactgtgaccagcttacaggcc

agtgtccgtgtaaattaggttacggcgggaaacgttgcagtgagtgccaggaaaattattatggtgatccacctgggcgat

gcattccatgtgattgtaacagggcaggtacccagaagcccatctgtgatccagacacaggcatgtgccgctgccgggag

ggtgtcagcggccagagatgtgatcgctgtgcccggggacacagccaggaattccctacttgtcttcaatgtcacttgtgct

ttgatcagtgggaccacaccatttcttccctctccaaagcggtgcaagggttaatgagactggctgctaacatggaagataa

aagagagaccctgcctgtctgtgaggcagacttcaaagacctcagagggaacgtgtctgaaatagaaaggattttgaaac

atcctgttttcccatctgggaaattcttaaaagtcaaggattatcatgactctgttagaagacaaatcatgcagctaaatgaaca

actgaaagcagtgtatgaatttcaagatctgaaagatacaatagaaagagcaaagaatgaagcagacctcttacttgaaga

ccttcaggaagaaattgatttgcaatccagtgtccttaatgcaagcattgcggactcctcagaaaacatcaagaaatattatca

catatcatcatctgctgaaaagaaaattaatgaaactagttccaccattaatacctctgcaaatacaaggaatgacttacttacc

atcttagatacactaacctcaaaaggaaacttgtcattggaaagattaaagcagattaagataccagatatccaaatattgaat

gaaaaggtgtgcggagatccaggaaatgtgccatgtgtgcccttgccctgtggcggtgctctctgcacgggccggaagg

ggcacaggaagtgtaggggtcccggctgtcacggctccctgaccctctcaacgaatgccctccaaaaagcccaggaag

caaaatccattattcgtaatttggacaaacaggttcgtgggttgaaaaatcagatcgaaagtataagtgaacaggcagaagt

ctccaaaaacaatgccttacagctgagggaaaaactgggaaatataagaaaccaaagtgactctgaagaagaaaacatca

atcttttcatcaaaaaagtgaaaaacttttttgttagGTAATTTAAAAATATATATTAGGACTAGTT

TTTGTTTTTTTCCCTTTTTAATGTATAGTCAAACATCATACGTGAACCCAG

GAGGCGGAGCTTGCAGTGAGCCGAGATCGCGCCACTGCACTCCAGCCTG

GGCGACAGAGCGAGACTCCGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAACATCATAGCCAGTTCCAAATT

ATATTAATTGGAAATGACAAGCCTAAATCAGAAAAA

代表性人類 LAMB4-內含子保留之蛋白質序列(編碼序列；CDS) (內含子保留以粗體文字顯示；推定交叉反應性抗原決定基加下劃線)

MQFQLTLFLHLGWLSYSKAQDDCNRGACHPTTGDLLVGRNTQLMASSTCGL

SRAQKYCILSYLEGEQKCFICDSRFPYDPYDQPNSHTIENVIVSFEPDREKKW

WQSENGLDHVSIRLDLEALFRFSHLILTFKTFRPAAMLVERSTDYGHNWKVF

KYFAKDCATSFPNITSGQAQGVGDIVCDSKYSDIEPSTGGEVVLKVLDPSFEIE

NPYSPYIQDLVTLTNLRINFTKLHTLGDALLGRRQNDSLDKYYYALYEMIVR

GSCFCNGHASECRPMQKMRGDVFSPPGMVHGQCVCQHNTDGPNCERCKDF

FQDAPWRPAADLQDNACRSCSCNSHSSRCHFDMTTYLASGGLSGGVCEDCQ

HNTEGQHCDRCRPLFYRDPLKTISDPYACIPCECDPDGTISGGICVSHSDPALG

SVAGQCLCKENVEGAKCDQCKPNHYGLSATDPLGCQPCDCNPLGSLPFLTC

DVDTGQCLCLSYVTGAHCEECTVGYWGLGNHLHGCSPCDCDIGGAYSNVCS

PKNGQCECRPHVTGRSCSEPAPGYFFAPLNFYLYEAEEATTLQGLAPLGSETF

GQSPAVHVVLGEPVPGNPVTWTGPGFARVLPGAGLRFAVNNIPFPVDFTIAIH

YETQSAADWTVQIVVNPPGGSEHCIPKTLQSKPQSFALPAATRIMLLPTPICLE

PDVQYSIDVYFSQPLQGESHAHSHVLVDSLGLIPQINSLENFCSKQDLDEYQL

HNCVEIASAMGPQVLPGACERLIISMSAKLHDGAVACKCHPQGSVGSSCSRL

GGQCQCKPLVVGRCCDRCSTGSYDLGHHGCHPCHCHPQGSKDTVCDQVTG

QCPCHGEVSGRRCDRCLAGYFGFPSCHPCPCNRFAELCDPETGSCFNCGGFT

TGRNCERCIDGYYGNPSSGQPCRPCLCPDDPSSNQYFAHSCYQNLWSSDVIC

NCLQGYTGTQCGECSTGFYGNPRISGAPCQPCACNNNIDVTDPESCSRVTGE

CLRCLHNTQGANCQLCKPGHYGSALNQTCRRCSCHASGVSPMECPPGGGAC

LCDPVTGACPCLPNVTGLACDRCADGYWNLVPGRGCQSCDCDPRTSQSSHC

DQLTGQCPCKLGYGGKRCSECQENYYGDPPGRCIPCDCNRAGTQKPICDPDT

GMCRCREGVSGQRCDRCARGHSQEFPTCLQCHLCFDQWDHTISSLSKAVQG

LMRLAANMEDKRETLPVCEADFKDLRGNVSEIERILKHPVFPSGKFLKVKDY

HDSVRRQIMQLNEQLKAVYEFQDLKDTIERAKNEADLLLEDLQEEIDLQSSV

LNASIADSSENIKKYYHISSSAEKKINETSSTINTSANTRNDLLTILDTLTSKGN

LSLERLKQIKIPDIQILNEKVCGDPGNVPCVPLPCGGALCTGRKGHRKCRGPG

CHGSLTLSTNALQKAQEAKSIIRNLDKQVRGLKNQIESISEQAEVSKNNALQL

REKLGNIRNQSDSEEENINLFIKKVKNFLL**GNLKIYIRTSFCFFPFLMYSQTS**

YVNPGGGACSEPRSRHCTPAWATERDSVSKKKKKKKKKKKKKKKKKKH

HSQFQIILIGNDKPKSEK

代表性載體(編碼 TCR 之蛋白質可與任何所關注 TCR 序列互換)：pTSLV102-MSCV-HA1-10-30-MGTM-Q-CD8

tggaagggctaattcactcccaaagaagacaagatatccttgatctgtggatctaccacacacaaggctacttccctgattag

cagaactacacaccagggccaggggtcagatatccactgacctttggatggtgctacaagctagtaccagttgagccaga

taaggtagaagaggccaataaaggagagaacaccagcttgttacaccctgtgagcctgcatgggatggatgacccggag

agagaagtgttagagtggaggtttgacagccgcctagcatttcatcacgtggcccgagagctgcatccggagtacttcaag

aactgctgatatcgagcttgctacaagggactttccgctggggactttccagggaggcgtggcctgggcgggactgggg

agtggcgagccctcagatcctgcatataagcagctgctttttgcctgtactgggtctctctggttagaccagatctgagcctg

ggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgcttcaagtagtgtgtgcccgtc

tgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaatctctagcagtggcgcccgaacagg

gacttgaaagcgaaagggaaaccagaggagctctctcgacgcaggactcggcttgctgaagcgcgcacggcaagagg

cgaggggcggcgactggtgagtacgccaaaaattttgactagcggaggctagaaggagagagatgggtgcgagagcg

tcagtattaagcgggggagaattagatcgcgatgggaaaaaattcggttaaggccaggggaaagaaaaaatataaatta

aaacatatagtatgggcaagcagggagctagaacgattcgcagttaatcctggcctgttagaaacatcagaaggctgtaga

caaatactgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaacttagatcattatataatacagtagcaaccctct

attgtgtgcatcaaaggatagagataaaagacaccaaggaagctttagacaagatagaggaagagcaaaacaaaagtaa

gaccaccgcacagcaagcggccggccgctgatcttcagacctggaggaggagatatgagggacaattggagaagtga

attatataaatataaagtagtaaaaattgaaccattaggagtagcacccaccaaggcaaagagaagagtggtgcagagag

aaaaaagagcagtgggaataggagctttgttccttgggttcttgggagcagcaggaagcactatgggcgcagcgtcaatg

acgctgacggtacaggccagacaattattgtctggtatagtgcagcagcagaacaatttgctgagggctattgaggcgcaa

cagcatctgttgcaactcacagtctggggcatcaagcagctccaggcaagaatcctggctgtggaaagatacctaaagga

tcaacagctcctggggatttggggttgctctggaaaactcatttgcaccactgctgtgccttggaatgctagttggagtaata

aatctctggaacagatttggaatcacacgacctggatggagtgggacagagaaattaacaattacacaagcttaatacactc

cttaattgaagaatcgcaaaaccagcaagaaaagaatgaacaagaattattggaattagataaatgggcaagtttgtggaat

tggtttaacataacaaattggctgtggtatataaaattattcataatgatagtaggaggcttggtaggtttaagaatagtttttgct

gtactttctatagtgaatagagttaggcagggatattcaccattatcgtttcagacccacctcccaaccccgaggggacccg

acaggcccgaaggaatagaagaagaaggtggagagagagacagagacagatccattcgattagtgaacggatctcgac

ggtatcgccgaattaattcacaaatggcagtattcatccacaattttaaaagaaaaggggggattgggggtacagtgcag

gggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaaactaaagaattacaaaaacaaattacaaaaattcaaaattttcg

ggtttattacaggCGcGCcagagatccagtttggacCTgcAGG**TGAAAGACCCCACCTGTAG**

GTTTGGCAAGtTAGCTTAAGTAACGCCATTTTGCAAGGCATGGAAAAT

ACATAACTGAGAATAGAGAAGTTCAGATCAAGGTTAGGAACAGAGAG

ACAGCAGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTG

CCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCCGC

CCTCAGCAGTTTCTAGCGAACCATCAGATGTTTCCAGGGTGCCCCAA

GGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTAACCAATCAGTTtGC

TTCTtGCTTCTGTTtGtGtGCTTCTGCTCCCtGAGCTCAATAAAAGAGCC

CACAACCCCTCACTtGGtGgGCCAGTCCTCtGATAGACTGtGTCcCCtGGaTA

CCCGTAcggtaccgctagcgccacc***ATGGGCACCAGCCTCCTCTGCTGGATGGCCCT***

GTGTCTCCTGGGGGCAGATCACGCAGATACTGGAGTCTCCCAGGACCCCAG

ACACAAGATCACAAAGAGGGGACAGAATGTTACTTTCAGGTGTGATCCAAT

TTCTGAACACAACCGCCTTTATTGGTACCGCCAGACCCTGGGGCAGGGCCC

AGAGTTTCTGACTTACTTCCAGAATGAAGCTCAACTTGAAAAATCAAGGCT

GCTCAGTGATCGGTTCTCTGCAGAGAGGCCTAAGGGATCTTTCTCCACCTT

GGAGATCCAGCGCACAGAGCAGGGGGACTCTGCCATGTATCTCTGTGCCA

GCAGCCGCACTGCTGGAGATACTCAGTATTTTGGCCCAGGCACCCGGCTGA

CAGTGCTCGAAGATCTGAACAAGGTGTTCCCTCCAGAGGTGGCCGTGTTCG

AGCCTTCTaAGGCCGAGATCgccCACACaCAaAAAGCCACCCTCGTGTGCCTG

GCCACCGGCTTTTTCCCCGACCACGTGGAACTGTCTTGGTGGGTCAACGGC

AAAGAGGTGCACTCCGGCGTGtcAACgGATCCCCAGCCTCTGAAAGAACAGC

CTGCCCTGAACGACAGCCGGTACTGCCTGAGCTCCAGACTGAGAGTGTCCG

CCACCTTCTGGCAGAACCCCCGGAACCACTTCAGATGCCAGGTGCAGTTTT

ACGGCCTGAGCGAGAACGACGAGTGGACCCAGGACAGAGCCAAGCCCGTG

ACACAAATCGTGTCTGCCGAAGCCTGGGGAAGAGCCGATTGCGGCATCACC

AGCGCCTCCTATCACCAGGGCGTGCTGAGCGCCACAATCCTGTACGAAATC

CTGCTGGGCAAGGCCACCCTGTACGCCGTGCTGGTGTCTGCTCTGGTGCTG

ATGGCCATGGTCAAGCGGAAGGACTTTGGCAGCGGCAGAGCCAAAAGGTC

CGGGAGCGGTGCGACAAACTTTAGCCTGTTGAAACAAGCCGGCGACGTT

GAAGAGAACCCCGGACCT**ATGGAAACCCTcTTGGGCCTGCTTATCCTTT**

GGCTGCAGCTGCAATGGGTGAGCAGCAAACAGGAGGTGACTCAGAT

TCCTGCAGCTCTGAGTGTCCCAGAAGGAGAAAACTTGGTTCTCAACT

GCAGTTTCACTGATAGCGCTATTTACAACCTCCAGTGGTTTAGGCAG

GACCCTGGGAAAGGCCTCACATCTCTGTTGCTTATTCAGTCAAGTCA

GAGAGAGCAAACAAGTGGACGCCTTAATGCCTCTCTGGATAAATCAT

CAGGACGCAGTACTCTTTACATTGCAGCTTCTCAGCCTGGTGATTCA

GCCACCTACCTGTGCGCTGTGAGGGGTGGTACCTCAGGAACCTACAA

ATACATCTTTGGAACAGGCACCAGGCTGAAGGTTCTTGCAAACATCC

AGAACCCCGACCCCGCCGTGTACCAGCTGAGGGACTCCAAGTCCAGC

GACAAGAGCGTGTGTCTGTTTACGGACTTCGACAGCCAGACCAACGT

GAGTCAAAGCAAGGACAGCGACGTCTACATAACGGATAAGACCGTGC

TGGACATGCGGAGCATGGACTTCAAGAGCAACAGCGCCGTGGCCTG

GTCCAACAAGAGCGACTTCGCCTGCGCCAACGCCTTCAACAACAGCA

TCATCCCCGAGGACACCTTCTTCCCCAGCAGCGACGTGCCCTGCGAC

GTGAAACTGGTGGAGAAGTCCTTCGAGACAGACACCAATCTGAACTT

TCAGAACCTGCTGGTGATCGTGCTGCGGATTCTGCTGCTGAAAGTGG

CCGGCTTCAATCTGCTGATGACCCTGCGGCTGTGGAGCAGCAGGGCT

AAGAGGTCCGGCAGCGGAGCCACCAATTTTTCCCTGCTGAAACAGGCTGG

TGACGTGGAAGAAAACCCTGGCCCCATGGCGCTGCCCGTCACCGCGCTGC

TGCTGCCCCTGGCGCTGCTGTTACACGCCGCTCGGCCA*GAGCTTCCCACCC*

AGGGCACATTCTCCAACGTGTCCACCAATGTGTCGGGAGGCGGCGGATCGTC

CCAGTTCAGAGTGTCCCCTCTGGACCGCACCTGGAACCTGGGCGAGACCGTG

GAGCTGAAATGTCAGGTCCTGCTGAGCAACCCGACCTCCGGGTGCAGTTGGC

TGTTCCAGCCGCGTGGTGCTGCCGCAAGCCCTACGTTCCTGCTTTACCTGAGC

CAGAACAAGCCCAAGGCGGCCGAGGGCCTGGACACCCAGAGATTCTCCGGCA

AGCGCCTGGGGGGACACATTCGTGCTTACTTTGAGCGATTTCCGCAGAGAGAAC

GAGGGCTACTATTTCTGTTCGGCGCTGAGCAATTCCATCATGTATTTCAGCCAC

TTTGTGCCAGTGTTCCTGCCTGCCAAGCCTACCACAACACCAGCTCCCCGTCC

CCCGACTCCGGCGCCTACCATCGCGAGTCAACCGTTGAGCCTGAGGCCTGAG

GCTTGTCGGCCCGCTGCGGGGGGTGCCGTCCACACCAGGGGCCTCGACTTT

GCGTGCGACATCTATATTTGGGCGCCTCTGGCGGGTACCTGCGGGGTGCTGC

TGCTGTCATTGGTGATTACCCTGTACTGCAATCACCGCAACCGCCGGCGGGTC

TGTAAGTGCCCACGGCCTGTGGTCAAGTCCGGTGACAAACCGTCGCTCTCGG

*CTCGCTACGTG*CGCGCTAAGCGCAGCGGTTCCGGGGCCACCAACTTTTCAT

TGCTGAAGCAGGCCGGTGATGTGGAGGAGAATCCAGGGCCCATGCGCCC

CAGGCTTTGGCTCCTTCTTGCTGCTCAGCTCACTGTCTTGCATGGCAACTC

CGTTCTGCAGCAGACTCCCGCCTACATCAAGGTGCAGACGAACAAGATGG

TGATGCTGTCATGCGAGGCCAAGATCTCTCTTTCAAATATGAGAATTTATT

GGCTACGACAGCGCCAGGCCCCCTCCAGCGACAGCCACCACGAGTTCCTG

GCGCTTTGGGATTCTGCTAAAGGCACCATCCATGGAGAGGAGGTGGAAC

AGGAGAAGATAGCTGTCTTCCGCGACGCATCCCGCTTCATCCTGAACCTG

ACCAGCGTGAAGCCGGAGGACAGCGGCATCTACTTCTGTATGATCGTTGG

CTCCCCCGAGCTGACCTTCGGCAAAGGCACCCAGCTGTCCGTGGTGGACT

TCCTGCCCACCACAGCCCAGCCAACCAAGAAATCCACCCTCAAGAAGCGC

GTGTGCCGACTGCCCCGCCCTGAAACCCAGAAGGGCCCTCTGTGCTCCCC

CATCACCCTTGGACTGCTGGTGGCGGGAGTCCTGGTGCTGCTCGTATCTCT

GGGTGTCGCCATCCACCTGTGCTGCCGCCGCCGCCGCGCCCGCCTGAGGT

TTATGAAACAGTTTTACAAGTGATAAatcgatagatcctaatcaacctctggattacaaaatttgtg

aaagattgactggtattcttaactatgttgctccttttacgctatgtggatacgctgctttaatgcctttgtatcatgctattgcttcc

cgtatggctttcattttctcctccttgtataaatcctggttgctgtctctttatgaggagttgtggcccgttgtcaggcaacgtggc

gtggtgtgcactgtgtttgctgacgcaacccccactggttggggcattgccaccacctgtcagctcctttccgggactttcgc

tttccccctccctattgccacggcggaactcatcgccgcctgccttgcccgctgctggacaggggctcggctgttgggcac

tgacaattccgtggtgttgtcggggaaatcatcgtcctttccttggctgctcgcctgtgttgccacctggattctgcgcgggac

gtccttctgctacgtcccttcggccctcaatccagcggaccttccttcccgcggcctgctgccggctctgcggcctcttccgc

gtcttcgccttcgccctcagacgagtcggatctccctttgggccgcctccccgcctgagatcctttaagaccaatgacttaca

aggcagctgtagatcttagccactttttaaaagaaaaggggggactggaagggctaattcactcccaacgaagacaagat

ctgctttttgcttgtactgggtctctctggttagaccagatctgagcctgggagctctctggctaactagggaacccactgctt

aagcctcaataaagcttgccttgagtgcttcaagtagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcaga

cccttttagtcagtgtggaaaatctctagcagtagtagttcatgtcatcttattattcagtatttataacttgcaaagaaatgaatat

cagagagtgagaggcccgggttaattaaggaaagggctagatcattcttgaagacgaaagggcctcgtgatacgcctattt

ttataggttaatgtcatgataataatggtttcttagacgtcaggtggcacttttcggggaaatgtgcgcggaacccctatttgttt

atttttctaaatacattcaaatatgtatccgctcatgagacaataaccctgataaatgcttcaataatattgaaaaaggaagagt

atgagtattcaacatttccgtgtcgcccttattccctttttgcggcattttgccttcctgtttttgctcacccagaaacgctggtga

aagtaaaagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtgggttacatcgaactggatctcaacagcggtaagatccttgaga

gttttcgccccgaagaacgttttccaatgatgagcacttttaaagttctgctatgtggcgcggtattatcccgtgttgacgccg

ggcaagagcaactcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttggttgagtactcaccagtcacagaaaagcatcttac

ggatggcatgacagtaagagaattatgcagtgctgccataaccatgagtgataacactgcggccaacttacttctgacaac

gatcggaggaccgaaggagctaaccgcttttttgcacaacatgggggatcatgtaactcgccttgatcgttgggaaccgga

gctgaatgaagccataccaaacgacgagcgtgacaccacgatgcctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaaactattaa

ctggcgaactacttactctagcttcccggcaacaattaatagactggatggaggcggataaagttgcaggaccacttctgcg

ctcggcccttccggctggctggtttattgctgataaatctggagccggtgagcgtgggtctcgcggtatcattgcagcactg

gggccagatggtaagccctcccgtatcgtagttatctacacgacggggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagaca

gatcgctgagataggtgcctcactgattaagcattggtaactgtcagaccaagtttactcatatatactttagattgatttaaaac

ttcatttttaatttaaaaggatctaggtgaagatccttttttgataatctcatgaccaaaatcccttaacgtgagttttcgttccactg

agcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatccttttttttctgcgcgtaatctgctgcttgcaaacaaaaaa

accaccgctaccagcggtggtttgtttgccggatcaagagctaccaactctttttccgaaggtaactggcttcagcagagcg

cagataccaaatactgttcttctagtgtagccgtagttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacatacctcgct

ctgctaatcctgttaccagtggctgctgccagtggcgataagtcgtgtcttaccgggttggactcaagacgatagttaccgg

ataaggcgcagcggtcgggctgaacgggggggttcgtgcacacagcccagcttggagcgaacgacctacaccgaactg

agatacctacagcgtgagctatgagaaagcgccacgcttcccgaagggagaaaggcggacaggtatccggtaagcggc

agggtcggaacaggagagcgcacgagggagcttccagggggaaacgcctggtatctttatagtcctgtcgggtttcgcc

acctctgacttgagcgtcgatttttgtgatgctcgtcaggggggcggagcctatggaaaaacgccagcaacgcggccttttt

acggttcctggccttttgctggccttttgctcacatgttctttcctgcgttatccCCTGATTCTGTGGATAACC

GTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACC

GAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCA

AACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAGCAAGCTCATG

GCTGACTAATTTTTTTTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCCTCTG

AGCTATTCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCTTTTGC

AAAAAGCTCCCCGTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGT

GAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGC

TTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATA

ACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACATGATTACGAATTTCACAAATA

AAGCATTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTCATCAATG

TATCTTATCATGTCTGGATCAACTGGATAACTCAAGCTAACCAAAATCAT

CCCAAACTTCCCACCCCATACCCTATTACCACTGCCAATTACCTGTGGTTT

CATTTACTCTAAACCTGTGATTCCTCTGAATTATTTTCATTTTAAAGAAAT

TGTATTTGTTAAATATGTACTACAAACTtagtagt

代表性載體(編碼 TCR 之蛋白質可與任何所關注 TCR 序列互換)：pHAGE-MSCV-HN-P32-41-P2A-dnTGFbRII (dnTGFbRII 以粗體文字突出顯示)

tggaagggctaattcactcccaaagaagacaagatatccttgatctgtggatctaccacacacaaggctacttccctgattag

cagaactacacaccagggccaggggtcagatatccactgacctttggatggtgctacaagctagtaccagttgagccaga

taaggtagaagaggccaataaaggagagaacaccagcttgttacaccctgtgagcctgcatgggatggatgacccggag

agagaagtgttagagtggaggtttgacagccgcctagcatttcatcacgtggcccgagagctgcatccggagtacttcaag

aactgctgatatcgagcttgctacaagggactttccgctggggactttccagggaggcgtggcctgggcgggactgggg

agtggcgagccctcagatcctgcatataagcagctgctttttgcctgtactgggtctctctggttagaccagatctgagcctg

ggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgcttcaagtagtgtgtgcccgtc

tgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaatctctagcagtggcgcccgaacagg

gacttgaaagcgaaagggaaaccagaggagctctctcgacgcaggactcggcttgctgaagcgcgcacggcaagagg

cgaggggcggcgactggtgagtacgccaaaaattttgactagcggaggctagaaggagagagatgggtgcgagagcg

tcagtattaagcgggggagaattagatcgcgatgggaaaaaattcggttaaggccaggggaaagaaaaatataaatta

aaacatatagtatgggcaagcagggagctagaacgattcgcagttaatcctggcctgttagaaacatcagaaggctgtaga

caaatactgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaacttagatcattatataatacagtagcaaccctct

attgtgtgcatcaaaggatagagataaaagacaccaaggaagctttagacaagatagaggaagagcaaaacaaaagtaa

gaccaccgcacagcaagcggccggccgctgatcttcagacctggaggaggagatatgagggacaattggagaagtga

attatataaatataaagtagtaaaaattgaaccattaggagtagcacccaccaaggcaaagagaagagtggtgcagagag

aaaaaagagcagtgggaataggagctttgttccttgggttcttgggagcagcaggaagcactatgggcgcagcgtcaatg

acgctgacggtacaggccagacaattattgtctggtatagtgcagcagcagaacaatttgctgagggctattgaggcgcaa

cagcatctgttgcaactcacagtctggggcatcaagcagctccaggcaagaatcctggctgtggaaagatacctaaagga

tcaacagctcctggggatttggggttgctctggaaaactcatttgcaccactgctgtgccttggaatgctagttggagtaata

aatctctggaacagatttggaatcacacgacctggatggagtgggacagagaaattaacaattacacaagcttaatacactc

cttaattgaagaatcgcaaaaccagcaagaaaagaatgaacaagaattattggaattagataaatgggcaagtttgtggaat

tggtttaacataacaaattggctgtggtatataaaattattcataatgatagtaggaggcttggtaggtttaagaatagtttttgct

gtactttctatagtgaatagagttaggcagggatattcaccattatcgtttcagacccacctcccaaccccgaggggacccg

acaggcccgaaggaatagaagaagaaggtggagagagagacagagacagatccattcgattagtgaacggatctcgac

ggtatcgccgaattaattcacaaatggcagtattcatccacaattttaaaagaaaaggggggattgggggtacagtgcag

gggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaaactaaagaattacaaaaacaaattacaaaaattcaaaattttcg

ggtttattacaggCGcGCcagagatccagtttggacCTgcAGGTGAAAGACCCCACCTGTAGG

TTTGGCAAGtTAGCTTAAGTAACGCCATTTTGCAAGGCATGGAAAATACAT

AACTGAGAATAGAGAAGTTCAGATCAAGGTTAGGAACAGAGAGACAGCA

GAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTC

AGGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCCGCCCTCAGCAGTTTC

TAGCGAACCATCAGATGTTTCCAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAATGACCC

TGTGCCTTATTTGAACTAACCAATCAGTTtGCTTCTtGCTTCTGTTtGtGtGCT

TCTGCTCCCtGAGCTCAATAAAAGAGCCCACAACCCCTCACTtGGtGgGCCA

GTCCTCtGATAGACTGtGTCcCCtGGaTACCCGTAcggtaccgctagcgccaccATGGG

CTCCTGGACCCTCTGCTGTGTGTCCCTTTGCATCCTGGTTGCAAAGCACAC

AGATGCTGGAGTTATCCAGTCACCCCGGCACGAGGTGACAGAGATGGGA

CAAGAAGTGACTCTGAGATGTAAACCAATTTCAGGACATGACTACCTTTT

CTGGTACAGACAGACCATGATGCGGGGACTGGAGTTGCTCATTTACTTTA

ACAACAACGTTCCTATTGATGATTCAGGGATGCCCGAGGATCGCTTCTCA

GCTAAGATGCCTAATGCATCATTCTCCACTCTGAAGATCCAGCCCTCAGA

ACCCAGGGACTCAGCTGTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTTTCTCGGCTGGA

ATGAAAAACTGTTCTTTGGCAGTGGAACCCAGCTCTCTGTCTTGGAAGAT

CTGAACAAGGTGTTCCCTCCAGAGGTGGCCGTGTTCGAGCCTTCTaAGGCC

GAGATCgccCACACaCAaAAAGCCACCCTCGTGTGCCTGGCCACCGGCTTTT

TCCCCGACCACGTGGAACTGTCTTGGTGGGTCAACGGCAAAGAGGTGCAC

TCCGGCGTGtcAACgGATCCCCAGCCTCTGAAAGAACAGCCTGCCCTGAAC

GACAGCCGGTACTGCCTGAGCTCCAGACTGAGAGTGTCCGCCACCTTCTG

GCAGAACCCCCGGAACCACTTCAGATGCCAGGTGCAGTTTTACGGCCTGA

GCGAGAACGACGAGTGGACCCAGGACAGAGCCAAGCCCGTGACACAAAT

CGTGTCTGCCGAAGCCTGGGGAAGAGCCGATTGCGGCATCACCAGCGCCT

CCTATCACCAGGGCGTGCTGAGCGCCACAATCCTGTACGAAATCCTGCTG

GGCAAGGCCACCCTGTACGCCGTGCTGGTGTCTGCTCTGGTGCTGATGGC

CATGGTCAAGCGGAAGGACTTTGGCAGCGGCAGAGCCAAAAGGTCCGGG

AGCGGTGCGACAAACTTTAGCCTGTTGAAACAAGCCGGCGACGTTGAAG

AGAACCCCGGACCTATGGTCCTGAAATTCTCCGTGTCCATTCTTTGGATTC

AGTTGGCATGGGTGAGCACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTT

AGCATCCAAGAGGGAGAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGT

TTTCTCCAGCCTTCAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCC

TCCTGGTGACAGTTGTTACTGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTT

ACCTTTCAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGC

AGCCCAGCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTCTGTGCAGGAGATGAAAGTA

TTAGCTATGGAAAGCTGACATTTGGACAAGGGACCATCTTGACTGTCCAT

CCAAacatccagaaccccgaccccgccgtgtaccagctgagggactccaagtccagcgacaagagcgtgtgtctgtt

tacggacttcgacagccagaccaacgtgagtcaaagcaaggacagcgacgtctacataacggataagaccgtgctggac

atgcggagcatggacttcaagagcaacagcgccgtggcctggtccaacaagagcgacttcgcctgcgccaacgccttca

acaacagcatcatccccgaggacaccttcttccccagcagcgacgtgccctgcgacgtgaaactggtggagaagtccttc

gagacagacaccaatctgaactttcagaacctgctggtgatcgtgctgcggattctgctgCTGAAAGTGGCCG

GCTTCAATCTGCTGATGACCCTGCGGCTGTGGAGCAGCAGGGCTAAGAGG

TCCGGCAGCGGAGCCACCAATTTTTCCCTGCTGAAACAGGCTGGTGACGT

GGAAGAAAACCCTGGCCCC**ATGGGTCGGGGGCTGCTCAGGGGCCTGT**

GGCCGCTGCACATCGTCCTGTGGACGCGTATCGCCAGCACGATCCCA

CCGCACGTTCAGAAGTCGGTTAATAACGACATGATAGTCACTGACAA

CAACGGTGCAGTCAAGTTTCCACAACTGTGTAAATTTTGTGATGTGA

GATTTTCCACCTGTGACAACCAGAAATCCTGCATGAGCAACTGCAGC

ATCACCTCCATCTGTGAGAAGCCACAGGAAGTCTGTGTGGCTGTATG

GAGAAAGAATGACGAGAACATAACACTAGAGACAGTTTGCCATGACC

CCAAGCTCCCCTACCATGACTTTATTCTGGAAGATGCTGCTTCTCCAA

AGTGCATTATGAAGGAAAAAAAAAAGCCTGGTGAGACTTTCTTCATG

TGTTCCTGTAGCTCTGATGAGTGCAATGACAACATCATCTTCTCAGAA

GAATATAACACCAGCAATCCTGACTTGTTGCTAGTCATATTTCAAGTG

ACAGGCATCAGCCTCCTGCCACCACTGGGAGTTGCCATATCTGTCAT

CATCATCTTCTACTGCTACCGCGTTaaccggcagcagaagTAGTGATAAatcgata

gatcctaatcaacctctggattacaaaatttgtgaaagattgactggtattcttaactatgttgctccttttacgctatgtggatac

gctgctttaatgcctttgtatcatgctattgcttcccgtatggctttcattttctcctccttgtataaatcctggttgctgtctctttatg

aggagttgtggcccgttgtcaggcaacgtggcgtggtgtgcactgtgtttgctgacgcaacccccactggttggggcattg

ccaccacctgtcagctcctttccgggactttcgctttccccctccctattgccacggcggaactcatcgccgcctgccttgcc

cgctgctggacaggggctcggctgttgggcactgacaattccgtggtgttgtcggggaaatcatcgtcctttccttggctgc

tcgcctgtgttgccacctggattctgcgcgggacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatccagcggaccttccttcc

cgcggcctgctgccggctctgcggcctcttccgcgtcttcgccttcgccctcagacgagtcggatctccctttgggccgcct

ccccgcctgagatcctttaagaccaatgacttacaaggcagctgtagatcttagccacttttaaaagaaaaggggggactg

gaagggctaattcactcccaacgaagacaagatctgctttttgcttgtactgggtctctctggttagaccagatctgagcctg

ggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgcttcaagtagtgtgtgcccgtc

tgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaatctctagcagtagtagttcatgtcatctt

attattcagtatttataacttgcaaagaaatgaatatcagagagtgagaggcccgggttaattaaggaaagggctagatcatt

cttgaagacgaaagggcctcgtgatacgcctatttttataggttaatgtcatgataataatggtttcttagacgtcaggtggca

cttttcggggaaatgtgcgcggaacccctatttgtttatttttctaaatacattcaaatatgtatccgctcatgagacaataaccct

gataaatgcttcaataatattgaaaaaggaagagtatgagtattcaacatttccgtgtcgcccttattccctttttgcggcatttt

gccttcctgtttttgctcacccagaaacgctggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtgggttacat

cgaactggatctcaacagcggtaagatccttgagagttttcgccccgaagaacgttttccaatgatgagcacttttaaagttct

gctatgtggcgcggtattatcccgtgttgacgccgggcaagagcaactcggtcgccgcatacactattctcagaatgacttg

gttgagtactcaccagtcacagaaaagcatcttacggatggcatgacagtaagagaattatgcagtgctgccataaccatg

agtgataacactgcggccaacttacttctgacaacgatcggaggaccgaaggagctaaccgcttttttgcacaacatgggg

gatcatgtaactcgccttgatcgttgggaaccggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcgtgacaccacgatgcc

tgtagcaatggcaacaacgttgcgcaaactattaactggcgaactacttactctagcttcccggcaacaattaatagactgga

tggaggcggataaagttgcaggaccacttctgcgctcggcccttccggctggctggtttattgctgataaatctggagccg

gtgagcgtgggtctcgcggtatcattgcagcactggggccagatggtaagccctcccgtatcgtagttatctacacgacgg

ggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctcactgattaagcattggtaactgtcag

accaagtttactcatatatactttagattgatttaaaacttcatttttaatttaaaaggatctaggtgaagatccttttgataatctca

tgaccaaaatcccttaacgtgagttttcgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatcctt

tttttctgcgcgtaatctgctgcttgcaaacaaaaaaaccaccgctaccagcggtggtttgtttgccggatcaagagctacca

actctttttccgaaggtaactggcttcagcagagcgcagataccaaatactgttcttctagtgtagccgtagttaggccacca

cttcaagaactctgtagcaccgcctacatacctcgctctgctaatcctgttaccagtggctgctgccagtggcgataagtcgt

gtcttaccgggttggactcaagacgatagttaccggataaggcgcagcggtcgggctgaacgggggttcgtgcacaca

gcccagcttggagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgtgagctatgagaaagcgccacgcttcccgaa

gggagaaaggcggacaggtatccggtaagcggcagggtcggaacaggagagcgcacgagggagcttccaggggga

aacgcctggtatctttatagtcctgtcgggtttcgccacctctgacttgagcgtcgatttttgtgatgctcgtcaggggggcgg

agcctatggaaaaacgccagcaacgcggccttttacggttcctggccttttgctggccttttgctcacatgttctttcctgcgt

tatccCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACC

GCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAG

CGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATT

CATTAATGCAGCAAGCTCATGGCTGACTAATTTTTTTTATTTATGCAGAGG

CCGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTT

TTTGGAGGCCTAGGCTTTTGCAAAAAGCTCCCCGTGGCACGACAGGTTTC

CCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCT

CACTCATTAGGCACCCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTT

GTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGAC

ATGATTACGAATTTCACAAATAAAGCATTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGT

GGTTTGTCCAAACTCATCAATGTATCTTATCATGTCTGGATCAACTGGATA

ACTCAAGCTAACCAAAATCATCCCAAACTTCCCACCCCATACCCTATTAC

CACTGCCAATTACCTGTGGTTTCATTTACTCTAAACCTGTGATTCCTCTGA

ATTATTTTCATTTTAAAGAAATTGTATTTGTTAAATATGTACTACAAACTta

gtagt

代表性載體(編碼 TCR 之蛋白質可與任何所關注 TCR 序列互換)：

pNVVD142_TSC-204-C07_TCR-41_MSCV-TCR41-CD8-EF1a-TGFR-DHFR

GAATTCGTCGACGCTAGCTGGCTTGTTGTCCACAACCATTAAACCTTAAA

AGCTTTAAAAGCCTTATATATTCTTTTTTTTCTTATAAAACTTAAAACCTT

AGAGGCTATTTAAGTTGCTGATTTATATTAATTTTATTGTTCAAACATGAG

AGCTTAGTACGTGAAACATGAGAGCTTAGTACATTAGCCATGAGAGCTTA

GTACATTAGCCATGAGGGTTTAGTTCATTAAACATGAGAGCTTAGTACAT

TAAACATGAGAGCTTAGTACATACTATCAACAGGTTGAACTGCTGATCTG

TACAGTAGAATTGGTAAAGAGAGTTGTGTAAAATATTGAGTTCGCACATC

TTGTTGTCTGATTATTGATTTTTGGCGAAACCATTTGATCATATGACAAGA

TGTGTATCTACCTTAACTTAATGATTTTGATAAAAATCATTAGGTACCAAT

TACATTGCTTGCAATTAACCCTTTAACGGTTATAAGGATCTAGATGAGAT

AGAAAGATTTGGTTTTCGGATTTGTGTTACATAAGATGCCTAAAATAAAA

ATTGAGATTCAATTTTTTTTAAACTTTTTTTTAATTGGTGGTAAGAATATTC

CCTCTACCTGTTTGAGAGTAATGAAATTGTAGTATGATTTTTCAACAAACT

AAAAAAACAACATAAATCTCACATAATAACTTTATTTCAATCACACAATT

GAATACCAATAGGTTGACAGTACTTACCAGCCTGCAGG**TGAAAGACCCC**

ACCTGTAGGTTTGGCAAGTTAGCTTAAGTAACGCCATTTTGCAAGGC

ATGGAAAATACATAACTGAGAATAGAGAAGTTCAGATCAAGGTTAGG

AACAGAGAGACAGCAGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAG

CAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGC

GGTCCCGCCCTCAGCAGTTTCTAGCGAACCATCAGATGTTTCCAGGG

TGCCCCAAGGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTAACCAA

TCAGTTTGCTTCTTGCTTCTGTTTGTGTGCTTCTGCTCCCTGAGCTCA

ATAAAAGAGCCCACAACCCCTCACTTGGTGGGCCAGTCCTCTGATAG

ACTGTGTCCCCTGGATACCCGTACGGTACCGCTAGCGCCACC***ATGGGCT***

CCTGGACCCTCTGCTGTGTGTCCCTTTGCATCCTGGTTGCAAAGCACACAG

ATGCTGGAGTTATCCAGTCACCCCGGCACGAGGTGACAGAGATGGGACAA

GAAGTGACTCTGAGATGTAAACCAATTTCAGGACATGACTACCTTTTCTGGT

ACAGACAGACCATGATGCGGGGACTGGAGTTGCTCATTTACTTCAACAACA

ACGTTCCTATTGATGATTCAGGGATGCCCGAGGATCGCTTCTCAGCTAAGA

TGCCTAATGCATCATTCTCCACTCTGAAGATCCAGCCCTCAGAACCCAGGG

ACTCAGCTGTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTTTCTCGGCTGGAATGAAAAAC

TGTTCTTTGGCAGTGGAACCCAGCTCTCTGTCTTGGAAGATCTGAACAAGG

TGTTCCCTCCAGAGGTGGCCGTGTTCGAGCCTTCTAAGGCCGAGATCGCCC

ACACACAAAAAGCCACCCTCGTGTGCCTGGCCACCGGCTTTTTCCCCGACC

ACGTGGAACTGTCTTGGTGGGTCAACGGCAAAGAGGTGCACTCCGGCGTG

TCAACGGATCCCCAGCCTCTGAAAGAACAGCCTGCCCTGAACGACAGCCGG

TACTGCCTGAGCTCCAGACTGAGAGTGTCCGCCACCTTCTGGCAGAACCCC

CGGAACCACTTCAGATGCCAGGTGCAGTTTTACGGCCTGAGCGAGAACGAC

GAGTGGACCCAGGACAGAGCCAAGCCCGTGACACAAATCGTGTCTGCCGA

AGCCTGGGGAAGAGCCGATTGCGGCATCACCAGCGCCTCCTATCACCAGG

GCGTGCTGAGCGCCACAATCCTGTACGAAATCCTGCTGGGCAAGGCCACCC

TGTACGCCGTGCTGGTGTCTGCTCTGGTGCTGATGGCCATGGTCAAGCGGA

*AGGACTTTGGCAGCGGC*AGAGCCAAAAGGTCCGGGAGCGGTGCGACAAA

CTTTAGCCTGTTGAAACAAGCCGGCGACGTTGAAGAGAACCCCGGACCT**A**

TGGTCCTGAAATTCTCCGTGTCCATTCTTTGGATTCAGTTGGCATGGG

TGAGCACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTTAGCATCCAA

GAGGGAGAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTTTTCTC

CAGCCTTCAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCCTCC

TGGTGACAGTTGTTACTGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTT

ACCTTTCAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACT

GCAGCCCAGCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTCTGTGCAGGAGATGA

AAGTATTAGCTATGGAAAGCTGACATTTGGACAAGGGACCATCTTGA

CTGTCCATCCAAACATCCAGAACCCCGACCCCGCCGTGTACCAGCTG

AGGGACTCCAAGTCCAGCGACAAGAGCGTGTGTCTGTTTACGGACTT

CGACAGCCAGACCAACGTGAGTCAAAGCAAGGACAGCGACGTCTACA

TAACGGATAAGACCGTGCTGGACATGCGGAGCATGGACTTCAAGAGC

AACAGCGCCGTGGCCTGGTCCAACAAGAGCGACTTCGCCTGCGCCAA

CGCCTTCAACAACAGCATCATCCCCGAGGACACCTTCTTCCCCAGCA

GCGACGTGCCCTGCGACGTGAAACTGGTGGAGAAGTCCTTCGAGACA

GACACCAATCTGAACTTTCAGAACCTGCTGGTGATCGTGCTGCGGAT

TCTGCTGCTGAAAGTGGCCGGCTTCAATCTGCTGATGACCCTGCGGC

TGTGGAGCAGCAGGGCTAAGAGGTCCGGCAGCGGAGCCACCAATTTTTC

CCTGCTGAAACAGGCTGGTGACGTGGAAGAAAACCCTGGCCCC*ATGGCGC*

TGCCCGTCACCGCGCTGCTGCTGCCCCTGGCGCTGCTGTTACACGCCGCTCG

GCCAGAGCTTCCCACCCAGGGCACATTCTCCAACGTGTCCACCAATGTGTCGG

GAGGCGGCGGATCGTCCCAGTTCAGAGTGTCCCCTCTGGACCGCACCTGGAA

CCTGGGCGAGACCGTGGAGCTGAAATGTCAGGTCCTGCTGAGCAACCCGACC

TCCGGGTGCAGTTGGCTGTTCCAGCCGCGTGGTGCTGCCGCAAGCCCTACGT

TCCTGCTTTACCTGAGCCAGAACAAGCCCAAGGCGGCCGAGGGCCTGGACAC

CCAGAGATTCTCCGGCAAGCGCCTGGGGGACACATTCGTGCTTACTTTGAGCG

ATTTCCGCAGAGAGAACGAGGGCTACTATTTCTGTTCGGCGCTGAGCAATTCC

ATCATGTATTTCAGCCACTTTGTGCCAGTGTTCCTGCCTGCCAAGCCTACCACA

ACACCAGCTCCCCGTCCCCCGACTCCGGCGCCTACCATCGCGAGTCAACCGT

TGAGCCTGAGGCCTGAGGCTTGTCGGCCCGCTGCGGGGGGTGCCGTCCACA

CCAGGGGCCTCGACTTTGCGTGCGACATCTATATTTGGGCGCCTCTGGCGGG

TACCTGCGGGGTGCTGCTGCTGTCATTGGTGATTACCCTGTACTGCAATCACC

GCAACCGCCGGCGGGTCTGTAAGTGCCCACGGCCTGTGGTCAAGTCCGGTGA

*CAAACCGTCGCTCTCGGCTCGCTACGTG*CGCGCTAAGCGCAGCGGTTCCGG

GGCCACCAACTTTTCATTGCTGAAGCAGGCCGGTGATGTGGAGGAGAATC

CAGGGCCCATGCGCCCCAGGCTTTGGCTCCTTCTTGCTGCTCAGCTCACTG

TCTTGCATGGCAACTCCGTTCTGCAGCAGACTCCCGCCTACATCAAGGTG

CAGACGAACAAGATGGTGATGCTGTCATGCGAGGCCAAGATCTCTCTTTC

AAATATGAGAATTTATTGGCTACGACAGCGCCAGGCCCCCTCCAGCGACA

GCCACCACGAGTTCCTGGCGCTTTGGGATTCTGCTAAAGGCACCATCCAT

GGAGAGGAGGTGGAACAGGAGAAGATAGCTGTCTTCCGCGACGCATCCC

GCTTCATCCTGAACCTGACCAGCGTGAAGCCGGAGGACAGCGGCATCTAC

TTCTGTATGATCGTTGGCTCCCCCGAGCTGACCTTCGGCAAAGGCACCCA

GCTGTCCGTGGTGGACTTCCTGCCCACCACAGCCCAGCCAACCAAGAAAT

CCACCCTCAAGAAGCGCGTGTGCCGACTGCCCCGCCCTGAAACCCAGAAG

GGCCCTCTGTGCTCCCCCATCACCCTTGGACTGCTGGTGGCGGGAGTCCT

GGTGCTGCTCGTATCTCTGGGTGTCGCCATCCACCTGTGCTGCCGCCGCCG

CCGCGCCCGCCTGAGGTTTATGAAACAGTTTTACAAGTGATAAATCGATG

GAAGGGTGGCATCCCTGTGACCCCTCCCCAGTGCCTCTCCTGGCCCTGGA

AGTTGCCACTCCAGTGCCCACCAGCCTTGTCCTAATAAAATTAAGTTGCA

TCATTTTGTCTGACTAGGTGTCCTTCTATAATATTATGGGGTGGAGGGGGG

TGGTATGGAGCAAGGGGCAAGTTGGGAAGACAACCTGTAGGGCCTGCGG

GGTCTATTGGGAACCAAGCTGGAGTGCAGTGGCACAATCTTGGCTCACTG

CAATCTCCGCCTCCTGGGTTCAAGCGATTCTCCTGCCTCAGCCTCCCGAGT

TGTTGGGATTCCAGGCATGCATGACCAGGCTCAGCTAATTTTTGTTTTTTT

GGTAGAGACGGGGTTTCACCATATTGGCCAGGCTGGTCTCCAACTCCTAA

TCTCAGGTGATCTACCCACCTTGGCCTCCCAAATTGCTGGGATTACAGGC

GTGAACCACTGCTCCCTTCCCTGTCCTTCTGATTACTAGTGGCTCCGGTGC

CCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGTGG

GGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAA

ACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGG

GGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAA

CGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGC

CTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCCTTGAATTACTTCCACCT

GGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGG

GAGAGTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGT

TGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCGCGTGCGAATCTGGTGGCACC

TTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTT

GATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAAATGCGG

GCCAAGATCTGCACACTGGTATTTCGGTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGAC

GGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAG

CGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGC

TCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAA

GGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCC

GGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGC

GGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCCGTCCTCAGC

CGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCG

ATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAGGTTGGGGGGAGGGG

TTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGAAGTTAG

GCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTTTGAGTT

TGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTTTTTTCT

TCCATTTCAGGTGTCGTGAACTAGTCCAGTGTGGTGGAATTCTGCAGATA

TCACGGCTAGCGCCACCATGGGTCGGGGGCTGCTCAGGGGCCTGTGGCCG

CTGCACATCGTCCTGTGGACGCGTATCGCCAGCACGATCCCACCGCACGT

TCAGAAGTCGGTGAATAACGACATGATAGTCACTGACAACAACGGTGCA

GTCAAGTTTCCACAACTGTGTAAATTTTGTGATGTGAGATTTTCCACCTGT

GACAACCAGAAATCCTGCATGAGCAACTGCAGCATCACCTCCATCTGTGA

GAAGCCACAGGAAGTCTGTGTGGCTGTATGGAGAAAGAATGACGAGAAC

ATAACACTAGAGACAGTTTGCCATGACCCCAAGCTCCCCTACCATGACTT

TATTCTGGAAGATGCTGCTTCTCCAAAGTGCATTATGAAGGAGAAGAAAA

AGCCTGGTGAGACTTTCTTCATGTGTTCCTGTAGCTCTGATGAGTGCAATG

ACAACATCATCTTCTCAGAAGAATATAACACCAGCAATCCTGACTTGTTG

CTAGTCATATTTCAAGTGACAGGCATCAGCCTCCTGCCACCACTGGGAGT

TGCCATATCTGTCATCATCATCTTCTACTGCTACCGCGTGAACCGGCAGCA

GAAGGCTAGTGGTTCAGGCGCAACGAATTTCTCTTTGCTGAAGCAGGCTG

GGGATGTCGAAGAAAATCCGGGTCCAATGGTGGGCTCGCTCAACTGCATC

GTAGCAGTCTCCCAGAATATGGGCATCGGGAAGAACGGTGATTTCCCGTG

GCCCCCACTTCGCAACGAGAGCCGTTATTTCCAAAGAATGACTACAACCT

CCTCCGTGGAGGGTAAGCAGAACCTGGTCATCATGGGGAAGAAGACCTG

GTTCTCTATCCCTGAAAAAAACCGCCCCCTGAAGGGCCGCATCAACCTGG

TGCTGAGCAGGGAACTCAAGGAGCCTCCTCAGGGCGCGCATTTTCTGAGC

CGCTCATTGGATGACGCTCTCAAACTGACCGAACAGCCGGAGCTAGCCAA

CAAGGTGGACATGGTGTGGATCGTCGGAGGCTCCTCCGTGTACAAGGAG

GCCATGAATCACCCCGGCCACTTGAAGCTGTTCGTCACCCGGATCATGCA

GGACTTCGAGTCGGACACGTTCTTTCCAGAGATTGACCTGGAGAAGTACA

AGCTGCTGCCCGAGTACCCGGGAGTTCTTAGTGATGTGCAGGAGGAGAA

AGGCATCAAGTACAAATTTGAGGTGTACGAGAAGAACGACTAACGGTCC

GTCCTGACCAATGCTGGAGTTCTTCGCCCACCCCAACTTGTTTATTGCAGC

TTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTCACAAATAAAG

CATTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTCATCAATGTATC

TTATCATGTCTGTATACAGGTTACCTCAGTCTCCTAGGTACGTCTTATATC

TATGAAAAAACATTCAAAAGCACAACATCTAGAAGAACTTACCTTTTTTC

ACCACTCTATTGCAAAGATATGTACCGATTTCTCTCGAAGTACAAAAAAC

CGCTAGTTTTCAAATTCACCTCAAGACTTTGAAAAAAAATTGAATCTGTC

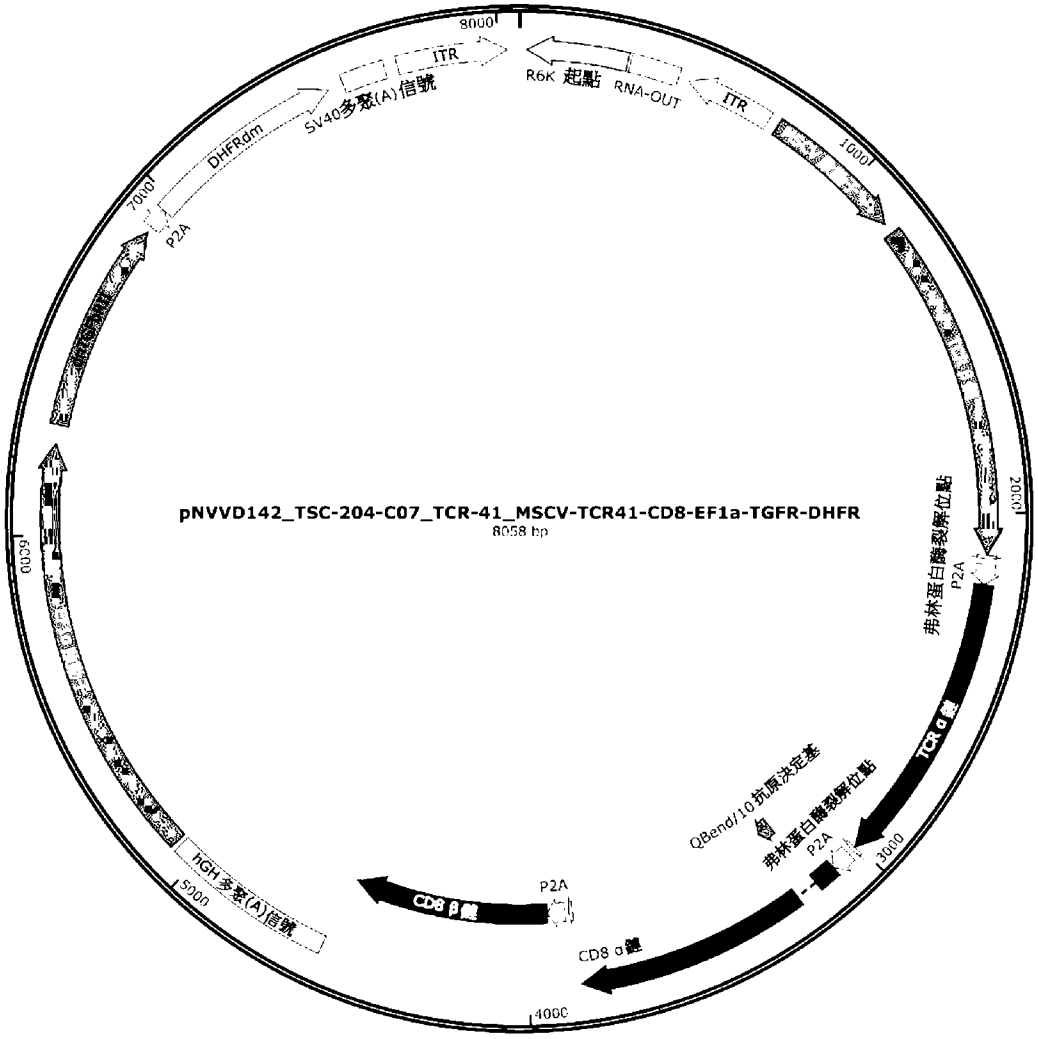
AATGTCAAATAAAATCAGAAACAAATGTCATAATGTTACGTTAATGTTGT

CAGGTCGAAAAATAAAATTGCAAATAGAAATTTTGTTCCTTTTTTATTGGT

TTTTATTGGTGGGAAAAATATTCCCTCTAACTGCAAAAGGGTTAATTATGT

TAGAGGTAGAGTCGACAAGCTT

pNVVD142_TSC-204-C07_TCR-41_MSCV-TCR41-CD8-EF1a-TGFR-DHFR 載體圖



圖例：CD：分化簇。RNA-OUT：針對由 sacB 編碼之細菌聚果糖蔗糖酶之反義 RNA。SV：猿猴病毒。TCR：T 細胞受體，TIR：末端反向重複序列，QBend：小鼠抗人類 CD34 抗體，dnTGFbRII：顯性負性 TGFβ 受體 II，DHFR：二氫葉酸還原酶選擇標記物

* 對於某些描繪之載體，MSCV 啟動子為粗體。β 鏈使用粗體及斜體文字注釋。α 鏈使用粗體及加下劃線文字注釋。富集 CD34 之標簽(Q 標簽)使用斜體及加下劃線文字注釋。CD8-α 為斜體。CD8-β 加下劃線。

*表 1-3 中包括肽抗原決定基，以及包含在全長上與表 1 中所列之任何序列之胺基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或更大一

致性的胺基酸序列的多肽分子，或其一部分。此類多肽可具有本文進一步描述之全長肽或多肽之功能。

*表 2 及 3 中包括 RNA 核酸分子(例如，胸腺嘧啶用尿嘧啶置換)、編碼所編碼蛋白質之直系同源物之核酸分子，以及包含在全長上與表 2 或 3 中所列之任何序列之核酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或更大一致性的核酸序列的 DNA 或 RNA 核酸序列，或其一部分。此類核酸分子可具有本文進一步描述之全長核酸之功能。

【0216】 在一些實施例中，本文所提供之結合蛋白包含嵌合、人類化、人類、靈長類動物或嚙齒類動物(例如，大鼠或小鼠)恒定區。舉例而言，人類可變區可與鼠科動物恒定區嵌合，或鼠科動物可變區可用人類恒定區及/或人類構架區人類化。在一些實施例中，可使恒定區突變以修飾功能性(例如，在 TCR α 及 β 鏈中之相對殘基位置中引入非天然存在之半胱胺酸取代以提供可用於增加 TCR α 與 β 鏈之間的親和力的二硫鍵)。類似地，可在恒定區之跨膜域中進行突變以修飾功能性(例如，藉由用疏水性胺基酸引入非天然存在之殘基取代來增加疏水性)。在一些實施例中，如與參考 CDR 序列相比，結合蛋白之每一個 CDR 具有至多五個胺基酸取代、插入、缺失或其組合。在一些實施例中，可對恆定區進行突變以增加細胞表面表現。

【0217】 在一些實施例中，本文所揭示之結合蛋白可為經工程改造之蛋白支架、抗體或其抗原結合片段、TCR 模擬抗體及其類似物。可使用常規免疫學方法針對本文所述之肽及/或 MHC-肽複合物來設計及/或產生此類結合部分，該等方法諸如使宿主免疫、獲得產生抗體之細胞及/或其抗體，及產生可用於產生單株抗體之融合瘤(例如，Watt 等人 (2006) *Nat. Biotechnol.* 24:177-183；Gebauer 及 Skerra (2009) *Curr. Opin. Chem Biol.* 13:245-255；Skerra 等人 (2008) *FEBS J.*

275:2677-2683；Nygren 等人 (2008) *FEBS J.* 275:2668-2676；Dana 等人 (2012) *Exp. Rev. Mol. Med.* 14:e6；Sergeva 等人 (2011) *Blood* 117:4262-4272；PCT 公開案第 WO 2007/143104 號、第 PCT/US86/02269 號及第 WO 86/01533 號；美國專利第 4,816,567 號；Better 等人 (1988) *Science* 240:1041-1043；Liu 等人 (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84:3439-3443；Liu 等人 (1987) *J. Immunol.* 139:3521-3526；Sun 等人 (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 84:214-218；Nishimura 等人 (1987) *Cancer Res.* 47:999-1005；Wood 等人 (1985) *Nature* 314:446-449；Shaw 等人 (1988) *J. Natl. Cancer Inst.* 80:1553-1559)；Morrison, S. L. (1985) *Science* 229:1202-1207；Oi 等人 (1986) *Biotechniques* 4:214；美國專利第 5,225,539 號；Jones 等人 (1986) *Nature* 321:552-525；Verhoeyan 等人 (1988) *Science* 239:1534；及 Beidler 等人 (1988) *J. Immunol.* 141:4053-4060。必要時，可使用習知程序來分離或純化結合部分，該等程序諸如蛋白 A-瓊脂糖、羥基磷灰石層析、凝膠電泳、透析、親和力層析、硫酸銨或乙醇沈澱、酸萃取、陰離子或陽離子交換層析、磷酸纖維素層析、疏水性相互作用層析、羥基磷灰石層析、凝集素層析及高效液相層析(HPLC) (例如，Current Protocols in Immunology，或 Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, N.Y.)。

【0218】　術語「抗體(antibody/antibodies)」廣泛涵蓋天然存在之抗體形式(例如，IgG、IgA、IgM、IgE)及重組抗體，諸如單鏈抗體、嵌合及人類化抗體以及多特異性抗體，以及所有前述抗體之片段及衍生物，該等片段及衍生物具有至少一個抗原結合位點。抗體衍生物可包含與抗體結合之蛋白質或化學部分。

【0219】　此外，內抗體為熟知之抗原結合分子，其具有抗體特徵，但能夠在細胞內表現以便結合及/或抑制所關注之細胞內標靶(Chen 等人 (1994) *Human Gene Ther.* 5:595-601)。用於使抗體適於靶向(例如，抑制)細胞內部分之方法為所屬領域中熟知，諸如使用單鏈抗體(scFv)、修飾免疫球蛋白 VL 域以獲得超穩定性、

修飾抗體以抵抗還原細胞內環境、產生增加細胞內穩定性及/或調節細胞內定位之融合蛋白及其類似方法。細胞內抗體亦可引入多細胞生物體之一或多個細胞、組織或器官中且在其中表現，例如用於達成預防及/或治療之目的(例如，作為基因療法) (至少參見 PCT 公開案第 WO 08/020079 號、第 WO 94/02610 號、第 WO 95/22618 號及第 WO 03/014960 號；美國專利第 7,004,940 號；Cattaneo 及 Biocca (1997) *Intracellular Antibodies: Development and Applications* (Landes and Springer-Verlag publs.)；Kontermann (2004) *Methods* 34:163-170；Cohen 等人 (1998) *Oncogene* 17:2445-2456；Auf der Maur 等人 (2001) *FEBS Lett.* 508:407-412；Shaki-Loewenstein 等人 (2005) *J. Immunol. Meth.* 303:19-39)。

【0220】 如本文所用，術語「抗體」亦包括抗體之「抗原結合部分」(或簡稱為「抗體部分」)。如本文所用，術語「抗原結合部分」係指抗體中保留與抗原(例如，本文所述之肽及/或 MHC-肽複合物)特異性及/或選擇性地結合之能力的一或多個片段。已顯示，抗體之抗原結合功能可由全長抗體之片段執行。涵蓋在術語抗體之「抗原結合部分」內之結合片段之實例包括(i) Fab 片段，其係由 VL、VH、CL 及 CH1 域組成之單價片段；(ii) $F(ab')_2$ 片段，其係包含在鉸鏈區由二硫橋連接之兩個 Fab 片段之二價片段；(iii)由 VH 及 CH1 域組成之 Fd 片段；(iv)由抗體之單一臂之 VL 及 VH 域組成之 Fv 片段，(v) dAb 片段(Ward 等人, (1989) *Nature* 341:544-546)，其由 VH 域組成；及(vi)經分離之互補決定區(CDR)。此外，雖然 Fv 片段之兩個域 VL 及 VH 係由單獨基因編碼，但其可使用重組方法藉由合成連接子接合，該合成連接子使得其能夠被製成單個蛋白鏈，其中 VL 區與 VH 區配對以形成單價多肽(稱為單鏈 Fv (scFv)；參見例如 Bird 等人 (1988) *Science* 242:423-426；及 Huston 等人 (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883；及 Osbourn 等人 1998, Nature Biotechnology 16: 778)。此類單鏈抗體亦意欲涵蓋在術語抗體之「抗原結合部分」內。特定 scFv 之任何 VH 及 VL 序列均可與人類免

疫球蛋白恒定區 cDNA 或基因組序列連接，以便產生編碼完整 IgG 多肽或其他同型之表現載體。VH 及 VL 亦可用於使用蛋白質化學或重組 DNA 技術產生 Fab、Fv 或其他免疫球蛋白片段。亦涵蓋諸如雙功能抗體之其他形式之單鏈抗體。雙功能抗體為二價、雙特異性抗體，其中 VH 域及 VL 域在單個多肽鏈上表現，但使用之連接子過短以致於無法在同一鏈上之兩個域之間進行配對，從而迫使該等域與另一鏈之互補域配對且產生兩個抗原結合位點(參見例如 Holliger 等人 (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:6444-6448；Poljak 等人 (1994) *Structure* 2:1121-1123)。

【0221】　另外，抗體或其抗原結合部分可為較大免疫黏附多肽之一部分，該免疫黏附多肽由該抗體或抗體部分與一或多種其他蛋白質或肽之共價或非共價締合形成。此類免疫黏附多肽之實例包括使用卵白素核心區製成四聚體 scFv 多肽(Kipriyanov 等人(1995) *Human Antibodies and Hybridomas* 6:93-101)，及使用半胱胺酸殘基、蛋白質次單元肽及 C 端聚組胺酸標籤製成二價且生物素化 scFv 多肽(Kipriyanov 等人(1994) *Mol. Immunol.* 31:1047-1058)。諸如 Fab 及 $F(ab')_2$ 片段之抗體部分可使用習知技術自完整抗體製備，諸如分別對完整抗體進行木瓜蛋白酶消化或胃蛋白酶消化。此外，如本文所述，可使用標準重組 DNA 技術獲得抗體、抗體部分及免疫黏附多肽。

【0222】　抗體可為多株或單株的；異種、同種異體或同基因型的；或其經修飾形式(例如人類化、嵌合等)。抗體亦可為全人類的。較佳地，本發明之抗體與本文所述之肽及/或 MHC-肽複合物特異性及/或選擇性地或實質上特異性及/或選擇性地結合。如本文所用，術語「單株抗體」及「單株抗體組合物」係指僅含有一種能夠與抗原之特定抗原決定基發生免疫反應之抗原結合位點之抗體多肽群體，而術語「多株抗體」及「多株抗體組合物」係指含有多種能夠與特定抗原相互作用之抗原結合位點之抗體多肽群體。單株抗體組合物通常對與其發生免疫

反應之特定抗原展現出單一結合親和力。

【0223】 與本文所述之其他結合部分相似，抗體亦可為「人類化的」，其意欲包括由具有可變區及恒定區之非人類細胞製成之抗體，該等可變區及恒定區已改變為與將由人類細胞製成之抗體更密切相似。舉例而言，藉由改變非人類抗體胺基酸序列以併入在人類生殖系免疫球蛋白序列中發現之胺基酸。本發明之人類化抗體可例如在 CDR 中包括不由人類生殖系免疫球蛋白序列編碼之胺基酸殘基(例如，藉由活體外/離體隨機或位點特異性突變誘發或藉由活體內體細胞突變引入之突變)。如本文所用，術語「人類化抗體」亦包括其中源自另一哺乳動物物種之生殖系之 CDR 序列已移植入人類構架序列上之抗體。

【0224】 在一些實施例中，本文所揭示之結合蛋白可包含 T 細胞受體(TCR)、TCR 之抗原結合片段或嵌合抗原受體(CAR)。在一些實施例中，本文所揭示之結合蛋白可包含兩條多肽鏈，其中每一條均包含可變區，該可變區包含 TCR α 鏈之 CDR3 及 TCR β 鏈之 CDR3，或 TCR α 鏈及 TCR β 鏈兩者之 CDR1、CDR2 及 CDR3。在一些實施例中，結合蛋白包含單鏈 TCR (scTCR)，其包含 TCR V_α 及 TCR V_β 域兩者，但僅包含單個 TCR 恒定域(C_α 或 C_β)。術語「嵌合抗原受體」(CAR)係指一種融合蛋白，其經工程改造以含有兩個或更多個天然存在之胺基酸序列，該等序列以非天然存在或非天然存在於宿主細胞中之方式連接在一起，當存在於細胞表面上時，該融合蛋白可用作受體。本發明所涵蓋之 CAR 可包括細胞外部分，其包含抗原結合域(亦即，獲自或源自免疫球蛋白或免疫球蛋白樣分子，諸如抗體或 TCR，或者源自或獲自來自 NK 細胞之殺手免疫受體之抗原結合域)，該抗原結合域與跨膜域及一或多個細胞內信號傳導域(視情況含有共刺激域)連接(參見例如 Sadelain 等人 (2013) *Cancer Discov.* 3:388；Harris 及 Kranz (2016) *Trends Pharmacol. Sci.* 37:220；及 Stone 等人 (2014) *Cancer Immunol. Immunother.* 63:1163)。

【0225】　在一些實施例中，1) TCR α鏈 CDR、TCR V_α域及/或 TCR α鏈由選自表 2 中所列之 TRAV、TRAJ 及 TRAC 基因之群的 TRAV、TRAJ 及/或 TRAC 基因或其片段編碼，及/或 2) TCR β 鏈 CDR、TCR V_β域及/或 TCR β 鏈由選自表 2 中所列之 TRBV、TRBJ 及 TRBC 基因之群的 TRBV、TRBJ 及/或 TRBC 基因或其片段編碼，及/或 3)與表 2 中所列之同源參考 CDR 序列相比，該結合蛋白之各 CDR 具有至多五個胺基酸取代、插入、缺失或其組合。

【0226】　在一些實施例中，本文所揭示之結合蛋白(例如，TCR、TCR 之抗原結合片段或嵌合抗原受體(CAR))為嵌合的(例如，包含來自多於一個供體或物種之胺基酸殘基或模體)、人類化(例如，包含來自非人類生物體之殘基，該等殘基發生改變或經取代以降低人類之免疫原性風險)或人類的。

【0227】　用於產生經工程改造之結合蛋白(諸如 TCR、CAR 及其抗原結合片段)之方法為所屬領域中熟知(例如 Bowerman 等人 (2009) *Mol. Immunol.* 5:3000；美國專利第 6,410,319 號；美國專利第 7,446,191 號；美國專利公開案第 2010/065818 號；美國專利第 8,822,647 號；PCT 公開案第 WO 2014/031687 號；美國專利第 7,514,537 號；及 Brentjens 等人 (2007) *Clin. Cancer Res.* 73:5426)。

【0228】　在一些實施例中，本文所述之結合蛋白係在細胞表面上表現之 TCR 或其抗原結合片段，其中與內源性 TCR 相比，細胞表面表現之 TCR 能夠更有效地與 CD3 蛋白締合。當在如 T 細胞之細胞之表面上表現時，與內源性結合蛋白(諸如內源性 TCR)相比，本發明所涵蓋之結合蛋白(諸如 TCR)亦可具有更高的在細胞上之表面表現。在一些實施例中，本文提供一種 CAR，其中 CAR 之結合域包含抗原特異性 TCR 結合域(參見例如 Walseng 等人 (2017) *Scientific Reports* 7:10713)。

【0229】　亦提供經修飾之結合蛋白(例如，TCR、TCR 之抗原結合片段或 CAR)，其可根據熟知方法使用本文所揭示之具有一或多個 V_α及/或 V_β序列之結

合蛋白作為起始物質對經修飾之結合蛋白進行工程改造來製備，該經修飾之結合蛋白可具有與起始結合蛋白相比發生改變之特性。可藉由修飾一個或兩個可變區(亦即，V_α及/或 V_β)內，例如一或多個 CDR 區內及/或一或多個構架區內之一或多個殘基來對結合蛋白進行工程改造。或者或另外，可藉由修飾恒定區內之殘基來對結合蛋白進行工程改造。

【0230】　另一類型之可變區修飾係使 V_α及/或 V_β CDR1、CDR2 及/或 CDR3 區內之胺基酸殘基發生突變，由此改良所關注之結合蛋白之一或多種結合特性(例如，親和力)。可執行定點突變誘發或 PCR 介導之突變誘發以引入突變，且可在如本文所述及實例中所提供之活體外、離體或活體內分析中評估對蛋白結合或其他所關注之功能特性之影響。在一些實施例中，可引入保守修飾(如上文所論述)。突變可為胺基酸取代、添加或缺失。在一些實施例中，突變為取代。此外，通常 CDR 區內不超過一個、兩個、三個、四個或五個殘基經修飾。

【0231】　在一些實施例中，本文所述之結合蛋白(例如，TCR、TCR 之抗原結合片段或 CAR)相對於天然存在之 TCR 可具有一或多個胺基酸取代、缺失或添加。在一些實施例中，與表 2 中所列之同源參考 CDR 序列相比，結合蛋白之各 CDR 具有至多五個胺基酸取代、插入、缺失或其組合。胺基酸之保守取代係熟知的且可天然存在或可在重組產生結合蛋白時引入。可使用所屬領域中已知之突變誘發方法將胺基酸取代、缺失及添加引入至蛋白質中(參見例如 Sambrook 等人 (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 第 3 版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY)。可採用寡核苷酸定點特異性(或區段特異性)突變誘發程序來提供經改變之多核苷酸，該經改變之多核苷酸具有根據所需取代、缺失或插入發生改變之特定密碼子。或者，可使用隨機或飽和突變誘發技術，諸如丙胺酸掃描突變誘發、易錯聚合酶鏈反應突變誘發及寡核苷酸定向突變誘發來製備免疫原多肽變異體(參見例如 Sambrook 等人, 同上)。

【0232】 一般技術人員已知之多種準則指示在肽或多肽中之特定位置處經取代之胺基酸是否為保守的(或相似的)。舉例而言，相似胺基酸或保守胺基酸取代係其中胺基酸殘基經具有相似側鏈之胺基酸殘基置換的取代。相似胺基酸可包括於以下類別中：具有鹼性側鏈之胺基酸(例如，離胺酸、精胺酸、組胺酸)；具有酸性側鏈之胺基酸(例如，天冬胺酸、麩胺酸)；具有不帶電極性側鏈之胺基酸(例如，甘胺酸、天冬醯胺、麩醯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸、半胱胺酸、組胺酸)；具有非極性側鏈之胺基酸(例如，丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸、色胺酸)；具有 β-分支鏈側鏈之胺基酸(例如，蘇胺酸、纈胺酸、異白胺酸)，及具有芳族側鏈之胺基酸(例如，酪胺酸、苯丙胺酸、色胺酸)。脯胺酸被視為較難以歸類，其與具有脂族側鏈之胺基酸(例如，白胺酸、纈胺酸、異白胺酸及丙胺酸)共享特性。在一些實施例中，用麩醯胺酸取代麩胺酸或用天冬醯胺取代天冬胺酸可被視為相似取代，因為麩醯胺酸及天冬醯胺分別為麩胺酸及天冬胺酸之醯胺衍生物。如所屬領域中應理解，藉由對多肽之胺基酸序列及其保守胺基酸取代與第二多肽之序列進行比較來測定兩種多肽之間的「相似性」(例如，使用 GENEWORKS™、Align、BLAST 演算法或本文中描述且在所屬領域中實踐之其他演算法)。

【0233】 在一些實施例中，經編碼之結合蛋白(例如，TCR、TCR 之抗原結合片段或 CAR)可包含「信號肽」(亦稱為前導序列、前導肽或轉運肽)。信號肽使新合成之多肽靶向其在細胞內部或外部之適當位置。在定位或分泌期間或者一旦定位或分泌已完成，可自多肽中移除信號肽。具有信號肽之多肽在本文中稱作「前蛋白」且已移除信號肽之多肽在本文中稱作「成熟」蛋白或多肽。在一些實施例中，本文所述之結合蛋白(例如，TCR、TCR 之抗原結合片段或 CAR)包含成熟 V_α域、成熟 V_β域或兩者。在一些實施例中，本文所述之結合蛋白(例如，TCR、TCR 之抗原結合片段或 CAR)包含成熟 TCR β-鏈、成熟 TCR α-鏈或兩者。

【0234】 在一些實施例中，結合蛋白為融合蛋白，其包含：(a)包含 TCR 或其抗原結合片段之細胞外組分；(b)包含效應域或其功能部分之細胞內組分；及(c)連接細胞外組分及細胞內組分之跨膜域。在一些實施例中，融合蛋白能夠與肽-MHC (pMHC)複合物結合(例如，特異性及/或選擇性地)，該肽-MHC 複合物包含在 MHC 分子(例如，MHC I 類分子)背景中之 MAGEA1 免疫原性肽。

【0235】 如本文所用，「效應域」或「免疫效應域」係融合蛋白或受體之細胞內部分或域，當接收到適當信號時，其可直接或間接促進細胞中之免疫反應。在一些實施例中，效應域係來自免疫細胞蛋白或其部分或免疫細胞蛋白複合物，當進行結合(例如，CD3ζ)時，或當該免疫細胞蛋白或其部分或免疫細胞蛋白複合物直接與標靶分子結合且觸發免疫細胞中之效應域之信號轉導時，該效應域接收信號。

【0236】 當效應域含有一或多個信號傳導域或模體，諸如細胞內基於酪胺酸之活化模體(ITAM)，諸如在共刺激分子中發現之彼等時，其可直接促進細胞反應。不希望受理論束縛，鹹信在 T 細胞受體或包含 T 細胞效應域之融合蛋白與配位體銜接之後，ITAM 可用於 T 細胞活化。在一些實施例中，細胞內組分或其功能部分包含 ITAM。示例性免疫效應域包括但不限於來自以下之彼等域：CD3ε、CD3δ、CD3ζ、CD25、CD79A、CD79B、CARD11、DAP10、FcRα、FcRβ、FcRγ、Fyn、HVEM、ICOS、Lck、LAG3、LAT、LRP、NKG2D、NOTCH1、NOTCH2、NOTCH3、NOTCH4、Wnt、ROR2、Ryk、SLAMF1、Slp76、pTα、TCRα、TCRβ、TRIM、Zap70、PTCH2 或其任何組合。在一些實施例中，效應域包含淋巴球受體信號傳導域(例如，CD3ζ 或其功能部分或變異體)。

【0237】 在其他實施例中，融合蛋白之細胞內組分包含選自以下之共刺激域或其功能部分：CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40 (CD134)、CD2、CD5、ICAM-l (CD54)、LFA-l (CD11a/CD18)、ICOS (CD278)、GITR、CD30、CD40、

BAFF-R、HVEM、LIGHT、MKG2C、SLAMF7、NKp80、CD160、B7-H3、與CD83 結合(例如，特異性及/或選擇性地)之配位體或其功能變異體，或其任何組合。在一些實施例中，細胞內組分包含 CD28 共刺激域或其功能部分或變異體(其可視情況包括在原生 CD28 蛋白之位置 186-187 處之 LL-GG 突變(例如，Nguyen 等人 (2003) *Blood* 702:4320)、4-1BB 共刺激域或其功能部分或變異體，或兩者。

【0238】 在一些實施例中，效應域包含 CD3ε 胞內域或其功能(例如，信號傳導)部分，或其功能變異體。在其他實施例中，效應域包含 CD27 胞內域或其功能(例如，信號傳導)部分，或其功能變異體。在其他實施例中，效應域包含 CD28 胞內域或其功能(例如，信號傳導)部分，或其功能變異體。在其他實施例中，效應域包含 4-1BB 胞內域或其功能(例如，信號傳導)部分，或其功能變異體。在其他實施例中，效應域包含 OX40 胞內域或其功能(例如，信號傳導)部分，或其功能變異體。在其他實施例中，效應域包含 CD2 胞內域或其功能(例如，信號傳導)部分，或其功能變異體。在其他實施例中，效應域包含 CD5 胞內域或其功能(例如，信號傳導)部分，或其功能變異體。在其他實施例中，效應域包含 ICAM-1 胞內域或其功能(例如，信號傳導)部分，或其功能變異體。在其他實施例中，效應域包含 LFA-1 胞內域或其功能(例如，信號傳導)部分，或其功能變異體。在其他實施例中，效應域包含 ICOS 胞內域或其功能(例如，信號傳導)部分，或其功能變異體。

【0239】 本發明所涵蓋之細胞外組分及細胞內組分藉由跨膜域連接。如本文所用，「跨膜域」係跨膜蛋白中可插入至細胞膜中或橫跨細胞膜之部分。跨膜域具有三維結構，該結構在細胞膜中熱力學穩定且長度一般介於約 15 個胺基酸至約 30 個胺基酸之範圍內。跨膜域之結構可包含 α 螺旋、β 桶、β 折疊、β 螺旋或其任何組合。在一些實施例中，跨膜域包含或源自已知之跨膜蛋白(例如，CD4 跨膜域、CD8 跨膜域、CD27 跨膜域、CD28 跨膜域或其任何組合)。

【0240】 在一些實施例中，融合蛋白之細胞外組分進一步包含安置於結合域與跨膜域之間的連接子。如本文中當提及融合蛋白中連接結合域與跨膜域之組分時所用，「連接子」可為具有約兩個胺基酸至約 500 個胺基酸之胺基酸序列，其可為藉由連接子連接之兩個區域、域、模體、片段或模組之間的構形移動提供可撓性及空間。舉例而言，本發明所涵蓋之連接子可使結合域遠離表現融合蛋白之宿主細胞之表面定位以使得能夠實現宿主細胞與標靶細胞之間的適當接觸、抗原結合及活化(Patel 等人 (1999) *Gene Therapy* 6:412-419)。連接子長度可基於所選標靶分子、所選結合抗原決定基或抗原結合域捕獲及親和力而變化以使抗原識別增至最大(參見例如 Guest 等人 (2005) *Immunother.* 28:203-11，及 PCT 公開案第 WO 2014/031687 號)。示例性連接子包括具有甘胺酸-絲胺酸胺基酸鏈之彼等連接子，該甘胺酸-絲胺酸胺基酸鏈具有一個至約十個 Gly_xSer_y 重複序列，其中 x 及 y 各自獨立地為 0 至 10 之整數，其限制條件在於 x 及 y 不同時為 0 (例如，$(Gly_4Ser)_2$、$(Gly_3Ser)_2$、Gly_2Ser 或其組合，諸如$((Gly_3Ser)_2Gly_2Ser)$)。

【0241】 結合蛋白可與諸如偵測部分、放射增敏劑、光敏劑及其類似物之試劑結合，及/或可如上文關於肽所述進行化學修飾。

【0242】 在本文揭示之任何實施例中，編碼之結合蛋白能夠與包含在 MHC 分子(例如，MHC I 類分子)背景中之 MAGEA1 免疫原性肽的肽-MHC (pMHC)複合物結合。

【0243】 熟知多種用於評估結合親和力及/或確定結合分子是否與特定配位體(例如，肽抗原-MHC 複合物)結合(例如，特異性及/或選擇性地)之分析。諸如藉由使用所屬領域中熟知之多種結合分析中之任一者來測定結合蛋白對標靶(諸如標靶多肽之 T 細胞肽抗原決定基)之結合親和力係在熟練技術人員之水準內。舉例而言，在一些實施例中，可使用 Biacore™機器來測定兩種蛋白質之間的複合物之結合常數。可藉由監測當緩衝液通過晶片時折射率相對於時間之變化來測

定複合物之解離常數(K_D)。用於量測一種蛋白質與另一蛋白質之結合的其他合適分析包括例如免疫分析，諸如酶聯免疫吸附劑分析(ELISA)及放射免疫分析(RIA)，或藉由經由螢光、UV 吸收、圓二色性或核磁共振(NMR)監測蛋白質之光譜或光學特性之變化來測定結合。其他示例性分析包括但不限於西方墨點法、ELISA、分析性超速離心、光譜分析及表面電漿子共振(Biacore™)分析(參見例如 Scatchard 等人 (1949) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 51:660；Wilson (2002) *Science* 295:2103；Wolff 等人 (1993) *Cancer Res.* 53:2560；及美國專利第 5,283,173 號及第 5,468,614 號)、流動式細胞測量術、定序及用於偵測所表現之核酸之其他方法。在一實例中，藉由使用經標記之多聚體，諸如 MHC-抗原四聚體，例如藉由流動式細胞測量術評估與各種濃度之四聚體之結合來量測對標靶之表觀親和力。在一代表性實例中，使用一系列濃度之經標記之四聚體的 2 倍稀釋來量測結合蛋白之表觀 K_D，接著藉由非線性回歸來確定結合曲線，表觀 K_D 經測定為產生半最大結合之配位體濃度。

VI. 核酸及載體

【0244】 在本發明所涵蓋之一態樣中，本文提供核酸分子，其編碼本文所述之蛋白質，諸如 MAGEA1 免疫原性肽及其片段、MHC 分子、結合蛋白(例如，TCR、TCR 之抗原結合片段、CAR 及其類似物)及其類似物。

【0245】 在一些實施例中，核酸分子在嚴格條件下與諸如在全長上與編碼選自由表 1-3 中所列之多肽序列組成之群的多肽的核酸具有至少約至少約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多一致性之序列的補體雜交。

【0246】 在一些實施例中，核酸分子在嚴格條件下與編碼選自由表 1-3 中所列之多肽序列組成之群的多肽的核酸之補體雜交。

【0247】 在一些實施例中，核酸分子包含編碼選自由表 1-3 中所列之多肽序

列組成之群的多肽之核苷酸序列(例如，包含其、基本上由其組成或由其組成)。

【0248】　在一些實施例中，核酸序列編碼本文所述之 MAGEA1 免疫原性肽。

【0249】　在一些實施例中，核酸包含編碼至少一種(例如，一種、兩種或三種)表 2 中所述之 TCR α 鏈 CDR 的核苷酸序列(例如，包含其、基本上由其組成或由其組成)。在一些實施例中，核酸包含編碼具有與表 2 中所述之 TCR V_α域序列至少約至少約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多一致之胺基酸序列的 TCR V_α域的核苷酸序列(例如，包含其、基本上由其組成或由其組成)。在一些實施例中，核酸包含編碼具有與表 2 中所述之 TCR α 鏈序列至少約至少約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多一致之胺基酸序列的 TCR α 鏈的核苷酸序列(例如，包含其、基本上由其組成或由其組成)。

【0250】　在一些實施例中，核酸包含編碼至少一種(例如，一種、兩種或三種)表 2 中所述之 TCR β 鏈 CDR 的核苷酸序列(例如，包含其、基本上由其組成或由其組成)。在一些實施例中，核酸包含編碼具有與表 2 中所述之 TCR V_β域序列至少約至少約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多一致之胺基酸序列的 TCR V_β域的核苷酸序列(例如，包含其、基本上由其組成或由其組成)。在一些實施例中，核酸包含編碼具有與表 2 中所述之 TCR β 鏈序列至少約至少約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多一致之胺基酸序列的 TCR β 鏈的核苷酸序列(例如，包含其、基本上由其組成或由其組成)。

【0251】　術語「核酸」包括「多核苷酸」、「寡核苷酸」及「核酸分子」，且通常意謂 DNA 或 RNA 之聚合物，其可為單股或雙股，自天然來源合成或獲得

(例如，分離及/或純化)，其可含有天然、非天然或改變之核苷酸，且可含有天然、非天然或改變之核苷酸間鍵，諸如胺基磷酸酯鍵或硫代磷酸酯鍵，而不是在未修飾之寡核苷酸之核苷酸之間發現的磷酸二酯。在一個實施例中，核酸包含互補DNA (cDNA)。

【0252】　在一些實施例中，本發明所涵蓋之核酸為重組的。如本文所用，術語「重組」係指(i)藉由將天然或合成核酸區段與可在活細胞中復制之核酸分子接合而在活細胞外構築之分子，或(ii)由上面(i)中描述之彼等分子之複製產生的分子。出於本文之目的，複製可為活體外、離體或活體內復制。

【0253】　可使用所屬領域已知之程序基於化學合成及/或酶促連接反應構築核酸。例如參見 Green 及 Sambrook 等人, 上述。舉例而言，可使用天然存在之核苷酸或各種經修飾之核苷酸化學合成核酸，此等核苷酸經設計以提高分子之生物學穩定性或提高雜交後形成之雙鏈體之物理穩定性(例如硫代磷酸酯衍生物及經吖啶取代之核苷酸)。可用於產生核酸之經修飾之核苷酸的實例包括但不限於 5-氟尿嘧啶、5-溴尿嘧啶、5-氯尿嘧啶、5-碘尿嘧啶、次黃嘌呤、黃嘌呤、4-乙醯胞嘧啶、5-(羧基羥甲基)尿嘧啶、5-羧甲基胺基甲基-2-硫尿嘧啶、5-羧甲基胺基甲基尿嘧啶、二氫尿嘧啶、β-D-半乳糖基奎苷、肌苷、N^6-異戊烯基腺嘌呤、1-甲基鳥嘌呤、1-甲基肌苷、2,2-二甲基鳥嘌呤、2-甲基腺嘌呤、2-甲基鳥嘌呤、3-甲基胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、N^6-取代之腺嘌呤、7-甲基鳥嘌呤、5-甲基胺基甲基尿嘧啶、5-甲氧基胺基甲基-2-硫尿嘧啶、β-D-甘露糖基奎苷、5'-甲氧基羧甲基尿嘧啶、5-甲氧基尿嘧啶、2-甲硫基-N^6-異戊烯基腺嘌呤、尿嘧啶-5-氧乙酸(v)、懷丁氧苷(wybutoxosine)、假尿嘧啶、奎苷、2-硫胞嘧啶、5-甲基-2-硫尿嘧啶、2-硫尿嘧啶、4-硫尿嘧啶、5-甲基尿嘧啶、尿嘧啶-5-氧乙酸甲酯、3-(3-胺基-3-N-2-羧丙基)尿嘧啶及 2,6-二胺基嘌呤。或者，本發明所涵蓋之一或多種核酸可購自公司，諸如 Integrated DNA Technologies (Coralville, IA)。

【0254】 在一個實施例中，核酸包含密碼子最佳化之核苷酸序列。不受特定理論或機制之束縛，據信核苷酸序列之密碼子最佳化提高 mRNA 轉錄本之轉譯效率。核苷酸序列之密碼子最佳化可能涉及將天然密碼子取代為另一個編碼相同胺基酸，但可由細胞內更容易獲得之 tRNA 轉譯之密碼子，從而提高轉譯效率。核苷酸序列之最佳化亦可減少會幹擾轉譯之二級 mRNA 結構，從而提高轉譯效率。在一些實施例中，本文所述之核苷酸序列針對在宿主細胞(例如，免疫細胞，例如 T 細胞)中之表現進行密碼子最佳化。

【0255】 本發明亦提供一種核酸，其包含與本文所述之任何核酸之核苷酸序列互補的核苷酸序列或在嚴格條件下與本文所述之任何核酸之核苷酸序列雜交的核苷酸序列。

【0256】 在嚴格條件下雜交之核苷酸序列可在高嚴格條件下雜交。「高嚴格條件」意謂核苷酸序列以比非特異性雜交可偵測地強的量與標靶序列(本文所述之任何核酸之核苷酸序列)特異性及/或選擇性地雜交。高嚴格條件包括將具有精確互補序列之多核苷酸或僅含有少數分散錯配之多核苷酸與恰好具有與核苷酸匹配之幾個小區域(例如，3-10 個鹼基)之隨機序列區分開來的條件。與 14-17 個或更多個鹼基之全長補體相比，此類互補之小區域更容易融化，且高嚴格雜交使其易於區分。相對高之嚴格條件將包括例如低鹽及/或高溫條件，諸如由約 0.02-0.1 M NaCl 或等效物在約 50-70°C之溫度下提供。此類高嚴格條件幾乎不容許核苷酸序列與模板或標靶股之間的錯配，且特別適合偵測任何本發明之 TCR 之表現。普遍理解，藉由添加遞增量之甲醯胺可使條件變得更加嚴格。

【0257】 本發明亦提供一種核酸，其包含與本文所述之任何核酸至少約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多一致的核苷酸序列。

【0258】 通常，該核酸為 DNA 或 RNA 分子，其可包括於合適載體，諸如質

體、黏質體、游離基因組、人工染色體、噬菌體或病毒載體中。

【0259】　術語「載體」、「選殖載體」及「表現載體」意謂可將 DNA 或 RNA 序列(例如，外來基因)引入至宿主細胞中，以便將宿主轉型且促進所引入序列之表現(例如，轉錄及轉譯)的媒劑。因此，本發明所涵蓋之另一目標係關於一種包含本發明所涵蓋之核酸之載體。

【0260】　此類載體可包含調控元件，諸如啟動子、增強子、終止子及其類似物，以在向個體投與後引起或引導該多肽之表現。用於動物細胞表現載體之啟動子及增強子之實例包括 SV40 之早期啟動子及增強子(Mizukami T 等人 1987)、莫洛尼小鼠白血病病毒之 LTR 啟動子及增強子(Kuwana Y 等人 1987)、免疫球蛋白 H 鏈之啟動子(Mason J O 等人 1985)及增強子(Gillies S D 等人 1983)及其類似物。

【0261】　可使用任何動物細胞表現載體。合適載體之實例包括 pAGE107 (Miyaji H 等人 1990)、pAGE103 (Mizukami T 等人 1987)、pHSG274 (Brady G 等人 1984)、pKCR (O'Hare K 等人 1981)、pSG1 β d2-4-(Miyaji H 等人 1990)及其類似物。質體之其他代表性實例包括包含複製起點之複製質體，或整合質體，諸如 pUC、pcDNA、pBR 及其類似物。病毒載體之代表性實例包括腺病毒、逆轉錄病毒、慢病毒、皰疹病毒及 AAV 載體。此類重組病毒可藉由所屬領域中已知之技術產生，諸如藉由轉染包裝細胞或藉由用輔助質體或病毒瞬時轉染產生。病毒包裝細胞之典型實例包括 PA317 細胞、PsiCRIP 細胞、GPenv 陽性細胞、293 細胞等。用於產生此類複制缺陷型重組病毒之詳細方案為所屬領域中熟知且可見於例如 PCT 公開案 WO 95/14785、PCT 公開案 WO 96/22378、美國專利第 5,882,877 號、美國專利第 6,013,516 號、美國專利第 4,861,719 號、美國專利第 5,278,056 號及 PCT 公開案 WO 94/19478。

【0262】　在一些實施例中，表現載體為奈米質體。本文中使用之術語「奈米質體」係指具有減少之細菌序列的環狀 DNA 序列，其為所需載物插入物提供較小

質粒。載體之尺寸減小引起轉染時 DNA 誘發之毒性有限，可能在細胞中持續更長時間，可能在轉染之後活力更佳，且可能易位效率更高。在一些實施例中，奈米質體為無抗生素抗性標記物之奈米質體。在一些實施例中，奈米質體包含選擇標記物及/或無義抑制基因標記物。由於骨架尺寸小，例如<500 bp 骨架，所以此類奈米質體最大化所需載物插入物之尺寸。所需載物插入物(例如真核轉殖基因)可為可遞送至標靶細胞之任何尺寸，例如至多 50 kb、45 kb、40 kb、35 kb、30 kb、25 kb、20 kb、18 kb、15 kb、12 kb、10 kb、5.0 kb、4.5 kb、4.0 kb、3.5 kb、3.0 kb、2.8 kb、2.5 kb、2.2 kb、2 kb、1.8 kb、1.5 kb、1.2 kb、1 kb 或之間的任何範圍，包括端點，諸如 8-12 kb。其亦提供高轉殖基因表現且減少轉殖基因沉默，使與載物在經工程改造之細胞之基因組中之無規整合相關的載物之整合效率可調。

【0263】　在一些實施例中，奈米質體可包含表 3 中提供之載體中所示的元件(例如 R6K 及 RNA-OUT)。舉例而言，在一些實施例中，奈米質體包含最小化的細菌 ColE1 或 R6K 複製起點(其使此類奈米質體在細菌宿主菌株中可複製)、可選擇標記物(例如細菌 RNA 可選擇標記物)及真核基因區。RNA 可選擇標記物為載體負載的表現的非轉譯 RNA，其調節染色體表現之標靶基因，以選擇該載體。此可為質體負載的無義抑制 tRNA，其調節無義可抑制之可選擇染色體標靶，諸如美國專利第 6,977,174 號中描述且以引用之方式併入本文中。此亦可為質體負載的反義抑制 RNA、抑制 RNA-IN 調節之標靶的 RNA-OUT 基因、抑制 RNAII 調節之標靶的 pMB1 質體起點編碼之 RNAI、抑制 RNA II 調節之標靶的 IncB 質體 pMU720 起點編碼之 RNAI、抑制 Hok 調節之標靶的質體 RI 之 ParB 基因座 Sok、抑制 flmA 調節之標靶的 F 質體之 Flm 基因座 FlmB、諸如例如 Wagner 等人 (2002) *Adv. Genet.* 46:361 及 Franch 及 Gerdes (2000) *Current Opin. Microbiol.* 3:159 中描述之天然反義抑制 RNA 或經工程改造之抑制 RNA，諸如小的合成小

RNA，如 SgrS、MicC 或 MicF 骨架，如 Park 等人 (2013) *Nature Biotechnology* 31:170-174 中所述。

【0264】 由無抗生素之 RNA-OUT 選擇系統及製造此類奈米質體之方法產生的示例性奈米質體描述於例如 PCT 公開案第 WO 2008153733 號、美國專利第 9,737,620 號、美國專利公開案第 2010/0303859 號及美國專利第 9,109,012 號，以引用之方式整體併入本文中。額外示例性奈米質體描述於例如 PCT 申請案第 PCT/US2013/000259 號、第 PCT/US2013/00067 號及第 PCT/US2013/00068 號以及美國專利公開案第 2015/0275221 號，各以引用之方式整體併入本文中。

【0265】 奈米質體可購得。舉例而言，Nature Technology 公司(Aldevron 子公司)提供奈米質體載體，其將 RNA 可選擇標記物與 R6K、ColE2 或 ColE2 相關之複製起點組合。此等奈米質體載體包括例如 NTC9385C、NTC9685C、NTC9385R、NTC9685R 載體以及其修飾，諸如 PCT 申請案第 PCT/US2013/00068 號中揭示之彼等載體；NTC9385R-BE、NTC9385Ra-O1 及 NTC9385Ra-O2 載體，諸如美國專利第 10,144,935 號中所述；以及 NTC9385C2、NTC9385C2a、NTC9385R2、NTC9385R2a、NTC9385R2b、NTC9385Ra、NTC9385RaF 及 NTC9385RbF 複製型小環載體，諸如美國專利公開案第 2021/0189407 號中所述，各以引用之方式整體併入本文中。

【0266】 在一些實施例中，組合物包含表現載體，該表現載體包含編碼本文所述之結合蛋白或多肽或其片段之開讀框。在一些實施例中，核酸包括表現開讀框所必需之調控元件。此類元件可包括例如啟動子、起始密碼子、終止密碼子及聚腺苷酸化信號。另外，可包括增強子。此等元件可操作地連接至編碼結合蛋白、多肽或其片段之序列。

【0267】 在一些實施例中，載體進一步包含編碼 CD8α、CD8β、顯性負性 TGFβ 受體(例如 DN-TGFβRII)、可選擇蛋白質標記物之核酸序列，視情況其中該可選

擇蛋白質標記物為二氫葉酸還原酶(DHFR)。在某些實施例中，編碼 CD8α、CD8β、DN-TGFβR 及/或可選擇蛋白質標記物之核酸序列可操作地連接至編碼標籤(例如，CD34 富集標籤)之核酸。在特定實施例中，本文所述之核酸序列，諸如編碼 TCRα、TCRβ、CD8α、CD8β、DN-TGFβR 及/或可選擇蛋白質標記物之核酸序列與內部核糖體進入位點或編碼自裂解肽(例如 P2A、E2A、F2A 或 T2A)之核酸序列等相互連接。

【0268】 在一些實施例中，本文提供之表現載體包含與表 1-3 中所述之任何核酸至少約 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多一致的核苷酸序列。

【0269】 如上所述，啟動子之代表性實例包括但不限於來自猿病毒 40 (SV40)之啟動子；小鼠乳腺腫瘤病毒(MMTV)啟動子；來自人類免疫缺乏病毒(HIV)之啟動子，諸如 HIV 長末端重複序列(LTR)啟動子；來自莫洛尼病毒之啟動子；來自巨細胞病毒(CMV)之啟動子，諸如 CMV 即刻早期啟動子；來自愛普斯坦-巴爾病毒(Epstein Barr Virus，EBV)之啟動子；來自勞斯肉瘤病毒(Rous Sarcoma Virus，RSV)之啟動子；以及來自諸如人類肌動蛋白、人類肌凝蛋白、人類血紅蛋白、人類肌肉肌酸及人類金屬硫蛋白之人類基因之啟動子。合適聚腺苷酸化信號之實例包括但不限於 SV40 聚腺苷酸化信號及 LTR 聚腺苷酸化信號。

【0270】 除表現所需之調控元件以外，核酸分子中亦可包括其他元件。此類額外元件包括增強子。增強子包括上文所述之啟動子。在一些實施例中，增強子/啟動子包括例如人類肌動蛋白、人類肌凝蛋白、人類血紅蛋白、人類肌肉肌酸及病毒增強子，諸如來自 CMV、RSV 及 EBV 之彼等增強子/啟動子。

【0271】 在一些實施例中，核酸可操作地併入如下文進一步描述之載劑或遞送載體中。可用遞送載體包括但不限於生物可降解微膠囊、免疫刺激複合物

(ISCOM)或脂質體以及經基因工程改造之減毒活載劑，諸如病毒或細菌。

【0272】　在一些實施例中，載體為病毒載體，諸如慢病毒、逆轉錄病毒、皰疹病毒、腺病毒、腺相關病毒、痘瘡病毒、桿狀病毒、鷄痘(Fowl pox)病毒、禽痘(AV-pox)病毒、經修飾之安卡拉痘瘡(MVA)病毒及其他重組病毒。舉例而言，慢病毒載體可用於感染 T 細胞。

【0273】　在一些實施例中，重組表現載體能夠將多核苷酸遞送至合適宿主細胞，例如 T 細胞或抗原呈現細胞，亦即在其細胞表面上展示肽/MHC 複合物之細胞(例如，樹突狀細胞)且缺乏 CD8。在一些實施例中，宿主細胞為造血先驅細胞或人類免疫系統細胞。例如，免疫系統細胞可為 $CD4^+$ T 細胞、$CD8^+$ T 細胞、CD4/CD8 雙陰性 T 細胞、gd T 細胞、自然殺手細胞、樹突狀細胞或其任何組合。在一些實施例中，其中 T 細胞為宿主，T 細胞可為初始 T 細胞、中央記憶 T 細胞、效應記憶 T 細胞或其任何組合。因此，重組表現載體亦可包括例如淋巴組織特異性轉錄調控元件(TRE)，諸如 B 淋巴球、T 淋巴球或樹突狀細胞特異性 TRE。淋巴組織特異性 TRE 為所屬領域中已知(參見例如 Thompson 等人 (1992) *Mol. Cell. Biol.* 72:1043；Todd 等人 (1993) *J. Exp. Med.* 777:1663；及 Penix 等人 (1993) *J. Exp. Med.* 775:1483)。

【0274】　在一些實施例中，重組表現載體包含編碼 TCR α 鏈、TCR β 鏈及/或連接子肽之核苷酸序列。例如，在一些實施例中，重組表現載體包含編碼結合蛋白之全長 TCR α 及 TCR β 鏈(其中連接子位於之間)之核苷酸序列，其中編碼 β 鏈之核苷酸序列位於編碼 α 鏈之核苷酸序列之 5'。在一些實施例中，核苷酸序列編碼全長 TCR α 及 TCR β 鏈(其中連接子位於之間)，其中編碼 TCR β 鏈之核苷酸序列位於編碼 TCR α 鏈之核苷酸序列之 3'。在一些實施例中，全長 TCR α 及/或 TCR β 鏈經其片段替換。

【0275】　如下進一步所述，本發明所涵蓋之另一態樣係關於一種已經根據本

發明之核酸及/或載體轉染、感染或轉型之細胞。宿主細胞可包括任何可接受載體或併入核酸及/或蛋白質之個別細胞或細胞培養物，以及任何子代細胞。該術語亦涵蓋宿主細胞之後代，無論在遺傳學上或表型上相同或不同。合適宿主細胞可視載體而定，且可包括哺乳動物細胞、動物細胞、人類細胞、猿細胞、昆蟲細胞、酵母細胞及細菌細胞。此等細胞可藉由使用病毒載體、經由磷酸鈣沈澱轉型、DEAE-葡聚醣、電穿孔、顯微注射或其他方法來誘導併入載體或其他材料(參見例如 Sambrook 等人(1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual 第2版* (Cold Spring Harbor Laboratory))。術語「轉型」意謂將「外來」(亦即，外部或細胞外)基因、DNA 或 RNA 序列引入宿主細胞，使得宿主細胞將表現所引入之基因或序列，從而產生所需物質，通常為由所引入之基因或序列編碼之蛋白質或酶。接受且表現所引入之 DNA 或 RNA 之宿主細胞已「經轉型」。

【0276】　舉例而言，在一些實施例中，經工程改造之免疫細胞(例如 T 細胞)可包含如下全 T 細胞(CD4$^+$與 CD8$^+$ T 細胞)，其藉由轉座子/轉座酶介導之基因遞送進行工程改造以表現編碼諸如重組 T 細胞受體(TCR)之 α 及 β 鏈之元件的遺傳載物，該重組 T 細胞受體對特定 MHC 上呈現之既定標靶抗原(例如 I 類 HLA)具有特異性。額外元件可由載體表現，諸如選自由以下組成之群之一或多個元件：a)能夠接合 CD4$^+$ T 細胞之 CD8α 及 CD8β 共受體；b)與 CD8α 之胺基端融合的 CD34 來源之 QBEND/10 抗原決定基標簽以能夠在活體外及活體內追蹤經工程改造之細胞；c)顯性負性 II 型 TGFβ 受體(DN-TGFβRII)以克服腫瘤介導之免疫抑制；及 d)選擇標記物，諸如二氫葉酸還原酶(DHFRdm)之突變形式，以在製造過程期間便於富集經工程改造之細胞。外源 TCR 之 α 及 β 鏈及 CD8 之 α 及 β 鏈可在單一啟動子(諸如鼠科幹細胞病毒(MSCV)啟動子)控制下由單一 mRNA 分子編碼。在自裂解肽元件(諸如 P2A 位點)處之轉譯後加工可產生獨立多肽，以致於產生與載體中之各元件對應的四種個別多肽。類似地，DN-TGFβRII 及 DHFRdm

可由經單一啟動子(諸如人類延伸因子 1α (EF1α)啟動子)驅動之單一 mRNA 分子編碼。在自裂解肽元件(諸如 P2A 位點)處之轉譯後加工可產生與載體中之各個別元件對應的獨立多肽。

【0277】 本發明所涵蓋之核酸可用於在合適表現系統中產生本發明所涵蓋之重組多肽。術語「表現系統」意謂在合適條件下例如表現由載體所攜帶且引入至宿主細胞之外來 DNA 編碼之蛋白質的宿主細胞及相容性載體。

【0278】 常見表現系統包括大腸桿菌宿主細胞及質體載體、昆蟲宿主細胞及桿狀病毒載體以及哺乳動物宿主細胞及載體。宿主細胞之其他實例包括但不限於原核細胞(諸如細菌)及真核細胞(諸如酵母細胞、哺乳動物細胞、昆蟲細胞、植物細胞等)。特定實例包括大腸桿菌；克魯維酵母屬(*Kluyveromyces*)或酵母屬(*Saccharomyces*)酵母；哺乳動物細胞株(例如，Vero 細胞、CHO 細胞、3T3 細胞、COS 細胞等)；以及初級或所建立之哺乳動物細胞培養物(例如，由淋巴母細胞、纖維母細胞、胚胎細胞、上皮細胞、神經細胞、脂肪細胞等產生)。實例亦包括小鼠 SP2/0-Ag14 細胞(ATCC CRL1581)、小鼠 P3X63-Ag8.653 細胞(ATCC CRL1580)、二氫葉酸還原酶基因(下文稱為「DHFR 基因」)缺陷型 CHO 細胞(Urlaub G 等人(1980))、大鼠 YB2/3HL.P2.G11.16Ag.20 細胞(ATCC CRL 1662，下文稱為「YB2/0 細胞」)及其類似細胞。在一些實施例中，使用 YB2/0 細胞，因為當在此細胞中表現時，嵌合或人類化結合蛋白之 ADCC 活性有所增強。

【0279】 本發明亦涵蓋產生表現本發明所涵蓋之結合蛋白、肽及其片段之重組宿主細胞的方法，該方法包括由以下組成之步驟：(i)將如上文所述之重組核酸或載體活體外或離體引入至勝任宿主細胞中，(ii)活體外或離體培養所獲得之重組宿主細胞，及(iii)視情況，選擇表現該等結合蛋白、肽及其片段之細胞。此類重組宿主細胞可用於本發明所涵蓋之診斷、預後及/或治療方法。

【0280】 在另一態樣中，如上所述，本發明提供經分離之核酸，其在選擇性雜

交條件下與本文所揭示之多核苷酸雜交。因此，此實施例之多核苷酸可用於分離、偵測及/或定量包含此類多核苷酸之核酸。舉例而言，本發明所涵蓋之多核苷酸可用於鑑定、分離或擴增寄存文庫中之部分或全長純系。在一些實施例中，多核苷酸為自人類或哺乳動物核酸文庫分離或以其他方式與來自該文庫之cDNA互補的基因組序列或cDNA序列。在一些實施例中，cDNA文庫包含至少約75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多，或介於兩者之間的任何範圍(包括端點)，諸如至少約80%-100%之全長序列。可將 cDNA 文庫正規化以增加稀有序列之表示。低嚴格或中等嚴格雜交條件通常但非排他地用於相對於互補序列具有降低之序列一致性的序列。中等嚴格及高嚴格條件可視情況用於具更高一致性之序列。低嚴格條件允許具有約70%序列一致性之序列的選擇性雜交，且可用於鑑定直系同源或同種同源序列。視情況，本發明所涵蓋之多核苷酸將編碼由本文所述之多核苷酸編碼之結合蛋白的至少一部分。本發明所涵蓋之多核苷酸包括可用於與編碼本發明所涵蓋之結合蛋白之多核苷酸選擇性雜交的核酸序列(參見例如 Ausubel, 上述及 Colligan, 上述)。

VII. 經工程改造之細胞

【0281】 在本發明所涵蓋之一態樣中，本文提供宿主細胞，其表現本文所述之蛋白質，諸如本文所述之 MAGEA1 免疫原性肽、MAGEA1 免疫原性肽-MHC (pMHC)複合物、MAGEA1 結合蛋白(例如，TCR、TCR 之抗原結合片段、CAR 或包含 TCR 及效應域之融合蛋白)及其類似物。在一些實施例中，宿主細胞包含本文所述之核酸或載體。

【0282】 在一些實施例中，編碼結合蛋白之多核苷酸用於轉型、轉染或轉導宿主細胞(例如，T 細胞)以用於授受性轉移療法。已描述核酸定序及特定 TCR 定

序之進展(例如，Robins 等人 (2009) *Blood* 114:4099；Robins 等人 (2010) *Sci. Translat. Med.* 2:47ra64；Robins 等人 (2011) *J. Imm. Meth.*；及 Warren 等人 (2011) *Genome Res.* 21:790)且可在實踐本發明所涵蓋之實施例之過程中採用。類似地，用所需核酸轉染或轉導 T 細胞之方法為所屬領域中熟知(例如，美國專利公開案第 US 2004/0087025 號)以及使用具有所需抗原特異性之 T 細胞之授受性轉移程序(例如，Schmitt 等人(2009) *Hum. Gen.* 20:1240；Dossett 等人 (2009) *Mol. Ther.* 77:742；Till 等人 (2008) *Blood* 772:2261；Wang 等人 (2007) *Hum. Gene Ther.* 18:112；Kuball 等人 (2007) *Blood* 709:2331；美國專利公開案 2011/0243972；美國專利公開案 2011/0189141；及 Leen 等人 (2007) *Ann. Rev. Immunol.* 25:243)。

【0283】　可修飾任何合適之免疫細胞以包括本發明所涵蓋之異源多核苷酸，包括例如 T 細胞、NK 細胞或 NK-T 細胞。在一些實施例中，細胞可為初級細胞或細胞株之細胞。在一些實施例中，經修飾之免疫細胞包含 $CD4^+$ T 細胞、$CD8^+$ T 細胞或兩者。出於本文之目的，T 細胞可為任何 T 細胞，諸如培養之 T 細胞，例如初級 T 細胞，或來自培養之 T 細胞株之 T 細胞，例如 Jurkat、SupTl 等，或自哺乳動物獲得之 T 細胞。若自哺乳動物獲得，則 T 細胞可自多種來源獲得，包括但不限於血液、骨髓、淋巴結、胸腺或其他組織或體液。T 細胞亦可富集或純化。在一些實施例中，T 細胞為人類 T 細胞。在一些實施例中，T 細胞為自人類分離之 T 細胞。T 細胞可為任何類型之 T 細胞，且可處於任何發育階段，包括但不限於細胞毒性淋巴球、細胞毒性淋巴球前驅細胞、細胞毒性淋巴球先驅細胞、細胞毒性淋巴球幹細胞、$CD4^+/CD8^+$雙重陽性 T 細胞、$CD4^+$輔助 T 細胞(例如 Th1 及 Th2 細胞)、$CD4^+$ T 細胞、$CD8^+$ T 細胞(例如，細胞毒性 T 細胞)、腫瘤浸潤淋巴球(TIL)、記憶 T 細胞(例如中央記憶 T 細胞及效應記憶 T 細胞)、初始 T 細胞及其類似物。

【0284】　任何合適方法可用於轉染或轉導細胞(例如，T 細胞)，或投與本文所

述之方法所涵蓋之核苷酸序列或組合物。將多核苷酸遞送至宿主細胞之方法包括例如使用陽離子聚合物、類脂分子及某些商業產品，例如 *in vivo*-jetPEI®。其他方法包括離體轉導、注射、電穿孔、DEAE-葡聚醣、音波加載、脂質體介導之轉染、受體介導之轉導、微粒轟擊、轉座子介導之轉移及其類似方法。轉染或轉導宿主細胞之更進一步之方法採用載體，在本文中進一步詳細描述。

【0285】 如本文所述之經修飾之免疫細胞可使用用於分析 T 細胞活性之方法進行功能表徵，包括測定 T 細胞結合、活化或誘導，且亦包括測定抗原特異性 T 細胞反應。實例包括測定 T 細胞增殖、T 細胞細胞介素釋放、抗原特異性 T 細胞刺激、MHC 限制性 T 細胞刺激、CTL 活性(例如，藉由偵測預加載標靶細胞之 ^{51}Cr 釋放)、T 細胞表型標記物表現之變化以及 T 細胞功能之其他量度。

【0286】 進行此等及類似分析之程序可見於例如 Lefkovits (Immunology Methods Manual: Hie Comprehensive Sourcebook of Techniques, 1998)，以及 Current Protocols in Immunology, Weir, (1986) Handbook of Experimental Immunology, Blackwell Scientific, Boston, MA；Mishell 及 Shigii (編輯) (1979) Selected Methods in Cellular Immunology, Freeman Publishing, San Francisco, CA；Green 及 Reed (1998) *Science* 281:1309，以及其中引用之參考文獻。

【0287】 在一些實施例中，可藉由評估與不同濃度之 MHC 多聚體之結合來量測對結合蛋白(諸如 TCR 或其抗原結合部分)之表觀親和力。「MHC-肽多聚體染色」係指用於偵測抗原特異性 T 細胞之分析法，在一些實施例中，其特徵在於 MHC 分子之四聚體，各包含具有與至少一種抗原同源(例如，一致或相關)之胺基酸序列的相同肽(例如，MAGEA1 免疫原性肽)，其中復合物能夠與識別同源抗原之結合蛋白，諸如 TCR 或其抗原結合部分結合。各 MHC 分子均可用生物素分子標記。生物素化 MHC/肽可藉由添加卵白素進行多聚化(例如四聚化)，卵白素可進行螢光標記。

【0288】 多聚體可藉由流動式細胞測量術經由螢光標記進行偵測。在一些實施例中，pMHC 多聚體分析用於偵測或選擇本發明所涵蓋之親和力增強之結合蛋白，諸如 TCR 或其抗原結合部分。在一些實例中，使用一系列濃度之經標記之多聚體的 2 倍稀釋來量測結合蛋白，諸如 TCR 或其抗原結合部分之表觀 K_D，接著藉由非線性回歸來確定結合曲線，表觀 K_D 經測定為產生半最大結合之配位體濃度。

【0289】 細胞介素之水準可使用本文所述之方法來確定，諸如 ELISA、ELISPOT、細胞內細胞介素染色及流動式細胞測量術及其組合(例如細胞內細胞介素染色及流動式細胞測量術)。

【0290】 由抗原特異性引發或刺激免疫反應引起之免疫細胞增殖及純系擴增可藉由以下來測定：分離淋巴球，諸如周邊血液細胞或來自淋巴結之細胞之樣品中的循環淋巴球，用抗原刺激該等細胞且諸如藉由併入氚化胸苷或非放射性分析，諸如 MTT 分析及其類似分析，量測細胞介素產生、細胞增殖及/或細胞活力。本文所述之免疫原對 Thl 免疫反應與 Th2 免疫反應之間的平衡的影響可例如藉由測定 Thl 細胞介素(諸如 IFN-g、IL-12、IL-2 及 TNF-b)以及 2 型細胞介素(諸如 IL-4、IL-5、IL-9、IL-10 及 IL-l3)之水準來檢查。

【0291】 本發明所涵蓋之宿主細胞可包含編碼如本文所述之結合蛋白之單一多核苷酸，或結合蛋白可由多於一種多核苷酸編碼。換言之，結合蛋白之組分或部分可由兩種或更多種多核苷酸編碼，其可含於單一核酸分子上或可含於兩種或更多種核酸分子上。

【0292】 此外，如下文及實施例中進一步描述，本發明涵蓋之宿主細胞可在與結合蛋白或其組分相同的多核苷酸或不同的多核苷酸上編碼及/或表現除如本文所述之結合蛋白之外的有用輔助蛋白。舉例而言，宿主細胞可編碼及/或表現 CD8α、CD8β、DN-TGFβR (例如 DN-TGFβRII)及/或可選擇蛋白質標記物，視情

況其中可選擇蛋白質標記物為 DHFR。

【0293】　在一些實施例中，編碼本發明所涵蓋之結合蛋白之兩個或更多個組分或部分的多核苷酸包含在單個開讀框中可操作性連接之兩個或更多個編碼序列。此類安排可有利地允許所需基因產物之協調表現，諸如同時表現 TCR 之 α 鏈及 β 鏈，使得其以約 1:1 之比率產生。在一些實施例中，本發明所涵蓋之結合蛋白之兩種或更多種取代基因產物，諸如 TCR (例如，α 鏈及 β 鏈)或 CAR，表現為單獨分子且在轉譯後締合。在進一步實施例中，本發明所涵蓋之結合蛋白之兩種或更多種取代基因產物表現為單個肽，其部分由可裂解或可移除之區段分隔。例如，可用於表現由單個多核苷酸或載體編碼之可分離多肽的自裂解肽為所屬領域中已知，且包括例如豬鐵士古病毒-1 2A (P2A)肽、明脈扁刺蛾病毒(thoseaasigna virus) 2A (T2A)肽、馬鼻炎 A 病毒(ERAV) 2A (E2A)肽及口蹄疫病毒 2A (F2A)肽。

【0294】　在一些實施例中，本發明所涵蓋之結合蛋白包含一或多種連接胺基酸。「連接胺基酸」或「連接胺基酸殘基」係指多肽之兩個相鄰模體、區域或域之間，諸如結合域與相鄰恆定域之間或 TCR 鏈與相鄰自裂解肽之間的一或多個(例如 2 至約 10 個)胺基酸殘基。連接胺基酸可由編碼融合蛋白之構築體之設計產生(例如，在構築編碼融合蛋白之核酸分子期間使用限制性酶位點產生之胺基酸殘基)，或由例如與本發明所涵蓋之編碼結合蛋白之一或多個域相鄰的自裂解肽裂解產生(例如，位於 TCR a 鏈與 TCR β 鏈之間的 P2A 肽，其自裂解可在 a 鏈、TCR β 鏈或兩者中留下一或多個連接胺基酸)。

【0295】　本發明所涵蓋之經工程改造之免疫細胞可作為例如以 MAGEA1 表現為特徵之疾病之療法投與。在一些情況下，可能需要減少或停止與細胞免疫療法相關之活動。因此，在一些實施例中，本發明所涵蓋之經工程改造之免疫細胞包含編碼結合蛋白及輔助蛋白(諸如安全開關蛋白)之異源多核苷酸，其可使用同

源藥物或其他化合物靶向以在需要時選擇性地調節此類細胞之活性(例如，減少或消融)。在此方面使用之安全開關蛋白包括例如截短 EGF 受體多肽(huEGFRt)，其缺乏細胞外 N 端配位體結合域及細胞內受體酪胺酸激酶活性，但保留天然胺基酸序列、I 型跨膜細胞表面定位以及醫藥級抗 EGFR 單株抗體、西妥昔單抗(cetuximab，Erbitux) tEGF 受體(tEGFr；Wang 等人 (2011) *Blood* 118:1255-1263)、半胱天冬酶多肽(例如，iCasp9；Straathof 等人 (2005) *Blood* 105:4247-4254；Di Stasi 等人 (2011) *N. Engl. J. Med.* 365:1673-1683；Zhou 及 Brenner (2016) *Hematol.* pii:S0301-472X:30513-30516)、RQR8 (Philip 等人 (2014) *Blood* 124:1277-1287)及人類 c-myc 蛋白標籤(Kieback 等人 (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105:623-628)之構形完整結合抗原決定基。

【0296】　對治療細胞有用之其他輔助組分包含標籤或選擇標記物(例如 CD34 富集標籤)，其允許鑑定、分選、分離、富集或追蹤細胞。例如，具有所需特徵之標記免疫細胞(例如，抗原特異性 TCR 及安全開關蛋白)可自樣品中之未標記細胞中分選出來，且更有效地活化及擴增以包括在所需純度之治療產品中。

【0297】　如本文所用，術語「選擇標記物」包含賦予細胞可鑑定之變化之核酸構築體，其允許偵測及陽性選擇用包含選擇標記物之多核苷酸轉導的免疫細胞。例如，RQR 係一種選擇標記物，其包含 CD20 之主要細胞外環及兩個最小 CD34 結合位點。在一些實施例中，編碼 RQR 之多核苷酸包含編碼 16 胺基酸之 CD34 最小抗原決定基之多核苷酸。在一些實施例中，諸如本文實例中提供之某些實施例，CD34 最小抗原決定基併入 CD8 莖域(Q8)之胺基末端位置。在進一步實施例中，CD34 最小結合位點序列可與 CD20 之標靶抗原決定基組合以形成 T 細胞之緊湊標記物/自殺基因(RQR8) (Philip 等人 2014)。此構築體允許用例如與磁珠結合之 CD34 特異性抗體(Miltenyi)選擇表現該構築體之免疫細胞，且利用臨床上接受之醫藥抗體利妥昔單抗，該抗體允許選擇性刪除表現轉殖基因之經工程改

造之 T 細胞(例如，Philip 等人 (2014) *Blood* 124:1277-1287；美國專利公開案 2015-0093401；及美國專利公開案 2018-0051089)。

【0298】 其他示例性選擇標記物包括若干種通常不在 T 細胞上表現之截短之 I 型跨膜蛋白：截短之低親和力神經生長因子、截短之 CD19 及截短之 CD34 (例如，Di Stasi 等人 (2011) *N. Engl. J. Med.* 365:1673-1683；Mavilio 等人 (1994) *Blood* 83:1988-1997；及 Fehse 等人 (2000) *Mol. Ther.* 7:448-456)。CD19 及 CD34 之一個特別吸引人之特徵在於現成 Miltenyi CliniMACs™選擇系統之可用性，該系統可靶向此等標記物進行臨床級分選。然而，CD19 及 CD34 係相對較大之表面蛋白，可能會影響整合載體之載體包裝能力及轉錄效率。亦可採用含有細胞外非信號傳導域或各種蛋白質(例如 CD19、CD34、LNGFR 等)之表面標記物。可採用任何選擇標記物，且應為優良製造規範可接受的。在一些實施例中，選擇標記物與編碼所關注之基因產物(例如，本發明所涵蓋之結合蛋白，諸如 TCR 或 CAR，或其抗原結合片段)之多核苷酸一起表現。選擇標記物之其他實例包括例如報導基因，諸如 GFP、EGFP、β-gal 或氯黴素乙醯轉移酶(CAT)。在一些實施例中，選擇標記物，諸如 CD34 由細胞表現，且 CD34 可用於選擇、富集或分離(例如，藉由免疫磁性選擇)轉導之所關注之細胞以用於本文所述之方法。如本文所用，CD34 標記物區別於抗 CD34 抗體，或例如 scFv、TCR 或與 CD34 結合之其他抗原識別部分。

【0299】 在一些實施例中，選擇標記物包含 RQR 多肽、截短之低親和力神經生長因子(tNGFR)、截短之 CD19 (tCD19)、截短之 CD34 (tCD34)或其任何組合。

【0300】 作為背景，在免疫治療細胞產品中包括 $CD4^+$ T 細胞可提供抗原誘導之 IL-2 分泌且增強轉移之細胞毒性 $CD8^+$ T 細胞之持久性及功能(例如，Kennedy 等人 (2008) *Immunol. Rev.* 222:129 及 Nakanishi 等人 *Nature* (2009) 52:510)。在一些實施例中，$CD4^+$ T 細胞中之 I 類限制性 TCR 可能需要轉移 CD8 共受體以增

強 TCR 對 I 類 HLA 肽複合物之敏感性。CD4 共受體在結構上與 CD8 不同，且不能有效替代 CD8 共受體(例如，Stone 及 Kranz (2013) *Front. Immunol.* 4:244 及 Cole 等人 (2012) *Immunology* 737:139)。因此，用於本發明所涵蓋之組合物及方法之另一種輔助蛋白包含 CD8 共受體或其組分。在一些實施例中，包含編碼本發明所涵蓋之結合蛋白之異源多核苷酸的經工程改造之免疫細胞可進一步包含編碼 CD8 共受體蛋白或其 β 鏈或 α 鏈組分之異源多核苷酸。

【0301】　宿主細胞可有效地經轉導以含有且可有效地表現編碼結合蛋白、安全開關蛋白、選擇標記物及 CD8 共受體蛋白之單一多核苷酸。

【0302】　在一個實施例中，本發明所涵蓋之宿主細胞進一步包括編碼共刺激分子之核酸，使得經修飾之 T 細胞表現共刺激分子。在一些實施例中，共刺激域係選自 CD3、CD27、CD28、CD83、CD86、CD127、4-1BB、4-1BBL、PD1 及 PD1L。

【0303】　在任何前述實施例中，表現本文所述之結合蛋白之宿主細胞可為通用免疫細胞。「通用免疫細胞」包含如下免疫細胞，其經修飾以減少或消除一或多種編碼選自 PD-l、LAG-3、CTLA4、TIM3、TIGIT、HLA 分子、TCR 分子或其任何組合之多肽產物之內源基因的表現。不希望受理論束縛，某些內源性表現之免疫細胞蛋白可能下調經修飾之免疫細胞之免疫活性(例如，PD-1、LAG-3、CTLA4、TIGIT)，或可能幹擾本發明所涵蓋之異源表現之結合蛋白(例如，結合非 MAGEA1 抗原且幹擾經修飾之免疫細胞與表現 MAGEA1 抗原(諸如在 MHC 分子背景中之 MAGEA1 免疫原性肽)之標靶細胞之結合的內源性 TCR)的結合活性。此外，在供體免疫細胞上表現之內源蛋白(例如免疫細胞蛋白質，諸如 HLA 對偶基因)可能被同種異體宿主識別為外源蛋白，此可能導致經修飾之供體免疫細胞被同種異體宿主消除或抑制。

【0304】　因此，降低或消除此類內源基因或蛋白質之表現或活性可提高經修

飾之免疫細胞在自體同源或同種異體宿主環境中之活性、耐受性或持久性，且允許細胞之通用投與(例如，投與至任何接受者，無論 HLA 類型如何)。在一些實施例中，根據本發明之細胞係同基因型的，此意謂期在遺傳學上一致或足夠一致且免疫學上相容從而允許移植。在一些實施例中，通用免疫細胞為供體細胞(例如，同種異體)或自體同源細胞。在一些實施例中，本發明所涵蓋之經修飾之免疫細胞(例如通用免疫細胞)包含編碼以下之基因中之一或多者的染色體基因剔除：PD-l、LAG-3、CTLA4、TIM3、TIGIT、HLA 組分(例如，編碼 αl 巨球蛋白、α2 巨球蛋白、α3 巨球蛋白、β1 微球蛋白或 β2 微球蛋白之基因)或 TCR 組分(例如，編碼 TCR 可變區或 TCR 恆定區之基因) (參見例如 Torikai 等人(2016) *Nature Sci. Rep.* 6:21757；Torikai 等人 (2012) *Blood* 179:5697；及 Torikai 等人 (2013) *Blood* 722:1341，其亦提供根據本發明有用之代表性的示例性基因編輯技術、組合物及授受性細胞療法)。

【0305】　如本文所用，術語「染色體基因剔除」係指在宿主細胞中防止(例如，減少、延遲、抑製或消除)宿主細胞產生功能活性之內源多肽產物的遺傳改變或引入之抑製劑。引起染色體基因剔除之改變可能包括例如引入之無義突變(包括過早終止密碼子之形成)、錯義突變、基因缺失及股斷裂，以及抑制宿主細胞中之內源基因表現的抑制性核酸分子之異源表現。

【0306】　在一些實施例中，染色體基因剔除或基因嵌入可藉由宿主細胞之染色體編輯來進行。可使用例如核酸內切酶進行染色體編輯。如本文所用，「核酸內切酶」係指能夠催化多核苷酸鏈內磷酸二酯鍵裂解之酶。在一些實施例中，核酸內切酶能夠使標靶基因裂解，從而使標靶基因失活或「剔除」標靶基因。核酸內切酶可為天然存在、重組、遺傳修飾或融合之核酸內切酶。由核酸內切酶引起之核酸股斷裂通常經由同源重組或非同源末端接合(NHEJ)之不同機制進行修復。在同源重組過程中，供體核酸分子可用於供體基因「嵌入」，用於標靶基因

「剔除」，且視情況經由供體基因嵌入或標靶基因剔除事件使標靶基因失活。NHEJ 為一個容易出錯之修復過程，通常會導致裂解位點之 DNA 序列發生變化，例如至少一個核苷酸之取代、缺失或添加。NHEJ 可用於「剔除」標靶基因。核酸內切酶之實例包括鋅指核酸酶、TALE-核酸酶、CRISPR-Cas 核酸酶、大範圍核酸酶及 megaTAL。

【0307】　如本文所用，「鋅指核酸酶」(ZFN)係指一種融合蛋白，其包含與非特異性 DNA 裂解域，諸如 FokI 核酸內切酶融合之鋅指 DNA 結合域。約 30 個胺基酸之各鋅指模體與約 3 個 DNA 鹼基對結合，且某些殘基上之胺基酸可發生變化以改變三聯體序列特異性(例如，Desjarlais 等人 (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90:2256-2260 及 Wolfe 等人 (1999) J. *Mol. Biol.* 255:1917-1934)。多個鋅指模體可串聯連接以產生與所需 DNA 序列，諸如長度在約 9 個至約 18 個鹼基對範圍內之區域的結合特異性。作為背景，ZFN 藉由催化基因組中位點特異性 DNA 雙股斷裂(DSB)之形成來介導基因組編輯，且同源定向修復促進在 DSB 位點靶向整合包含與基因組同源之側翼序列之轉殖基因。或者，由 ZFN 產生之 DSB 可經由非同源末端接合(NHEJ)修復引起標靶基因剔除，此係一種容易出錯之細胞修復途徑，導致裂解位點處核苷酸之插入或缺失。在一些實施例中，基因剔除包含使用 ZFN 分子進行之插入、缺失、突變或其組合。

【0308】　如本文所用，「轉錄活化因子樣效應核酸酶」(TALEN)係指一種融合蛋白，其包含 TALE DNA 結合域及 DNA 裂解域，諸如 FokI 核酸內切酶。「TALE DNA 結合域」或「TALE」由一或多個 TALE 重複域/單元構成，各域/單元通常具有高度保守之 33-35 胺基酸序列，具有不同之第 12 及第 13 胺基酸。TALE 重複域參與 TALE 與標靶 DNA 序列之結合。不同胺基酸殘基，稱為重複可變雙殘基(RVD)，與特定核苷酸識別相關。已確定此等 TALE 之 DNA 識別之自然(規範)密碼，使得 TALE 之 12 及 13 位之 HD (組胺酸-天冬胺酸)序列引起 TALE 與胞

嘧啶(C)結合，NG (天冬醯胺-甘胺酸)與 T 核苷酸結合，NI (天冬醯胺-異白胺酸)與 A 核苷酸結合，NN (天冬醯胺-天冬醯胺)與 G 或 A 核苷酸結合，且 NG (天冬醯胺-甘胺酸)與 T 核苷酸結合。非規範(非典型) RVD 亦為所屬領域中熟知(例如，美國專利公開案第 US 2011/0301073 號，其中非典型 RVD 之全部內容以引用之方式併入本文)。TALEN 可用於指導 T 細胞基因組中之位點特異性雙股斷裂(DSB)。非同源末端接合(NHEJ)連接雙股斷裂兩側之 DNA，其中退火時序列重疊很少或沒有，因此引入剔除基因表現之錯誤。或者，同源定向修復可在 DSB 位點引入轉殖基因，條件為轉殖基因中存在同源側翼序列。在一些實施例中，基因剔除包含使用 TALEN 分子進行之插入、缺失、突變或其組合。

【0309】 如本文所用，「成簇之規則間隔之短回文重複序列/Cas」(CRISPR/Cas)核酸酶系統係指一種系統，其採用 CRISPR RNA (crRNA)引導之 Cas 核酸酶，經由鹼基配對互補性來識別基因組內之標靶位點(稱為原型間隔子)，接著若短的保守原型間隔子相關模體(PAM)緊跟在互補標靶序列之 3'之後，則使 DNA 裂解。CRISPR/Cas 系統根據 Cas 核酸酶之序列及結構分為三種類型(亦即，I 型、II 型及 III 型)。I 型及 III 型 crRNA 引導之監測複合物需要多個 Cas 次單元。研究最多之 II 型系統至少包含三個組分：RNA 引導之 Cas9 核酸酶、crRNA 及反式作用 crRNA (tracrRNA)。tracrRNA 包含雙股體形成區。crRNA 與 tracrRNA 形成雙股體，其能夠與 Cas9 核酸酶相互作用，且經由 crRNA 上之間隔子及 PAM 上游之標靶 DNA 上之原型間隔子之間的華特生-克立克鹼基配對(Watson-Crick base-pairing)，將 Cas9/crRNA:tracrRNA 複合物引導至標靶 DNA 上之特定位點。Cas9 核酸酶使由 crRNA 間隔子界定之區域內的雙股斷裂裂解。NHEJ 修復導致插入及/或缺失，此破壞所靶向之基因座之表現。或者，可經由同源定向修復將具有同源側翼序列之轉殖基因引入 DSB 位點。crRNA 及 tracrRNA 可經工程改造為單一引導 RNA (sgRNA 或 gRNA) (例如，Jinek 等人(2012) *Science* 337:816-821)。

此外，與標靶位點互補之引導 RNA 之區域可進行改變或程式化以靶向所需序列(Xie 等人 (2014) PLOS One 9:el00448；美國專利公開案第 US 2014/0068797 號；美國專利公開案第 US 2014/0186843 號；美國專利第 8,697,359 號；及 PCT 公開案第 WO 2015/071474 號)。在一些實施例中，基因剔除包含使用 CRISPR/Cas 核酸酶系統進行之插入、缺失、突變或其組合。

【0310】 示例性 gRNA 序列及使用其剔除編碼免疫細胞蛋白之內源基因之方法包括 Ren 等人 (2017) *Clin. Cancer Res.* 23:2255-2266 中所示之彼等 gRNA 序列及方法，該文獻提供代表性的示例性 gRNA、CAS9 DNA、載體及基因剔除技術。

【0311】 如本文所用，「大範圍核酸酶」，亦稱為「歸巢核酸內切酶」，係指以大識別位點(約 12 至約 40 個鹼基對之雙股 DNA 序列)為特徵之內切去氧核糖核酸酶。基於序列及結構模體，大範圍核酸酶可分為五個家族：LAGLIDADG、GIY-YIG、HNH、His-Cys 盒及 PD-(D/E)XK。示例性大範圍核酸酶包括 I-Scel、I-Ceul、PI-PspI、RI-Sce、I-SceIV、I-Csml、I-Panl、I-Scell、I-Ppol、I-SceIII、I-Crel、I-Tevl、I-TevII 及 I-TevIII，其識別序列為熟知的(例如，美國專利第 5,420,032 號及第 6,833,252 號；Belfort 等人 (1997) *Nucl. Acids Res.* 25:3379-3388；Dujon 等人 (1989) *Gene* 52:115-118；Perler 等人 (1994) *Nucl. Acids Res.* 22:1125-1127；Jasin (1996) *Trends Genet.* 72:224-228；Gimble 等人 (1996) *J. Mol. Biol.* 263:163-180；及 Argast 等人 (1998) *J. Mol. Biol.* 280:345-353)。

【0312】 在一些實施例中，天然存在之大範圍核酸酶可用於促進所關注之標靶之位點特異性基因組修飾，諸如免疫檢查點、HLA 編碼基因或 TCR 組分編碼基因。

【0313】 在其他實施例中，對標靶基因具有新結合特異性之經工程改造之大範圍核酸酶用於位點特異性基因組修飾(參見例如 Porteus 等人 (2005) *Nat. Biotechnol.* 23:967-73；Sussman 等人 (2004) *J. Mol. Biol.* 342:31-41；Epinat 等人

(2003) *Nucl. Acids Res.* 37:2952-2962；Chevalier 等人 (2002) *Mol. Cell* 70:895-905；Ashworth 等人 (2006) *Nature* 441:656-659；Paques 等人 (2007) *Curr. Gene Ther.* 7:49-66；及美國專利公開案第 US 2007/0117128 號、第 US 2006/0206949 號、第 US 2006/0153826 號、第 US 2006/0078552 號及第 US 2004/0002092 號)。在進一步之實施例中，染色體基因剔除係使用歸巢核酸內切酶產生，該核酸內切酶經 TALEN 之模組化 DNA 結合域修飾，製成稱為 megaTAL 之融合蛋白。MegaTAL 不僅可用於剔除一或多種標靶基因，亦可在與編碼所關注之多肽之外源供體模板結合使用時引入(嵌入)異源或外源多核苷酸。

【0314】 在一些實施例中，染色體基因剔除包含被引入宿主細胞(例如免疫細胞)之抑制性核酸分子，該抑制性核酸分子包含編碼與 MAGEA1 抗原結合(例如特異性及/或選擇性地)之抗原特異性受體的異源多核苷酸，其中抑制性核酸分子編碼標靶特異性抑製劑，且其中編碼之標靶特異性抑製劑抑制宿主免疫細胞中之內源基因表現(亦即，PD-1、TIM3、LAG3、CTLA4、TIGIT、HLA 組分或 TCR 組分或其任何組合)。

【0315】 在使用剔除程序或試劑後，可藉由宿主免疫細胞之 DNA 定序直接確認染色體基因剔除。

【0316】 染色體基因剔除亦可自剔除後基因表現之缺乏(例如，由該基因編碼之 mRNA 或多肽產物之缺乏)推斷。

【0317】 在一些實施例中，本發明所涵蓋之宿主細胞能夠特異性及/或選擇性地殺死 50%或更多之標靶細胞，該等標靶細胞包括包含在 MHC 分子背景中之 MAGEA1 免疫原性肽之肽-MHC (pMHC)複合物。

【0318】 在一些實施例中，經修飾之免疫細胞在與標靶細胞接觸時能夠產生細胞介素，該等標靶細胞包括包含在 MHC 分子背景中之 MAGEA1 免疫原性肽之肽-MHC (pMHC)複合物。

【0319】　在一些實施例中，細胞介素包含 IFN-γ 或 IL2。在一些實施例中，細胞介素包含 TNF-α。

【0320】　在一些實施例中，當與 MAGEA1 表現水準小於或等於約 1,000 轉錄本/百萬轉錄本(TPM)、950 TPM、900 TPM、850 TPM、800 TPM、750 TPM、700 TPM、650 TPM、600 TPM、550 TPM、500 TPM、450 TPM、400 TPM、350 TPM、300 TPM、250 TPM、200 TPM、150 TPM、100 TPM、95 TPM、90 TPM、85 TPM、80 TPM、75 TPM、70 TPM、65 TPM、60 TPM、55 TPM、50 TPM、45 TPM、40 TPM、35 TPM、34 TPM、33 TPM、32 TPM、31 TPM、30 TPM、29 TPM、28 TPM、27 TPM、26 TPM、25 TPM、24 TPM、23 TPM、22 TPM、21 TPM、20 TPM、19 TPM、18 TPM、17 TPM、16 TPM、15 TPM、14 TPM、13 TPM、12 TPM、11 TPM、10 TPM、9 TPM、8 TPM、7 TPM、6 TPM、5 TPM、4 TPM、3 TPM、2 TPM 及 1 TPM，或介於兩者之間的任何範圍(包括端點)，諸如小於或等於約 1,000 TPM 至小於或等於約 35 TPM)的標靶細胞接觸時，宿主細胞能夠產生更高水準之細胞介素或細胞毒性分子。在一些實施例中，低 MAGEA1 表現水準稱為「雜合表現」，意謂約 1 TPM 與約 35 TPM 之間，或介於兩者之間的任何範圍(包括端點)，諸如 1-32 TPM。舉例而言，宿主細胞能夠產生高出至少 1.2 倍、1.5 倍、1.8 倍、2.0 倍、2.2 倍、2.5 倍、2.8 倍、3 倍、3.5 倍、4 倍、4.5 倍、5 倍、5.5 倍、6 倍、6.5 倍、7 倍、7.5 倍、8 倍、8.5 倍、9 倍、9.5 倍、10 倍、11 倍、12 倍、13 倍、14 倍、15 倍、16 倍、17 倍、18 倍、19 倍、20 倍、25 倍、30 倍、35 倍、40 倍、45 倍、50 倍、60 倍、70 倍、80 倍、90 倍、100 倍、1000 倍或更多，或介於兩者之間的任何範圍(包括端點)，諸如 1.2 倍至 2 倍之水準的細胞介素或細胞毒性分子。

【0321】　在一些實施例中，宿主細胞能夠特異性及/或選擇性地殺傷表現 MAGEA1 之標靶細胞(例如，表現 MAGEA1 之過度增殖細胞)。在某些實施例中，

標靶細胞表現在 MHC 分子(例如，匹配之 MHC 分子)背景中之 MAGEA1 免疫原性肽。

【0322】 在一些實施例中，宿主細胞不表現 MAGEA1 抗原，未被本文所述之結合蛋白識別，不屬於血清型 HLA-C*07，及/或不表現 HLA-C*07 對偶基因，諸如 HLA-C*0702、HLA-C*0701 及/或 HLA-C*0704 對偶基因。例如，患者可接受來自 MAGEA1 陰性或 HLA-C*07:02 陰性之健康供體的宿主細胞，或甚至經選擇及/或工程改造之自體同源細胞。自該供體分離之細胞可用作移植材料之來源。平行地，自同一供體分離之 T 細胞可經基因工程改造以識別 MAGEA1，諸如藉由表現本文所述之 MAGEA1 結合蛋白。供體細胞可用於將細胞群體移植至患者體內(例如，用於重建免疫系統之造血幹細胞)，且可將宿主細胞注入患者體內，以激發高度特異性之抗腫瘤作用。經工程改造之供體 T 細胞可經設計以識別及消除患者之 MAGEA1 陽性，從而防止複發以 MAGEA1 表現為特徵之病症且促進該等病症之完全治癒。因為移植之細胞源自供體，因此為 MAGEA1 陰性，HLA-C*07 血清型陰性及/或或 HLA-C*07 對偶基因陰性(例如，對 HLA-C*0702、HLA-C*0701 及/或 HLA-C*0704 對偶基因呈陰性)，所以本文所述之經工程改造之細胞可能具有最小之毒副作用。此類患者匹配之宿主細胞及治療方法可根據下文進一步描述之治療方法使用。

【0323】 在一些實施例中，殺傷係藉由殺傷分析來測定。在一些實施例中，殺傷分析藉由將宿主細胞及標靶細胞以 20:1 至 0.625:1，例如 15:1 至 1.25:1、10:1 至 1.5:1、8:1 至 3:1、6:1 至 5:1、20:1 至 5:1、10:1 至 2.5:1 等之比率共培養來進行。在一些實施例中，用 1 μg/mL 至 50 pg/mL，例如 1 ug/mL 至 10 ng/mL、500 ng/mL 至 0.5 ng/mL、10 ng/mL 至 10 pg/mL、250 ng/mL 至 1 ng/mL、50 ng/mL 至 5 ng/mL、20 ng/mL 至 10 ng/mL 等 MAGEA1 肽對標靶細胞進行脈衝輸送。

【0324】 在一些實施例中，當與 MAGEA1 水準小於或等於約 1,000 轉錄本/百

萬轉錄本(TPM)、950 TPM、900 TPM、850 TPM、800 TPM、750 TPM、700 TPM、650 TPM、600 TPM、550 TPM、500 TPM、450 TPM、400 TPM、350 TPM、300 TPM、250 TPM、200 TPM、150 TPM、100 TPM、95 TPM、90 TPM、85 TPM、80 TPM、75 TPM、70 TPM、65 TPM、60 TPM、55 TPM、50 TPM、45 TPM、40 TPM、35 TPM、34 TPM、33 TPM、32 TPM、31 TPM、30 TPM、29 TPM、28 TPM、27 TPM、26 TPM、25 TPM、24 TPM、23 TPM、22 TPM、21 TPM、20 TPM、19 TPM、18 TPM、17 TPM、16 TPM、15 TPM、14 TPM、13 TPM、12 TPM、11 TPM、10 TPM、9 TPM、8 TPM、7 TPM、6 TPM、5 TPM、4 TPM、3 TPM、2 TPM 及 1 TPM，或介於兩者之間的任何範圍(包括端點)，諸如小於或等於約 1,000 TPM 至小於或等於約 73 TPM)之標靶細胞接觸時，宿主細胞能夠殺傷更高數目之標靶細胞。舉例而言，宿主細胞能夠殺傷高出至少 1.2 倍、1.5 倍、1.8 倍、2.0 倍、2.2 倍、2.5 倍、2.8 倍、3 倍、3.5 倍、4 倍、4.5 倍、5 倍、5.5 倍、6 倍、6.5 倍、7 倍、7.5 倍、8 倍、8.5 倍、9 倍、9.5 倍、10 倍、11 倍、12 倍、13 倍、14 倍、15 倍、16 倍、17 倍、18 倍、19 倍、20 倍、25 倍、30 倍、35 倍、40 倍、45 倍、50 倍、60 倍、70 倍、80 倍、90 倍、100 倍、1000 倍或更多，或介於兩者之間的任何範圍(包括端點)，諸如 1.2 倍至 2 倍之數目的標靶細胞。

【0325】 本發明進一步提供包含至少一種本文所述宿主細胞之細胞群體。細胞群體可為異質群體，其包含：包含任何所述之重組表現載體之宿主細胞；以及至少一種其他細胞，例如不包含任何重組表現載體之宿主細胞(例如，T 細胞)，或 T 細胞以外之細胞，例如 B 細胞、巨噬細胞、嗜中性球、紅細胞、肝細胞、內皮細胞、上皮細胞、肌肉細胞、腦細胞等。或者，細胞群體可為實質上同質群體，其中該群體主要由包含重組表現載體之宿主細胞構成(例如，基本上由其組成)。群體亦可為細胞之純系群體，其中群體之所有細胞均為包含重組表現載體

之單一宿主細胞之純系，使得群體之所有細胞均包含重組表現載體。在本發明所涵蓋之一個實施例中，細胞群體為包括包含如本文所述之重組表現載體之宿主細胞之純系群體。

【0326】　在本發明所涵蓋之一個實施例中，群體中之細胞數目可迅速擴增。T細胞數目之擴增可藉由所屬領域熟知之多種方法中之任一種來實現(例如，美國專利第 8,034,334 號及第 8,383,099 號、美國專利公開案第 2012/0244133 號；Dudley 等人 (2003) *J. Immunother*. 26:332-242；及 Riddell 等人 (1990) *J. Immunol. Methods* 128:189-201)。例如，T 細胞數目之擴增可藉由將 T 細胞與 OKT3 抗體、IL-2 及飼養 PBMC (例如，經輻照之同種異體 PBMC)一起培養來進行。

VIII. 醫藥組合物

【0327】　在本發明所涵蓋之另一態樣中，本文提供醫藥組合物，其包含本文所述之組合物(例如，結合蛋白、核酸、細胞及其類似物)及醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑。

【0328】　術語「醫藥學上可接受」係指在合理醫學判斷範圍內，適合與人類及動物組織接觸而無過度毒性、刺激性、過敏反應或其他問題或併發症，與合理收益/風險比相稱之彼等藥劑、材料、組合物及/或劑型。

【0329】　本發明所涵蓋之藥劑及其他組合物可經特別調配用於以固體或液體形式投與，包括經調適用於各種投與途徑之彼等形式，諸如(1)口服投與，例如灌服劑(水性或非水性溶液或懸浮液)、錠劑、大丸劑、散劑、顆粒、糊劑；(2)非經腸投與，例如呈例如無菌溶液或懸浮液形式藉由皮下、肌肉內或靜脈內註射；(3)局部塗覆，例如呈塗在皮膚上之乳膏、軟膏或噴霧劑；(4)陰道內或直腸內，例如呈子宮托、乳膏或泡沫形式；或(5)氣溶膠，例如呈水性氣溶膠、脂質體製劑或含有該化合物之固體顆粒形式。考慮本文所述之藥劑或組合物之任何合適形式因子，諸如但不限於錠劑、膠囊、液體糖漿、軟凝膠、栓劑及灌腸劑。

【0330】　本發明所涵蓋之醫藥組合物可呈現為離散劑型，諸如膠囊、小袋或錠劑，或液體或氣溶膠噴霧劑，各含有預定量之活性成分，呈粉末或顆粒、在水性或非水性液體中之溶液或懸浮液、水包油乳液、油包水液體乳液、用於復原之散劑、口服散劑、瓶(包括瓶中之散劑或液體)、口服溶解薄膜、口含錠、糊劑、管、口香糖及包裝。此類劑型可藉由任何藥學方法製備。

【0331】　合適賦形劑包括水、鹽水、葡萄糖、甘油或其類似物及其組合。在一些實施例中，包含如本文揭示之宿主細胞、結合蛋白或融合蛋白之組合物進一步包含合適輸注介質。合適輸注介質可為任何等滲介質調配物，通常可利用生理鹽水、Normosol™-R (Abbott)或 Plasma-Lyte™ A (Baxter)、5%葡萄糖水溶液、乳酸林格氏液(Ringer's lactate)。輸注介質可補充人類血清白蛋白或其他人類血清組分。亦考慮包含有效量之宿主細胞或組合物之單位劑量。

【0332】　本文亦提供包含有效量之宿主細胞或包含宿主細胞之組合物之單位劑量。如本文所述，宿主細胞包括免疫細胞、T 細胞($CD4^+$ T 細胞及/或 CD8+ T 細胞)、細胞毒性淋巴球(例如，細胞毒性 T 細胞及/或自然殺手(NK)細胞)及其類似物。舉例而言，在一些實施例中，單位劑量包含之組合物包含單獨或與其他細胞組合的至少約 30%、至少約 40%、至少約 50%、至少約 60%、至少約 70%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%或至少約 95%經工程改造之細胞，諸如包含至少約 30%、至少約 40%、至少約 50%、至少約 60%、至少約 70%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%或至少約 95%其他細胞。在一些實施例中，不需要之細胞以減少之量存在或實質上不存在，諸如小於約 50%、小於約 40%、小於約 30%、小於約 20%、小於約 10%、小於約 5%或小於約 1%組合物中之細胞群體。

【0333】　組合物或單位劑量中之細胞量為至少一種細胞(例如，至少一種經工程改造之 $CD8^+$ T 細胞、經工程改造之 $CD4^+$ T 細胞及/或 NK 細胞)或更通常大於

10^2個細胞，例如，多達10^6、多達10^7、多達10^8個細胞、多達10^9個細胞或超過10^{10}個細胞。在一些實施例中，細胞以約106至約10^{10}個細胞/m^2之範圍，諸如以約10^5至約10^9個細胞/m^2之範圍投與。細胞數目將視組合物之預期最終用途以及其中包括之細胞類型而定。例如，經修飾以含有對特定抗原具有特異性之結合蛋白的細胞將包含含有至少30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多此類細胞之細胞群體。對於本文提供之用途，細胞之體積通常為一公升或更小、500 ml或更小、250 ml或更小、或100 ml或更小。在實施例中，所需細胞之密度通常大於10^4個細胞/ml且通常大於10^7個細胞/ml，通常為10^8個細胞/ml或更大。細胞可作為單次輸注或在一段時間內以多次輸注之形式投與。臨床相關數目之免疫細胞可分配至多次輸注中，累積等於或超過10^6、10^7、10^8、10^9、10^{10}或10^{11}個細胞。在一些實施例中，單位劑量之經工程改造之免疫細胞可與來自同種異體供體之造血幹細胞共投與(例如同時或同時期)。

【0334】　如醫學領域之技術人員所確定，醫藥組合物可以適合於待治療(或預防)之疾病或疾患之方式投與。投與組合物之適當劑量及合適持續時間及頻率將由諸如患者之健康狀況、患者體型(亦即體重、質量或身體面積)、患者疾患之類型及嚴重程度、活性成分之具體形式及投與方法之因素決定。一般而言，適當劑量及治療方案以足以提供治療及/或預防益處(諸如本文所述，包括改善之臨床結果，諸如更頻繁之完全或部分緩解，或更長之無病期及/或總存活期，或症狀嚴重程度之減輕)之量提供組合物。

【0335】　醫藥組合物之有效量係指足以達到所需臨床結果或有益治療所需之劑量及時間段之量，如本文所述。可在一或多次投與中遞送有效量。若對已知或確認患有疾病或疾病病況之個體進行投與，則術語「治療有效量」可用於指代治療，而「預防有效量」可用於描述作為預防過程，向易感或有發展疾病或疾病病

況(例如復發)風險之個體投與有效量。

【0336】　本文所述之醫藥組合物可呈現於單位劑量或多劑量容器中，諸如密封安瓿或小瓶。此類容器可冷凍以保持調配物之穩定性，直至輸注至患者體內。在一些實施例中，單位劑量包含劑量為約 10^7 個細胞/m^2 至約 10^{11} 個細胞/m^2 的如本文所述之宿主細胞。開髮適用於在各種治療方案中使用本文所述之特定組合物之投與及治療方案，包括例如非經腸或靜脈內投與或調配物。

【0337】　若主題組合物係非經腸投與，則該組合物亦可包括無菌水性或油性溶液或懸浮液。合適之無毒非經腸可接受之稀釋劑或溶劑包括水、林格氏溶液、等滲鹽溶液、1,3-丁二醇、乙醇、丙二醇或聚乙二醇與水之混合物。水溶液或懸浮液可進一步包含一或多種緩沖劑，諸如乙酸鈉、檸檬酸鈉、硼酸鈉或酒石酸鈉。當然，用於製備任何劑量單位調配物之任何材料均應為醫藥學純的且在所採用之量下實質上無毒。此外，活性化合物可併入持續釋放之製劑及調配物中。如本文所用，單位劑型係指適合作為待治療個體之單位劑量之物理離散單位；各單位可含有經計算可產生所需之效果的預定量之經工程改造之免疫細胞或活性化合物，以及適當醫藥載劑。

【0338】　在一些實施例中，本文所述之醫藥組合物及上文針對作為肽之代表性示例之免疫原性組合物所述的醫藥組合物在投與於個體時可引發針對表現 MAGEA1 之所關注之細胞的免疫反應。此類醫藥組合物可用作用於預防性及/或治療性治療以 MAGEA1 表現為特徵之病症的疫苗。

IX. 用途及方法

【0339】　本文所述之組合物可用於多種診斷、預後及治療應用。在本文所述之任何方法，諸如診斷方法、預後方法、治療方法或其組合中，方法之所有步驟均可由單個參與者或替代地由多於一個參與者進行。舉例而言，診斷可由提供治療性治療之參與者直接進行。或者，提供治療劑者可要求進行診斷分析。診斷師

及/或治療幹預師可解釋診斷分析結果以確定治療策略。類似地，此類替代過程可應用於其他分析，諸如預後分析。

【0340】　在本發明所涵蓋之一些用途及方法中，利用個體或個體樣品。在一些實施例中，個體為動物。動物可為任何性別，且可處於任何發育階段。在一些實施例中，動物為脊椎動物，諸如哺乳動物。在一些實施例中，個體為非人類哺乳動物。在一些實施例中，個體為馴養動物，諸如狗、貓、牛、豬、馬、綿羊或山羊。在一些實施例中，個體為伴侶動物，諸如狗或貓。在一些實施例中，個體為家畜，諸如牛、豬、馬、綿羊或山羊。在一些實施例中，個體為動物園動物。在一些實施例中，個體為研究動物，諸如嚙齒類動物(例如小鼠或大鼠)、狗、豬或非人類靈長類動物。在一些實施例中，動物為經基因工程改造之動物。在一些實施例中，動物為轉殖基因動物(例如，轉殖基因小鼠及轉殖基因豬)。在一些實施例中，個體為魚或爬行動物。

【0341】　在一些實施例中，個體為嚙齒類動物，諸如小鼠。在一些此類實施例中，小鼠為轉殖基因小鼠，諸如表現人類 MHC (亦即，HLA)分子，諸如 HLA-B72 之小鼠(例如，Nicholson 等人 (2012) *Adv. Hematol.* 2012:404081)。在一些實施例中，個體為表現人類 TCR 之轉殖基因小鼠或為抗原陰性小鼠(例如，Li 等人 (2010) *Nat. Med.* 16:1029-1034 及 Obenaus 等人 (2015) *Nat. Biotechnol.* 33:402-407)。在一些實施例中，個體為表現人類 HLA 分子及人類 TCR 之轉殖基因小鼠。在一些實施例中，諸如在個體為轉殖基因 HLA 小鼠之情況下，將經鑑定之 TCR 修飾為例如嵌合或人類化的。在一些實施例中，諸如類似於已知之結合蛋白人類化方法，修飾 TCR 支架。

【0342】　在一些實施例中，個體為人類。在一些實施例中，個體為以 MAGEA1 表現為特徵之病症，諸如癌症之動物模型。例如，動物模型可為人類來源癌症之原位異種移植動物模型。

【0343】　在一些實施例中，個體為人，諸如患有以 MAGEA1 表現為特徵之病症之人類。

【0344】　可使用本文所述之方法來治療任何有需要之個體。如本文所用，「有需要之個體」包括患有以 MAGEA1 表現為特徵之病症、以 MAGEA1 表現為特徵之病症復發及/或易患以 MAGEA1 表現為特徵之病症之任何個體。

【0345】　在本發明所涵蓋之方法之一些實施例中，個體未針對以 MAGEA1 表現為特徵之病症進行治療，諸如化學療法、放射療法、靶向療法及/或免疫療法。在一些實施例中，個體針對以 MAGEA1 表現為特徵之病症進行治療，諸如化學療法、放射療法、靶向療法及/或免疫療法。

【0346】　在一些實施例中，個體已進行手術以移除癌性或癌前組織。在一些實施例中，癌組織尚未被移除，例如，癌組織可能位於身體之不可手術區域，諸如在對生命至關重要之組織中，或在外科手術將對患者造成相當大之傷害風險的區域中。

【0347】　在一些實施例中，個體或其細胞對相關療法具有抗性，諸如對標準護理療法、免疫檢查點抑製劑療法及其類似療法具有抗性。舉例而言，調節本發明所涵蓋之一或多種生物標記物可克服對免疫檢查點抑製劑療法之抗性。

【0348】　在一些實施例中，個體需要根據本文所述之組合物及方法進行調節，諸如已被鑑定為具有不希望之 MAGEA1 表現缺乏、存在或異常。

a. 診斷方法

【0349】　在本發明所涵蓋之一態樣中，本文提供用於偵測 MAGEA1 抗原、MAGEA1 抗原-MHC 複合物、表現 MAGEA1 之所關注之細胞及/或暴露於 MAGEA1 之細胞之存在或不存在的診斷方法，其包括藉由使用至少一種結合蛋白或至少一種本文所述之宿主細胞來偵測樣品中該 MAGEA1 抗原之存在或不存在。在一些實施例中，方法進一步包括獲得樣品(例如，自個體)。在一些實施例

中，至少一種結合蛋白或至少一種宿主細胞與在 MHC 分子背景中之 MAGEA1 肽抗原決定基形成複合物，且以螢光活化細胞分選(FACS)、酶聯免疫吸附劑分析(ELISA)、放射免疫分析(RIA)、免疫化學、西方墨點法或細胞內流式分析之形式偵測複合物。

【0350】 在本發明所涵蓋之一態樣中，本文提供用於偵測個體中之 MAGEA1 水準或以 MAGEA1 表現為特徵之病症之程度的診斷方法，其包括：a)使自個體獲得之樣品與至少一種藥劑(例如，本文所述之 MAGEA1 免疫原性肽、MAGEA1 免疫原性肽-MHC 複合物(pMHC)、結合蛋白、宿主細胞或宿主細胞之群體)接觸；及 b)偵測反應性水準，其中與對照水準相比更高水準之反應性指示個體中以 MAGEA1 表現為特徵之病症之程度。

【0351】 在一些實施例中，反應性水準由 T 細胞活化或效應功能，諸如但不限於 T 細胞增殖、殺傷或細胞介素釋放指示。對照水準可為參考數字或未暴露於以 MAGEA1 表現為特徵之病症之健康個體的水準。

【0352】 可自個體獲得生物樣品，用於確定對如本文所述之藥劑之免疫反應的存在及水準。如本文所用，「生物樣品」可為血液樣品(可從中製備血清或血漿)、生檢標本、體液(例如血液、經分離之 PBMC、經分離之 T 細胞、肺灌洗液、腹水、黏膜沖洗液、滑液等)、骨髓、淋巴結、組織外植體、器官培養物或來自個體或生物來源之任何其他組織或細胞製劑。亦可在接受任何醫藥組合物之前自個體獲得生物樣品，該生物樣品可用作建立基線資料之對照。

【0353】 抗原特異性 T 細胞反應通常根據本文所述之任何 T 細胞功能參數(例如增殖、細胞介素釋放、CTL 活性、改變之細胞表面標記物表型等)藉由比較觀測到之 T 細胞反應來確定，比較可在暴露於適當背景中之同源抗原之 T 細胞(例如，當由免疫相容之抗原呈現細胞呈現時，用於啟動或活化 T 細胞之抗原)與來自相同來源群體之代之以暴露於結構上不同或不相關之對照抗原的 T 細胞之間

進行。對同源抗原之反應比對照抗原之反應大，具有統計學意義，表明抗原特異性。

【0354】　免疫反應之水準，諸如細胞毒性 T 淋巴細胞(CTL)，可藉由本文所述及所屬領域常規實踐之眾多免疫學方法中之任一種來確定。例如，CTL 免疫反應之水準可在投與本文所述之任一種由例如 T 細胞表現之結合蛋白之前及之後測定。用於測定 CTL 活性之細胞毒性分析可使用所屬領域常規實踐之若干種技術及方法中之任一種來進行(例如，Henkart 等人, 「Cytotoxic T-Lymphocytes」, Fundamental Immunology, Paul (編輯) (2003 Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA), 第 1127-50 頁，以及其中引用之參考文獻)。

【0355】　本發明部分提供用於準確分類生物樣品是否與所關注之輸出，諸如所關注之標靶，諸如 MAGEA1 之表現相關之方法、系統及代碼。在一些實施例中，本發明可用於使用統計演算法及/或經驗資料將樣品(例如來自個體)分類為與 MAGEA1 表現相關或處於對與 MAGEA1 表現相關之病症之療法有反應或無反應之風險下。

【0356】　用於偵測 MAGEA1 之量或活性且因此可用於分類樣品是否可能或不可能對與MAGEA1表現相關之疾病之療法有反應之示例性方法涉及使生物樣品與能夠偵測生物樣品中 MAGEA1 之量或活性的試劑，諸如本文所述之 MAGEA1 免疫原性肽或結合劑接觸。在一些實施例中，方法進一步包括諸如自測試個體獲得生物樣品。在一些實施例中，使用至少一種試劑，其中兩種、三種、四種、五種、六種、七種、八種、九種、十種或更多種此類試劑可組合使用(例如，在夾心 ELISA 中)或串聯使用。在某些情況下，統計演算法係單一學習統計分類器系統。例如，單一學習統計分類器系統可用於基於預測或概率值以及生物標記物之存在或水準對樣品進行分類。使用單一學習統計分類器系統通常以至少約 75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、

87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%之靈敏度、特異性、陽性預測值、陰性預測值及/或總體準確度對樣品進行分類。

【0357】 其他合適統計演算法為所屬領域技術人員熟知。例如，學習統計分類器系統包括一種機器學習演算法技術，其能夠適應複雜資料集(例如，所關注之標記物組)且根據此類資料集做出決策。在一些實施例中，使用單一學習統計分類器系統，諸如分類樹(例如，隨機森林)。在其他實施例中，使用 2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個或更多個學習統計分類器系統之組合，較佳串聯使用。學習統計分類器系統之實例包括但不限於使用以下之彼等系統：歸納學習(例如，決策/分類樹，諸如隨機森林、分類及回歸樹(C&RT)、提升樹等)、概率近似正確(Probably Approximately Correct，PAC)學習、連接學習(例如，神經網路(NN)、人工神經網路(ANN)、神經模糊網路(NFN)、網路結構、感知器(諸如多層感知器)、多層前饋網路、神經網路之應用、信念網路中之貝氏學習(Bayesian learning)等)、強化學習(例如，已知環境中之被動學習(諸如樸素學習、自適應動態學習及時間差異學習)、未知環境中之被動學習、未知環境中之主動學習、學習動作-價值函數、強化學習之應用等)及遺傳演算法及進化程式化。其他學習統計分類器系統包括支持向量機(例如，核方法)、多變量自適應回歸樣條(MARS)、雷文伯格-馬誇特演算法(Levenberg-Marquardt algorithm)、高斯-牛頓演算法(Gauss-Newton algorithm)、混合高斯、梯度下降演算法及學習向量量化(LVQ)。在某些實施例中，本發明所涵蓋之方法進一步包括將樣品分類結果發送給臨床醫師，諸如腫瘤科醫生。

【0358】 在一些實施例中，在個體之診斷(例如，包括 HLA 分型及/或雜合性丟失(LOH)以確定與所關注 TCR 與 TCR-HLA 複合物結合的相容性)之後向個體投與治療有效量的基於診斷之確定之治療。

【0359】 在一些實施例中，方法進一步涉及獲得對照生物樣品(例如，來自未

患與 MAGEA1 表現相關之病症之個體、處於緩解中之個體、病症對療法敏感之個體、病症正在進展之個體或其他所關注之個體之生物樣品)。

【0360】 在本文所述之分析方法之一些實施例中，將 MAGEA1 表現(例如，在來自個體之樣品中)與預定對照(標準)樣品進行比較。來自個體之樣品通常來自患病組織，諸如癌細胞或組織。對照樣品可來自同一個體或來自不同個體。對照樣品通常為正常的未患病樣品。然而，在一些實施例中，諸如用於疾病分期或用於評估治療效果，對照樣品可來自患病組織。對照樣品可為來自若干個不同個體之樣品之組合。在一些實施例中，將來自個體之 MAGEA1 表現量測值與預定水準進行比較。此預定水準通常自正常樣品中獲得。如本文所述，「預定」表述可用於(僅作為示例)評估可選擇進行治療之個體，評估對癌症之反應，及/或評估對組合癌症療法之反應。可在患有或未患與 MAGEA1 表現相關之病症之患者群體中確定預定之生物標記物量及/或活性量測值。預定之生物標記物量及/或活性量測值可為單個數字，同樣適用於每個患者，或者預定之生物標記物量及/或活性量測值可根據特定患者亞群而變化。個體之年齡、體重、身高及其他因素可能影響個體之預定之生物標記物量及/或活性量測值。此外，可為各個體個別確定預定之生物標記物量及/或活性。在一個實施例中，在本文所述之方法中確定及/或比較之量係基於絕對量測值。

【0361】 在另一實施例中，在本文描述之方法中確定及/或比較之量係基於相對量測值，諸如比率(例如，治療前與治療後之生物標記物複本數、水準及/或活性，此類生物標記物量測值相對於加標或人造對照，此類生物標記物量測值相對於管家基因之表現，及其類似物)。舉例而言，相對分析可基於治療前生物標記物量測值與治療後生物標記物量測值相比之比率。治療前生物標記物量測值可在治療開始之前的任何時間進行。治療後生物標記物量測值可在治療開始之後的任何時間進行。在一些實施例中，治療後生物標記物量測值在治療開始之後 1

週、2 週、3 週、4 週、5 週、6 週、7 週、8 週、9 週、10 週、11 週、12 週、13 週、14 週、15 週、16 週、17 週、18 週、19 週、20 週或更長時間測定，且甚至更長時間至無限期，以持續監測。治療可包括單獨或與其他藥劑，諸如抗癌劑，如化學療法或免疫檢查點抑製劑組合的治療以MAGEA1表現為特徵之病症之療法。

【0362】　預定之 MAGEA1 表現可為任何合適之標準。例如，預定之 MAGEA1 表現可自正在評估個體選擇之相同或不同個體獲得。在一個實施例中，預定之生物標記物量及/或活性量測值可自同一患者之先前評估獲得。以此方式，可隨時間監測患者選擇之進展。此外，若個體為人類，則對照可自對另一個人或多人之評估獲得，諸如選定人類組。以此方式，正在評估選擇之人之選擇程度可與合適之其他人進行比較，諸如與所關注之人處於類似情況之其他人，諸如罹患相似或相同疾患及/或相同種族之人。

【0363】　在本發明所涵蓋之一些實施例中，MAGEA1 表現自預定水準之變化為約 0.1 倍、0.2 倍、0.3 倍、0.4 倍、0.5 倍、0.6 倍、0.7 倍、0.8 倍、0.9 倍、1.0 倍、1.5 倍、2.0 倍、2.5 倍、3.0 倍、3.5 倍、4.0 倍、4.5 倍或 5.0 倍或更大，或介於兩者之間的任何範圍，包括端點。當量測係基於相對變化，諸如基於治療前生物標記物量測值與治療後生物標記物量測值之比率時，此類截止值同樣適用。

【0364】　在一些實施例中，可藉由諸如使用本文所述之組合物偵測或定量 MAGEA1 多肽或其抗原來偵測及/或定量 MAGEA1 表現。可藉由所屬領域技術人員熟知之多種方法中之任一種來偵測及定量多肽，諸如藉由免疫擴散、免疫電泳、放射免疫分析(RIA)、酶聯免疫吸附劑分析(ELISA)、免疫螢光分析、西方墨點法、結合物-配位體分析、免疫組織化學技術、凝集、補體分析、高效液相層析法(HPLC)、薄層層析法(TLC)、超擴散層析法及其類似方法(例如，Basic and Clinical Immunology, Sites 及 Terr 編輯, Appleton and Lange, Norwalk, Conn. 第

217-262 頁, 1991)。

b. 治療方法

【0365】 在本發明所涵蓋之一態樣中，本文提供用於預防及/或治療以 MAGEA1 表現為特徵之病症及/或用於誘導針對表現 MAGEA1 之所關注之細胞(諸如過度增殖細胞)之免疫反應的方法。在一些實施例中，方法包括向個體投與治療有效量之本文所述之組合物，諸如免疫原性組合物、表現至少一種結合蛋白之細胞及其類似物。本發明所涵蓋之方法亦可用於確定個體中許多不同癌症，諸如本文所述之彼等癌症對癌症療法之反應性。

【0366】 在一些實施例中，以 MAGEA1 表現為特徵之病症為癌症。術語「癌症」或「腫瘤」或「過度增殖」係指存在具有致癌細胞典型特徵，諸如不受控制之增殖、永生、侵襲或轉移潛能、快速生長及某些特徵性形態特徵之細胞。在一些實施例中，由於免疫檢查點蛋白，諸如 PD-1、PD-L1、PD-L2 及/或 CTLA-4 之表現及活性，此類細胞部分或全部表現出此類特徵。

【0367】 癌細胞通常呈腫瘤形式，但此類細胞可能單獨存在於動物體內，或者可能為非致瘤性癌細胞，諸如血液癌症，如白血病中。如本文所用，術語「癌症」包括癌前癌及惡性癌。癌症包括但不限於多種癌症：癌瘤，包括膀胱癌(包括加速及轉移性膀胱癌)、乳癌、結腸癌(包括結直腸癌)、腎癌、肝癌、肺癌(包括小細胞肺癌及非小細胞肺癌及肺腺癌)、卵巢癌、前列腺癌、睪丸癌、泌尿生殖道癌、淋巴系統癌、直腸癌、喉癌、胰臟癌(包括外分泌性胰臟癌)、食道癌、胃癌、膽囊癌、子宮頸癌、甲狀腺癌及皮膚癌(包括鱗狀細胞癌)；淋巴譜系之造血腫瘤，包括白血病、急性淋巴球性白血病、急性淋巴母細胞性白血病、B 細胞淋巴瘤、T 細胞淋巴瘤、霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkins lymphoma)、非霍奇金氏淋巴瘤、毛細胞淋巴瘤、組織細胞性淋巴瘤及伯克特氏淋巴瘤(Burketts lymphoma)；骨髓譜系造血腫瘤，包括急性及慢性骨髓性白血病、骨髓增生異常症候群、髓性

白血病及前髓細胞性白血病；中樞及周圍神經系統腫瘤，包括星形細胞瘤、神經母細胞瘤、神經膠質瘤及神經鞘瘤；間葉來源之腫瘤，包括纖維肉瘤、橫紋肌肉瘤及骨肉瘤；其他腫瘤，包括黑色素瘤、色素性異皮病、角化棘皮瘤、精原細胞瘤、甲狀腺濾泡癌及畸胎癌；黑色素瘤、不可切除之 III 期或 IV 期惡性黑色素瘤、鱗狀細胞癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、神經膠質瘤、胃腸道癌、腎癌、卵巢癌、肝癌、結直腸癌、子宮內膜癌、腎癌、前列腺癌、甲狀腺癌、神經母細胞瘤、胰臟癌、多形性膠質母細胞瘤、子宮頸癌、胃癌、膀胱癌、肝腫瘤、乳癌、結腸癌、頭頸癌、胃癌、生殖細胞腫瘤、骨癌、骨腫瘤、成人骨惡性纖維組織細胞瘤；兒童骨惡性纖維組織細胞瘤、肉瘤、小兒肉瘤、鼻竇自然殺手細胞、贅瘤、漿細胞贅瘤；骨髓增生異常症候群；神經母細胞瘤；睪丸生殖細胞腫瘤、眼內黑色素瘤、骨髓增生異常症候群；骨髓增生異常/骨髓增生性疾病、滑膜肉瘤、慢性髓性白血病、急性淋巴母細胞性白血病、費城染色體陽性急性淋巴母細胞性白血病(Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia，Ph+ ALL)、多發性骨髓瘤、急性骨髓性白血病、慢性淋巴球性白血病、肥大細胞增多症及任何與肥大細胞增多症相關之症狀及其任何轉移。此外，疾病包括色素性蕁麻疹、肥大細胞增多症(諸如瀰漫性皮膚肥大細胞增多症)、人類孤立性肥大細胞瘤以及狗肥大細胞瘤及一些罕見亞型，如大皰性、紅皮性及遠血管擴張性肥大細胞增多症、伴有血液病之肥大細胞增多症(諸如骨髓增生性或骨髓增生異常症候群)，或急性白血病、與肥大細胞增多症相關之骨髓增生性病症、肥大細胞白血病以及其他癌症。其他癌症亦包括在病症範圍內，包括但不限於以下：癌瘤，包括膀胱癌、尿路上皮癌、乳癌、結腸癌、腎癌、肝癌、肺癌、卵巢癌、胰臟癌、胃癌、子宮頸癌、甲狀腺癌、睪丸癌(尤其是睪丸精原細胞瘤)及皮膚癌；包括鱗狀細胞癌；胃腸道間質瘤(「GIST」)；淋巴譜系造血腫瘤，包括白血病、急性淋巴球性白血病、急性淋巴母細胞性白血病、B 細胞淋巴瘤、T 細胞淋巴瘤、霍奇金氏淋巴瘤、

非霍奇金氏淋巴瘤、毛細胞淋巴瘤及伯克特氏淋巴瘤；骨髓譜系造血腫瘤，包括急性及慢性骨髓性白血病及前髓細胞性白血病；間葉來源之腫瘤，包括纖維肉瘤及橫紋肌肉瘤；其他腫瘤，包括黑色素瘤、精原細胞瘤、畸胎癌、神經母細胞瘤及神經膠質瘤；中樞及周圍神經系統腫瘤，包括星形細胞瘤、神經母細胞瘤、神經膠質瘤及神經鞘瘤；間葉來源之腫瘤，包括纖維肉瘤、橫紋肌肉瘤及骨肉瘤；以及其他腫瘤，包括黑色素瘤、色素性異皮病、角化棘皮瘤、精原細胞瘤、甲狀腺濾泡癌、畸胎癌、化學療法難治性非精原細胞瘤型生殖細胞瘤及卡波西氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)，以及其任何轉移瘤。適用於本發明所涵蓋之方法之癌症類型的其他非限制性實例包括人類肉瘤及癌瘤，例如纖維肉瘤、黏液肉瘤、脂肪肉瘤、軟骨肉瘤、骨原性肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、內皮肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴管內皮肉瘤、滑膜瘤、間皮瘤、尤文氏瘤(Ewing's tumor)、平滑肌肉瘤、橫紋肌肉瘤、鱗狀細胞癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭狀癌、乳頭狀腺癌、囊腺癌、髓質癌、支氣管癌、腎細胞癌、肝腫瘤、膽管癌、絨毛膜癌、精原細胞瘤、胚胎癌、威爾姆斯氏瘤(Wilms' tumor)、骨癌、腦瘤、肺癌(包括肺腺癌)、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神經膠質瘤、星形細胞瘤、髓母細胞瘤、顱咽管瘤、室管膜瘤、松果體瘤、血管母細胞瘤，聽神經瘤、寡樹突神經膠質瘤、腦膜瘤、黑色素瘤、神經母細胞瘤、視網膜母細胞瘤；白血病，諸如急性淋巴球性白血病及急性骨髓細胞性白血病(骨髓母細胞性、前髓細胞性、骨髓單核球性、單核球性及紅血球性)；慢性白血病(慢性骨髓細胞性(顆粒球性)白血病及慢性淋巴球性白血病)；及真性紅細胞增多症、淋巴瘤(霍奇金氏病及非霍奇金氏病)、多發性骨髓瘤、瓦登斯特隆巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)及重鏈病。在一些實施例中，癌症本質上為上皮的且包括但不限於膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、婦科癌症、腎癌、喉癌、肺癌、口腔癌、頭頸癌、卵巢癌、胰臟癌、前列腺癌或皮膚癌。在一些實施例中，上皮癌為非小細胞肺癌、非乳頭狀腎細胞癌、

子宮頸癌、卵巢癌(例如漿液性卵巢癌)或乳癌。可以各種其他方式表徵上皮癌，包括但不限於漿液性、子宮內膜樣、黏液性、透明細胞、布倫納(Brenner)或未分化。在一些實施例中，癌症係選自由以下組成之群：(晚期)非小細胞肺癌、黑色素瘤、頭頸部鱗狀細胞癌、(晚期)膀胱尿路上皮癌、(晚期)腎癌(RCC)、高微衛星不穩定性癌、經典霍奇金氏淋巴瘤、(晚期)胃癌、(晚期)子宮頸癌、原發性縱隔B細胞淋巴瘤、(晚期)肝細胞癌、大腸直腸癌、胃腸道癌、侵襲性乳癌、膀胱尿路上皮癌及(晚期)默克爾細胞癌(merkel cell carcinoma)。

【0368】　此外，本文所述之組合物亦可以組合療法投與以進一步調節所需活性。額外藥劑包括但不限於化學治療劑、激素、抗血管生成劑、放射性標記之化合物或手術、冷凍療法及/或放射療法。前述治療方法可與其他形式之習知療法(例如，所屬領域技術人員熟知之癌症標準護理療法)聯合投與，在習知療法之前或之後連續投與。例如，此等調節劑可與治療有效劑量之化學治療劑一起投與。在另一實施例中，此等調節劑與化學療法聯合投與以增強化學治療劑之活性及功效。Physicians' Desk Reference (PDR)揭示已用於治療各種癌症之化學治療劑之劑量。治療有效之此等上述化學治療藥物之給藥方案及劑量將視所治療之特定黑色素瘤、疾病程度及所屬領域之醫師熟悉之其他因素而定，且可由醫師決定。

【0369】　單獨或與其他療法(諸如癌症療法)組合的使用本文所述之一或多種組合物之療法可用於接觸表現 MAGEA1 之細胞及/或投與至所需個體，諸如指示為可能對療法有反應之個體。在另一實施例中，一旦個體指示為不可能對療法有反應(例如，根據本文所述之診斷或預後方法評估)，則可避免此類療法，且可推薦及/或投與替代治療方案(諸如靶向及/或非靶向癌症療法)。

【0370】　術語「靶向療法」係指投與選擇性地與所選生物分子相互作用從而治療癌症之藥劑。例如，關於抑制免疫檢查點抑製劑之靶向療法可與本發明所涵

蓋之方法組合使用。

【0371】　術語「免疫療法(immunotherapy)」或「免疫療法(immunotherapies)」通常係指以有益方式調節免疫反應之任何策略，且涵蓋藉由包括誘導、增強、抑製或以其他方式改變免疫反應之方法治療罹患疾病或有感染疾病或疾病復發風險之個體，以及使用個體免疫系統之某些部分來對抗疾病(諸如癌症)之任何治療。在投與或未投與一或多種用於達成該目的之藥劑下，個體自身之免疫系統受到刺激(或抑制)。經設計以引發或放大免疫反應之免疫療法被稱為「活化免疫療法」。經設計以減少或抑制免疫反應之免疫療法被稱為「抑制免疫療法」。在一些實施例中，免疫療法對所關注之細胞，諸如癌細胞具有特異性。在一些實施例中，免疫療法可為「非靶向」的，係指投與不選擇性地與免疫系統細胞相互作用但調節免疫系統功能之藥劑。非靶向療法之代表性實例包括但不限於化學療法、基因療法及放射療法。

【0372】　一些形式之免疫療法為靶向療法，其可包括例如使用癌症疫苗及/或致敏之抗原呈現細胞。舉例而言，溶瘤病毒係一種能夠感染及溶解癌細胞，同時不傷害正常細胞之病毒，此使得其在癌症療法中可能有用。溶瘤病毒之複制既促進腫瘤細胞之破壞，亦在腫瘤部位放大劑量。其亦可用作抗癌基因之載體，使該等基因能夠被特異性地遞送至腫瘤部位。免疫療法可涉及用於短期保護宿主之被動免疫，此藉由投與針對癌症抗原或疾病抗原之預先形成之抗體(例如，投與視情況與化學治療劑或毒素連接之針對腫瘤抗原之單株抗體)來實現。免疫療法亦可能側重於使用癌細胞株之細胞毒性淋巴球識別抗原決定基。或者，反義多核苷酸、核酶、RNA 幹擾分子、三螺旋多核苷酸及其類似物可用於選擇性地調節與腫瘤或癌症之起始、進展及/或病理學相關之生物分子。類似地，免疫療法可採取基於細胞之療法之形式。例如，授受性細胞免疫療法係一類使用免疫細胞(諸如 T 細胞)之免疫療法，該等免疫細胞對患者之癌症具有天然反應性或經基因

工程改造之反應性，且接著再轉移回癌症患者體內。注射大量活化之腫瘤特異性T細胞可誘導癌症完全及持久之消退。

【0373】　免疫療法可涉及用於短期保護宿主之被動免疫，此藉由投與針對癌症抗原或疾病抗原之預先形成之抗體(例如，投與視情況與化學治療劑或毒素連接之針對腫瘤抗原之單株抗體)來實現。免疫療法亦可能側重於使用癌細胞株之細胞毒性淋巴球識別抗原決定基。或者，反義多核苷酸、核酶、RNA幹擾分子、三螺旋多核苷酸及其類似物可用於選擇性地調節與腫瘤或癌症之起始、進展及/或病理學相關之生物分子。

【0374】　在一些實施例中，免疫治療劑為免疫刺激分子之促效劑；免疫抑制分子之拮抗劑；趨化介素之拮抗劑；刺激T細胞活化之細胞介素之促效劑；對抑制T細胞活化之細胞介素有拮抗或抑制作用之藥劑；及/或與B7家族之膜結合蛋白結合之藥劑。在一些實施例中，免疫治療劑為免疫抑制分子之拮抗劑。在一些實施例中，免疫治療劑可為針對細胞介素、趨化介素及生長因子之藥劑，例如中和腫瘤相關之細胞介素、趨化介素、生長因子及其他可溶性因子，包括IL-10、TGF-β及VEGF之抑製作用的中和抗體。

【0375】　在一些實施例中，免疫療法包含一或多種免疫檢查點之抑製劑。術語「免疫檢查點」係指CD4+及/或CD8+ T細胞之細胞表面上之一組分子，其藉由調節抗癌免疫反應，諸如下調或抑制抗腫瘤免疫反應來微調免疫反應。免疫檢查點蛋白為所屬領域中熟知，且包括但不限於CTLA-4、PD-1、VISTA、B7-H2、B7-H3、PD-L1、B7-H4、B7-H6、ICOS、HVEM、PD-L2、CD200R、CD160、gp49B、PIR-B、KRLG-1、KIR家族受體、TIM-1、TIM-3、TIM-4、LAG-3 (CD223)、IDO、GITR、4-IBB、OX-40、BTLA、SIRPα (CD47)、CD48、2B4 (CD244)、B7.1、B7.2、ILT-2、ILT-4、TIGIT、HHLA2、嗜乳脂蛋白及 A2aR (參見例如 WO 2012/177624)。該術語進一步涵蓋生物活性蛋白片段，以及編碼全長免疫檢查點

蛋白之核酸。

【0376】　一些免疫檢查點為「免疫抑制性免疫檢查點」，其涵蓋抑制、下調或遏制免疫系統功能(例如免疫反應)之分子(例如蛋白質)。例如，PD-L1 (計劃性死亡配位體 1)，亦稱為 CD274 或 B7-H1，係一種傳遞抑制信號，減少 T 細胞增殖以遏制免疫系統之蛋白質。CTLA-4 (細胞毒性 T 淋巴球相關蛋白 4)，亦稱為 CD152，係一種在抗原呈現細胞之表面上的蛋白質受體，其用作免疫檢查點(「關閉」開關)來下調免疫反應。TIM-3 (T 細胞免疫球蛋白及黏蛋白域-3)，亦稱為 HAVCR2，係一種細胞表面蛋白，其用作免疫檢查點來調節巨噬細胞活化。VISTA (T 細胞活化之 V 域 Ig 遏制因子)係一種 I 型跨膜蛋白，其可用作免疫檢查點來抑制 T 細胞效應功能且維持周圍耐受性。LAG-3 (淋巴球活化基因 3)係一種免疫檢查點受體，其負向調控 T 細胞之增殖、活化及穩態。BTLA (B 及 T 淋巴球衰減因子)係一種經由與腫瘤壞死家族受體(TNF-R)之相互作用來抑制 T 細胞之蛋白質。KIR (殺手細胞免疫球蛋白樣受體)係在 NK 細胞及少數 T 細胞上表現之蛋白質家族，其可遏制 NK 細胞之細胞毒活性。在一些實施例中，免疫治療劑可為對免疫抑制酶具有特異性之藥劑，諸如可阻斷精胺酸酶(ARG)及吲哚胺 2,3-雙加氧酶(IDO) (一種遏制 T 細胞及 NK 細胞之免疫檢查點蛋白)活性之抑製劑，其改變免疫抑制腫瘤微環境中胺基酸精胺酸及色胺酸之分解代謝。抑製劑可包括但不限於靶向表現 ARG 之 M2 巨噬細胞之 *N*-羥基-L-Arg (NOHA)、硝基阿司匹林(nitroaspirin)或西地那非(sildenafil) (Viagra®)，可同時阻斷 ARG 及一氧化氮合酶(NOS)；及 IDO 抑製劑，諸如 1-甲基-色胺酸。該術語進一步涵蓋生物活性蛋白片段，以及編碼全長免疫檢查點蛋白及其生物活性蛋白片段之核酸。在一些實施例中，該術語進一步涵蓋根據本文提供之同源描述之任何片段。

【0377】　相比之下，其他免疫檢查點為「免疫刺激性」的，涵蓋活化、刺激或促進免疫系統功能(例如免疫反應)之分子(例如蛋白質)。在一些實施例中，免疫

刺激分子為 CD28、CD80 (B7.1)、CD86 (B7.2)、4-1BB (CD137)、4-1BBL (CD137L)、CD27、CD70、CD40、CD40L、CD122、CD226、CD30、CD30L、OX40、OX40L、HVEM、BTLA、GITR 及其配位體 GITRL、LIGHT、LTβR、LTαβ、ICOS (CD278)、ICOSL (B7-H2)及 NKG2D。CD40 (分化簇 40)係一種在抗原呈現細胞上發現之為細胞活化所必需的共刺激蛋白。OX40，亦稱為腫瘤壞死因子受體超家族成員 4 (TNFRSF4)或 CD134，藉由防止 T 細胞死亡且隨後增加細胞介素之產生來參與活化後免疫反應之維持。CD137 係腫瘤壞死因子受體(TNF-R)家族之成員，可共刺激活化 T 細胞以增強增殖及 T 細胞存活。CD122 係介白素-2 受體(IL-2)蛋白之次單元，其促進未成熟 T 細胞分化為調控、效應或記憶 T 細胞。CD27 係腫瘤壞死因子受體超家族之成員，且用作共刺激免疫檢查點分子。CD28 (分化簇 28)係一種在 T 細胞上表現之蛋白質，其提供 T 細胞活化及存活所需之共刺激信號。GITR (糖皮質激素誘導之 TNFR 相關蛋白)，亦稱為 TNFRSF18 及 AITR，係一種在調控性 T 細胞維持之顯性免疫自體耐受性中起關鍵作用之蛋白質。ICOS (誘導型 T 細胞共刺激物)，亦稱為 CD278，係一種 CD28 超家族共刺激分子，其在活化 T 細胞上表現且在 T 細胞信號傳導及免疫反應中發揮作用。

【0378】　免疫檢查點及其序列為所屬領域中熟知，且代表性實施例在下面進一步描述。免疫檢查點通常與成對之抑制性受體及天然結合搭配物(例如，配位體)有關。例如，PD-1 多肽係能夠將抑制信號傳遞至免疫細胞從而抑制免疫細胞效應功能之抑制性受體，或者例如當以可溶之單體形式存在時，能夠促進免疫細胞之共刺激(例如，藉由競爭性抑制)。較佳 PD-1 家族成員與 PD-1 共享序列一致性且結合一或多個 B7 家族成員，諸如 B7-1、B7-2、PD-1 配位體及/或抗原呈現細胞上之其他多肽。術語「PD-1 活性」包括 PD-1 多肽例如藉由與抗原呈現細胞上之天然 PD-1 配位體嚙合而在活化免疫細胞中調節抑制信號之能力。免疫細胞中抑制信號之調節引起免疫細胞增殖及/或細胞介素分泌之調節。因此，術語「PD-

1 活性」包括 PD-1 多肽結合其天然配位體之能力、調節免疫細胞抑制信號之能力及調節免疫反應之能力。術語「PD-1 配位體」係指 PD-1 受體之結合搭配物，且包括 PD-L1 (Freeman 等人(2000) *J. Exp. Med.* 192:1027-1034)及 PD-L2 (Latchman 等人 (2001) *Nat. Immunol.* 2:261)。術語「PD-1 配位體活性」包括 PD-1 配位體多肽結合其天然受體(例如 PD-1 或 B7-1)之能力、調節免疫細胞抑制信號之能力及調節免疫反應之能力。

【0379】 如本文所用，術語「免疫檢查點療法」係指使用抑制免疫抑制性免疫檢查點，諸如抑制其核酸及/或蛋白質之藥劑。一或多種此類免疫檢查點之抑制可阻斷或以其他方式中和抑制性信號傳導，從而上調免疫反應，從而更有效地治療癌症。可用於抑制免疫檢查點之示例性藥劑包括可結合及/或滅活或抑制免疫檢查點蛋白或其片段之抗體、小分子、肽、肽模擬物、天然配位體及天然配位體之衍生物；以及可下調免疫檢查點核酸或其片段之表現及/或活性的 RNA 幹擾、反義、核酸適體等。用於上調免疫反應之示例性藥劑包括針對一或多種免疫檢查點蛋白之抗體，其阻斷蛋白質與其天然受體之間的相互作用；一或多種免疫檢查點蛋白之非活化形式(例如，顯性陰性多肽)；阻斷一或多種免疫檢查點蛋白與其天然受體之間的相互作用之小分子或肽；結合其天然受體之融合蛋白(例如，與抗體或免疫球蛋白之 Fc 部分融合之免疫檢查點抑制蛋白之細胞外部分)；阻斷免疫檢查點核酸轉錄或轉譯之核酸分子；及其類似物。此類藥劑可直接阻斷一或多種免疫檢查點與其天然受體(例如抗體)之間的相互作用，以防止抑制性信號傳導且上調免疫反應。或者，藥劑可間接阻斷一或多種免疫檢查點蛋白與其天然受體之間的相互作用，以防止抑制性信號傳導且上調免疫反應。例如，免疫檢查點蛋白配位體之可溶形式，諸如穩定之細胞外域，可與其受體結合，以間接降低受體與合適配位體結合之有效濃度。在一個實施例中，單獨或組合使用抗 PD-1 抗體、抗 PD-L1 抗體及/或抗 PD-L2 抗體來抑制免疫檢查點。用於阻斷 PD-1 路徑之治

療劑包括拮抗性抗體及可溶性 PD-L1 配位體。針對 PD-1 及 PD-L1/2 抑制路徑之拮抗劑可包括但不限於針對 PD-1 或 PD-L1/2 之拮抗性抗體(例如，17D8、2D3、4H1、5C4 (亦稱為納武單抗(nivolumab)或 BMS-936558)、4A11、7D3 及 5F4，美國專利第 8,008,449 號中揭示；AMP-224、匹地利珠單抗(pidilizumab) (CT-011)、派姆單抗(pembrolizumab)及美國專利第 8,779,105 號、第 8,552,154 號、第 8,217,149 號、第 8,168,757 號、第 8,008,449 號、第 7,488,802 號、第 7,943,743 號、第 7,635,757 號及第 6,808,710 號中揭示之抗體。類似地，額外代表性檢查點抑製劑可為但不限於針對抑制性調節因子 CTLA-4 (抗細胞毒性 T 淋巴球抗原 4 抗細胞毒性 T 淋巴球抗原 4)之抗體，諸如伊匹單抗(ipilimumab)、曲美木單抗(tremelimumab) (完全人類化)、抗 CD28 抗體、抗 CTLA-4 黏附素、抗 CTLA-4 域抗體、單鏈抗 CTLA-4 抗體片段、重鏈抗 CTLA-4 片段、輕鏈抗 CTLA-4 片段及其他抗體，諸如以下中揭示之彼等抗體：美國專利第 8,748,815 號；第 8,529,902 號；第 8,318,916 號；第 8,017,114 號；第 7,744,875 號；第 7,605,238 號；第 7,465,446 號；第 7,109,003 號；第 7,132,281 號；第 6,984,720 號；第 6,682,736 號；第 6,207,156 號；及第 5,977,318 號，以及歐洲專利第 1212422 號、美國專利公開案第 2002/0039581 號及第 2002/086014 號，及 Hurwitz 等人(1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95:10067-10071。

【0380】 以 PD-1、PD-L1、PD-L2 及 CTLA-4 為例之免疫檢查點活性、配位體、阻斷及其類似方面之代表性定義通常適用於其他免疫檢查點。

【0381】 術語「非靶向療法」係指投與不選擇性地與所選生物分子相互作用但治療癌症之藥劑。非靶向療法之代表性實例包括但不限於化學療法、基因療法及放射療法。

【0382】 在一個實施例中，使用化學療法。化學療法包括投與化學治療劑。此類化學治療劑可為但不限於選自以下化合物組之彼等化學治療劑：鉑化合物、細

胞毒性抗生素、抗代謝物、抗有絲分裂劑、烷化劑、砷化合物、DNA 拓撲異構酶抑製劑、紫杉烷類、核苷類似物、植物生物鹼及毒素；及其合成衍生物。示例性藥劑包括但不限於烷化劑：氮芥(例如環磷醯胺(cyclophosphamide)、異環磷醯胺(ifosfamide)、曲磷醯胺(trofosfamide)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、雌莫司汀(estramustine)及美法崙(melphalan))、亞硝基脲(例如卡莫司汀(carmustine，BCNU)及洛莫司汀(lomustine，CCNU))、烷基磺酸鹽(例如白消安(busulfan)及曲奧舒凡(treosulfan))、三氮烯(例如達卡巴嗪(dacarbazine)、替莫唑胺(temozolomide))、順鉑(cisplatin)、曲奧舒凡及曲磷醯胺；植物生物鹼：長春花鹼(vinblastine)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、多西紫杉醇(docetaxol)；DNA 拓撲異構酶抑製劑：替尼泊苷(teniposide)、克立那托(crisnatol)及絲裂黴素(mitomycin)；抗葉酸劑：甲胺喋呤(methotrexate)、黴酚酸(mycophenolic acid)及羥基脲；嘧啶類似物：5-氟尿嘧啶、去氧氟尿苷(doxifluridine)及胞嘧啶阿拉伯醣;嘌呤類似物:巯基嘌呤及硫鳥嘌呤;DNA 抗代謝物：2'-去氧-5-氟尿苷、甘胺酸阿非迪黴素(aphidicolin glycinate)及吡唑并咪唑；及抗有絲分裂劑：軟海綿素、秋水仙鹼及根瘤菌素。類似地，其他示例性藥劑包括含鉑化合物(例如，順鉑、卡鉑、奧沙利鉑)、長春花生物鹼(例如，長春新鹼(vincristine)、長春花鹼、長春地辛(vindesine)及長春瑞濱(vinorelbine))、紫杉醇(例如，太平洋紫杉醇或太平洋紫杉醇等效物，諸如奈米粒子白蛋白結合型太平洋紫杉醇(ABRAXANE)、二十二碳六烯酸結合型太平洋紫杉醇(DHA-太平洋紫杉醇、Taxoprexin)、聚麩胺酸結合型太平洋紫杉醇(PG-太平洋紫杉醇、聚麩太平洋紫杉醇(paclitaxel poliglumex)、CT-2103、XYOTAX)、腫瘤活化前藥(TAP) ANG1005 (Angiopep-2 與三個太平洋紫杉醇分子結合)、太平洋紫杉醇-EC-1(太平洋紫杉醇與識別 erbB2 之肽 EC-1 結合)及葡萄糖結合之太平洋紫杉醇，例如 2'-太平洋紫杉醇甲基 2-吡喃葡萄糖基琥珀酸酯；多西紫杉醇、紫杉醇)、表鬼臼苦素(例如，依託泊苷(etoposide)、磷酸依託泊苷、替尼泊苷、拓撲替康

(topotecan)、9-胺基喜樹鹼、喜樹鹼、伊立替康(irinotecan)、克立那托、絲裂黴素C (mytomycin C))、抗代謝物、DHFR 抑製劑(例如，甲胺喋呤、二氯甲胺喋呤、三甲胺喋呤、依達曲沙(edatrexate))、IMP 去氫酶抑製劑(例如黴酚酸、噻唑呋林(tiazofurin)、利巴韋林(ribavirin)及 EICAR)、核糖核苷酸還原酶抑製劑(例如羥基脲及去鐵胺)、尿嘧啶類似物(例如 5-氟尿嘧啶(5-FU)、氟尿苷、去氧氟尿苷、瑞曲塞(ratitrexed)、替加氟-尿嘧啶(tegafur-uracil)、卡培他濱(capecitabine))、胞嘧啶類似物(例如，阿糖胞苷(ara C)、胞嘧啶阿拉伯醣及氟達拉濱(fludarabine))、嘌呤類似物(例如，巯基嘌呤及硫鳥嘌呤)、維生素 D3 類似物(例如，EB 1089、CB 1093及 KH 1060)、異戊二烯化抑製劑(例如，洛伐他汀(lovastatin))、多巴胺能神經毒素(例如，1-甲基-4-苯基吡錠離子)、細胞週期抑製劑(例如，星形孢菌素)、放線菌素(actinomycin) (例如，放線菌素 D (actinomycin D)、放線菌素 D (dactinomycin))、博萊黴素(bleomycin) (例如，博萊黴素 A2、博萊黴素 B2、培洛黴素(peplomycin))、蒽環黴素(anthracycline) (例如，道諾黴素(daunorubicin)、多柔比星(doxorubicin)、聚乙二醇化脂質體多柔比星、伊達比星(idarubicin)、表柔比星(epirubicin)、吡柔比星(pirarubicin)、佐柔比星(zorubicin)、米托蒽醌(mitoxantrone))、MDR 抑製劑(例如，維拉帕米(verapamil))、Ca^{2+} ATP 酶抑製劑(例如，毒胡蘿蔔素(thapsigargin))、伊馬替尼(imatinib)、沙利度胺(thalidomide)、來那度胺(lenalidomide)、酪胺酸激酶抑製劑(例如，阿西替尼(axitinib) (AG013736)、波舒替尼(bosutinib) (SKI-606)、西地尼布(cediranib) (RECENTIN™、AZD2171)、達沙替尼(dasatinib) (SPRYCEL®、BMS-354825)、厄洛替尼(erlotinib) (TARCEVA®)、吉非替尼(gefitinib) (IRESSA®)、伊馬替尼(imatinib) (Gleevec®、CGP57148B、STI-571)、拉帕替尼(lapatinib) (TYKERB®、TYVERB®)、來他替尼(lestaurtinib) (CEP-701)、來那替尼(neratinib) (HKI-272)、尼羅替尼(nilotinib) (TASIGNA®)、司馬尼布(semaxanib) (司馬尼布(semaxinib)、SU5416)、舒尼替尼

(sunitinib) (SUTENT®、SU11248)、托西尼布(toceranib) (PALLADIA®)、凡德他尼(vandetanib) (ZACTIMA®、ZD6474)、瓦他拉尼(vatalanib) (PTK787、PTK/ZK)、曲妥珠單抗(trastuzumab) (HERCEPTIN®)、貝伐單抗(bevacizumab) (AVASTIN®)、利妥昔單抗(rituximab) (RITUXAN®)、西妥昔單抗(cetuximab) (ERBITUX®)、帕尼單抗(panitumumab) (VECTIBIX®)、蘭尼單抗(ranibizumab) (Lucentis®)、尼羅替尼(nilotinib) (TASIGNA®)、索拉非尼(sorafenib) (NEXAVAR®)、依維莫司(everolimus) (AFINITOR®)、阿崙單抗(alemtuzumab) (CAMPATH®)、吉妥單抗(gemtuzumab ozogamicin) (MYLOTARG®)、替西羅莫司(temsirolimus) (TORISEL®)、ENMD-2076、PCI-32765、AC220、乳酸多韋替尼(dovitinib lactate) (TKI258、CHIR-258)、BIBW 2992 (TOVOK™)、SGX523、PF-04217903、PF-02341066、PF-299804、BMS-777607、ABT-869、MP470、BIBF 1120 (VARGATEF®)、AP24534、JNJ-26483327、MGCD265、DCC-2036、BMS-690154、CEP-11981、替沃紮尼(tivozanib) (AV-951)、OSI-930、MM-121、XL-184、XL-647 及/或 XL228)、蛋白酶體抑製劑(例如，硼替佐米(bortezomib) (VELCADE®))、mTOR 抑製劑(例如，雷帕黴素(rapamycin)、替西羅莫司(CCI-779)、依維莫司(RAD-001)、地磷莫司(ridaforolimus)、AP23573 (Ariad)、AZD8055 (AstraZeneca)、BEZ235 (Novartis)、BGT226 (Norvartis)、XL765 (Sanofi Aventis)、PF-4691502 (Pfizer)、GDC0980 (Genentech)、SF1126 (Semafoe)及 OSI-027 (OSI))、奧利默森(oblimersen)、吉西他濱、洋紅黴素(carminomycin)、甲醯四氫葉酸(leucovorin)、培美曲塞(pemetrexed)、環磷醯胺、達卡巴嗪、丙卡比嗪(procarbizine)、潑尼松龍(prednisolone)、地塞米松(dexamethasone)、喜樹鹼、普卡黴素(plicamycin)、天冬醯胺酶、胺基喋呤、甲胺喋呤、卟啉黴素(porfiromycin)、美法崙、異長春鹼(leurosidine)、長春羅新(leurosine)、苯丁酸氮芥、曲貝替定(trabectedin)、丙卡巴肼(procarbazine)、圓皮海綿內酯(discodermolide)、洋紅黴素、

胺基嗶呤及六甲蜜胺(hexamethyl melamine)。亦可使用包含一或多種化學治療劑之組合物(例如，FLAG、CHOP)。FLAG 包含氟達拉濱、胞嘧啶阿拉伯醣(Ara-C)及 G-CSF。CHOP 包含環磷醯胺、長春新鹼、多柔比星及潑尼松(prednisone)。在另一實施例中，使用 PARP (例如，PARP-1 及/或 PARP-2)抑製劑，且此類抑製劑為所屬領域熟知(例如，奧拉帕利(Olaparib)、ABT-888、BSI-201、BGP-15 (N-Gene Research Laboratories 公司)；INO-1001 (Inotek Pharmaceuticals 公司)；PJ34 (Soriano 等人, 2001；Pacher 等人, 2002b)；3-胺基苯甲醯胺(Trevigen)；4-胺基-1,8-萘醯亞胺(Trevigen)；6(5H)-菲啶酮(Trevigen)；苯甲醯胺(美國專利 Re. 36,397)；及 NU1025 (Bowman 等人)。作用機制通常與 PARP 抑製劑結合 PARP 且降低其活性之能力有關。PARP 催化 β-菸鹼醯胺腺嘌呤二核苷酸(NAD+)轉化為菸鹼醯胺及聚-ADP-核糖(PAR)。聚(ADP-核糖)及 PARP 均與轉錄、細胞增殖、基因組穩定性及致癌作用之調控有關(Bouchard 等人(2003) *Exp. Hematol.* 31:446-454)；Herceg (2001) *Mut. Res.* 477:97-110)。聚(ADP-核糖)聚合酶 1 (PARP1)係修復 DNA 單股斷裂(SSB)之關鍵分子(de Murcia J.等人 (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94:7303-7307；Schreiber 等人 (2006) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 7:517-528；Wang 等人 (1997) *Genes Dev.* 11:2347-2358)。藉由抑制 PARP1 功能來剔除 SSB 修復可誘導 DNA 雙股斷裂(DSB)，此可能會在具有缺陷同源定向 DSB 修復之癌細胞中引發合成致死(Bryant 等人(2005) *Nature* 434:913-917；Farmer 等人 (2005) *Nature* 434:917-921)。前述化學治療劑之實例為說明性的而非限制性的。

【0383】　在另一實施例中，使用放射療法。放射療法中使用之放射線可為電離輻射。放射療法亦可為 γ 射線、X 射線或質子束。放射療法之實例包括但不限於外束放射療法、放射性同位素(I-125、鈀、銥)之間質植入、放射性同位素(諸如鍶-89)、胸部放射療法、腹膜內 P-32 放射療法及/或全腹部及盆腔放射療法。有關放射療法之一般概述，參見 Hellman, 第 16 章: Principles of Cancer Management:

Radiation Therapy, 第 6 版, 2001；DeVita 等人編輯, J. B. Lippencott Company, Philadelphia。放射療法可作為外束放射或遠隔治療來投與，其中放射線自遠程源引導。放射治療亦可作為內部療法或近接治療來投與，其中將放射源置放在身體內部靠近癌細胞或腫瘤塊之位置。亦涵蓋光動力療法之用途，其包括投與光敏劑，諸如血卟啉及其衍生物、維托泊芬(BPD-MA)、酞菁、光敏劑 Pc4、去甲氧基-竹紅菌素 A (demethoxy-hypocrellin A)；及 2BA-2-DMHA。

【0384】　在另一實施例中，使用激素療法。激素治療性治療可包含例如激素促效劑、激素拮抗劑(例如氟他胺(flutamide)、比卡魯胺(bicalutamide)、他莫昔芬(tamoxifen)、雷洛昔芬(raloxifene)、醋酸亮丙瑞林(leuprolide acetate，LUPRON)、LH-RH 拮抗劑)、激素生物合成及加工抑製劑及類固醇(例如地塞米松、類視色素(retinoids)、三角肌(deltoid)、倍他米松(betamethasone)、皮質醇、可體松(cortisone)、潑尼松、去氫睾酮、糖皮質激素、鹽皮質激素、雌激素、睾酮、助孕素)、維生素 A 衍生物(例如，全反式維甲酸(ATRA))；維生素 D3 類似物；抗助孕素(例如米非司酮(mifepristone)、奧那司酮(onapristone))或抗雄激素(例如醋酸環丙孕酮(cyproterone acetate))。

【0385】　在另一實施例中，使用熱療，亦即身體組織暴露於高溫(高達 106°F)之程序。熱量可藉由破壞細胞或剝奪其存活所需之物質來幫助縮小腫瘤。熱療法可為局部、區域及全身熱療，使用外部及內部加熱裝置。熱療幾乎一直與其他形式之療法(例如放射療法、化學療法及生物療法)一起使用，以試圖提高該等療法之有效性。局部熱療係指將熱施加至非常小之區域，諸如腫瘤。可使用來自體外裝置之針對腫瘤之高頻波自外部加熱該區域。為實現內部加熱，可使用若干種類型之無菌探頭中之一種，包括加熱細線或裝滿溫水之空心管；植入之微波天線；及射頻電極。在區域熱療中，對器官或肢體進行加熱。將產生高能量之磁鐵及裝置置放在有待加熱之區域上。在另一種稱為灌注之方法中，將患者之一些血液取

出、加熱，且接著泵入(灌注)至有待在內部加熱之區域。全身加熱用於治療已擴散到全身之轉移性癌症。其可使用溫水毯、熱蠟、感應線圈(如電熱毯中之線圈)或熱室(類似於大型保溫箱)來完成。熱療不會導致輻射副作用或併發症之任何顯著增加。然而，直接施加於皮膚上之熱量可能在大約一半之治療患者中引起不適或甚至明顯局部疼痛。其亦可能導致水泡，通常會迅速癒合。

【0386】　在另一實施例中，光動力療法(亦稱為 PDT、光放射療法、光療法或光化學療法)用於治療某些類型之癌症。其係基於以下發現：當生物體暴露於特定類型之光時，某些稱為光敏劑之化學物質可能殺死單細胞生物體。PDT 經由使用固定頻率之雷射光及光敏劑來破壞癌細胞。在 PDT 中，將光敏劑注入血流中且被全身細胞吸收。該劑在癌細胞中之停留時間比在正常細胞中之時間長。當經處理之癌細胞暴露在雷射光時，光敏劑吸收光線且產生活性形式氧，從而破壞經處理之癌細胞。曝光時間必須謹慎，以便在大多數光敏劑離開健康細胞但仍存在於癌細胞中時進行曝光。PDT 中使用之雷射光可經由光纖(極細玻璃絲)引導。光纖置放在靠近癌症處，以遞送適量之光。光纖可經由支氣管鏡引導進入肺部以治療肺癌或經由內窺鏡引導進入食道以治療食道癌。PDT 之一個優點在於，其對健康組織之損害最小。但是，由於目前使用之雷射光無法穿過超過約 3 釐米之組織(略大於一又八分之一吋)，因此 PDT 主要用於治療皮膚上或正好皮膚下或內部器官之內層上的腫瘤。光動力療法使皮膚及眼睛在治療後對光敏感長達 6 週或更長時間。建議患者在至少 6 週內避免陽光直射及明亮之室內光線。若患者必須去戶外，其需要穿防護服，包括太陽鏡。PDT 之其他暫時性副作用與特定區域之治療有關，且可包括咳嗽、吞嚥困難、腹痛及呼吸疼痛或呼吸急促。1995 年 12 月，美國食品及藥物管理局(U.S. Food and Drug Administration，FDA)批准一種稱為卟吩姆鈉(porfimer sodium)或 Photofrin®之光敏劑，用於緩解導致阻塞之食道癌之症狀以及單獨使用雷射光無法得到滿意治療之食道癌。1998 年 1 月，

FDA 批准卟吩姆鈉用於治療不適合肺癌常規治療之早期非小細胞肺癌患者。美國國家癌症研究所(National Cancer Institute)及其他機構正在支持臨床試驗(研究性研究)，以評估光動力療法對若干類型癌症，包括膀胱癌、腦癌、喉癌及口腔癌之使用。

【0387】　在又一實施例中，雷射療法用於利用高強度光來破壞癌細胞。此類技術通常用於緩解癌症之症狀，諸如出血或阻塞，特別是當癌症無法藉由其他治療治癒時。其亦可用於藉由縮小或破壞腫瘤來治療癌症。術語「雷射」代表利用輻射之受激發射來放大光。普通光，諸如燈泡發出之光，具有多種波長，且向各個方向傳播。另一方面，雷射光具有特定波長且聚焦在窄光束中。此類高強度光含有大量能量。雷射非常強大，且可用於切割鋼材或塑造鑽石。雷射亦可用於非常精確之外科手術，諸如修復眼睛受損之視網膜或切割組織(代替手術刀)。雖然存在若干種不同之雷射，但僅三種在醫學上得到廣泛應用：二氧化碳(CO_2)雷射——此類型雷射可移除皮膚表面之薄層，而不會穿透更深層。所屬領域在治療尚未深入皮膚之腫瘤及某些癌前疾患方面特別有用。作為傳統手術刀手術之替代方案，CO_2 雷射亦能夠切割皮膚。雷射以此類方式用於移除皮膚癌。釹:釔鋁石榴石(Nd:YAG)雷射——來自此雷射之光可能比來自其他類型雷射之光更深地穿透至組織中，且其可能使血液快速凝結。其可經由光纖傳送至身體不太容易接近之部位。此類型雷射有時用於治療喉癌。氬雷射——此雷射只能穿過組織之表層，因此可用於皮膚病學及眼科手術。其亦與光敏染料一起用於在稱為光動力療法(PDT)之過程中治療腫瘤。與標準手術工具相比，雷射有若干個優點，包括：雷射比手術刀更精確。切口附近之組織受到保護，因為與周圍皮膚或其他組織幾乎無接觸。雷射產生之熱量對手術部位進行消毒，從而降低感染風險。可能需要更少之操作時間，因為雷射之精度使切口更小。癒合時間常常縮短；由於雷射將血管熱封，所以出血、腫脹或疤痕較少。雷射手術可能不那麼複雜。例如，使用光

纖，雷射光可經引導至身體之部位，而無需進行大切口。更多程序可在門診進行。雷射可以兩種方式用於治療癌症：藉由利用熱來縮小或破壞腫瘤，或藉由活化破壞癌細胞之化學物質(稱為光敏劑)。在 PDT 中，光敏劑保留在癌細胞中，且可能受光刺激而引起殺死癌細胞之反應。CO_2 及 Nd:YAG 雷射用於縮小或破壞腫瘤。其可與內窺鏡一起使用，內窺鏡為允許醫師看到身體某些區域(諸如膀胱)之管子。一些雷射器發出之光可經由裝有光纖之可撓性內窺鏡傳輸。此允許醫生看到除手術外無法到達之身體部位且在其中進行工作，因此允許雷射光束之極精確瞄準。雷射亦可與低功率顯微鏡一起使用，使醫生清楚地看到正在治療之部位。與其他儀器一起使用時，雷射系統可產生直徑小至 200 微米之切割區域——小於極細線之寬度。雷射用於治療多種癌症。雷射手術係聲門(聲帶)癌、子宮頸癌、皮膚癌、肺癌、陰道癌、外陰癌及陰莖癌某些階段之標準治療。除用於消滅癌症外，雷射手術亦用於幫助緩解癌症引起之症狀(姑息治療)。例如，雷射可用於縮小或破壞阻塞患者氣管(氣管)之腫瘤，使其更容易呼吸。其有時亦用於緩解結直腸癌及肛門癌。雷射誘導之間質熱療(LITT)係雷射療法之最新發展之一。LITT 使用與稱為熱療之癌症治療相同之想法；該熱量可藉由破壞細胞或剝奪其存活所需之物質來幫助縮小腫瘤。在此治療中，雷射經引導至身體之間質區域(器官之間的區域)。接著，雷射提高腫瘤之溫度，從而破壞或消滅癌細胞。

【0388】　在一態樣中，本文提供一種在個體中引發對表現 MAGEA1 之細胞之免疫反應的方法。在一些實施例中，該方法包括：向個體投與本文所述之醫藥組合物，其中當投與至個體時，該醫藥組合物引發對表現 MAGEA1 之細胞之免疫反應。

【0389】　在一些實施例中，免疫反應可包括細胞介導之免疫反應。細胞免疫反應係涉及 T 細胞且可在活體外或活體內測定之反應。舉例而言，全身細胞免疫反應可測定為在投與醫藥組合物之後的合適時間自個體取樣之細胞(例如，周

邊血液白血球(PBL))中的 T 細胞增殖活性。在將例如 PBMC 與刺激物一起培育適當時段之後，可測定[^{3}H]胸苷併入。可使用流動式細胞測量術來測定正在增殖之 T 細胞子集。

【0390】　在本發明所涵蓋之另一態樣中，本文提供之方法包括向人類及非人類哺乳動物投與如上所述。亦考慮獸醫應用。在一些實施例中，個體可為可在其中引發免疫反應之任何活生物體。

【0391】　在一些實施例中，可在任何適當時間投與該醫藥組合物。舉例而言，可在治療患有以 MAGEA1 表現為特徵之病症之個體之前或期間進行投與，且在以 MAGEA1 表現為特徵之病症變得臨床上不可偵測之後繼續投與。亦可在顯示復發徵象之個體中繼續投與。

【0392】　在一些實施例中，可以治療或預防有效量投與醫藥組合物。可使用已知之程序且以足以實現所需作用之劑量及時段向個體投與醫藥組合物。

【0393】　在一些實施例中，可在任何合適部位向個體投與醫藥組合物。可使用所屬領域公知之方法實現投與。可藉由直接注射或藉由所屬領域中使用之任何其他方式，包括但不限於血管內、腦內、非經腸、腹膜內、靜脈內、硬膜外、脊椎內、胸骨內、關節內、滑膜內、鞘內、動脈內、心內或肌肉內投與，將包括細胞之藥劑引入所需部位。例如，所關注之個體可藉由各種途徑植入移植之細胞。此類途徑包括但不限於靜脈內投與、皮下投與、向特定組織投與(例如，局灶性移植)、股骨骨髓腔內註射、脾臟內註射、胎肝腎囊下投與及其類似途徑。在某些實施例中，本發明所涵蓋之癌症疫苗藉由瘤內或皮下注射至個體。細胞可在一次輸注中投與，或經由在足以產生所需作用之限定時段內連續輸注來投與。關於移植之細胞之移植、植入評估及標記物表型分析之示例性方法為所屬領域中熟知(參見例如 Pearson 等人 (2008) *Curr. Protoc. Immunol.* 81:15.21.1-15.21.21；Ito 等人 (2002) *Blood* 100:3175-3182；Traggiai 等人 (2004) *Science* 304:104-107；

Ishikawa 等人 *Blood* (2005) 106:1565-1573；Shultz 等人 (2005) *J. Immunol.* 174:6477-6489；及 Holyoake 等人 (1999) *Exp. Hematol.* 27:1418-1427)。

【0394】 在一些實施例中，將以有效產生所需反應(引發免疫反應抑或預防性或治療性治療以 MAGEA1 表現為特徵之病症及/或相關症狀)之量及時段投與劑量。

【0395】 醫藥組合物可在其他療法之後、之前或同時給與，該等其他療法包括亦引發個體之免疫反應之療法。舉例而言，個體可預先或同時由其他形式之免疫調節劑治療，此類其他療法可以不幹擾本文所述之組合物之免疫原性的方式提供。

【0396】 投與可由護理人員(例如，醫師、獸醫)適當地計時，且可視個體之臨床疾患、投與目標及/或亦考慮或投與之其他療法而定。在一些實施例中，可投與初始劑量，且監測個體之免疫學及/或臨床反應。免疫監測之合適手段包括使用患者之周圍血液淋巴球(PBL)作為反應物且使用本文所述之免疫原性肽或肽-MHC 複合物作為刺激物。亦可藉由在投與部位處之延遲發炎反應來確定免疫反應。適當時可在初始劑量之後給與一或多個劑量，通常每月、每半月或每週一次，直至實現所需作用。此後，可根據需要給與額外加強劑量或維持劑量，尤其當免疫學或臨床益處顯示減弱時。

【0397】 通常，適當劑量及治療方案以足以提供益處之量提供活性分子或細胞。可藉由在經治療之個體中建立與未治療之個體相比改善之臨床結果(例如，更頻繁之完全或部分緩解，或更長之無病存活期)來監測此類反應。對病毒蛋白之預先存在之免疫反應的增加通常與臨床結果之改善相關。通常可使用常規之標準增殖、細胞毒性或細胞介素分析來評估此類免疫反應。

【0398】 對於預防性使用，劑量應足以預防與疾病或病症相關之疾病、延緩其發作或減輕其嚴重程度。根據本文所述之方法投與之免疫原性組合物之預防

益處可藉由進行臨床前(包括活體外、離體及活體內動物研究)及臨床研究，且藉由適當統計學、生物學分析及臨床方法及技術對由此獲得之資料進行分析來確定，所有此等均可由普通技術人員輕鬆實踐。

【0399】　如本文所用，組合物之投與係指將其遞送至個體，與遞送途徑或方式無關。投與可連續或間歇進行，且可非經腸投與。投與可用於治療已確認患有公認疾患、疾病或疾病病況之個體，或用於治療易患或有風險發展此類疾患、疾病或疾病病況之個體。與輔助療法之共同投與可包括以任何順序及任何給藥方案同時及/或依序遞送多種藥劑(例如，具有一或多種細胞介素之經工程改造之免疫細胞；免疫抑制療法，諸如鈣調神經磷酸酶抑製劑、皮質類固醇、微管抑製劑、低劑量之黴酚酸前藥或其任何組合)。

【0400】　在一些實施例中，將複數劑本文所述之宿主細胞(例如，經工程改造之免疫細胞)投與至個體，其可以投與之間約 2 至約 4 週之間隔投與。

【0401】　本發明所涵蓋之治療或預防方法可作為治療過程或方案之一部分投與至個體，該治療過程或方案可包含在投與本發明揭示之單位劑量、細胞或組合物之前或之後進行額外治療。例如，在一些實施例中，接受單位劑量宿主細胞(例如，經工程改造之免疫細胞)之個體正在接受或以前接受過造血細胞移植(HCT；包括清髓性及非清髓性 HCT)。在任何前述實施例中，用於 HCT 之造血細胞可為「通用供體」細胞，其經修飾以減少或消除編碼選自 MHC、抗原及結合蛋白之多肽產物之一或多種內源基因的表現(例如，根據本文所述之方法藉由染色體基因剔除)。在一些實施例中，

【0402】　用於進行細胞移植之技術及方案為所屬領域中已知且可包含移植任何合適之供體細胞，諸如源自臍帶血、骨髓或周邊血液之細胞、造血幹細胞、動員幹細胞或來自羊水之細胞。因此，在一些實施例中，本發明所涵蓋之宿主細胞(例如，經工程改造之免疫細胞)可與乾細胞療法一起或在幹細胞療法之後不久投

與。

【0403】　在一些實施例中，本發明所涵蓋之方法可進一步包括投與一或多種額外藥劑以在組合療法中治療疾病或病症(例如，以 MAGEA1 表現為特徵之病症)。例如，在一些實施例中，組合療法包括將本發明所涵蓋之宿主細胞或結合蛋白與抗病毒劑(並行、同時或依次)投與。在一些實施例中，組合療法包括將本發明所涵蓋之宿主細胞或結合蛋白與洛匹那韋(lopinavir)/利托那韋(ritonavir)、氯喹(chloroquine)、利巴韋林、類固醇藥物、羥氯喹及/或乾擾素 α 一起投與。在一些實施例中，組合療法包括將本發明所涵蓋之宿主細胞、組合物或單位劑量之宿主細胞與二次療法，諸如手術、抗體、疫苗或其任何組合一起投與。

c. 篩選方法

【0404】　本發明所涵蓋之另一態樣涵蓋篩選分析。

【0405】　在一些實施例中，提供用於選擇與本文所述之 MAGEA1 免疫原性肽或 pMHC 結合之試劑的方法。舉例而言，提供一種鑑定與選自表 1 中所列之肽序列之肽抗原決定基結合的肽結合分子或其抗原結合片段的方法，其包括 a)提供細胞，該細胞在該細胞之表面上呈現在 MHC 分子背景中的選自表 1 中所列之肽序列之肽抗原決定基；；b)測定該細胞上複數種候選肽結合分子或其抗原結合片段與在 MHC 分子背景中之肽抗原決定基之結合；及 c)鑑定與在 MHC 分子背景中之肽抗原決定基結合之一或多種肽結合分子或其抗原結合片段。

【0406】　在一些實施例中，提供一種鑑定與選自表 1 中所列之肽序列之肽抗原決定基結合的肽結合分子或其抗原結合片段的方法，其包括：a)提供單獨或呈穩定 MHC-肽複合物之肽抗原決定基，其包含單獨或在 MHC 分子背景中的選自表 1 中所列之肽序列之肽抗原決定基；b)測定複數種候選肽結合分子或其抗原結合片段與該肽或該穩定 MHC-肽複合物之結合；及 c)鑑定與該肽抗原決定基或該穩定 MHC-肽複合物結合之一或多種肽結合分子或其抗原結合片段，視情況其

中該 MHC 或該 MHC-肽複合物如本文所述。

【0407】　在一些實施例中，本文提供鑑定與選自表 1 之肽抗原決定基結合之肽結合分子或其抗原結合片段的方法。

【0408】　在一些實施例中，肽結合分子(亦即，MHC-肽結合分子)係具有與在 MHC 分子背景中(MHC-肽複合物)呈現或展示在諸如細胞表面上之肽抗原決定基結合(例如，特異性及/或選擇性地)之能力的分子或其部分。示例性肽結合分子包括展現出與 MHC-肽複合物特異性結合之能力之 T 細胞受體或抗體或其抗原結合部分，包括其單鏈免疫球蛋白可變區(例如，scTCR、scFv)。在一些實施例中，肽結合分子為 TCR 或其抗原結合片段。在一些實施例中，肽結合分子為抗體，諸如 TCR 樣抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，肽結合分子為 TCR 樣 CAR，該 TCR 樣 CAR 含有抗體或其抗體結合片段，諸如 TCR 樣抗體，諸如已經工程改造以與 MHC-肽複合物結合之抗體。在一些實施例中，肽結合分子可源自天然來源，或其可部分地或全部以合成或重組方式產生。

【0409】　在一些實施例中，可藉由使一或多種候選肽結合分子(諸如一或多種候選 TCR 分子、抗體或其抗原結合片段)與 MHC-肽複合物接觸且評估該一或多種候選結合分子中之各者是否與 MHC-肽複合物結合(例如，特異性及/或選擇性地)來鑑定與肽抗原決定基結合之結合分子。該等方法可在活體外、離體或活體內執行。用於篩選之方法為所屬領域中熟知，諸如描述於美國專利公開案 2020/0102553 中。

【0410】　在一些實施例中，該等方法包括使複數種結合分子或結合分子文庫(諸如複數種 TCR 或抗體或者 TCR 或抗體文庫)與 MHC 限制性抗原決定基接觸，及鑑定或選擇特異性及/或選擇性地結合此類抗原決定基之分子。在一些實施例中，可針對與 MHC 限制性抗原決定基之結合，篩選或評估含有複數種不同結合分子(諸如複數種不同 TCR 或複數種不同抗體)之文庫或集合。在一些實施例中，

諸如為選擇特異性及/或選擇性地結合 MHC 限制性肽之結合蛋白，可採用融合瘤方法。

【0411】 在一些實施例中，可採用篩選方法，其中複數種候選結合分子(諸如候選結合分子文庫或集合)同時或依次個別地與肽結合分子接觸。可鑑定或選擇與特定 MHC-肽複合物特異性及/或選擇性地結合之文庫成員。在一些實施例中，候選結合分子之文庫或集合可含有至少 2 種、5 種、10 種、100 種、10^3 種、10^4 種、10^5 種、10^6 種、10^7 種、10^8 種、10^9 種或更多種不同肽結合分子。

【0412】 在一些實施例中，可採用該等方法來鑑定展現出結合多於一種 MHC 單倍型或多於一種 MHC 對偶基因之肽結合分子，諸如 TCR 或抗體。在一些實施例中，諸如 TCR 或抗體之肽結合分子特異性及/或選擇性地結合或識別在複數種 MHC I 類單倍型或對偶基因之背景中呈現之肽抗原決定基。在一些實施例中，諸如 TCR 或抗體之肽結合分子特異性及/或選擇性地結合或識別在複數種 MHC II 類單倍型或對偶基因之背景中呈現之肽抗原決定基。

【0413】 已知多種用於評估結合親和力及/或確定結合分子是否與特定配位體(例如，MHC-肽複合物)特異性及/或選擇性地結合之分析。諸如藉由使用所屬領域中熟知之多種結合分析中之任一者來測定 TCR 對標靶多肽之 T 細胞抗原決定基之結合親和力係在熟練技術人員之水準內。舉例而言，在一些實施例中，可使用 Biacore®機器來測定兩種蛋白質之間的複合物之結合常數。可藉由監測當緩衝液通過晶片時折射率相對於時間之變化來測定複合物之解離常數(K_D)。用於量測一種蛋白質與另一蛋白質之結合的其他合適分析包括例如免疫分析，諸如酶聯免疫吸附劑分析(ELISA)及放射免疫分析(RIA)，或藉由經由螢光、UV 吸收、圓二色性或核磁共振(NMR)監測蛋白質之光譜或光學特性之變化來測定結合。其他示例性分析包括但不限於西方墨點法、ELISA、分析性超速離心、光譜分析及表面電漿子共振(Biacore®)分析(參見例如 Scatchard 等人 (1949) *Ann. N.Y. Acad.*

Sci. 51:660；Wilson (2002) *Science* 295:2103；Wolff 等人 (1993) *Cancer Res.* 53:2560；及美國專利第 5,283,173 號、第 5,468,614 號或等效物)、流動式細胞測量術、定序及用於偵測所表現之核酸之其他方法。在一實例中，藉由使用經標記之四聚體，例如藉由流動式細胞測量術評估與各種濃度之四聚體之結合來量測對 TCR 之表觀親和力。在一實例中，使用一系列濃度之經標記之四聚體的 2 倍稀釋來量測 TCR 之表觀 K_D，接著藉由非線性回歸來確定結合曲線，表觀 K_D 經測定為產生半最大結合之配位體濃度。

【0414】 在一些實施例中，可使用該等方法來鑑定僅在特定肽存在於複合物中時發生結合，且在特定肽不存在時或在存在另一非重疊或不相關肽時不發生結合的結合分子。在一些實施例中，結合分子在不存在所結合肽之情況下實質上不結合 MHC，及/或在不存在 MHC 之情況下實質上不結合該肽。在一些實施例中，結合分子為至少部分特異性的。在一些實施例中，若存在特定肽，則示例性的經鑑定之結合分子可與 MHC-肽複合物結合，且若存在相對於特定肽具有一個或兩個取代之相關肽，則亦結合。

【0415】 在一些實施例中，可使用諸如 TCR 樣抗體之經鑑定抗體來製造或產生嵌合抗原受體(CAR)，該等受體含有與 MHC-肽複合物特異性及/或選擇性地結合之非 TCR 抗體。

【0416】 在一些實施例中，可使用鑑定肽結合分子(諸如 TCR 或 TCR 樣抗體或 TCR 樣 CAR)之方法來對表現或含有肽結合分子之細胞進行工程改造。在一些實施例中，細胞或經工程改造之細胞為 T 細胞。在一些實施例中，T 細胞為 CD4+或 CD8+ T 細胞。在一些實施例中，肽結合分子識別 MHC I 類肽複合物、MHC II 類肽複合物及/或 MHC-E 肽複合物。在一些實施例中，可使用特異性及/或選擇性地識別在 MHC I 類背景中之肽的肽結合分子(諸如 TCR 或抗體或 CAR)來對 CD8+ T 細胞進行工程改造。在一些實施例中，亦提供經工程改造之 CD8+

T 細胞之組合物，該等細胞表現或含有用於識別在 MHC I 類背景中呈現之肽的 TCR、抗體或 CAR。在此類實施例中之任一者中，細胞可用於授受性細胞療法之方法中。

【0417】　在一些實施例中，可藉由擴增自個體分離之 T 細胞之 Vα 及 Vβ 譜系來產生 TCR 文庫，該等細胞包括存在於 PBMC、脾臟或其他淋巴器官中之細胞。在一些情況下，T 細胞可自腫瘤浸潤淋巴球(TIL)擴增。在一些實施例中，可自 CD4+或 CD8+細胞產生 TCR 文庫。在一些實施例中，TCR 可自正常健康個體之 T 細胞來源(亦即，正常 TCR 文庫)擴增。在一些實施例中，TCR 可自患病個體之 T 細胞來源(亦即，患病 TCR 文庫)擴增。在一些實施例中，使用簡併引子來擴增 Vα 及 VP 之基因譜系，諸如藉由在自人類獲得之樣品(諸如 T 細胞)中進行 RT-PCR 來擴增。在一些實施例中，可自原生 Vα 及 Vβ 文庫組裝 scTv 文庫，其中擴增產物經選殖或經組裝以由連接子分開。視個體及細胞之來源而定，該等文庫可為 HLA 對偶基因特異性的。

【0418】　或者，在一些實施例中，可藉由親本或支架 TCR 分子之突變誘發或多樣化來產生 TCR 文庫。舉例而言，在一些態樣中，個體(例如人類或其他哺乳動物，諸如嚙齒類動物)可接種肽，諸如藉由本發明之方法鑑定之肽。在一些實施例中，可自個體獲得樣品，諸如含有血液淋巴球之樣品。在一些情況下，諸如 TCR 之結合分子可自樣品，例如樣品中所含之 T 細胞擴增。在一些實施例中，可諸如藉由篩選來選擇抗原特異性 T 細胞以評估針對肽之 CTL 活性。在一些態樣中，可諸如藉由結合活性，例如對抗原之特定親和力或親合力來選擇例如存在於抗原特異性 T 細胞上之 TCR。在一些態樣中，諸如藉由例如 α 或 β 鏈之突變誘發，使 TCR 經受定向演化。在一些態樣中，TCR 之 CDR 內之特定殘基發生改變。在一些實施例中，可藉由親和力成熟來修飾所選 TCR。在一些態樣中，所選 TCR 可用作針對抗原之親本支架 TCR。

【0419】　在一些實施例中，個體為人類，諸如患有以 MAGEA1 表現為特徵之病症之人類。在一些實施例中，個體為嚙齒類動物，諸如小鼠。在一些此類實施例中，小鼠為轉殖基因小鼠，諸如表現人類 MHC (亦即，HLA)分子，諸如 HLA-A2 之小鼠(例如，Nicholson 等人 (2012) *Adv. Hematol.* 2012:404081)。

【0420】　在一些實施例中，個體為表現人類 TCR 之轉殖基因小鼠或為抗原陰性小鼠(例如，Li 等人 (2010) *Nat Med.* 161029-1034；Obenaus 等人 (2015) *Nat. Biotechnol.* 33:402-407)。在一些實施例中，個體為表現人類 HLA 分子及人類 TCR 之轉殖基因小鼠。

【0421】　在一些實施例中，諸如在個體為轉殖基因 HLA 小鼠之情況下，將經鑑定之 TCR 修飾為例如嵌合或人類化的。在一些態樣中，諸如類似於已知之抗體人類化方法，修飾 TCR 支架。

【0422】　在一些實施例中，使用此類支架分子來產生 TCR 文庫。

【0423】　舉例而言，在一些實施例中，文庫包括與親本或支架 TCR 分子相比經修飾或經工程改造之 TCR 或其抗原結合部分。在一些實施例中，可使用定向演化方法來產生具有改變特性，諸如對特定 MHC-肽複合物具有更高親和力之 TCR。在一些實施例中，展示方法涉及工程改造或修飾已知、親本或參考 TCR。舉例而言，在一些情況下，野生型 TCR 可用作用於產生突變誘發 TCR 之模板，其中 CDR 之一或多個殘基發生突變，且選擇具有所需改變特性，諸如對所需標靶抗原具有更高親和力之突變體。在一些實施例中，藉由包括但不限於以下之展示方法實現定向演化：酵母展示(Holler 等人 (2003) *Nat. Immunol.* 4:55-62；Holler 等人 (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97:5387-5392)、噬菌體展示(Li 等人 (2005) *Nat. Biotechnol.* 23:349-354)或 T 細胞展示(Chervin 等人 (2008) *J. Immunol. Methods* 339:175-184)。

【0424】　在一些實施例中，文庫可為可溶性的。在一些實施例中，文庫為展示

文庫，其中 TCR 展示在噬菌體或細胞之表面上，或附接至粒子或分子，諸如細胞、核糖體或核酸，諸如 RNA 或 DNA。通常，包括正常及疾病 TCR 文庫或多樣化文庫之 TCR 文庫可呈任何形式產生，包括呈異源二聚體形式或呈單鏈形式。在一些實施例中，TCR 之一或多個成員可為雙鏈異源二聚體。在一些實施例中，可藉由引入二硫鍵來促進 Vα 與 Vβ 鏈之配對。在一些實施例中，TCR 文庫之成員可為 TCR 單鏈(scTv 或 ScTCR)，在一些情況下，其可包括由連接子分開之 Vα 及 Vβ 鏈。另外，在一些情況下，在自文庫篩選及選擇 TCR 之後，所選成員可呈任何形式產生，諸如全長 TCR 異源二聚體或單鏈形式或其抗原結合片段。

【0425】　鑑定與在 MHC 分子背景中之肽結合之分子的其他方法亦描述於美國專利申請案第 2020/0182884 號中。

【0426】　更一般地，本發明涵蓋對與 MAGEA1 或其抗原結合或調節 MAGEA1 或其抗原活性之試劑，諸如測試蛋白進行篩選之分析。此類試劑包括但不限於抗體、蛋白質、融合蛋白、小分子及核酸。在一些實施例中，用於鑑定調節免疫反應之試劑之方法需要測定候選試劑調節 MAGEA1 活性及進一步調節所關注之免疫反應的能力，諸如調節細胞毒性 T 細胞活化及/或活性、癌細胞對免疫檢查點療法之敏感性及其類似方面。

【0427】　在一些實施例中，分析為無細胞或基於細胞之分析，其包括將標靶與測試劑接觸，且諸如藉由量測如下所述之直接或間接參數，測定測試劑調節(例如，上調或下調)標靶之量及/或活性的能力。

【0428】　在一些實施例中，分析為基於細胞之分析，諸如包括以下之分析：使(a)所關注之細胞與測試劑接觸且測定測試劑調節標靶之量及/或活性的能力，諸如結合特性。測定多肽相互結合或相互作用之能力可藉由例如量測直接結合或藉由量測免疫細胞活化或功能之參數來實現。

【0429】　在另一實施例中，分析為基於細胞之分析，其包括使細胞(諸如癌細

胞)與免疫細胞(例如，細胞毒性 T 細胞)及測試劑接觸，且諸如藉由量測如下所述之直接或間接參數，測定測試劑調節標靶之量及/或活性，及/或調節免疫反應的能力。

【0430】 上文及本文描述之方法亦可適用於測試一或多種已知調節本文描述之一或多種生物標記物之量及/或活性的試劑，以確認該一或多種生物標記物之調節及/或確認試劑對所需表型讀數之影響，諸如調節之免疫反應、對免疫檢查點阻斷之敏感性及其類似方面。

【0431】 在直接結合分析中，生物標記蛋白(或其各別標靶多肽或分子)可與放射性同位素或酶標記偶合，以便可藉由偵測複合物中之標記蛋白或分子來確定結合。舉例而言，標靶可直接或間接地用 ^{125}I、^{35}S、^{14}C 或 ^{3}H 標記，且藉由對放射性發射直接計數或藉由閃爍計數來偵測放射性同位素。或者，可用例如辣根過氧化酶、鹼性磷酸酶或螢光素酶以酶法標記標靶，且藉由測定適當受質至產物之轉化來偵測酶標記。亦可使用標準結合或酶分析分析法來測定標靶與受質之間的相互作用。在上述分析方法之一或多個實施例中，可能需要固定多肽或分子以促進一種或兩種蛋白質或分子之複合形式與未復合形式之分離，以及適應分析之自動化。

【0432】 可在任何適合容納反應物之容器中實現測試劑與標靶之結合。此類容器之非限制性實例包括微量滴定盤、試管及微量離心管。本發明所涵蓋之抗體之經固定形式亦可包括與固相結合之抗體，該固相如多孔、微孔(具有小於約一微米之平均孔徑)或大孔(具有超過約 10 微米之平均孔徑)材料，諸如膜、纖維素、硝基纖維素或玻璃纖維；珠粒，諸如由瓊脂糖或聚丙烯醯胺或乳膠製成之珠粒；或器皿、盤或孔之表面，諸如由聚苯乙烯製成之器皿、盤或孔之表面。

【0433】 例如，在直接結合分析中，多肽可與放射性同位素或酶標記偶合，以便可藉由偵測複合物中之標記蛋白來確定多肽相互作用及/或活性，諸如結合事

件。舉例而言，多肽可直接或間接地用 ^{125}I、^{35}S、^{14}C 或 ^{3}H 標記，且藉由對放射性發射直接計數或藉由閃爍計數來偵測放射性同位素。或者，可用例如辣根過氧化酶、鹼性磷酸酶或螢光素酶以酶法標記多肽，且藉由測定適當受質至產物之轉化來偵測酶標記。

【0434】　在不標記任何相互作用物之情況下測定試劑調節所關注之參數之能力亦在本發明之範疇內。例如，可使用微生理計來偵測多肽之間的相互作用，而無需標記將監測之多肽(McConnell 等人 (1992) *Science* 257:1906-1912)。如本文所用，「微生理計」(例如，Cytosensor®)為一種分析儀器，其使用光定址電位感測器(LAPS)量測細胞酸化其環境之速率。此酸化速率之變化可用作化合物與受體之間的相互作用之指標。

【0435】　在一些實施例中，測定測試劑(例如抗體、融合蛋白、肽或小分子)調節一組給定多肽之間的相互作用之能力可藉由測定該組多肽之一或多個成員之活性來實現。例如，蛋白質及/或一或多種結合搭配物之活性可藉由偵測細胞第二信使(例如細胞內信號傳導)之誘導、偵測適當受質之催化/酶活性、偵測報導基因(包含與編碼可偵測標記物之核酸可操作性連接之標靶響應性調控元件，例如氯黴素乙醯轉移酶)之誘導或偵測由蛋白質及/或一或多種結合搭配物調節之細胞反應來測定。例如，可藉由在增殖分析中量測化合物調節免疫細胞共刺激或抑制之能力，或藉由乾擾該多肽與識別其一部分之抗體結合之能力來測定測試劑與該多肽結合或相互作用之能力。

【0436】　當添加至活體外分析時，調節標靶量及/或活性，諸如與一或多種結合搭配物之相互作用之試劑可藉由其抑制免疫細胞增殖及/或效應功能，或誘導無能、純系缺失及/或耗竭之能力來鑑定。例如，可在經由活化受體刺激信號轉導之試劑存在下培養細胞。許多公認之細胞活化讀數可用於量測在試劑存在之情況下的細胞增殖或效應功能(例如，抗體產生、細胞介素產生、吞噬作用)。使

用所屬領域已知之技術，藉由量測試劑實現所量測之增殖或效應功能降低的能力，可容易地確定測試劑阻斷此活化之能力。

【0437】　例如，如 Freeman 等人 (2000) *J. Exp. Med.* 192:1027 及 Latchman 等人 (2001) *Nat. Immunol.* 2:261 所述，可在 T 細胞分析中測試本發明所涵蓋之試劑抑製或增強共刺激之能力。可自人類 PBMC 中分離 CD4+ T 細胞且用活化抗 CD3 抗體進行刺激。T 細胞之增殖可藉由 ^{3}H 胸苷併入來量測。可在分析中有或無 CD28 共刺激下進行分析。可用 Jurkat T 細胞及來自 PBMC 之 PHA-胚細胞進行類似分析。

【0438】　或者，可測試本發明所涵蓋之試劑調節細胞之細胞介素產生之能力，該等細胞介素由免疫細胞產生或其產生在免疫細胞中響應於一或多種生物標記物之調節而增強或抑制。所關注之免疫細胞釋放之指示性細胞介素可藉由 ELISA 或藉由阻斷細胞介素之抗體抑制免疫細胞增殖或由細胞介素誘導之其他細胞類型增殖之能力來鑑定，諸如在實例部分中描述之彼等。活體外免疫細胞共刺激分析亦可用於鑑定可藉由調節一或多種生物標記物來調節之細胞介素的方法中。例如，若在共刺激時誘導之特定活性，諸如免疫細胞增殖，無法藉由添加已知細胞介素之阻斷抗體來抑制，則該活性可能由未知細胞介素之作用引起。在共刺激之後，可藉由習知方法自培養基中純化此細胞介素，且藉由其誘導免疫細胞增殖之能力量測其活性。為鑑定可能在誘導耐受性中起作用之細胞介素，可使用如上所述之活體外 T 細胞共刺激分析。在此情況下，將給與 T 細胞初級活化信號且與選定之細胞介素接觸，但不會給與共刺激信號。在洗滌免疫細胞及靜息後，細胞將再次受到初級活化信號及共刺激信號之攻擊。若免疫細胞無反應(例如，增殖或產生細胞介素)，則其已變得耐受且細胞介素未阻止耐受性之誘導。然而，若免疫細胞有反應，則細胞介素阻止耐受性之誘導。彼等能夠阻止耐受性之誘導之細胞介素可與阻斷 B 淋巴球抗原之試劑一起在活體內靶向阻斷，作為

在移植接受者或患有自體免疫性疾病之個體中誘導耐受性之更有效手段。

【0439】 在一些實施例中，本發明所涵蓋之分析為一種無細胞分析法，用於篩選調節生物標記物及/或一或多種結合搭配物之間的相互作用之試劑，其包括使多肽及一或多種天然結合搭配物或其生物活性部分與測試劑接觸且測定測試化合物調節多肽與一或多種天然結合搭配物或其生物活性部分之間的相互作用之能力。可如上所述直接或間接測定測試化合物之結合。在一個實施例中，分析包括將多肽或其生物活性部分與其結合搭配物接觸以形成分析混合物，使該分析混合物與測試化合物接觸，且測定測試劑與分析混合物中之多肽相互作用的能力，其中測定測試劑與多肽相互作用之能力包括測定測試劑與結合搭配物相比優先結合多肽或其生物活性部分之能力。

【0440】 在一些實施例中，無論基於細胞之分析抑或無細胞之分析，均可進一步分析測試劑以確定其是否影響多肽與一或多種結合搭配物以及其他結合搭配物之間的相互作用之結合及/或活性。其他有用之結合分析方法包括使用即時生物分子相互作用分析(BIA) (Sjolander 及 Urbaniczky (1991) *Anal. Chem.* 63:2338-2345 及 Szabo 等人 (1995) *Curr. Opin. Struct. Biol.* 5:699-705)。如本文所用，「BIA」係一種用於即時研究生物特異性相互作用之技術，無需標記任何相互作用物(例如，Biacore®)。表面電漿子共振(SPR)之光學現象之變化可用作生物多肽之間即時反應之指示。所關注之多肽可固定在 Biacore®晶片上，且可測試多種試劑(阻斷抗體、融合蛋白、肽或小分子)與所關注之多肽之結合。Fitz 等人(1997) *Oncogene* 15:613 描述使用 BIA 技術之一個實例。

【0441】 本發明所涵蓋之無細胞分析適用於使用可溶性及/或膜結合形式之蛋白質。在使用膜結合形式蛋白質之無細胞分析之情況下，可能需要利用增溶劑以使蛋白質之膜結合形式保持在溶解狀態。此類增溶劑之實例包括非離子型去汙劑，諸如正辛基葡糖苷、正十二烷基葡糖苷、正十二烷基麥芽糖苷、辛醯基-N-

甲基葡糖醯胺、癸醯基-N-甲基葡糖醯胺、Triton® X-100、Triton® X-114、Thesit®、異十三聚(乙二醇醚)$_n$、3-[(3-膽醯胺丙基)二甲基胺基]-1-丙磺酸酯(CHAPS)、3-[(3-膽醯胺丙基)二甲基胺基]-2-羥基-1-丙磺酸鹽(CHAPSO)或N-十二烷基=N,N-二甲基-3-氨基-1-丙磺酸酯。

【0442】 在上述分析方法之一或多個實施例中，可能需要固定任一多肽以促進一種或兩種蛋白質之複合形式與未復合形式之分離，以及適應分析之自動化。可在任何適合容納反應物之容器中實現測試劑與多肽之結合。此類容器之實例包括微量滴定盤、試管及微量離心管。在一個實施例中，可提供一種融合蛋白，其添加一個域，該域允許一種或兩種蛋白質與基質結合。例如，基於麩胱甘肽-S-轉移酶之多肽融合蛋白，或麩胱甘肽-S-轉移酶/標靶融合蛋白，可吸附至麩胱甘肽瓊脂糖珠(Sigma Chemical, St. Louis, MO)或麩胱甘肽衍生之微量滴定盤上，接著與測試化合物組合，且將混合物在有助於形成複合物之條件下(例如，在鹽及 pH 之生理條件下)培育。培育後，洗滌珠粒或微量滴定盤孔以移除任何未結合之組分，在珠粒之情況下固定基質，例如如上所述，直接或間接測定複合物。或者，複合物可自基質中解離，且使用標準技術測定多肽結合或活性之水準。

【0443】 本發明進一步關於藉由上述篩選分析鑑定之新穎試劑。因此，在適當模型系統中進一步使用如本文所述鑑定之試劑在本發明之範疇內。例如，如本文所述鑑定之試劑可用於模型系統中以確定用此類試劑治療之功效、毒性或副作用。或者，如本文所述鑑定之試劑可用於模型系統中以確定此類試劑之作用機制。此外，本發明係關於藉由上述篩選分析鑑定之新穎試劑用於本文所述之治療的用途。

d. 預測醫學

【0444】 本發明亦關於預測醫學領域，其中診斷分析、預後分析及監測臨床試驗用於達成預後(預測)目的，從而預防性地治療個體。因此，本發明所涵蓋之

一個態樣涵蓋診斷分析，用於確定(例如，偵測)生物樣品(例如，血液、血清、細胞或組織)中 MAGEA1 之存在、不存在、量及/或活性水準或對 MAGEA1 之反應性，從而確定患有以 MAGEA1 表現為特徵之病症之個體是否可能對療法有反應，無論在原始狀態下抑或在複發時。此類分析可用於達成預後或預測目的，從而在以 MAGEA1 表現為特徵之病症發作之前或複發之後預防性治療個體。

【0445】 此外，本文所述之診斷方法可用於鑑定患有與 MAGEA1 表現或缺乏相關之病症或有患上該病症之風險之個體。如本文所用，術語「異常」包括 MAGEA1 相對於正常水準上調或下調。異常表現或活性包括表現或活性增加或減少，以及不遵循表現之正常發展模式或表現之亞細胞模式的表現或活性。例如，異常水準意欲包括生物標記物基因或調控序列中之突變，或染色體基因之擴增，導致所關注之生物標記物上調或下調之情況。如本文所用，術語「不想要」包括涉及生物反應，諸如免疫細胞活性之不想要之現象。

【0446】 本文所述之分析，諸如前述診斷分析或以下分析，可用於鑑定患有與 MAGEA1 失調相關之病症或有發展該病症之風險之個體。因此，本發明提供一種用於鑑定與異常或不想要之 MAGEA1 調控相關之病症之方法，其中自個體獲得測試樣品且偵測 MAGEA1 表現，其中 MAGEA1 表現之存在將患者診斷為患有與異常或不想要之 MAGEA1 表現相關之病症或有發展該病症之風險。如本文所用，「測試樣品」係指自所關注之個體獲得之生物樣品。例如，測試樣品可為生物流體(例如，腦脊髓液或血清)、細胞樣品或組織，諸如腫瘤微環境、瘤週區域及/或瘤內區域之組織病理學切片。

【0447】 此外，本文所述之預後分析可用於確定個體是否可投與本文所述之藥劑以治療與異常或不想要之 MAGEA1 表現相關之此類病症。例如，此類方法可用於確定個體是否可用一種藥劑或藥劑之組合有效治療。因此，本發明提供用於確定個體是否可用本文所述之一或多種藥劑有效治療以治療與異常或不想要

之 MAGEA1 表現相關之病症的方法。

【0448】 本文所述之方法可例如藉由利用包含至少一種本文所述之抗體試劑的預包裝之診斷套組來進行，該等套組可方便地用於例如臨床環境中以診斷展現出涉及所關注之生物標記物之疾病或病症之症狀或家族史的患者。

【0449】 此外，表現所關注之生物標記物之任何細胞類型或組織均可用於本文所述之預後分析中。

e. 臨床試驗期間之作用監測

【0450】 監測以 MAGEA1 表現為特徵之病症之療法(例如化合物、藥物、疫苗、細胞療法及其類似物)對免疫反應，諸如 T 細胞反應性(例如，結合之存在及/或 T 細胞活化及/或效應功能)之影響，不僅可應用於基礎候選 MAGEA1 抗原結合分子篩選，亦可應用於臨床試驗中。例如，可在罹患以 MAGEA1 表現為特徵之病症之個體的臨床試驗中監測本文所述之免疫原性肽、pMHC、經工程改造之細胞、結合蛋白及相關組合物增加針對所關注之細胞，諸如表現 MAGEA1 之過度增殖細胞之免疫反應(例如，T 細胞免疫反應)的有效性。在此類臨床試驗中，結合之存在及/或 T 細胞活化及/或效應功能(例如，T 細胞增殖、殺傷及/或細胞介素釋放)可用作特定細胞、組織或系統之表型之「讀出」或標記物。類似地，可在患有以 MAGEA1 表現為特徵之病症之個體的臨床試驗中監測如本文所述之利用經工程改造以表現結合蛋白(例如，TCR、TCR 之抗原結合片段、CAR 或包含 TCR 及效應域之融合蛋白)之 T 細胞的適應性 T 細胞療法增加對表現 MAGEA1 之所關注之細胞(諸如過度增殖細胞)之免疫反應的有效性。在此類臨床試驗中，結合之存在及/或 T 細胞活化及/或效應功能(例如，T 細胞增殖、殺傷及/或細胞介素釋放)可用作特定細胞、組織或系統之表型之「讀出」或標記物。

【0451】 在一些實施例中，本發明提供一種用於監測療法(例如，化合物、藥物、疫苗、細胞療法及其類似物)之治療有效性之方法，該方法包括以下步驟：

a)在針對以 MAGEA1 表現為特徵之病症向個體提供療法之至少一部分之前自個體獲得之第一樣品中，測定自個體獲得之樣品與至少一種結合蛋白或相關組合物之間的反應性之不存在、存在或水準，及 b)在提供療法之部分之後自個體獲得之第二樣品中，測定一或多種結合蛋白或相關組合物與存在之自個體獲得之樣品之間的反應性之不存在、存在或水準，其中相對於第二樣品，第一樣品中存在反應性或反應性水準較高表明該療法有效治療個體之以 MAGEA1 表現為特徵之病症，且其中相對於第二樣品，第一樣品中不存在反應性或反應性水準較低表明該療法未有效治療個體之以 MAGEA1 表現為特徵之病症。

【0452】　在一些實施例中，本發明提供一種用於監測用藥劑(例如抗體、促效劑、拮抗劑、肽模擬物、多肽、肽、核酸、小分子或藉由本文所述之篩選分析鑑定之其他候選藥物)治療個體之有效性的方法，其包括以下步驟：(i)在投與藥劑之前自個體獲得投與前樣品；(ii)偵測投與前樣品中之 MAGEA1 表現；(iii)自個體獲得一或多個投與後樣品；(iv)偵測投與後樣品中之 MAGEA1 表現；(v)比較投與前樣品中之 MAGEA1 表現與投與後樣品中之 MAGEA1 表現；及(vi)相應地改變藥劑對個體之投與。諸如藉由免疫組織化學(IHC)之生物標記物多肽分析亦可用於選擇將接受療法，諸如免疫治療之患者。

【0453】　此外，本文所述之預後方法可用於確定是否可向個體投與治療劑以治療與 MAGEA1 表現相關之病症。

f. 臨床功效

【0454】　臨床功效可藉由所屬領域已知之任何方法量測。例如，對療法之反應涉及與 MAGEA1 表現相關之病症(例如腫瘤)對療法之任何反應，較佳地涉及諸如在開始新輔助或輔助化學療法後癌細胞數目、腫瘤塊及/或腫瘤體積之變化。可在新輔助或輔助情況下評估腫瘤反應，其中全身介入後腫瘤之大小可與藉由 CT、PET、乳房 X 光攝影、超音波或觸診量測之初始大小及尺寸進行比較，且

可在組織學上估計腫瘤之細胞結構，且與開始治療前進行之腫瘤生檢之細胞結構進行比較。反應亦可藉由卡尺量測或生檢或手術切除後之腫瘤病理學檢查來評估。反應可以定量方式記錄，諸如腫瘤體積或細胞結構之變化百分比，或藉由使用半定量評分系統，諸如殘餘癌負荷(Symmans 等人(2007) *J. Clin. Oncol.* 25:4414-4422)或米勒-佩恩評分(Miller-Payne score) (Ogston 等人(2003) Breast (Edinburgh, Scotland) 12:320-327)，以定性方式記錄，如「病理完全反應」(pCR)、「臨床完全緩解」(cCR)、「臨床部分緩解」(cPR)、「臨床穩定疾病」(cSD)、「臨床進展性疾病」(cPD)或其他定性標準。腫瘤反應之評估可在新輔助或輔助療法開始後早期進行(例如，幾小時、幾天、幾週或較佳幾個月之後)。反應評估之典型終點為新輔助化學療法終止或手術切除殘留腫瘤細胞及/或腫瘤床時。

【0455】　在一些實施例中，本文所述之治療性治療之臨床功效可藉由量測臨床受益率(CBR)來確定。臨床受益率藉由確定以下各者之總和來量測：在距離療法結束至少 6 個月之時間點的完全緩解(CR)患者百分比、部分緩解(PR)患者數量及穩定疾病(SD)患者數量。此公式之簡寫為 CBR=6 個月內 CR+PR+SD。在一些實施例中，表 1 中所列之生物標記物之特定調節劑的治療方案之 CBR 為至少 25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%或更多。

【0456】　評估對癌症療法反應之其他標準與「存活」有關，包括以下所有內容：存活至死亡，亦稱為總存活期(其中死亡可能不考慮原因或與腫瘤相關)；「無復發存活期」(其中術語復發應包括局部復發及遠處復發)；無轉移存活期；無病存活期(其中術語疾病應包括癌症及與之相關之疾病)。該存活之長度可藉由參考定義之起點(例如診斷時間或治療開始時間)及終點(例如死亡、復發或轉移)來計算。此外，治療功效之標準可擴大到包括對化學療法之反應、存活概率、給定時段內之轉移概率及腫瘤復發概率。

【0457】 舉例而言，為確定適當閾值，可將所關注之特定藥劑投與至個體群體且結果可與在投與任何療法之前測定之生物標記物量測值相關。結果量測可能為對在新輔助環境中給與之療法的病理反應。或者，可在療法後的一段時間內監測 MAGEA1 表現值已知之個體之結果量測，諸如總存活期及無病存活期。在某些實施例中，向各個體投與相同劑量之藥劑。監測個體之時段可能有所不同。例如，可監測個體至少至少 1 個月、2 個月、3 個月、4 個月、5 個月、6 個月、7 個月、8 個月、9 個月、10 個月、11 個月、12 個月、14 個月、16 個月、18 個月、20 個月、25 個月、30 個月、35 個月、40 個月、45 個月、50 個月、55 個月、60 個月或更長時間。與療法結果相關之 MAGEA1 量測閾值可使用熟知之方法，諸如實例部分中描述之彼等方法來確定。

X. 細胞療法

【0458】 在本發明所涵蓋之另一態樣中，該等方法包括授受性細胞療法，其中向個體投與表現靶向 MHC 限制性抗原決定基之所提供分子的經基因工程改造之細胞(例如，表現結合蛋白(例如，TCR 或 CAR)或其抗原結合片段之細胞)。此類投與可以抗原靶向方式促進免疫細胞活化(例如，T 細胞活化)，以便靶向表現 MAGEA1 之所關注之細胞(諸如過度增殖細胞)進行破壞。

【0459】 因此，所提供之方法及用途包括用於授受性細胞療法之方法及用途。在一些實施例中，該等方法包括將細胞或含有細胞之組合物投與至個體、組織或細胞，諸如患有疾病、疾患或病症、有患上疾病、疾患或病症之風險或疑似患有疾病、疾患或病症之個體、組織或細胞。在一些實施例中，將細胞、群體及組合物投與至患有待治療之特定疾病或疾患之個體(例如，經由授受性細胞療法，諸如授受性 T 細胞療法)。在一些實施例中，將細胞或組合物投與至個體，諸如患有疾病或疾患或有患上疾病或疾患之風險之個體。在一些實施例中，該等方法由此治療(例如，改善)疾病或疾患之一或多種症狀。

【0460】　用於授受性細胞療法之細胞投與方法為已知且可與所提供之方法及組合物聯合使用(例如，美國專利公開案第 2003/0170238 號；美國專利第 4,690,915 號；Rosenberg (2011) *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 8:577-585；Themeli 等人 (2013) *Nat. Biotechnol.* 31:928-933；Tsukahara 等人 (2013) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 438:84-89；及 Davila 等人 (2013) *PLoS ONE* 8:e61338)。

【0461】　在一些實施例中，藉由自體移植進行細胞療法(例如授受性細胞療法，諸如授受性 T 細胞療法)，其中自欲接受細胞療法之個體或自源自此類個體之樣品分離及/或以其他方式製備細胞。因此，在一些實施例中，細胞源自需要治療之個體(例如，患者)，且在分離及加工之後將細胞投與至同一個體。

【0462】　在一些實施例中，藉由同種異體移植進行細胞療法(例如，授受性細胞療法，諸如授受性 T 細胞療法)，其中自除欲接受或最終接受細胞療法之個體以外之個體(例如，第一個體)分離及/或以其他方式製備細胞。在此類實施例中，接著將細胞投與至相同物種之不同個體(例如，第二個體)。在一些實施例中，第一個體及第二個體在遺傳學上一致(同基因型)。在一些實施例中，第一及第二個體在遺傳學上相似。在一些實施例中，第二個體表現與第一個體相同之 HLA 類別或超類型。

【0463】　在一些實施例中，投與細胞、細胞群體或組合物之個體為靈長類動物，諸如人類。在一些實施例中，靈長類動物為猴或猿。個體可為雄性或雌性且可為任何合適之年齡，包括嬰兒、少年、青少年、成人及老年個體。在一些實施例中，個體為非靈長類哺乳動物，諸如嚙齒類動物。在一些實例中，患者或個體係經驗證用於疾病、授受性細胞療法及/或用於評估諸如細胞介素釋放症候群(CRS)之毒性結果的動物模型。

【0464】　可藉由任何合適方式，例如藉由注射，例如靜脈內或皮下注射、眼內注射、眼周注射、視網膜下注射、玻璃體內注射、經中隔注射、鞏膜下注射、脈

絡膜內注射、前房內注射、結膜下注射(subconjectval injection)、結膜下注射(subconjuntival injection)、眼球筋膜下注射(sub-Tenon's injection)、眼球後注射、球周注射或後鞏膜旁遞送來投與結合分子，諸如 TCR、TCR 之抗原結合片段(例如，scTCR)及含有 TCR 之嵌合受體(例如，CAR)及表現其之細胞。在一些實施例中，藉由非經腸、肺內及鼻內投與結合分子，且若需要局部治療，則藉由病變內投與進行投與。非經腸輸注包括肌肉內、靜脈內、動脈內、腹膜內或皮下投與。給藥及投與可部分地視投與為短暫還是長期而定。各種給藥方案包括但不限於在多個時間點單次或多次投與、推注投與及脈衝輸注。

【0465】　對於疾病之預防或治療，結合分子或細胞之適當劑量可視有待治療之疾病之類型、結合分子之類型、疾病之嚴重程度及病程、投與結合分子係出於預防目的抑或治療目的、先前療法、患者之臨床病史及對結合分子之反應而定，且由主治醫師決定。在一些實施例中，組合物及分子以及細胞適合一次性或經一系列治療投與至患者。

【0466】　在一些實施例中，細胞之投與量可為每公斤個體體重 0.1×10^6 個、0.2×10^6 個、0.3×10^6 個、0.4×10^6 個、0.5×10^6 個、0.6×10^6 個、0.7×10^6 個、0.8×10^6 個、0.9×10^6 個、1.0×10^6 個、5.0×10^6 個、1.0×10^7 個、5.0×10^7 個、1.0×10^8 個、5.0×10^8 個或更多個細胞，或介於兩者之間的任何範圍或介於兩者之間的任何值。移植之細胞數目可根據在給定時間量內所需之移植水準進行調整。通常，根據需要，可移植 1×10^5 至約 1×10^9 個細胞/公斤體重、約 1×10^6 至約 1×10^8 個細胞/公斤體重或約 1×10^7 個細胞/公斤體重或更多個細胞。在一些實施例中，相對於平均大小之小鼠，移植至少約 0.1×10^6 個、0.5×10^6 個、1.0×10^6 個、2.0×10^6 個、3.0×10^6 個、4.0×10^6 個或 5.0×10^6 個總細胞係有效的。舉例而言，在一些實施例中，可將細胞或細胞亞型之個別群體以約一百萬至約一千億個細胞之範圍及/或以下細胞量/公斤體重投與至個體：諸如 100 萬至約 500 億個細胞(例如，約 500 萬個細胞、

約 2500 萬個細胞、約 5 億個細胞、約 10 億個細胞、約 50 億個細胞、約 200 億個細胞、約 300 億個細胞、約 400 億個細胞，或由前述值中之任兩者限定之範圍)，諸如約 1000 萬至約 1000 億個細胞(例如，約 2000 萬個細胞、約 3000 萬個細胞、約 4000 萬個細胞、約 6000 萬個細胞、約 7000 萬個細胞、約 8000 萬個細胞、約 9000 萬個細胞、約 100 億個細胞、約 250 億個細胞、約 500 億個細胞、約 750 億個細胞、約 900 億個細胞或由前述值中之任兩者限定之範圍)，及在一些情況下，約 1 億個細胞至約 500 億個細胞(例如，約 1.2 億個細胞、約 2.5 億個細胞、約 3.5 億個細胞、約 4.5 億個細胞、約 6.5 億個細胞、約 8 億個細胞、約 9 億個細胞、約 30 億個細胞、約 300 億個細胞、約 450 億個細胞)或此等範圍之間及/或每公斤體重的任何值。劑量可視疾病或病症及/或患者及/或其他治療所特有之屬性而變化。

【0467】　移植之細胞之植入可藉由多種方法中之任一種來評估，諸如但不限於腫瘤體積、細胞介素水準、投與時間、在移植後之一或多個時間點自個體獲得之所關注細胞之流動式細胞測量術分析及其類似方法。例如，基於時間之分析，等待 1 天、2 天、3 天、4 天、5 天、6 天、7 天、8 天、9 天、10 天、11 天、12 天、13 天、14 天、15 天、16 天、17 天、18 天、19 天、20 天、21 天、22 天、23 天、24 天、25 天、26 天、27 天、28 天或可能標誌收穫腫瘤之時間。任何此類量度均為可根據熟知之參數進行調整之變數，以確定變數對針對抗癌免疫療法之反應之影響。此外，移植之細胞可與其他試劑共同移植，諸如細胞介素、細胞外基質、細胞培養支持物及其類似物。

【0468】　細胞亦可在其他抗癌劑之前、同時或之後投與。

【0469】　可組合及投與兩種或更多種細胞類型，諸如基於細胞之療法及幹細胞之授受性細胞轉移、癌症疫苗及基於細胞之療法及其類似物。例如，授受性基於細胞之免疫療法可與本發明所涵蓋之基於細胞之療法組合。在一些實施例中，

基於細胞之藥劑可單獨使用或與額外的基於細胞之藥劑，諸如免疫療法，如授受性 T 細胞療法(ACT)組合使用。例如，經基因工程改造以識別 CD19 之 T 細胞用於治療濾泡性 B 細胞淋巴瘤。用於 ACT 之免疫細胞可為樹突狀細胞、T 細胞(諸如 $CD8^+$ T 細胞及 $CD4^+$ T 細胞)、自然殺手(NK)細胞、NK T 細胞、細胞毒性 T 淋巴球(CTL)、腫瘤浸潤淋巴球(TIL)、淋巴因子活化殺手(LAK)細胞、記憶 T 細胞、調控 T 細胞(Treg)、輔助 T 細胞、細胞介素誘導之殺手(CIK)細胞及其任何組合。熟知之授受性基於細胞之免疫治療方式包括但不限於輻照之自體同源或同種異體腫瘤細胞、腫瘤溶解物或凋亡腫瘤細胞、基於抗原呈現細胞之免疫療法、基於樹突狀細胞之免疫療法、授受性 T 細胞轉移、授受性 CAR T 細胞療法、自體同源免疫增強療法(AIET)、癌症疫苗及/或抗原呈現細胞。此類基於細胞之免疫療法可經進一步修飾以表現一或多種基因產物，從而進一步調節免疫反應，諸如表現細胞介素，如 GM-CSF，及/或表現腫瘤相關抗原(TAA)抗原，諸如 Mage-1、gp-100 及其類似物。本發明所涵蓋之藥劑(諸如癌細胞)與本發明所涵蓋之另一藥劑或其他組合物之比率可為相對於彼此 1:1 (例如，等量之 2 種藥劑、3 種藥劑、4 種藥劑等)，但可以任何所需之量進行調節(例如，1:1、1.1:1、1.2:1、1.3:1、1.4:1、1.5:1、2:1、2.5:1、3:1、3.5:1、4:1、4.5:1、5:1、5.5:1、6:1、6.5:1、7:1、7.5:1、8:1、8.5:1、9:1、9.5:1、10:1 或更高)。

【0470】　在一些實施例中，例如在個體為人類之情況下，劑量包括少於約 1×10^8 總結合蛋白(例如，表現 TCR 或 CAR 之細胞、T 細胞或周邊血液單核細胞(PBMC)，例如在約 1×10^6 至 1×10^8 此類細胞範圍內，諸如 2×10^6、5×10^6、1×10^7、5×10^7 或 1×10^8 或全部此類細胞，或在前述值中之任兩者之間的範圍。

【0471】　在一些實施例中，本文所述之細胞或相關組合物，諸如核酸、宿主細胞、醫藥調配物及其類似物可作為組合治療之一部分投與，諸如與另一治療介入(諸如另一抗體或經工程改造之細胞或受體或藥劑，諸如細胞毒性或治療劑)同時

或以任何次序依序投與。

【0472】　在一些實施例中，細胞或相關組合物可與一或多種額外治療劑共投與，或與另一治療介入聯合，同時或以任何次序依序投與。在一些情況下，細胞或相關組合物與另一療法共投與，其時間上足夠接近，使得細胞群體增強一或多種額外治療劑之作用，反之亦然。在一些實施例中，細胞或相關組合物在一或多種額外治療劑之前投與。在一些實施例中，細胞或相關組合物在一或多種額外治療劑之後投與。

【0473】　在一些實施例中，一旦將細胞或相關組合物投與至個體(例如，人類)，即可藉由多種已知方法中之任一種量測細胞或相關組合物之生物活性。欲評估之參數包括活體內例如藉由成像或者活體外/離體例如藉由 ELISA 或流動式細胞測量術量測的經工程改造或天然 T 細胞或其他免疫細胞與抗原之特異性結合。在一些實施例中，可使用所屬領域中已知之任何合適分析或方法(例如，Kochenderfer 等人 (2009) *J. Immunother.* 32: 689-702 及 Herman 等人 (2004) *J. Immunol. Meth.* 285:25-40)來量測細胞破壞標靶細胞之能力。在一些實施例中，亦可藉由分析諸如 CD107a、IFNγ、IL-2 及 TNFα 之某些細胞介素之表現及/或分泌來量測細胞之生物活性。在一些實施例中，藉由評估諸如病毒負荷或負載減少之臨床結果來量測生物活性。

【0474】　在一些實施例中，細胞以多種方式進行修飾，使得其治療或預防功效增加。舉例而言，由群體表現之結合蛋白(例如，經工程改造之 TCR、CAR 或其抗原結合片段)可直接或經由連接子間接與靶向部分結合。使化合物與靶向部分結合之實踐係所屬領域中已知(例如，Wadwa 等人 (1995) *J. Drug Targeting* 3:111 及美國專利第 5,087,616 號)。

【0475】　諸如細胞毒性淋巴球之免疫細胞可獲自任何合適來源，諸如周邊血液、脾臟及淋巴結。免疫細胞可呈粗製劑或呈經部分純化或實質上經純化之製劑

形式使用，該等製劑可藉由標準技術獲得，該等技術包括但不限於涉及使用抗體之免疫磁性或流動式細胞測量術技術之方法。

【0476】　在某些態樣中，可在用於提供引發 MAGEA1 之抗原呈現細胞及/或用此等抗原呈現細胞產生之MAGEA1特異性淋巴球的組合物及方法中使用本文所述之 MAGEA1 免疫原性肽或編碼此類 MAGEA1 免疫原性肽之核酸。在一些實施例中，使用此類抗原呈現細胞及/或淋巴球來治療及/或預防與 MAGEA1 表現相關之病症。

【0477】　在一些態樣中，本文提供用於製造引發 MAGEA1 之抗原呈現細胞之方法，該等方法藉由在活體外，在足以使至少一種 MAGEA1 免疫原性多肽由抗原呈現細胞呈現之條件下，使抗原呈現細胞與單獨或與佐劑組合的本文所述之 MAGEA1 免疫原性多肽或編碼至少一種 MAGEA1 免疫原性多肽之核酸接觸來進行。

【0478】　在一些實施例中，可使單獨或與佐劑組合之 MAGEA1 免疫原性多肽或編碼 MAGEA1 免疫原性多肽之核酸與包含抗原呈現細胞之同質、實質上同質或異質組合物接觸。舉例而言，組合物可包括但不限於全血、新鮮血液或其部分，諸如但不限於周邊血液單核細胞、全血之膚色血球層部分、濃縮紅細胞、輻照血液、樹突狀細胞、單核球、巨噬細胞、嗜中性球、淋巴球、自然殺手細胞及自然殺手 T 細胞。若視情況使用抗原呈現細胞之前驅細胞，則可在足以使該等前驅細胞分化成抗原呈現細胞之合適培養條件下培養該等前驅細胞。在一些實施例中，抗原呈現細胞(或其前驅細胞)係選自單核球、巨噬細胞、骨髓譜系細胞、B 細胞、樹突狀細胞或朗格漢斯細胞(Langerhans cell)。

【0479】　與抗原呈現細胞接觸置放的單獨或與佐劑組合之 MAGEA1 免疫原性多肽或編碼MAGEA1免疫原性多肽之核酸之量可由一般技術者藉由常規實驗來確定。一般而言，使抗原呈現細胞與單獨或與佐劑組合之 MAGEA1 免疫原性

多肽或編碼 MAGEA1 免疫原性多肽之核酸接觸，持續足以使細胞呈現抗原之經加工形式以調節 T 細胞之時段。在一個實施例中，在單獨或與佐劑組合之 MAGEA1 免疫原性多肽或編碼 MAGEA1 免疫原性多肽之核酸存在下培育抗原呈現細胞少於約一週，說明性地，持續約 1 分鐘至約 48 小時、約 2 分鐘至約 36 小時、約 3 分鐘至約 24 小時、約 4 分鐘至約 12 小時、約 6 分鐘至約 8 小時、約 8 分鐘至約 6 小時、約 10 分鐘至約 5 小時、約 15 分鐘至約 4 小時、約 20 分鐘至約 3 小時、約 30 分鐘至約 2 小時及約 40 分鐘至約 1 小時。可例如使用脈衝追蹤方法來測定抗原呈現細胞加工及呈現抗原所需的單獨或與佐劑組合之 MAGEA1 免疫原性多肽或編碼 MAGEA1 免疫原性多肽之核酸之時間及量，其中在接觸之後為洗除期及暴露於讀出系統(例如，抗原反應性 T 細胞)。

【0480】　在某些實施例中，可使用用於將抗原遞送至抗原呈現細胞之內源加工路徑之任何適當方法。此類方法包括但不限於涉及 pH 敏感性脂質體之方法、抗原與佐劑之偶合、凋亡細胞遞送、將細胞脈衝輸送至樹突狀細胞上、將包含抗原之重組嵌合病毒樣粒子(VLP)遞送至樹突狀細胞株之 MHC I 類加工路徑。

【0481】　在一個實施例中，將溶解之 MAGEA1 免疫原性多肽與抗原呈現細胞一起培育。在一些實施例中，可使 MAGEA1 免疫原性多肽與細胞溶素偶合以增強抗原轉移至抗原呈現細胞之細胞溶質中，以遞送至 MHC I 類路徑。示例性細胞溶素包括皂苷化合物，諸如含皂苷之免疫刺激複合物(ISCOM5)、成孔毒素(例如，α-毒素)以及革蘭氏陽性細菌之天然細胞溶素，諸如李斯特菌溶血素 O (LLO)、鏈球菌溶血素 O (SLO)及穿孔球菌溶血素 O (PFO)。

【0482】　在一些實施例中，可根據所屬領域中已知之方法分離抗原呈現細胞(諸如樹突狀細胞及巨噬細胞)，且藉由所屬領域中已知之方法用多核苷酸進行轉染，以將編碼 MAGEA1 免疫原性多肽之核酸引入至抗原呈現細胞中。轉染試劑及方法為所屬領域中已知且可購得。舉例而言，可在合適培養基中提供編碼

MAGEA1 免疫原性多肽之 RNA 且與脂質(例如，陽離子脂質)組合，接著與抗原呈現細胞接觸。此類脂質之非限制性實例包括 LIPOFECTIN™ 及 LIPOFECTAMINE™。接著可使所得多核苷酸-脂質複合物與抗原呈現細胞接觸。或者，可使用諸如電穿孔或磷酸鈣轉染之技術將多核苷酸引入至抗原呈現細胞中。接著可使用負載多核苷酸之抗原呈現細胞在活體外、離體或活體內刺激 T 淋巴球(例如，細胞毒性 T 淋巴球)增殖。在一個實施例中，在授受性免疫療法方法中將離體擴增之 T 淋巴球投與至個體。

【0483】 在某些態樣中，本文提供一種包含抗原呈現細胞之組合物，該等細胞已在活體外在足以使 MAGEA1 免疫原性抗原決定基由抗原呈現細胞呈現之條件下與單獨或與佐劑組合之 MAGEA1 免疫原性多肽或編碼 MAGEA1 免疫原性多肽之核酸接觸。

【0484】 在一些態樣中，本文提供一種用於製備對 MAGEA1 蛋白具有特異性之淋巴球之方法。該方法包括在足以產生能夠引發針對感染 MAGEA1 病毒之細胞之免疫反應的 MAGEA1 蛋白特異性淋巴球之條件下，使淋巴球與上文所述之抗原呈現細胞接觸。因此，亦可使用抗原呈現細胞來提供淋巴球，包括 T 淋巴球及 B 淋巴球，用於引發針對感染 MAGEA1 病毒之細胞之免疫反應。

【0485】 在一些實施例中，使 T 淋巴球製劑與上文所述之抗原呈現細胞接觸一個時段(例如，至少約 24 小時)以將 T 淋巴球引至由抗原呈現細胞呈現之 MAGEA1 免疫原性抗原決定基。

【0486】 在一些實施例中，抗原呈現細胞群體可與周邊血液 T 淋巴球之異質群體以及單獨或與佐劑組合之 MAGEA1 免疫原性多肽或編碼 MAGEA1 免疫原性多肽之核酸一起共培養。該等細胞可進行共培養，時段及條件足以使 MAGEA1 多肽中包括之 MAGEA1 抗原決定基由抗原呈現細胞呈現且抗原呈現細胞引發 T 淋巴球群體對感染 MAGEA1 病毒之細胞作出反應。在某些實施例中，本文提供

經引發對感染 MAGEA1 病毒之細胞作出反應之 T 淋巴球及 B 淋巴球。

【0487】 T 淋巴球可獲自任何合適來源，諸如周邊血液、脾臟及淋巴結。T 淋巴球可呈粗製劑或呈經部分純化或實質上經純化之製劑形式使用，該等製劑可藉由標準技術獲得，該等技術包括但不限於涉及使用抗體之免疫磁性或流動式細胞測量術技術之方法。

【0488】 在某些態樣中，本文提供一種組合物(例如，醫藥組合物)，其包含上文所述之抗原呈現細胞或淋巴球以及醫藥學上可接受之載劑及/或稀釋劑。在一些實施例中，組合物進一步包含如上所述之佐劑。

【0489】 在某些態樣中且如上文進一步描述，本文提供一種用於引發對感染 MAGEA1 病毒之細胞之免疫反應的方法，該方法包括向個體投與足以引發免疫反應之有效量的上文所述之抗原呈現細胞或淋巴球。在一些實施例中，本文提供一種用於治療或預防以 MAGEA1 表現為特徵之病症的方法，該方法包括向個體投與有效量之上文所述之抗原呈現細胞或淋巴球。在一個實施例中，抗原呈現細胞或淋巴球係全身投與，較佳藉由注射投與。或者，可例如經由直接注射至組織中來進行局部而非全身投與，較佳在儲槽或持續釋放調配物中。

【0490】 在某些實施例中，本文所述之抗原引發之抗原呈現細胞及由此等抗原呈現細胞產生之抗原特異性 T 淋巴球可用作免疫調節組合物中之活性化合物，用於預防性或治療性治療以 MAGEA1 表現為特徵之病症。在一些實施例中，本文所述之 MAGEA1 引發之抗原呈現細胞可用於產生 $CD8^+$ T 淋巴球、$CD4^+$ T 淋巴球及/或 B 淋巴球以用於授受性轉移至個體。因此，舉例而言，MAGEA1 特異性淋巴球可在罹患以 MAGEA1 表現為特徵之病症之個體中進行授受性轉移以達成治療目的。

【0491】 在某些實施例中，本文所述之抗原呈現細胞及/或淋巴球可單獨或組合投與至個體，用於引發免疫反應，尤其引發對表現 MAGEA1 之細胞之免疫反

應。在一些實施例中，抗原呈現細胞及/或淋巴球可源自該個體(亦即，自體同源細胞)或源自與該個體 MHC 匹配或錯配之不同個體(例如，同種異體)。

【0492】　可單次或多次投與抗原呈現細胞及淋巴球，其中細胞數目及治療由照護提供者(例如，醫師)選擇。在一些實施例中，抗原呈現細胞及/或淋巴球在醫藥學上可接受之載劑中投與。合適載劑可為細胞在其中生長之生長培養基，或任何合適緩衝培養基，諸如磷酸鹽緩衝生理食鹽水。細胞可單獨或作為與其他治療劑聯合之輔助療法投與。

【0493】　在本發明所涵蓋之另一態樣中，本文提供一種用於引發對表現 MAGEA1 之細胞之免疫反應的方法，該方法包括以足以引發免疫反應之有效量向個體投與本文所述之表現結合蛋白(例如，經工程改造之 TCR、CAR 或其抗原結合片段)之細胞。在一些實施例中，本文提供一種治療或預防以 MAGEA1 表現為特徵之病症之方法，該方法包括向個體投與有效量的本文所述之表現結合蛋白(例如，經工程改造之 TCR、CAR 或其抗原結合片段)之細胞。在一個實施例中，細胞係全身投與，諸如藉由注射投與。或者，可例如經由直接注射至組織中來進行局部而非全身投與，諸如在儲槽或持續釋放調配物中。

【0494】　在一些實施例中，本文所述之表現結合蛋白(例如，經工程改造之 TCR、CAR 或其抗原結合片段)之細胞可用作免疫調節組合物中之活性化合物，用於預防性或治療性治療以 MAGEA1 表現為特徵之病症。在一些實施例中，MAGEA1 引發之抗原呈現細胞可用於產生淋巴球(例如，$CD8^+$ T 淋巴球、$CD4^+$ T 淋巴球及/或 B 淋巴球)，以進一步用於授受性轉移至具有本文所述之表現結合蛋白(例如，經工程改造之 TCR、CAR 或其抗原結合片段)之細胞的個體。

【0495】　在一些實施例中，可將本文所述之表現結合蛋白(例如，經工程改造之 TCR、CAR 或其抗原結合片段)之細胞單獨或與淋巴球組合投與至個體以引發免疫反應，尤其引發對表現 MAGEA1 之細胞之免疫反應。

【0496】 如上所述，可單次或多次投與單獨或與淋巴球組合的本文所述之表現結合蛋白(例如，經工程改造之 TCR、CAR 或其抗原結合片段)之細胞，其中細胞數目及治療由照護提供者(例如，醫師)選擇。類似地，單獨或與淋巴球組合之細胞可在醫藥學上可接受之載劑中投與。合適載劑可為細胞在其中生長之生長培養基，或任何合適緩衝培養基，諸如磷酸鹽緩衝生理食鹽水。細胞可單獨或作為與其他治療劑聯合之輔助療法投與。

XI. 套組及裝置

【0497】 本發明亦涵蓋套組及裝置。舉例而言，套組或裝置可包含封裝於合適容器中之結合蛋白、包含編碼結合蛋白之序列之核酸或載體、包含核酸或載體及/或表現如本文所述之結合蛋白之宿主細胞、穩定 MHC-肽複合物、佐劑、偵測試劑及其組合，且可進一步包含使用此類試劑之說明書。套組亦可含有其他組件，諸如封裝於單獨容器中之投與工具。套組可作為用於執行本發明所涵蓋之方法之單元來推銷、分售或銷售。

【0498】 藉由以下實例進一步說明本揭示案，該等實例不應解釋為限制性的。

實例

實例 1：實例 2 之材料及方法

a. 免疫原性抗原決定基之鑑定

(i) TCR 池之發現與設計

【0499】 TCR 序列自對免疫檢查點阻斷起反應(例如在抗 PD1 及抗 CTLA4 療法之後原發性腫瘤尺寸減少 60%)之頭頸部鱗狀細胞癌(HNSCC)患者獲得。將先前藉由對相關腫瘤生檢進行單細胞定序(10X Genomics)獲得的個別配對之 TCR α 及 TCR β 序列選殖至表現小鼠 TRBC 及 TRAC 區之單一構築體中，以創建由 P2A 分隔之人類-小鼠 TCR。TCR 構築體與 Lenti-X™細胞(Takara Bio USA, Mountain View, CA)一起封裝。簡而言之，根據製造商之方案，將 TCR 構築體與

封裝質體(pREV/pTAT/pVSVG/pGAGPOL)混合且與 jetPRIME® (Polyplus, Illkirch, France)試劑一起培育。24 小時後，用 Opti-Pro™ SFM 培養基(LifeTech)洗滌培養物。轉染後 48 小時收穫病毒上清液，且使用 Vivaspin® 20 離心濃縮器(Sartorius, Bohemia, NY)濃縮至所需體積(Sartorius, Bohemia, NY)。慢病毒力價由 GFP 或 TCRα/β 表現使用 $TCR^{-/-}$ Jurkat 細胞株確定。為量化病毒力價，轉導後 48 至 72 小時藉由流動式細胞測量術分析評估 GFP 表現。使用 CytoFLEX™流式細胞儀(Beckman Coulter)分析樣品。使用以下公式，力價計算為表現 GFP 之細胞百分比，單位為 TU/ml：TU/ml = GFP^+ % ×(轉導中使用之細胞數目)×(稀釋因子)×1000。

【0500】 將來自此患者之十種孤兒 TCR 匯集在一起以使用全基因組 TargetScan 技術鑑定其同源抗原。此篩選鑑定 MAGEA1 為新穎標靶。孤兒 TCR 之驗證及解褶積鑑定出兩種 TCR (HN-32-41 及 HN-32-39)，其識別來自由 HLA C*07:02 呈現之 MAGEA1 之相同新穎抗原決定基，HLA C*07:02 為由約 28%美國群體表現之 HLA 對偶基因。注意，術語「TCR32-39」亦可稱為「TCR39」且術語「TCR32-41」亦可稱為「TCR41」。

(ii) T 細胞工程改造

【0501】 使用 StraightFrom® Leukopak® CD8 微珠套組(Miltenyi Biotec)根據製造商方案分離初級 $CD8^+$ T 細胞。將經分離之細胞冷凍在 CryoStor® CS10 (Stem Cell Technologies)中且儲存在液氮中直至使用。在第-1 天，將 $CD8^+$ T 細胞解凍，用完全 T 細胞培養基(RPMI 1640，補充有 10%熱滅活胎牛血清(FBS)、100 IU/mL 青黴素(penicillin)、100 μg/mL 鏈黴素(streptomycin)、重組人類 IL-2 [50U/mL；PeproTech, Cranbury, NJ]、重組人類 IL-15 [5 ng/mL，R&D Systems]及重組人類 IL-7 [5 ng/mL，(R&D Systems])洗滌。在第 0 天，將 $CD8^+$ T 細胞洗滌且再懸浮於新鮮 T 細胞培養基且使用 ImmunoCult™ 人類 CD3/CD28/CD2 T 細胞活化劑(5

μL/1×10^6 CD8$^+$ T細胞，Stem Cell Technologies)活化。在第1天，將細胞洗滌且再懸浮於新鮮完全T細胞培養基中，且跨越11個孔，以每孔1×10^{6}個細胞塗鋪。各孔經慢病毒粒子轉導以表現獨特孤兒 TCR 或已知靶向特定抗原之對照 TCR (10種孤兒TCR + 1種對照TCR；總共11個孔)。在第2天，將細胞洗滌且再懸浮於新鮮完全T細胞培養基中且在G-Rex®24孔盤(Wilson Wolf)中擴增直至第5天。在第5天，收穫細胞，將10種孤兒TCR之個別轉導組合，而經對照TCR轉導之細胞獨立地維持且將細胞濃度在 MACS 操作緩衝液(Miltenyi)中調至100×10^6 CD8$^+$ T細胞/毫升，且在室溫下抗mTCR生物素抗體(BioLegend)以1:50稀釋度添加10分鐘，接著用MACS操作緩衝液洗滌。抗生物素微珠(Miltenyi)以1:5稀釋度添加且在室溫下培育10分鐘。將細胞用MACS操作緩衝液洗滌且再懸浮於MACS操作緩衝液中，以使用QuadroMACS分離器及LS管柱(Miltenyi)進行手動磁性分離。將經分離之細胞洗滌且再懸浮於新鮮完全 T 細胞培養基中且在 G-Rex®10 燒瓶(Wilson Wolf)中擴增，直至第 12 天，此刻將細胞冷凍在CryoStor® CS10中且儲存在液氮中，直至使用。將表現10種孤兒TCR或陽性對照TCR池之CD8$^+$ T細胞解凍，組合，且藉由在GRex®100燒瓶(Wilson Wolf)中將 T 細胞與經輻照(60 戈雷(gray))之同種異體 PBMC 在新鮮 T 細胞培養基(RPMI 1640，補充有10%熱滅活胎牛血清(FBS)、100 IU/mL青黴素、100 μg/mL鏈黴素、重組人類IL-2 [50U/mL，PeproTech])中在0.1 μg/mL抗CD3 (OKT3，eBioscience)及 50 U/mL 重組 IL-2 (Peprotech)存在下共培養而再刺激(進一步擴增)。每隔一天將50 U/mL重組IL-2添加至擴增細胞直至第6天。在第6天，將一半培養基替換為含有50 U/mL重組IL-2之新鮮T細胞培養基。第7天使用細胞進行篩選。

【0502】 使用StraightFrom® Leukopak® CD3微珠套組(Miltenyi Biotec)根據製造商方案自Leukopak分離初級CD3+ T細胞。將經分離之細胞冷凍在CryoStor®

CS10 (Stem Cell Technologies)中且儲存在液氮中直至使用。在第-1 天，將 $CD3^+$ T細胞解凍，用完全T細胞培養基(RPMI 1640，補充有 10%熱滅活胎牛血清(FBS)、100 IU/mL 青黴素、100 μg/mL 鏈黴素、重組人類 IL-2 [50U/mL；PeproTech, Cranbury, NJ]、重組人類 IL-15 [5 ng/mL，R&D Systems]及重組人類 IL-7 [5 ng/mL，(R&D Systems])洗滌。在第 0 天，將 $CD3^+$ T 細胞洗滌且再懸浮於新鮮 T 細胞培養基且使用 ImmunoCult™ 人類 CD3/CD28/CD2 T 細胞活化劑(5 μL/1×10^6 $CD3^+$ T 細胞，Stem Cell Technologies)活化。在第 1 天，將細胞洗滌且再懸浮於新鮮完全 T 細胞培養基中，且以每孔 1×10^6 個細胞塗鋪。孔一式三份經慢病毒粒子轉導以表現 TCR HN-32-41 或 HN-32-39。在第 2 天，將細胞洗滌，一式三份再懸浮且組合於新鮮完全 T 細胞培養基中，且在 G-Rex® 6 孔盤(Wilson Wolf)中之 1 個孔中擴增直至第 5 天。在第 5 天，收穫細胞，且在 4°C下將細胞濃度在 EasySep 緩衝液(StemCell 公司)及具有 CD34 磁性珠粒之 FcBlock 溶液(Miltenyi)中調至 100×10^6 $CD3^+$ T 細胞/mL，歷時 30 分鐘，用 EasySep 緩衝液洗滌，且使用 QuadroMACS 分離器及 LS 管柱(Miltenyi)分開。將經分離之細胞洗滌且再懸浮於新鮮完全 T 細胞培養基中且在 G-Rex®10 燒瓶(Wilson Wolf)中擴增，直至第 12 天，此刻將細胞冷凍在 CryoStor® CS10 中且儲存在液氮中，直至使用。

(iii) 肽文庫設計

【0503】 人類全基因組肽文庫係藉由將跨越人類基因組之所有蛋白質之人類基因組編碼序列在重疊 90 聚體胺基酸瓦塊下平鋪產生。瓦塊在矽晶片 (Twist Bioscience)上合成且選殖至慢病毒表現載體中。

(iv) 文庫病毒封裝及滴定

【0504】 為產生表現肽文庫之報導細胞，首先使用 Lenti-X™細胞(Takara Bio USA, Mountain View, CA)封裝肽文庫構築體。簡而言之，將 Lenti-X™細胞以 75%之匯合度塗鋪在 CellBIND®聚苯乙烯 CellSTACK® 5 疊層室(Corning)中，且使

用 jetPRIME®轉染試劑(Polyplus, Illkirch, France)進行轉染。根據製造商之方案，將肽文庫與封裝質體(pREV/pTAT/pVSVG/pGAGPOL)混合且與 jetPRIME®試劑一起培育。在轉染後 24 小時添加 Opti-Pro™ SFM 培養基(LifeTech)。轉染後 48 小時收穫病毒上清液，且使用 Vivaflow® 50 盒(Sartorius, Bohemia, NY)濃縮。使用 Lenti-X™細胞，使用病毒上清液之連續稀釋液，藉由嘌呤黴素(puromycin)菌落形成來測定慢病毒力價。為量化病毒力價，在轉導後 48 小時選擇嘌呤黴素抗性菌落。藉由結晶紫染色目測嘌呤黴素抗性菌落且計數。使用以下公式將力價計算為菌落形成單位，單位為 TU/ml：TU/ml=嘌呤黴素抗性菌落數×稀釋倍數×1000。

【0505】 藉由使用 CRISPR 在 HEK293T 細胞中敲除內源 HLA-A/B/C 來產生報導細胞，且進行工程改造以表現顆粒酶活化之紅外螢光蛋白(IFP)及顆粒酶活化之促翻轉酶(Ferretti 等人 (2020) *Immunity* 53:1095-1107)。用於篩選之報導細胞經工程改造以表現 TCR 獲自之個體所表現的所有六種 HLA 對偶基因：人類 HLA-A*01:01、A*03:01、B*07:02、B*08:01、C*07:01 及 C*07:02 (V1 P32 HEK Screps)。

【0506】 將報導細胞(V1 P32 HEK Screps)經慢病毒粒子轉導以在完全 DMEM (1X DMEM，補充有 10%胎牛血清、100 IU/mL 青黴素、100 µg/mL 鏈黴素)中在 MOI 5 下表現 PEP LIB V2 PLUS 文庫。此文庫由>600,000 個構築體(瓦塊)構成，各構築體由 90 個胺基酸構成，代表人類蛋白質體。轉導次日，將完全 DMEM 培養基更新且細胞維持在培養物中或冷凍在補充有 10% DMSO 之完全 DMEM 中，直至需要。

(v) 顆粒酶殺死之細胞之共培養及富集

【0507】 在 T 細胞擴增第 7 天，將 T 細胞以 2:1 之 E:T 比率添加至經文庫轉導之報導細胞中且在 37°C下培育 4 小時。在培育之後，藉由胰蛋白酶消化及離

心收穫所有細胞，使細胞再懸浮於 1X 膜聯蛋白 V 結合緩衝液(Miltenyi Biotec)且離心。使細胞在膜聯蛋白 V 磁性微珠(Miltenyi Biotec)下再懸浮於 1X 膜聯蛋白 V 結合緩衝液(每 1×10^9 總細胞，9 mL 膜聯蛋白 V 結合緩衝液中 1 mL 微珠)中且在室溫下培育 15 分鐘。將細胞用 5X 體積之膜聯蛋白 V 結合緩衝液洗滌且離心。使細胞再懸浮於膜聯蛋白 V 結合緩衝液中，且接著經 2 次「megarep」分開且使用 70 μM 細胞過濾器(Corning)過濾。使用 AutoMACS Pro (Miltenyi Biotec)對膜聯蛋白 V 標記之細胞進行陽性選擇。各「megarep」之溶析進一步經四次「重複實驗」分開，每次篩選總共 8 次技術重複實驗。使用 MoFlo Astrios EQ 細胞分選儀(Beckman Coulter)來分選 IFP^+細胞且儲存在 DNA/RNA Shield™ (Zymo Research)中供後續分析。

(vi) 下一代定序(NGS)及資料分析

【0508】 使用 GeneJET™基因組 DNA 純化套組(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)提取基因組 DNA，且使用兩輪 PCR 擴增準備用於 NGS 定序。簡而言之，第一輪 PCR 擴增肽卡匣，且第二輪添加定序銜接子及樣本索引，接著使用 Illumina NextSeq™儀器(Illumina, San Diego, CA)進行定序。

【0509】 核苷酸序列映射至個別核苷酸瓦塊。針對各篩選重複實驗(n = 8)且針對經轉導之報導細胞之各池的輸入，計算各瓦塊之讀段計數的比例，且藉由篩選重複實驗中之瓦塊之比例除以輸入文庫中之瓦塊之比例來計算各瓦塊之富集。跨越 8 個篩選重複實驗，一致瓦塊之富集之修正幾何平均值用於鑑定可再現之篩選命中。

b. TCR 發現

(i) HLA 限制之鑑定

【0510】 因為全基因組篩選中使用之報導細胞表現六種 HLA 對偶基因：A*01:01、A*03:01、B*07:02、B*08:01、C*07:01 及 C*07:02，所以需要針對所

鑑定之 MAGEA1 抗原決定基將 HLA 限制解褶積。個別表現 6 種 HLA 對偶基因中之各者的單對偶基因 HEK 報導細胞經慢病毒粒子以 MOI 1 轉導，以表現代表來自篩選之最高評分之 MAGEA1 瓦塊的個別 90 胺基酸片段。在完全 DMEM 中用嘌呤黴素(1.5 ug/mL)選擇細胞。在與 T 細胞池以約 2:1 之 E:T 比率共培養前一天接種細胞。在 4 小時之後，藉由吸移收穫共培養物且使用 CytoFLEX™ S 儀器(Beckman Coulter)偵測報導基因之螢光。

(ii) 對應 TCR 之鑑定

【0511】 為自經 TCR 轉導之 T 細胞池中鑑定相應 TCR，將經工程改造以表現 MAGEA1 90 聚體之 MHC 單對偶基因 C*07:02 HEK293T 細胞與 T 細胞池以 1:1 之 E:T 比率共培養 16-24 小時。將 T 細胞混合，藉由移液來收集，且按照製造商之說明書用 CD137 微珠套組(Miltenyi)進行標記。簡而言之，T 細胞首先用 PE 標記之抗 CD137 及 AF647 標記之抗 CD69 (BioLegend)染色，洗滌，且接著用抗 PE 微珠標記。用 autoMACS® Pro 分離器(Miltenyi)富集經標記之細胞，且在 MoFlo® Astrios™細胞分選器(Beckman Coulter)上分選 CD137 及 CD69 雙重陽性細胞。自分選之細胞中提取基因組 DNA，且對 TCR 表現卡匣進行 PCR 擴增且準備用於下一代定序(NGS)。

(iii) 肽預測及標靶驗證

【0512】 利用 NetMHC4.0 (可在全球資訊網 cbs.dtu.dk 上獲得)使用得分>2.5 倍之重疊肽序列來預測 MHC 結合，且合成最高預測之 MHC 結合肽(Genscript)。用各候選肽 0-20,000 ng/ml 之連續稀釋液對單對偶基因 C*07:02 HEK293T 報導細胞進行脈衝輸送 1 小時，且接著以約 1:1 之 E:T 比率與經 TCR 轉導之 T 細胞(HN-32-39 或 HN-32-41)共培養。4 小時後，藉由移液收穫培養物且使用 CytoFLEX™ S 儀器(Beckman Coulter)偵測報導基因之螢光。另外，用肽 VRFFFPSL 之 0-500 pM 之連續稀釋液對單對偶基因 C*07:02 HEK293 懸浮細胞

進行脈衝輸送 2 小時，且接著以 1:1 之 E:T 比率與經 TCR 轉導之 T 細胞(HN-32-39 或 HN-32-41)共培養隔夜。接著藉由移液收穫細胞，且以 2,000 rpm 離心 2 分鐘。收集上清液，以使用人類 IFNγ 第三代單重分析法(Protein Simple)進行 IFNγ 量測。

c. TCR 表徵

(i) T 細胞識別分析

【0513】 為偵測對癌細胞株之反應性，將野生型癌細胞株接種在 96 孔平底盤中，且在 37°C下在 5% CO_2 中靜置隔夜。第二天，將 T 細胞解凍，在完全 RPMI-1640 培養基中洗滌，且添加至孔中，使效應物與標靶物(E:T)比率達到 1:1，用於 IFNγ 量測，或達到 1:4，用於對活化誘導之標記物進行流動式細胞測量術分析。將共培養物培育隔夜。接著藉由移液收穫細胞，轉移至 V 型底 96 孔盤中，且以 2,000 rpm 離心 2 分鐘。收集上清液，以使用人類 IFNγ 第三代單重分析法(Protein Simple)進行 IFNγ 量測。對於流動式細胞測量術分析(Cytoflex S™儀器，Beckman Coulter)，將細胞團塊用 FACS 緩衝液(PBS、0.5% BSA、2 mM EDTA)洗滌，且針對活化誘導之標記物染色，包括 PE 結合之抗 CD137 (Miltenyi)、AF647 結合之抗 CD69 (Biolegend)及 BV421 結合之抗 CD8 (BioLegend)。

(ii) 癌細胞培養及 Incucyte® NucLight™ Red 轉導

【0514】 癌細胞株購自 ATCC (Manassas, VA)，且 HEK293T 細胞最初購自 Takara Bio (Shiga, Japan)。除了 U266B1 需要 15% FBS 外，所有培養基均補充有 10% FBS，及 1%青黴素，且在 37°C下在 5% CO_2 中培育。A101D (高 MAGE-A1 表現之細胞；TPM：359)、A2058 (中等 MAGE-A1 表現之細胞；TPM：128)、HS294T 及 HEK293T 細胞維持在完全 DMEM 中。SK-MEL-5 在完全 EMEM 中培養，而 U266B1、NCIH1437 及 786-O 需要完全 RPMI。維持未轉導之癌細胞以準備用於 T 細胞識別分析，且用 Incucyte® NucLight™ Red 慢病毒試劑(Sartorius,

Göttingen, Germany)引入各細胞株之 10^6 個細胞。在 72 小時內使用 1.5 ug/mL 嘌呤黴素選擇陽性標記之細胞。

(iii) Incucyte®細胞毒性分析

【0515】 將選擇用於 Incucyte® NucLight™分析之癌細胞以 10^4 個細胞接種至 96 孔平底盤(Corning, Flintshire, UK)中。同一天，將 T 細胞解凍，在完全 RPMI-1640 中洗滌，且在含有 50 U/mL IL-2 (PeproTech)、5 ng/mL IL-7 及 5 ng/mL IL-15 之培養基(R&D Systems)中靜置隔夜。所有細胞均在 37°C下在 5% CO_2 中靜置隔夜。針對效應物與標靶物之比率，對 T 細胞進行連續稀釋，最高 E:T 為 4:1，且最低為 1:4。在 72 小時之時間過程中，每 2 小時拍攝一次影像，來自兩次技術重複實驗之每個全孔一張。成像利用 4 倍物鏡，且資料使用 Incucyte® Basic 軟體進行分析。紅色通道採集時間為 400 ms，且藉由啟用頂帽分割減去其背景。應用邊緣分割，以便軟體可在未進行設置下將緊密間隔之單元格識別為多個對象，而非一個對象。

(d). 同種異體反應性及安全性篩選

(i) 用於同種異體反應性篩選之基於 96 孔的表現 MHC 之陣列的產生

【0516】 使用 CRISPR-Cas 工程改造在 HEK293T 細胞中敲除內源 HLA-A/B/C。使用 multicrispr.net 工具針對跨越 HLA-A、HLA-B 及 HLA-C 基因座保守之序列設計嚮導 RNA (gRNA) (*Prykhozhij 等人, Plos One, 2015*)。選擇以下嚮導：CRISPR-ALL-1：CGGCTACTACAACCAGAGCG；CRISPR-ALL-2：AGATCACACTGACCTGGCAG；CRISPR-ALL-3：AGGTCAGTGTGATCTCCGCA。使用 BsmBI 位點將 gRNA 選殖至 LentiCRISPR V2 載體中。使用 Mirus TransIT (Mirus Bio, Madison, WI)用質體嚮導構築體轉染 HEK293T 細胞。7 天之後，使用泛 MHC 抗體(BioLegend)將 MHC 敲除(MHC-KO)細胞分選。擴增單細胞純系，且藉由流動式細胞測量術驗證 MHC 之缺乏。B2M 敲除(B2M-KO)細胞用作完全缺乏表

面 MHC 表現之陽性對照物。在 HEK293T 細胞中藉由使用以下嚮導 RNA 將靶向 B2M 之 CRISPR RNP 電穿孔來敲除 B2M：GGCCACGGAGCGAGACATCT。

【0517】 無 MHC 之 HEK293T 細胞經 IncuCyte® NucLight™ Red 病毒(Essen BioScience)轉導。使用 Sony SH800 分選器針對 NucLight™ Red 表現對經轉導之細胞進行分選。為產生表現 MHC 之陣列，在 96 孔盤中的個別孔中將無 MHC 之表現 NucLight™ Red 之 HEK293T 細胞用最常見的 110 種 MHC (pHAGE-EF1a-MHC-UBC-NAT)轉導。用諾爾絲菌素(nourseothricin) (400 μg/ml)選擇經轉導之細胞，歷時一週。表現最常見的 110 種 MHC 之細胞進行繼代且呈陣列儲存在 96 孔盤中。藉由使用泛 MHC 抗體(BioLegend)染色來證實個別 MHC 對偶基因之表現。

【0518】 為產生用於分析之陽性對照物，將無 MHC 之 HEK293T 細胞用 IncuCyte® NucLight™ Red 病毒(Essen BioScience)轉導且使用 Sony SH800 分選器針對 NucLight™ Red 表現進行分選。接著使用慢病毒轉導將 HLA-C*07:02 (pHAGE-EF1a-MHC-UBC-NAT)引入細胞中。用諾爾絲菌素(400 μg/ml)選擇經轉導之細胞，歷時一週。接著將此等細胞用表現 MAGE-A1 之片段的 90 聚體構築體(pHAGE-CMV-FHA-MAGE-A1-EFS-AmCyan)轉導，該片段含有 MAGE-A1 抗原決定基(VRFFFPSL)。接著使用 Bigfoot Spectral 細胞分選器(Thermo Fisher Scientific)針對 AmCyan 表現對經轉導之細胞進行分選。

(ii) 慢病毒包裝及轉導

【0519】 為包裝 110 種 MHC 表現構築體(pHAGE-EF1a-MHC-UBC-NAT)之慢病毒，將無 MHC 之 HEK293T 細胞在 75%匯合下塗鋪在 96 孔中且使用 jetPRIME®轉染試劑(Polyplus, Illkirch, France)轉染。將個別 MHC 表現構築體與封裝質體(pREV/pTAT/pVSVG/pGAGPOL)混合且根據製造商方案與 jetPRIME® 試劑一起培育，且在轉染後 24 小時添加 DMEM 培養基。在轉染之後 48 小時收

穫病毒上清液且用於以基於 96 孔之陣列格式轉導 110 種 MHC。為封裝其他構築體之慢病毒，將 Lenti-X®細胞(Takara Bio USA, Mountain View, CA)在 75%匯合下塗鋪且使用 jetPRIME®轉染試劑(Polyplus, Illkirch, France)轉染。將表現構築體與封裝質體(pREV/pTAT/pVSVG/pGAGPOL)混合且根據製造商方案與 jetPRIME®試劑一起培育，且在轉染後 24 小時添加 OptiPRO™ SFM 培養基。在轉染之後 48 小時收穫病毒上清液且使用 Vivaspin® 20 離心濃縮器或 Vivaflow® 50 盒(Sartorius, Bohemia, NY)濃縮。

【0520】 所有涉及來源於 HEK293T 細胞之細胞株的病毒轉導均用聚凝胺(4 μg/ml)進行。

(iii) 共培養以進行同種異體反應性剖析

【0521】 全 T 細胞如上所述進行工程改造且冷凍。在第 0 天，T 細胞在直立 T25 燒瓶中用 1.0E+6 T 細胞、20.0E+6 經輻照之 PBMC、重組人類 IL-2 及 CD3 單株抗體(OKT3) [0.1 ug/mL，eBioscience]再刺激。在第 2 天、第 4 天、第 5 天及第 6 天將一半體積之培養基更換為 RPMI 1640，其補充有 10%熱失活胎牛血清[FBS]、100 IU/mL 青黴素、100 μg/mL 鏈黴素及重組人類 IL-2 [50 U/mL；PeproTech, Cranbury, NJ]。第 7 天收穫細胞用於分析。

【0522】 分析一式三份進行。在第 5 天，呈 96 孔陣列之標靶細胞進行繼代且接種在 384 孔盤中。在第 6 天，將經工程改造之表現 HN-32-41 TCR 之 CD8+ T 細胞或未經轉導之對照 T 細胞以 5:1 之效應物:標靶物(E:T)比率添加且與標靶細胞一起培育 48 小時。隨著時間推移，使用 IncuCyte®，藉由量測 NucLight™ Red 陽性細胞之數目來量測標靶細胞數目。分析中在 48 小時各 MHC 上所關注之重組 TCR 對細胞之抑制計算為 1-(細胞倍增[與表現 HN-32-41 之 T 細胞培育]/細胞倍增[與未經轉導之對照 T 細胞培育])。

(iv) 用於安全性篩選的表現 TCR HN-32-41 之 CD8 T 細胞之產生

【0523】 初級 CD8+ T 細胞如上所述製備以表現 HN-P32-41。將經慢病毒粒子轉導以表現 HN-32-41 之一式三份孔組合在新鮮完全 T 細胞培養基中，且在 G-Rex®10 培養容器(Wilson Wolf)中擴增直至第 5 天。在第 5 天，收穫細胞，且在 4°C下將細胞濃度在 EasySep 緩衝液(StemCell 公司)及具有 CD34 磁性珠粒之 FcBlock 溶液(Miltenyi)中調至 100×10^6 $CD3^+$ T 細胞/mL，歷時 30 分鐘，用 EasySep 緩衝液洗滌，且使用 QuadroMACS®分離器及 LS 管柱(Miltenyi)分開。將經分離之細胞洗滌且再懸浮於新鮮完全 T 細胞培養基中且在 G-Rex®10 燒瓶(Wilson Wolf)中擴增，直至第 12 天，此刻將細胞冷凍在 CryoStor® CS10 中且儲存在液氮中，直至使用。

【0524】 將表現 HN-32-41 之 CD8+ T 細胞解凍，且藉由在 GRex®100 燒瓶(Wilson Wolf)中將 T 細胞與經輻照(60 戈雷)之同種異體 PBMC 在新鮮 T 細胞培養基(RPMI 1640，補充有 10%熱滅活胎牛血清(FBS)、100 IU/mL 青黴素、100 μg/mL 鏈黴素、重組人類 IL-2 [50U/mL，PeproTech])中在 0.1 ug/mL 抗 CD3 (OKT3，eBioscience)及 50 U/mL 重組 IL-2 (Peprotech)存在下共培養而再刺激(進一步擴增)。每隔一天將 50 U/mL 重組 IL-2 添加至擴增細胞直至第 6 天。在第 6 天，將一半培養基替換為含有 50 U/mL 重組 IL-2 之新鮮 T 細胞培養基。第 7 天使用細胞進行篩選。

(v) T 細胞中靶殺死之品質控制(QC)

【0525】 在再刺激第 5 天，在室溫下將報導細胞(表現多肽組文庫)用 CellTrace™ Violet (Thermo Fisher)標記 10 分鐘。將標記反應用 5X 過量的完全 DMEM 培養基(1X DMEM，補充有 10% FBS、100 IU/mL 青黴素、100 ug/mL 鏈黴素)淬滅。離心之後，接種細胞以供後續分析。對於脫靶篩選，將 400×10^6 個經標記之報導細胞接種在 CellSTACK®燒瓶中。對於 T 細胞中靶殺死之 QC，96 孔平底盤每孔接種 25,000 個報導細胞。

【0526】 在 HN-32-41 再刺激第 6 天，測試 T 細胞針對 MAGE-A1 肽之活性。作為陽性對照物，將一小部分報導細胞用 100 ng/mL MAGE-A1 肽(Genscript)進行脈衝輸送一小時。將 T 細胞以四種效應物:標靶物(E:T)比率(2:1、1:1、1:2、1:4)一式三份添加至報導細胞。在 37℃下培育四小時之後，藉由上下吸移使細胞再懸浮，接著在 CytoFLEX 流式細胞儀(Beckman Coulter)上採集資料。

(vi) 篩選共培養物、標靶細胞富集及分選

【0527】 在 HN-32-41 擴增第 7 天，將 T 細胞添加至經文庫轉導之報導細胞且在 37℃下培育四小時。在培育之後，藉由胰蛋白酶消化及離心收穫所有細胞，使細胞再懸浮於 1X 膜聯蛋白 V 結合緩衝液(Miltenyi Biotec)且離心。使細胞在膜聯蛋白 V 磁性微珠(Miltenyi Biotec)下再懸浮於 1X 膜聯蛋白 V 結合緩衝液(每 1×10^9 總細胞，9 mL 膜聯蛋白 V 結合緩衝液中 1 mL 微珠)中且在室溫下培育 15 分鐘。將細胞用 5X 體積之膜聯蛋白 V 結合緩衝液洗滌且離心。使細胞再懸浮於膜聯蛋白 V 結合緩衝液中，且接著經 2 次「megarep」分裂且使用 70 uM 細胞過濾器(Corning)過濾。使用 autoMACS® Pro (Miltenyi Biotec)對膜聯蛋白 V 標記之細胞進行陽性選擇。各「megarep」之溶析進一步經四次「重複實驗」分開，每次篩選總共 8 次技術重複實驗。使用 MoFlo® Astrios EQ 細胞分選器(Beckman Coulter)對 IFP^+細胞進行分選。

(vii) 下一代定序

【0528】 使用 GeneJET™基因組 DNA 純化套組(Thermo Fisher Scientific)自分選之細胞提取基因組 DNA (gDNA)。藉由 PCR，自提取之 gDNA 擴增抗原盒，接著在第二 PCR 反應中附加定序銜接子及樣品特異性索引序列。在 Illumina NextSeq™機上使用標準 Illumina 定序引子對擴增子進行定序。

(viii) 資料分析

【0529】 核苷酸序列映射至個別核苷酸瓦塊。針對各篩選重複實驗(n = 8)且針

對經轉導之報導細胞之各池的輸入，計算各瓦塊之讀段計數的比例，且藉由篩選重複實驗中之瓦塊之比例除以輸入文庫中之瓦塊之比例來計算各瓦塊之富集。跨越 8 個篩選重複實驗，一致瓦塊之富集之修正幾何平均值用於鑑定可再現之篩選命中。藉由跨越篩選中富集的重疊相鄰瓦塊及冗餘瓦塊，鑑定預測之強烈結合之抗原決定基來選擇各瓦塊之候選抗原決定基。

e. HN-32-41 之安全性評估

(i) 90 聚體驗證

【0530】 首先使用 90 聚體評估來自安全性篩選之強命中。表現 HLA C*07:02 之單對偶基因 HEK 報導細胞經慢病毒粒子以 MOI 1 轉導，以表現代表來自篩選之最高評分之脫靶瓦塊的個別 90 胺基酸片段(例如 LAMB4-IR、PIGO、SLC6A13、TLE3、BTBD2、SLC6A12 及 RXFP1)。在完全 DMEM 中用嘌呤黴素(1.5 ug/mL)選擇細胞。在與表現 HN-32-41 之 T 細胞以約 2:1 之 E:T 比率共培養前一天接種細胞。在 4 小時之後，藉由吸移收穫共培養物且使用 CytoFLEX™ S 儀器(Beckman Coulter)偵測報導基因之螢光。

(ii) ORF 驗證

【0531】 使用 90 聚體驗證為標靶的命中進行針對完整蛋白質開讀框(ORF)之測試。自 ORFeome Collaboration 文庫(Horizon)選殖 TLE3 及 SLC6A13 之 ORF。合成 LAMB4 內含子保留 ORF (GenScript)。將此等純系選殖至過度表現慢病毒之載體中且藉由轉導遞送至 C*07:02 HEK 報導細胞，接著用嘌呤黴素選擇。在與表現 HN-32-41 之 T 細胞以約 2:1 之 E:T 比率共培養前一天接種細胞。在 4 小時之後，藉由吸移收穫共培養物且使用 CytoFLEX™ S 儀器(Beckman Coulter)偵測報導基因之螢光。自 Genscript 購買 PIGO ORF 純系，在 pcDNA3.1 過度表現載體中，且藉由使用 FuGENE6 試劑(Promega)瞬時轉染來遞送。接種 C*07:02 HEK 報導細胞以黏附隔夜，接著用 PIGO ORF 瞬時轉染。將培養基更新，接著

細胞擴增隔夜。將細胞與表現 HN-32-41 之 T 細胞以約 2:1 之 E:T 共培養。在 4 小時之後，藉由吸移收穫共培養物且使用 CytoFLEX™ S 儀器(Beckman Coulter)偵測報導基因之螢光。

(iii) 肽驗證

【0532】 顯示 HN-32-41 針對全長 ORF 之反應性的標靶進行針對肽之測試。MHC-Flurry (O'Donnell 等人 (2020) *Cell Systems* 42-48.e7)用於預測以高親和力與 C*07:02 結合之來自 LAMB4-IR 之肽。合成預測之高結合肽(GenScript)。將單對偶基因 C*07:02 HEK293T 報導細胞用最高候選肽 0-20,000 ng/ml 之連續稀釋液進行脈衝輸送 1 小時，且接著與經 TCR 轉導之 T 細胞(HN-32-41)在約 2:1 之 E:T 比率下共培養。在 4 小時之後，藉由吸移收穫共培養物且使用 CytoFLEX™ S 儀器(Beckman Coulter)偵測報導基因之螢光。

(iv) 與正常初級細胞共培養

【0533】 自 C*07:02+供體獲得初級正常細胞(Lonza)，其經擴增，證實維持分化狀態且冷凍。測試樣品包括：人類臍靜脈內皮細胞(HUVEC (CC-2517))、肺小氣道上皮細胞(SAEC (CC-2547))及肺支氣管-氣管上皮細胞(NHBE (CC-2540))。

【0534】 在共培養分析前，將初級正常細胞解凍，洗滌，再懸浮於補充有 IL-2、IL-7 及 IL-15 之 RPMI 培養基，且以 200,000 個細胞/孔之密度接種在 96 孔平底培養盤中且使之靜置 4 小時。將細胞用 MAGE-A1 肽進行脈衝輸送 1-2 小時或未進行脈衝輸送，留在其相應培養基中。接著將 HN-32-41 或未經轉導之(NTD) T 細胞以 100,000 個細胞/孔之密度添加在完全 T 細胞培養基中。共培養後 24 小時，收集上清液且冷凍在-80°C下。使上清液解凍且藉由負載在 Simple Plex 人類 IFN-γ (第 3 代)盒(ProteinSimple, San Jose, CA)使用 Ella™儀器分析 IFN-γ 水準。

【0535】 對於流動式細胞測量術分析(Cytoflex S™儀器, Beckman Coulter)，將細胞團塊用 FACS 緩衝液(PBS、0.5% BSA、2 mM EDTA)洗滌且針對活化誘發

之標記物進行染色，包括 PE 結合之抗 CD137 (Miltenyi)、AF647 結合之抗 CD69 (Biolegend)及 BV421 結合之抗 CD8 (BioLegend)。

實例 2：MAGEA1 免疫原性抗原決定基及其結合蛋白之鑑定

【0536】 開發一種高通量抗原發現平臺，該平臺能夠自 TCR 池中快速鑑定 TCR，該等 TCR 自相關腫瘤樣品中獲得，其識別由 MHC 分子呈現之免疫原性肽，且應用於鑑定已識別之免疫原性肽(參見實例 1)。MAGEA1 之抗原肽係一種表現與如癌症之某些疾病相關且通常在睪丸外組織中不表現的基因(圖 1)，經鑑定為被頭頸部腫瘤樣品中進行免疫檢查點阻斷後擴增之 TCR 識別(圖 2A)。進一步評估揭露抗原肽由 HLA C*07:02 呈現(圖 2B)。

【0537】 所搜索之序列文庫之重疊瓦塊與生物資訊學分析所共享的共同序列允許鑑定免疫原性 MAGEA1 肽序列(關於代表性免疫原性肽，參見表 1 及圖 2C)。關於代表性免疫原性肽驗證，亦參見圖 2D 及 2E，指示肽 VRFFFPSL 展現最有利的免疫原性。

【0538】 接著使用 90 聚體構築體內之代表性免疫原性肽篩選經 TCR 轉導之 T 細胞池且鑑定命中，諸如 TCR 39 及 TCR 41 (圖 3A 及 3B)。進一步證明代表性 TCR 39 及 TCR 41 識別且殺死以不同水準表現 MAGEA1 之癌細胞(圖 4 及 6)。另外，在同種異體反應性分析中篩選代表性 TCR 41。TCR41 展現最小同種異體反應性，一般定義為標靶細胞抑制超過 20% (例如對測試的 110 種不同 HLA 類型中之任一種，無可偵測之同種異體反應性) (圖 7)，未明顯與表現推定脫靶之細胞反應(圖 8 及 9)，且不與健康人類初級細胞反應(圖 10)。此外，鹹信諸如藉由使用 DN-TGFβRII 抑制 TGFβ 信號傳導可增強抗癌作用及 TCR 功效(關於代表性非限制性表現構築體，參見圖 11、本文提供之描述及表 3)。

【0539】 因此，已鑑定在 MHC 分子背景中之生理相關 TCR-抗原對。

以引用之方式併入

【0540】 本文所提及之所有出版物、專利及專利申請案均以引用之方式整體併入本文中，如同各個別出版物、專利或專利申請案特定且個別地經指示以引用之方式併入一般。在發生衝突之情況下，將以本申請案(包括本文中之任何定義)為準。

【0541】 提及與登錄公共資料庫相關之寄存編號之任何多核苷酸及多肽序列亦以引用之方式整體併入，資料庫諸如由美國基因組研究院(The Institute for Genomic Research，TIGR)在全球資訊網 tigr.org 及/或美國國家生物技術資訊中心 (National Center for Biotechnology Information ； NCBI) 在全球資訊網 ncbi.nlm.nih.gov 維護之彼等資料庫。

等效物及範疇

【0542】 本發明所涵蓋之一或多個實施例之細節在以上描述中闡述。儘管上面已描述代表性的示例性材料及方法，但與本文描述之材料及方法相似或等效之任何材料及方法均可用於本發明所涵蓋之實施例之實踐或測試。與本發明相關之其他特徵、目標及優點自描述中可顯而易見。除非另有定義，否則本文使用之所有技術及科學術語均具有與本發明所屬領域之普通技術人員通常理解之含義相同的含義。在發生衝突之情況下，以上面提供之本發明之描述為準。

【0543】 所屬領域之技術人員將認識到或能夠僅使用常規實驗即可確定本文所述之本發明所涵蓋之特定實施例的多種等效物。本發明所涵蓋之範疇不意欲限於本文提供之描述，且意欲隨附申請專利範圍涵蓋此類等效物。

【0544】 亦應注意，術語「包含」意欲為開放性的且允許但不要求包括額外要素或步驟。當本文使用術語「包含」時，因此亦涵蓋及揭示術語「由……組成」。

【0545】 在給出範圍之地方，包括端點。此外，應當理解，除非另有指示或自上下文及所屬領域普通技術人員之理解中明顯看出，否則在本發明所涵蓋之不同實施例中表示為範圍之值可假定所陳述範圍內之任何特定值或子範圍，除非

上下文另有明確規定，否則為範圍下限單位之十分之一。

【0546】　此外，應當理解，本發明所涵蓋之屬於先前技術的任何特定實施例可明確地自任何一項或多項申請專利範圍中排除。因為此類實施例被視為係所屬領域普通技術人員已知的，所以即使在此未明確闡述排除的情況下，其亦可被排除。本發明所涵蓋之組合物之任何特定實施例(例如，任何抗生素、治療劑或活性成分；任何生產方法；任何使用方法等)可出於任何原因自任何一項或多項申請專利範圍中排除，無論是否與先前技術之存在相關。

【0547】　應當理解，已使用之詞語為描述性詞語而非限制性詞語，且在不背離本發明在其更廣泛之態樣中所涵蓋之真實範疇及精神下，可在所附申請專利範圍之範圍內進行改變。

【0548】　儘管本發明已針對若干個描述之實施例進行一定長度及一些特殊性之描述，但不意欲將本發明限制於任何此類細節或實施例或任何特定實施例，而應參考所附申請專利範圍來解釋，以便根據先前技術提供對此等申請專利範圍之最廣泛可能之解釋，且因此有效地涵蓋本發明所涵蓋之預期範疇。

【發明申請專利範圍】

【請求項 1】　一種免疫原性肽，其包含選自表 1 中所列之肽序列之肽抗原決定基。

【請求項 2】　一種免疫原性肽，其由選自表 1 中所列之肽序列之肽抗原決定基組成。

【請求項 3】　如請求項 1 或 2 之免疫原性肽，其中該免疫原性肽係源自 MAGEA1 蛋白，視情況其中該免疫原性肽之長度為 8 個、9 個、10 個、11 個、12 個、13 個、14 個、15 個、16 個、17 個、18 個、19 個、20 個、21 個、22 個、23 個、24 個或 25 個胺基酸。

【請求項 4】　如請求項 1 至 3 中任一項之免疫原性肽，其中該免疫原性肽能夠在個體中引發針對 MAGEA1 及/或表現 MAGEA1 之細胞之免疫反應，視情況其中該免疫反應係 i) T 細胞反應及/或 CD8+ T 細胞反應及/或 ii)選自由 T 細胞擴增、細胞介素釋放及/或細胞毒性殺傷組成之群。

【請求項 5】　一種免疫原性組合物，其包含至少一種如請求項 1 至 4 中任一項之免疫原性肽。

【請求項 6】　如請求項 5 之免疫原性組合物，其進一步包含佐劑。

【請求項 7】　如請求項 5 或 6 之免疫原性組合物，其中該免疫原性組合物能夠在個體中引發針對 MAGEA1 及/或表現 MAGEA1 之細胞之免疫反應，視情況其中該免疫反應係 i) T 細胞反應及/或 CD8+ T 細胞反應及/或 ii)選自由 T 細胞擴增、細胞介素釋放及/或細胞毒性殺傷組成之群。

【請求項 8】　一種組合物，其包含選自表 1 中所列之肽序列之肽抗原決定基，及 MHC 分子。

【請求項 9】　如請求項 8 之組合物，其中該 MHC 分子為 MHC 多聚體，視情況其中該 MHC 多聚體為四聚體。

【請求項 10】 如請求項 8 或 9 之組合物，其中該 MHC 分子為 MHC I 類分子。

【請求項 11】 如請求項 9 至 11 中任一項之組合物，其中該 MHC 分子包含 MHC α 鏈，該鏈為選自由 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 及 HLA-C*18 組成之群的 HLA 血清型，視情況其中該 HLA 對偶基因係選自由以下組成之群：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 對偶基因、HLA-A*0301、HLA-A*0302、HLA-A*0305、HLA-A*0307、HLA-A*0101、HLA-A*0102、HLA-A*0103、HLA-A*0116 對偶基因、HLA-A*1101、HLA-A*1102、HLA-A*1103、HLA-A*1104、HLA-A*1105、HLA-A*1119 對偶基因、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 對偶基因、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 及 HLA-C*1403 對偶基因。

【請求項 12】 一種穩定 MHC-肽複合物，其包含在 MHC 分子背景中之如請求項 1 至 4 中任一項之免疫原性肽。

【請求項 13】 如請求項 12 之穩定 MHC-肽複合物，其中該 MHC 分子為 MHC 多聚體，視情況其中該 MHC 多聚體為四聚體。

【請求項 14】 如請求項 12 或 13 之穩定 MHC-肽複合物，其中該 MHC 分子為 MHC I 類分子。

【請求項 15】 如請求項 12 至 14 中任一項之穩定 MHC-肽複合物，其中該 MHC 分子包含 MHC α 鏈，該鏈為選自由 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 及 HLA-C*18 組成之群的 HLA 血清型，視情況其中該 HLA 對偶基因係選自由以下組成之群：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 對偶基因、HLA-A*0301、HLA-A*0302、HLA-A*0305、HLA-A*0307、HLA-A*0101、HLA-A*0102、HLA-A*0103、HLA-A*0116 對偶基因、HLA-A*1101、HLA-A*1102、HLA-A*1103、HLA-A*1104、HLA-A*1105、HLA-A*1119 對偶基因、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 對偶基因、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 及 HLA-C*1403 對偶基因。

【請求項 16】 如請求項 12 至 15 中任一項之穩定 MHC-肽複合物，其中該肽抗原決定基及該 MHC 分子經共價連接及/或其中該 MHC 分子之該 α 鏈及 β 鏈經共價連接。

【請求項 17】 如請求項 12 至 16 中任一項之穩定 MHC-肽複合物，其中該穩定 MHC-肽複合物包含可偵測標記，視情況其中該可偵測標記為螢光團。

【請求項 18】 一種免疫原性組合物，其包含如請求項 12 至 17 中任一項之穩定 MHC-肽複合物，及佐劑。

【請求項 19】 一種經分離之核酸，其編碼如請求項 1 至 4 中任一項之免疫原性肽，或其補體。

【請求項 20】 一種載體，其包含如請求項 19 之經分離之核酸。

【請求項 21】 一種細胞，其 a)包含如請求項 19 之經分離之核酸，b)包含如請求項 20 之載體，及/或 c)產生一或多種如請求項 1 至 4 中任一項之免疫原性肽及/或在細胞表面上呈現一或多種如請求項 12 至 17 中任一項之穩定 MHC-肽複合物，視情況其中該細胞經基因工程改造。

【請求項 22】 一種裝置或套組，其包含 a)一或多種如請求項 1 至 4 中任一項之免疫原性肽及/或 b)一或多種如請求項 12 至 17 中任一項之穩定 MHC-肽複合物，該裝置或套組視情況包含偵測 a)及/或 b)與結合蛋白之結合的試劑，視情況其中該結合蛋白為抗體、抗體之抗原結合片段、TCR、TCR 之抗原結合片段、單鏈 TCR (scTCR)、嵌合抗原受體(CAR)或包含 TCR 及效應域之融

合蛋白。

【請求項 23】 一種偵測結合穩定 MHC-肽複合物之 T 細胞之方法，其包括：

a) 使包含 T 細胞之樣品與如請求項 12 至 17 中任一項之穩定 MHC-肽複合物接觸；及

b) 偵測 T 細胞與該穩定 MHC-肽複合物之結合，視情況進一步測定與該穩定 MHC-肽複合物結合之穩定 MHC-肽特異性 T 細胞的百分率，視情況其中該樣品包含周邊血液單核細胞(PBMC)。

【請求項 24】 如請求項 23 之方法，其中該等 T 細胞為 CD8+ T 細胞。

【請求項 25】 如請求項 22 至 24 中任一項之方法，其中該偵測及/或該測定係使用螢光活化細胞分選(FACS)、酶聯免疫吸附劑分析(ELISA)、放射免疫分析(RIA)、免疫化學、西方墨點法(Western blot)或細胞內流式分析來執行。

【請求項 26】 如請求項 22 至 25 中任一項之方法，其中該樣品包含接觸或懷疑接觸過一或多種 MAGEA1 蛋白或其片段之 T 細胞。

【請求項 27】 一種確定 T 細胞是否已暴露於 MAGEA1 之方法，其包括：

a) 將包含 T 細胞之細胞群體與如請求項 1 至 4 中任一項之免疫原性肽或如請求項 12 至 17 中任一項之穩定 MHC-肽複合物一起培育；及

b) 偵測反應性之存在或水準，

其中與對照水準相比存在反應性或反應性水準更高表明該 T 細胞已暴露於 MAGEA1，視情況其中該包含 T 細胞之細胞群體係自個體獲得。

【請求項 28】 一種用於預測罹患以 MAGEA1 表現為特徵之病症之個體的臨床結果的方法，其包括：

a) 測定自該個體獲得之 T 細胞與一或多種如請求項 1 至 4 中任一項之免疫原性肽或一或多種如請求項 12 至 17 中任一項之穩定 MHC-肽複合物之間的反應性之存在或水準；及

b) 將該反應性之存在或水準與來自對照之反應性進行比較，其中該對照係自具有良好臨床結果之個體獲得，

其中與該對照相比該個體樣品中存在反應性或反應性水準更高表明該個體具有良好臨床結果。

【請求項 29】 一種評估療法對以 MAGEA1 表現為特徵之病症之功效的方法，其包括：

a) 在向該個體提供該療法之至少一部分之前自該個體獲得之第一樣品中，測定自該個體獲得之 T 細胞與一或多種如請求項 1 至 4 中任一項之免疫原性肽或一或多種如請求項 12 至 17 中任一項之穩定 MHC-肽複合物之間的反應性之存在或水準，及

b) 測定該一或多種如請求項 1 至 4 中任一項之免疫原性肽或該一或多種如請求項 12 至 17 中任一項之穩定 MHC-肽複合物與自該個體獲得之 T 細胞之間的反應性之存在或水準，該等 T 細胞存在於在向該個體提供該療法之後自該個體獲得之第二樣品中，

其中相對於該第一樣品，該第二樣品中存在反應性或反應性水準更高表明該療法有效治療該個體之該以 MAGEA1 表現為特徵之病症。

【請求項 30】 如請求項 27 至 29 中任一項之方法，其中該反應性水準由 a)結合之存在及/或 b) T 細胞活化及/或效應功能指示，視情況其中該 T 細胞活化或效應功能為 T 細胞增殖、殺傷或細胞介素釋放。

【請求項 31】 如請求項 27 至 30 中任一項之方法，其進一步包括在後續時間點重複步驟 a)及 b)，視情況其中該個體在第一時間點與該後續時間點之間已進行治療以改善該以 MAGEA1 表現為特徵之病症。

【請求項 32】 如請求項 27 至 31 中任一項之方法，其中該 T 細胞結合、活化及/或效應功能係使用螢光活化細胞分選(FACS)、酶聯免疫吸附劑分析

(ELISA)、放射免疫分析(RIA)、免疫化學、西方墨點法或細胞內流式分析來偵測。

【請求項 33】 如請求項 27 至 32 中任一項之方法，其中該對照水準為參考數字。

【請求項 34】 如請求項 27 至 33 中任一項之方法，其中該對照水準為未患該以 MAGEA1 表現為特徵之病症之個體的水準。

【請求項 35】 一種預防及/或治療個體之以 MAGEA1 表現為特徵之病症的方法，其包括向該個體投與治療有效量之如請求項 1 至 22 中任一項之組合物。

【請求項 36】 一種鑑定與選自表 1 中所列之肽序列之肽抗原決定基結合的肽結合分子或其抗原結合片段的方法，其包括：

a) 提供細胞，該細胞在該細胞之表面上呈現在 MHC 分子背景中的選自表 1 中所列之肽序列之肽抗原決定基；

b) 測定該細胞上複數種候選肽結合分子或其抗原結合片段與在該 MHC 分子背景中之該肽抗原決定基之結合；及

c) 鑑定與在該 MHC 分子背景中之該肽抗原決定基結合之一或多種肽結合分子或其抗原結合片段。

【請求項 37】 如請求項 36 之方法，其中該步驟 a)包括使該細胞之表面上之該 MHC 分子與選自表 1 中所列之肽序列之肽抗原決定基接觸。

【請求項 38】 如請求項 36 之方法，其中該步驟 a)包括在該細胞中使用包含編碼該肽抗原決定基之異源序列之載體表現選自表 1 中所列之肽序列之該肽抗原決定基。

【請求項 39】 一種鑑定與選自表 1 中所列之肽序列之肽抗原決定基結合的肽結合分子或其抗原結合片段的方法，其包括：

a) 提供單獨或呈穩定 MHC-肽複合物之肽抗原決定基，其包含單獨或

在 MHC 分子背景中的選自表 1 中所列之肽序列之肽抗原決定基；

b) 測定複數種候選肽結合分子或其抗原結合片段與該肽或該穩定 MHC-肽複合物之結合；及

c) 鑑定與該肽抗原決定基或該穩定 MHC-肽複合物結合之一或多種肽結合分子或其抗原結合片段，視情況其中該 MHC 或該 MHC-肽複合物如根據請求項 8 至 17 中之任一項。

【請求項 40】 如請求項 39 之方法，其中該複數種候選肽結合分子包含抗體、抗體之抗原結合片段、TCR、TCR 之抗原結合片段、單鏈 TCR (scTCR)、嵌合抗原受體(CAR)或包含 TCR 及效應域之融合蛋白。

【請求項 41】 如請求項 39 或 40 之方法，其中該複數種候選肽結合分子包含至少 2 種、5 種、10 種、100 種、10^3 種、10^4 種、10^5 種、10^6 種、10^7 種、10^8 種、10^9 或更多種不同候選肽結合分子。

【請求項 42】 如請求項 39 至 41 中任一項之方法，其中該複數種候選肽結合分子包含一或多種自來自個體或個體群體之樣品獲得的候選肽結合分子；或該複數種候選肽結合分子包含一或多種包含自來自個體之樣品獲得之親本支架肽結合分子中的突變的候選肽結合分子。

【請求項 43】 如請求項 42 之方法，其中該個體或該個體群體 a)未患以 MAGEA1 表現為特徵之病症及/或已自以 MAGEA1 表現為特徵之病症中恢復，或 b)罹患以 MAGEA1 表現為特徵之病症。

【請求項 44】 如請求項 42 或 43 之方法，其中已向該個體或該個體群體投與如請求項 1 至 22 中任一項之組合物。

【請求項 45】 如請求項 42 至 44 中任一項之方法，其中該個體為以 MAGEA1 表現為特徵之病症之動物模型及/或哺乳動物，視情況其中該哺乳動物為人類、靈長類動物或嚙齒類動物。

【請求項 46】 如請求項 42 至 45 中任一項之方法，其中該個體為以 MAGEA1 表現為特徵之病症之動物模型、HLA 轉殖基因小鼠及/或人類 TCR 轉殖基因小鼠。

【請求項 47】 如請求項 42 至 46 中任一項之方法，其中該樣品包含周邊血液單核細胞(PBMC)、T 細胞及/或 CD8+ 記憶 T 細胞。

【請求項 48】 一種根據請求項 39 至 48 中之任一項鑑定的肽結合分子或其抗原結合片段，視情況其中該肽結合分子或其抗原結合片段為抗體、抗體之抗原結合片段、TCR、TCR 之抗原結合片段、單鏈 TCR (scTCR)、嵌合抗原受體(CAR)或包含 TCR 及效應域之融合蛋白。

【請求項 49】 一種治療個體之以 MAGEA1 表現為特徵之病症的方法，其包括向該個體投與治療有效量之經基因工程改造之 T 細胞，該等經基因工程改造之 T 細胞表現如下肽結合分子或其抗原結合片段，該肽結合分子或其抗原結合片段 i)與選自表 1 中所列之序列之肽抗原決定基結合，ii)係根據如請求項 39 至 48 中任一項之方法來鑑定，及/或 iii)與包含在 MHC 分子背景中的選自表 1 中所列之序列之肽抗原決定基的穩定 MHC-肽複合物結合，視情況其中該肽結合分子或其抗原結合片段為抗體、抗體之抗原結合片段、TCR、TCR 之抗原結合片段、單鏈 TCR (scTCR)、嵌合抗原受體(CAR)或包含 TCR 及效應域之融合蛋白，視情況其中該 MHC 或該 MHC-肽複合物如根據請求項 8 至 17 中之任一項。

【請求項 50】 如請求項 49 之方法，其中該等 T 細胞係自以下各者分離：a)該個體，b)未患該以 MAGEA1 表現為特徵之病症的供體，或 c)自以 MAGEA1 表現為特徵之病症中恢復之供體。

【請求項 51】 一種治療個體之以 MAGEA1 表現為特徵之病症的方法，其包括向該個體輸注抗原特異性 T 細胞，其中該等抗原特異性 T 細胞藉由以下方

式產生：

a) 用如請求項 1 至 22 中任一項之組合物刺激來自個體之免疫細胞；及

b) 在活體外或離體擴增抗原特異性 T 細胞，視情況 i)在刺激該等免疫細胞之前自該個體分離免疫細胞及/或 ii)其中該等免疫細胞包含 PBMC、T 細胞、CD8+ T 細胞、初始 T 細胞、中央記憶 T 細胞及/或效應記憶 T 細胞。

【請求項 52】 如請求項 51 之方法，其中該等劑在適合該肽抗原決定基、該免疫原性肽、該穩定 MHC-肽複合物、該 T 細胞受體及/或該等免疫細胞之間形成至少一種免疫複合物的條件下及時間內接觸置放。

【請求項 53】 如請求項 51 或 52 之方法，其中該肽抗原決定基、該免疫原性肽、該穩定 MHC-肽複合物及/或該 T 細胞受體由細胞表現且該等細胞在一或多個步驟期間經擴增及/或分離。

【請求項 54】 如請求項 23 至 53 中任一項之方法，其中該以 MAGEA1 表現為特徵之病症為癌症或其復發，視情況其中該癌症係選自由以下組成之群：黑色素瘤、頭頸癌、肺癌、子宮頸癌、肝細胞癌、大腸直腸癌、胃腸道癌、侵襲性乳癌及膀胱尿路上皮癌。

【請求項 55】 如請求項 23 至 54 中任一項之方法，其中該個體為以 MAGEA1 表現為特徵之病症之動物模型及/或哺乳動物，視情況其中該哺乳動物為人類、靈長類動物或嚙齒類動物。

【請求項 56】 一種結合蛋白，其結合包含根據請求項 1 至 4 中之任一項之免疫原性肽序列的多肽、如請求項 1 至 4 中任一項之免疫原性肽及/或如請求項 12 至 17 中任一項之穩定 MHC-肽複合物，視情況其中該結合蛋白為抗體、抗體之抗原結合片段、TCR、TCR 之抗原結合片段、單鏈 TCR (scTCR)、嵌合抗原受體(CAR)或包含 TCR 及效應域之融合蛋白。

【請求項 57】 如請求項 56 之結合蛋白，其包含：

a) 與選自由表 2 中所列之 TCR α 鏈 CDR 序列組成之群的 TCR α 鏈 CDR 序列具有至少約 80%一致性的 T 細胞受體(TCR) α 鏈 CDR 序列；及/或

b) 與選自由表 2 中所列之 TCR β 鏈 CDR 序列組成之群的 TCR β 鏈 CDR 序列具有至少約 80%一致性的 TCR β 鏈 CDR 序列，其中該結合蛋白能夠與 MAGEA1 免疫原性肽-MHC (pMHC)複合物結合，視情況其中結合親和力之 K_d 小於或等於約 5×10^{-4} M。

【請求項 58】 如請求項 56 之結合蛋白，其包含：

a) 與選自由表 2 中所列之 TCR V_α 域序列組成之群的 TCR V_α 域序列具有至少約 80%一致性的 TCR α 鏈可變(V_α)域序列；及/或

b) 與選自由表 2 中所列之 TCR V_β 域序列組成之群的 TCR V_β 域序列具有至少約 80%一致性的 TCR β 鏈可變(V_β)域序列，其中該結合蛋白能夠與 MAGEA1 免疫原性肽-MHC (pMHC)複合物結合，視情況其中結合親和力之 K_d 小於或等於約 5×10^{-4} M。

【請求項 59】 如請求項 56 之結合蛋白，其包含：

a) 與選自由表 2 中所列之 TCR α 鏈序列組成之群的 TCR α 鏈序列具有至少約 80%一致性的 TCR α 鏈序列；及/或

b) 與選自由表 2 中所列之 TCR β 鏈序列組成之群的 TCR β 鏈序列具有至少約 80%一致性的 TCR β 鏈序列，其中該結合蛋白能夠與 MAGEA1 免疫原性肽-MHC (pMHC)複合物結合，視情況其中結合親和力之 K_d 小於或等於約 5×10^{-4} M。

【請求項 60】 如請求項 56 之結合蛋白，其包含：

a) 選自由表 2 中所列之 TCR α 鏈 CDR 序列組成之群的 TCR α 鏈 CDR 序列；及/或

b) 選自由表 2 中所列之 TCR β 鏈 CDR 序列組成之群的 TCR β 鏈 CDR

序列，其中該結合蛋白能夠與 MAGEA1 免疫原性肽-MHC (pMHC)複合物結合，視情況其中結合親和力之 K_d 小於或等於約 5×10^{-4} M。

【請求項 61】 如請求項 56 之結合蛋白，其包含：

a) 選自由表 2 中所列之 TCR V_α 域序列組成之群的 TCR α 鏈可變(V_α)域序列；及/或

b) 選自由表 2 中所列之 TCR V_β 域序列組成之群的 TCR β 鏈可變(V_β)域序列，其中該結合蛋白能夠與 MAGEA1 免疫原性肽-MHC (pMHC)複合物結合，視情況其中結合親和力之 K_d 小於或等於約 5×10^{-4} M。

【請求項 62】 如請求項 56 之結合蛋白，其包含：

a) 選自由表 2 中所列之 TCR α 鏈序列組成之群的 TCR α 鏈序列；及/或

b) 選自由表 2 中所列之 TCR β 鏈序列組成之群的 TCR β 鏈序列，其中該結合蛋白能夠與 MAGEA1 免疫原性肽-MHC (pMHC)複合物結合，視情況其中結合親和力之 K_d 小於或等於約 5×10^{-4} M。

【請求項 63】 如請求項 56 至 62 中任一項之結合蛋白，其中 1)該 TCR α 鏈 CDR、該 TCR V_α 域及/或該 TCR α 鏈由選自表 2 中所列之 TRAV、TRAJ 及 TRAC 基因之群的 TRAV、TRAJ 及/或 TRAC 基因或其片段編碼，及/或 2)該 TCR β 鏈 CDR、該 TCR V_β 域及/或該 TCR β 鏈由選自表 2 中所列之 TRBV、TRBJ 及 TRBC 基因之群的 TRBV、TRBJ 及/或 TRBC 基因或其片段編碼，及/或 3)與表 2 中所列之同源參考 CDR 序列相比，該結合蛋白之各 CDR 具有至多五個胺基酸取代、插入、缺失或其組合。

【請求項 64】 如請求項 56 至 63 中任一項之結合蛋白，其中該結合蛋白為嵌合、人類化或人類的。

【請求項 65】 如請求項 56 至 64 中任一項之結合蛋白，其中該結合蛋白包含具有跨膜域之結合域及細胞內效應域。

【請求項 66】 如請求項 56 至 65 中任一項之結合蛋白，其中該 TCR α 鏈及該 TCR β 鏈經共價連接，視情況其中該 TCR α 鏈及該 TCR β 鏈經由連接子肽共價連接。

【請求項 67】 如請求項 56 至 66 中任一項之結合蛋白，其中該 TCR α 鏈及/或該 TCR β 鏈共價連接至部分，視情況其中該共價連接之部分包含親和力標籤或標記。

【請求項 68】 如請求項 67 之結合蛋白，其中該親和力標籤係選自由以下組成之群：CD34 富集標籤、麩胱甘肽-S-轉移酶(GST)、鈣調蛋白結合蛋白(CBP)、蛋白 C 標籤、Myc 標籤、HaloTag、HA 標籤、Flag 標籤、His 標籤、生物素標籤及 V5 標籤，及/或其中該標記為螢光蛋白。

【請求項 69】 如請求項 56 至 68 中任一項之結合蛋白，其中該共價連接之部分係選自由以下組成之群：致炎因子、細胞介素、毒素、細胞毒性分子、放射性同位素或抗體或其抗原結合片段。

【請求項 70】 如請求項 56 至 69 中任一項之結合蛋白，其中該結合蛋白與細胞表面上之該 pMHC 複合物結合。

【請求項 71】 如請求項 56 至 70 中任一項之結合蛋白，其中該 MHC 或該 MHC-肽複合物如根據請求項 8 至 17 中之任一項。

【請求項 72】 如請求項 56 至 71 中任一項之結合蛋白，其中該結合蛋白與該 MAGEA1 肽-MHC (pMHC)複合物之結合引發免疫反應，視情況其中該免疫反應係 i) T 細胞反應及/或 CD8+ T 細胞反應及/或 ii)選自由 T 細胞擴增、細胞介素釋放及/或細胞毒性殺傷組成之群。

【請求項 73】 如請求項 56 至 72 中任一項之結合蛋白，其中該結合蛋白能夠以小於或等於約 1×10^{-4} M、小於或等於約 5×10^{-5} M、小於或等於約 1×10^{-5} M、小於或等於約 5×10^{-6} M、小於或等於約 1×10^{-6} M、小於或等於約 5×10^{-7} M、

小於或等於約 1×10^{-7} M、小於或等於約 5×10^{-8} M、小於或等於約 1×10^{-8} M、小於或等於約 5×10^{-9} M、小於或等於約 1×10^{-9} M、小於或等於約 5×10^{-10} M、小於或等於約 1×10^{-10} M、小於或等於約 5×10^{-11} M、小於或等於約 1×10^{-11} M、小於或等於約 5×10^{-12} M 或小於或等於約 1×10^{-12} M 之 K_d 與該 MAGEA1 免疫原性肽-MHC (pMHC)複合物特異性及/或選擇性地結合。

【請求項 74】 如請求項 56 至 73 中任一項之結合蛋白，其中與已知之 T 細胞受體相比，該結合蛋白對該肽-MHC (pMHC)具有更高結合親和力，視情況其中該更高結合親和力至少高出 1.05 倍。

【請求項 75】 如請求項 56 至 74 中任一項之結合蛋白，其中當與具有 MAGEA1 雜合表現之標靶細胞接觸時，與已知之 T 細胞受體相比，該結合蛋白誘導更高 T 細胞擴增、細胞介素釋放及/或細胞毒性殺傷，視情況其中該誘導至少高出 1.05 倍。

【請求項 76】 如請求項 75 之結合蛋白，其中該細胞毒性殺傷係針對標靶癌細胞。

【請求項 77】 如請求項 76 之結合蛋白，其中該癌症係選自由以下組成之群：黑色素瘤、頭頸癌、肺癌、子宮頸癌、肝細胞癌、大腸直腸癌、胃腸道癌、大腸直腸癌、胃腸道癌、侵襲性乳癌及膀胱尿路上皮癌。

【請求項 78】 如請求項 56 至 77 中任一項之結合蛋白，其中該結合蛋白不與選自由 ALKDVEERV/HLA-A*02、LLFGLALIEV/HLA-A*02、SESIKKKVL/HLA-B*44 及 ASSTLYLVF/HLA-B*57 組成之群的肽-MHC (pMHC)複合物及包含 LAMB4-IR、TLE3、SLC16A2、SLC6A13、BTBD2、RXFP1 及/或 PIGO 肽抗原決定基之 pMHC 複合物結合。

【請求項 79】 一種 TCR α 鏈及/或 β 鏈，其選自由表 2 中所列之 TCR α 鏈及 β 鏈序列組成之群。

【請求項 80】 一種經分離之核酸分子，其 i)在嚴格條件下與編碼選自由表 2 中所列之多肽序列組成之群的多肽的核酸之補體雜交，ii)序列與編碼選自由表 2 中所列之多肽序列組成之群的多肽的核酸具有至少約 80%同源性，及/或 iii) ii)序列與編碼表 2 中所列之核酸具有至少約 80%同源性，視情況其中該經分離之核酸分子包含 1)選自表 2 中所列之 TRAV、TRAJ 及 TRAC 基因之群的 TRAV、TRAJ 及/或 TRAC 基因或其片段及/或 2)選自表 2 中所列之 TRBV、TRBJ 及 TRBC 基因之群的 TRBV、TRBJ 及/或 TRBC 基因或其片段。

【請求項 81】 如請求項 80 之經分離之核酸，其中該核酸經密碼子最佳化以在宿主細胞中表現。

【請求項 82】 一種載體，其包含如請求項 80 或 81 之經分離之核酸，視情況其中 i)該載體為選殖載體、表現載體或病毒載體及/或 ii)該載體包含表 3 中所列之載體序列。

【請求項 83】 如請求項 82 之載體，其中該載體進一步包含編碼 CD8α、CD8β、顯性負性 TGFβ 受體 II (DN-TGFβRII)、可選擇蛋白質標記物之核酸序列，視情況其中該可選擇蛋白質標記物為二氫葉酸還原酶(DHFR)。

【請求項 84】 如請求項 83 之載體，其中該編碼 CD8α、CD8β、該 DN-TGFβRII 及/或該可選擇蛋白質標記物之該核酸序列可操作地連接至編碼標籤之核酸。

【請求項 85】 如請求項 83 或 84 之載體，其中該編碼標籤之核酸處於該編碼 CD8α、CD8β、該 DN-TGFβRII 及/或該可選擇蛋白質標記物之該核酸序列上游之 5’，使得該標籤與 CD8α、CD8β、該 DN-TGFβRII 及/或該可選擇蛋白質標記物之 N 端融合。

【請求項 86】 如請求項 84 或 85 之載體，其中該標籤為 CD34 富集標籤。

【請求項 87】 如請求項 80 至 86 中任一項之核酸或載體，其中該編碼 TCRα、TCRβ、CD8α、CD8β、該 DN-TGFβRII 及/或該可選擇蛋白質標記物之該核酸序列與內部核糖體進入位點或編碼自裂解肽之核酸序列相互連接。

【請求項 88】 如請求項 87 之核酸或載體，其中該自裂解肽為 P2A、E2A、F2A 或 T2A。

【請求項 89】 一種宿主細胞，其包含如請求項 80 或 81 之經分離之核酸，包含如請求項 82 至 88 中任一項之載體，及/或表現如請求項 56 至 78 中任一項之結合蛋白，視情況其中該細胞經基因工程改造。

【請求項 90】 如請求項 89 之宿主細胞，其中該宿主細胞包含 TCR 基因、HLA 基因或兩者之染色體基因剔除。

【請求項 91】 如請求項 89 或 90 之宿主細胞，其中該宿主細胞包含選自以下之 HLA 基因之剔除：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 微球蛋白基因及其組合。

【請求項 92】 如請求項 89 至 91 中任一項之宿主細胞，其中該宿主細胞包含選自以下之 TCR 基因之剔除：TCR α 可變區基因、TCR β 可變區基因、TCR 恆定區基因及其組合。

【請求項 93】 如請求項 89 至 92 中任一項之宿主細胞，其中該宿主細胞表現 CD8α、CD8β、DN-TGFβRII 及/或可選擇蛋白質標記物，視情況其中該可選擇蛋白質標記物為 DHFR，進一步視情況其中該 CD8α、CD8β、該 DN-TGFβRII 及/或該可選擇蛋白質標記物與 CD34 富集標籤融合。

【請求項 94】 如請求項 93 之宿主細胞，其中宿主細胞使用該 CD34 富集標籤進行富集。

【請求項 95】 如請求項 89 至 94 中任一項之宿主細胞，其中該宿主細胞為造血先驅細胞、周邊血液單核細胞(PBMC)、臍帶血細胞或免疫細胞。

【請求項 96】 如請求項 95 之宿主細胞，其中該免疫細胞為 T 細胞、細胞毒性淋巴球、細胞毒性淋巴球前驅細胞、細胞毒性淋巴球先驅細胞、細胞毒性淋巴球幹細胞、$CD4^+$ T 細胞、$CD8^+$ T 細胞、CD4/CD8 雙陰性 T 細胞、γδ (gamma delta) T 細胞、自然殺手(NK)細胞、NK-T 細胞、樹突狀細胞或其組合。

【請求項 97】 如請求項 89 至 96 中任一項之宿主細胞，其中該 T 細胞為初始 T 細胞、中央記憶 T 細胞、效應記憶 T 細胞或其組合。

【請求項 98】 如請求項 89 至 97 中任一項之宿主細胞，其中該 T 細胞為初級 T 細胞或 T 細胞株之細胞。

【請求項 99】 如請求項 89 至 98 中任一項之宿主細胞，其中該 T 細胞不表現內源性 TCR 或具有內源性 TCR 之較低表面表現。

【請求項 100】如請求項 89 至 99 中任一項之宿主細胞，其中該宿主細胞在與標靶細胞接觸時能夠產生細胞介素或細胞毒性分子，該標靶細胞包括包含在 MHC 分子背景中之 MAGEA1 肽抗原決定基之肽-MHC (pMHC)複合物。

【請求項 101】如請求項 100 之宿主細胞，其中該宿主細胞在活體外、離體或活體內與該標靶細胞接觸。

【請求項 102】如請求項 100 或 101 之宿主細胞，其中該細胞介素為 TNF-α、IL-2 及/或 IFN-γ。

【請求項 103】如請求項 89 至 102 中任一項之宿主細胞，其中該細胞毒性分子為穿孔蛋白及/或顆粒酶，視情況其中該細胞毒性分子為顆粒酶 B。

【請求項 104】如請求項 89 至 103 中任一項之宿主細胞，其中該宿主細胞在與具有 MAGEA1 雜合表現之標靶細胞接觸時能夠產生更高水準之細胞介素或細胞毒性分子。

【請求項 105】如請求項 104 之宿主細胞，其中該宿主細胞能夠產生至少高出 1.05 倍水準之細胞介素或細胞毒性分子。

【請求項 106】如請求項 89 至 103 中任一項之宿主細胞，其中該宿主細胞能夠殺傷包括包含在 MHC 分子背景中之該 MAGEA1 肽抗原決定基之肽-MHC (pMHC)複合物的標靶細胞。

【請求項 107】如請求項 106 之宿主細胞，其中該殺傷係藉由殺傷分析來測定。

【請求項 108】如請求項 106 或 107 之宿主細胞，其中該殺傷分析中該宿主細胞與該標靶細胞之比率為 20:1 至 1:4。

【請求項 109】如請求項 106 至 108 中任一項之宿主細胞，其中該標靶細胞為用 1 μg/mL 至 50 pg/mL MAGEA1 肽進行脈衝輸送之標靶細胞，視情況其中該標靶細胞為與該 MAGEA1 肽匹配之 MHC 的單對偶基因細胞。

【請求項 110】如請求項 106 至 109 中任一項之宿主細胞，其中該宿主細胞在與具有 MAGEA1 雜合表現之標靶細胞接觸時能夠殺傷更高數目之標靶細胞，視情況其中該細胞殺傷至少高出 1.05 倍。

【請求項 111】如請求項 89 至 110 中任一項之宿主細胞，其中該標靶細胞為細胞株或初級細胞，視情況其中該標靶細胞係選自由以下組成之群：HEK293 來源之細胞株、癌細胞株、初級癌細胞、經轉型之細胞株及永生化細胞株。

【請求項 112】如請求項 89 至 111 中任一項之宿主細胞，其中該 MAGEA1 免疫原性肽如根據請求項 1 至 4 中之任一項及/或其中該 MHC 或該 MHC-肽複合物如根據請求項 8 至 17 中之任一項。

【請求項 113】如請求項 89 至 112 中任一項之宿主細胞，其中該宿主細胞在與包括包含 LAMB4-IR、TLE3、SLC16A2、SLC6A13、BTBD2、RXFP1 及/或 PIGO 肽抗原決定基之肽-MHC (pMHC)複合物的標靶細胞接觸時不誘導 T 細胞擴增、細胞介素釋放或細胞毒性殺傷。

【請求項 114】如請求項 89 至 113 中任一項之宿主細胞，其中該宿主細胞不表現 MAGEA1 抗原，未被如請求項 56 至 78 中任一項之結合蛋白識別，不屬

於血清型 HLA-C*07，及/或不表現 HLA-C*07 對偶基因。

【請求項 115】一種如請求項 89 至 114 中任一項之宿主細胞之群體。

【請求項 116】一種組合物，其包含 a)如請求項 56 至 77 中任一項之結合蛋白，b)如請求項 80 或 81 之經分離之核酸，c)如請求項 82 至 88 中任一項之載體，d)如請求項 89 至 114 中任一項之宿主細胞，及/或 e)如請求項 115 之宿主細胞之群體，及載劑。

【請求項 117】一種裝置或套組，其包含 a)如請求項 56 至 77 中任一項之結合蛋白，b)如請求項 80 或 81 之經分離之核酸，c)如請求項 82 至 88 中任一項之載體，d)如請求項 89 至 114 中任一項之宿主細胞，及/或 e)如請求項 115 之宿主細胞之群體，該裝置或套組視情況包含偵測 a)、d)及/或 e)與 pMHC 複合物之結合之試劑。

【請求項 118】一種產生如請求項 56 至 77 中任一項之結合蛋白的方法，其中該方法包括以下步驟：(i)在適合允許該結合蛋白表現之條件下培養經轉型之宿主細胞，該宿主細胞已藉由包含編碼如請求項 56 至 77 中任一項之結合蛋白之序列的核酸轉型；及(ii)回收該表現之結合蛋白。

【請求項 119】一種產生表現如請求項 56 至 77 中任一項之結合蛋白之宿主細胞的方法，其中該方法包括以下步驟：(i)將包含編碼如請求項 56 至 77 中任一項之結合蛋白之序列的核酸引入該宿主細胞中；及(ii)在適合允許該結合蛋白表現之條件下培養該經轉型之宿主細胞。

【請求項 120】一種偵測 MAGEA1 抗原及/或表現 MAGEA1 之細胞之存在或不存在的方法，視情況其中該細胞為過度增殖細胞，該方法包括藉由使用至少一種如請求項 56 至 77 中任一項之結合蛋白、至少一種如請求項 89 至 114 中任一項之宿主細胞或如請求項 115 之宿主細胞之群體來偵測樣品中該 MAGEA1 抗原之存在或不存在，其中偵測到該 MAGEA1 抗原表明存在

MAGEA1 抗原及/或表現 MAGEA1 之細胞。

【請求項 121】如請求項 120 之方法，其中該至少一種結合蛋白或該至少一種宿主細胞與在 MHC 分子背景中之該 MAGEA1 肽形成複合物，且以螢光活化細胞分選(FACS)、酶聯免疫吸附劑分析(ELISA)、放射免疫分析(RIA)、免疫化學、西方墨點法或細胞內流式分析之形式偵測該複合物。

【請求項 122】如請求項 120 或 121 之方法，其進一步包括自個體獲得該樣品。

【請求項 123】一種偵測個體中以 MAGEA1 表現為特徵之病症之程度的方法，其包括：

a) 使自該個體獲得之樣品與至少一種如請求項 56 至 77 中任一項之結合蛋白、至少一種如請求項 89 至 114 中任一項之宿主細胞或如請求項 115 之宿主細胞之群體接觸；及

b) 偵測反應性水準，

其中與對照水準相比存在反應性或反應性水準更高表明該個體中該以 MAGEA1 表現為特徵之病症之程度。

【請求項 124】如請求項 123 之方法，其中該對照水準為參考數字。

【請求項 125】如請求項 123 或 124 之方法，其中該對照水準為來自未患該以 MAGEA1 表現為特徵之病症之個體的水準。

【請求項 126】一種用於監測個體中以 MAGEA1 表現為特徵之病症之進展的方法，該方法包括：

a) 偵測個體樣品中自該個體獲得之樣品與至少一種如請求項 56 至 77 中任一項之結合蛋白、至少一種如請求項 89 至 114 中任一項之宿主細胞或如請求項 115 之宿主細胞之群體之間的反應性之存在或水準，

b) 在後續時間點重複步驟 a)；及

c) 比較在步驟 a)及 b)中偵測到之 MAGEA1 水準或表現 MAGEA1 之所

關注細胞以監測該個體中該以 MAGEA1 表現為特徵之病症之進展，其中與步驟 a)相比，步驟 b)中偵測到之 MAGEA1 水準或該表現 MAGEA1 之所關注細胞的不存在或降低表明該個體中該以 MAGEA1 表現為特徵之病症的進展受到抑制，且與步驟 a)相比，步驟 b)中偵測到之 MAGEA1 水準或該表現 MAGEA1 之所關注細胞的存在或增加表明該個體中該以 MAGEA1 表現為特徵之病症發生進展。

【請求項 127】如請求項 126 之方法，其中在第一時間點與該後續時間點之間，該個體已進行治療以治療該以 MAGEA1 表現為特徵之病症。

【請求項 128】一種用於預測罹患以 MAGEA1 表現為特徵之病症之個體的臨床結果的方法，其包括：

a) 測定自該個體獲得之樣品與至少一種如請求項 56 至 77 中任一項之結合蛋白、至少一種如請求項 89 至 114 中任一項之宿主細胞或如請求項 115 之宿主細胞之群體之間的反應性之存在或水準；及

b) 將該反應性之存在或水準與來自對照之反應性進行比較，其中該對照係自具有良好臨床結果之個體獲得；

其中與該對照相比該個體樣品中不存在反應性或反應性水準降低表明該個體具有良好臨床結果。

【請求項 129】一種評估療法對以 MAGEA1 表現為特徵之病症之功效的方法，其包括：

a) 在針對該以 MAGEA1 表現為特徵之病症向該個體提供該療法之至少一部分之前自該個體獲得之第一樣品中，測定自該個體獲得之樣品與至少一種如請求項 56 至 77 中任一項之結合蛋白、至少一種如請求項 89 至 114 中任一項之宿主細胞或如請求項 115 之宿主細胞之群體之間的反應性之存在或水準，及

b) 在針對該以 MAGEA1 表現為特徵之病症提供該療法之後自該個體獲得之第二樣品中，測定自該個體獲得之樣品與至少一種如請求項 56 至 77 中任一項之結合蛋白、至少一種如請求項 89 至 114 中任一項之宿主細胞或如請求項 115 之宿主細胞之群體之間的反應性之存在或水準，

其中相對於該第一樣品，該第二樣品中不存在反應性或反應性水準降低表明該療法有效治療該個體之該以 MAGEA1 表現為特徵之病症，且其中相對於該第一樣品，該第二樣品中存在反應性或反應性水準增加表明該療法未有效治療該個體之該以 MAGEA1 表現為特徵之病症。

【請求項 130】如請求項 120 至 129 中任一項之方法，其中該反應性水準由 a)結合之存在及/或 b) T 細胞活化及/或效應功能指示，視情況其中該 T 細胞活化或效應功能為 T 細胞增殖、殺傷或細胞介素釋放。

【請求項 131】如請求項 120 至 130 中任一項之方法，其中該 T 細胞結合、活化及/或效應功能係使用螢光活化細胞分選(FACS)、酶聯免疫吸附劑分析(ELISA)、放射免疫分析(RIA)、免疫化學、西方墨點法或細胞內流式分析來偵測。

【請求項 132】一種預防及/或治療以 MAGEA1 表現為特徵之病症的方法，其包括使表現 MAGEA1 之標靶細胞與治療有效量的包含表現至少一種如請求項 56 至 77 中任一項之結合蛋白之細胞的組合物接觸，視情況其中該組合物投與至個體。

【請求項 133】如請求項 49 至 55 及 132 中任一項之方法，其中該細胞為同種異體細胞、同基因型細胞或自體同源細胞。

【請求項 134】如請求項 49 至 55、132 及 133 中任一項之方法，其中該細胞為如請求項 89 至 114 中任一項之宿主細胞或如請求項 115 之宿主細胞之群體。

【請求項 135】如請求項 49 至 55 及 132 至 134 中任一項之方法，其中該標靶細

胞為表現 MAGEA1 之癌細胞。

【請求項 136】如請求項 49 至 55 及 132 至 135 中任一項之方法，其中該組合物進一步包含醫藥學上可接受之載劑。

【請求項 137】如請求項 49 至 55 及 132 至 136 中任一項之方法，其中該組合物在該個體中誘導針對該表現 MAGEA1 之標靶細胞之免疫反應。

【請求項 138】如請求項 49 至 55 及 132 至 137 中任一項之方法，其中該組合物在該個體中誘導針對該表現 MAGEA1 之標靶細胞之抗原特異性 T 細胞免疫反應。

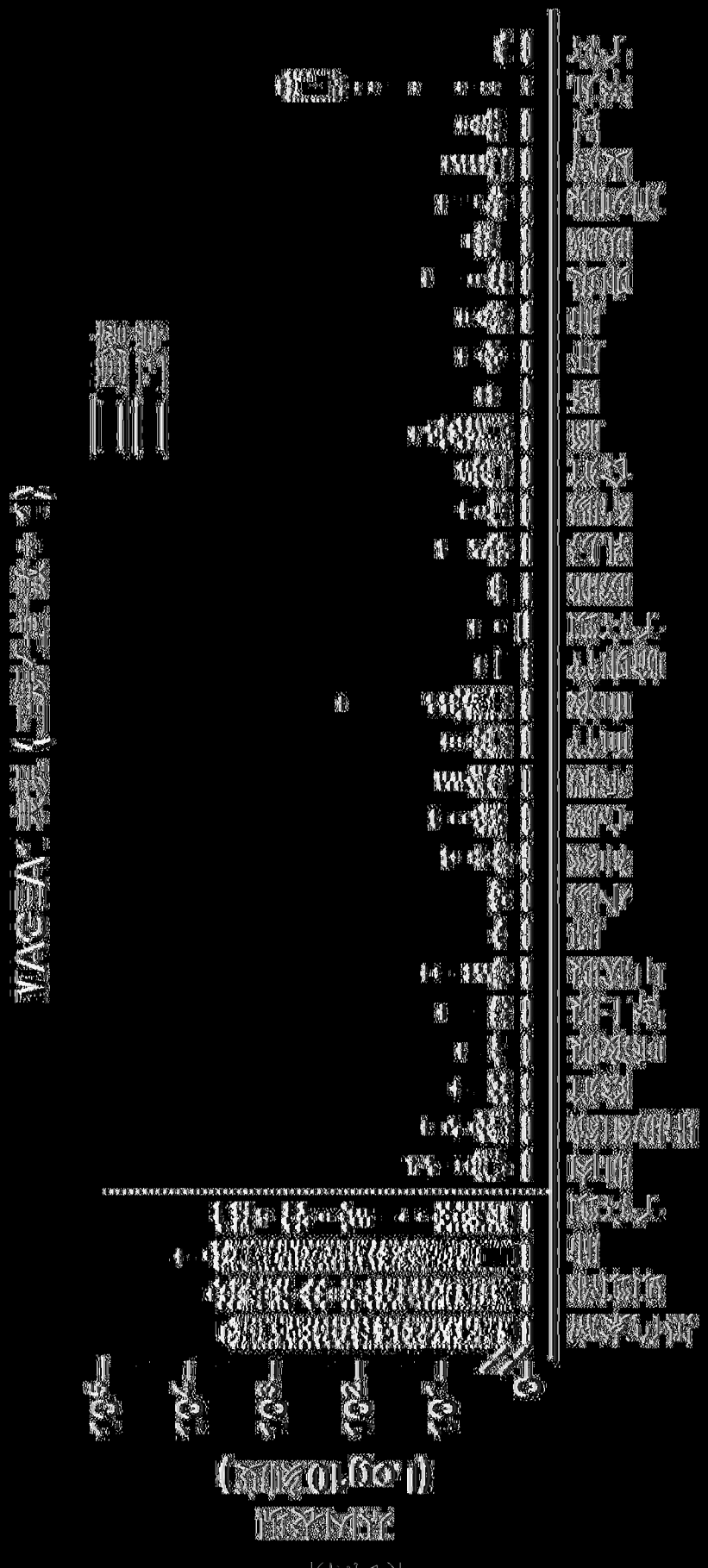
【請求項 139】如請求項 49 至 55 及 132 至 138 中任一項之方法，其中該抗原特異性 T 細胞免疫反應包含 $CD4^+$輔助 T 淋巴球(Th)反應及 CD8+細胞毒性 T 淋巴球(CTL)反應中之至少一者。

【請求項 140】如請求項 49 至 55 及 132 至 139 中任一項之方法，其進一步包括投與至少一種針對該以 MAGEA1 表現為特徵之病症的額外治療，視情況其中該至少一種針對該以 MAGEA1 表現為特徵之病症的額外治療與該組合物同時或依次投與。

【請求項 141】如請求項 132 至 140 中任一項之方法，其中該以 MAGEA1 表現為特徵之病症為癌症或其復發，視情況其中該癌症係選自由以下組成之群：黑色素瘤、頭頸癌、肺癌、子宮頸癌、肝細胞癌、侵襲性乳癌及膀胱尿路上皮癌。

【請求項 142】如請求項 132 至 141 中任一項之方法，其中該個體為以 MAGEA1 表現為特徵之病症之動物模型及/或哺乳動物，視情況其中該哺乳動物為人類、靈長類動物或嚙齒類動物。

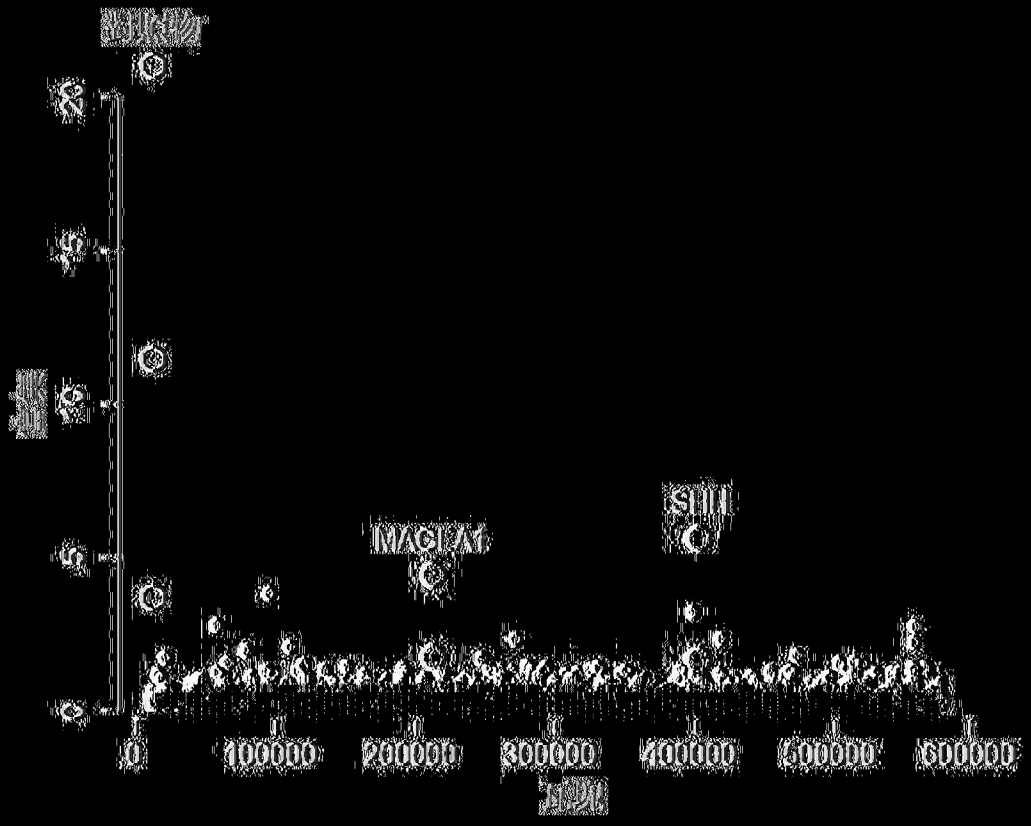
(發明圖式)

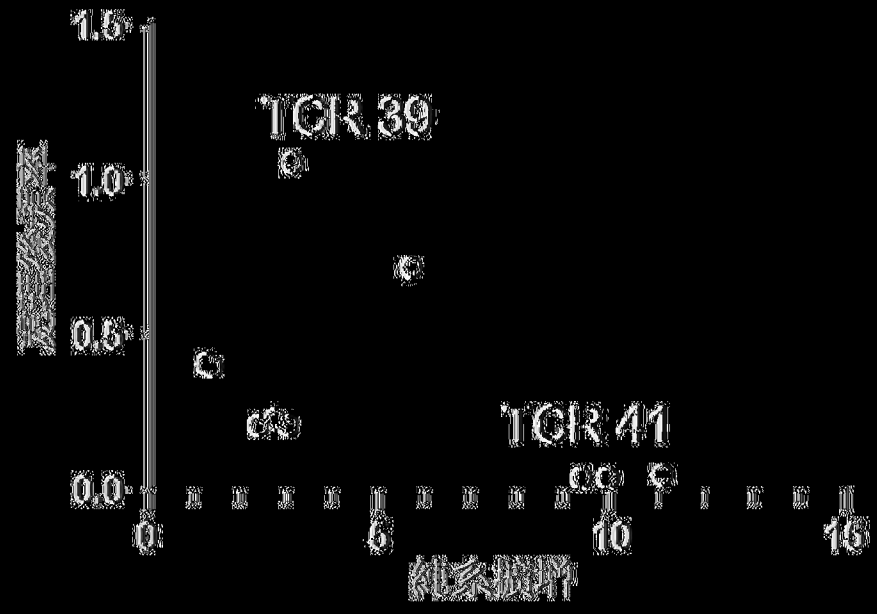


(圖 1)

圖 1 (續)

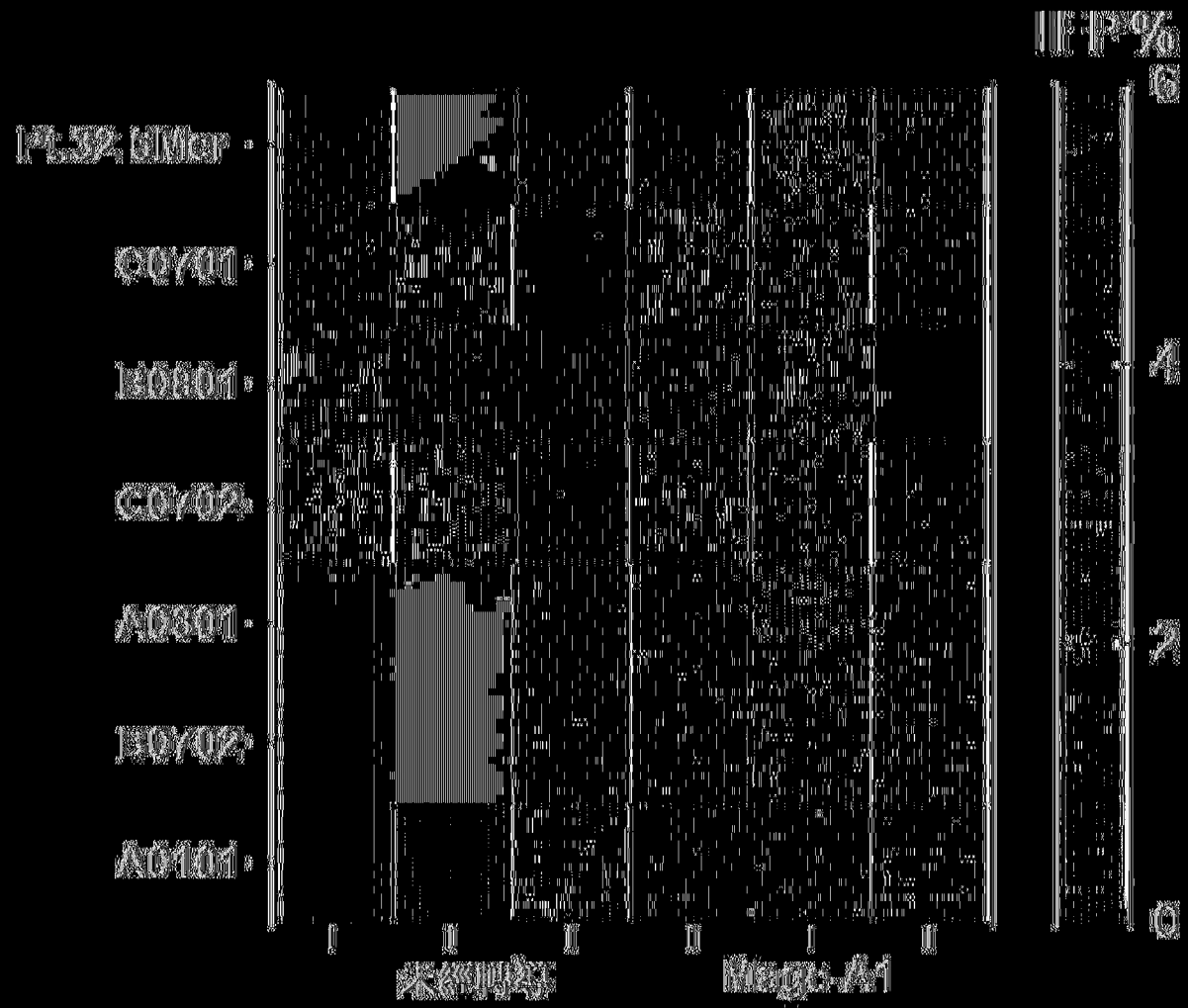
[圖 2A]





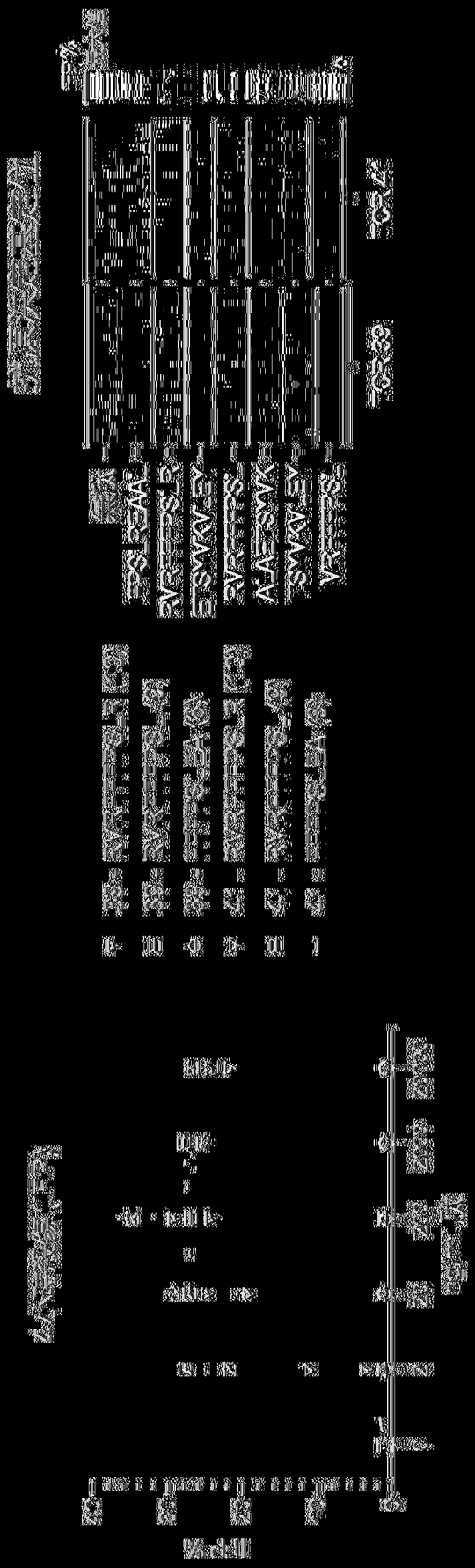
TCR	標靶	HA
HNRNPA2B1 HNRNPA2/B1	MACF-A1	C07/02

圖 2A (續)

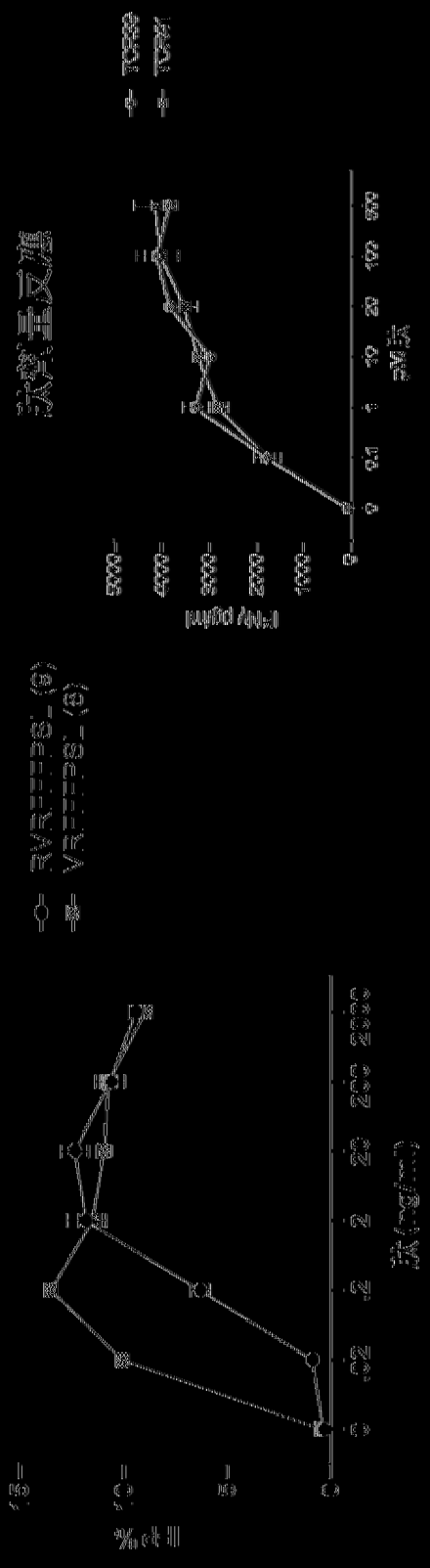

IFP%
6
4
2
0
Pt.3% Ulter
C0/01
B080d
C-0/02
A0301
B0/02
A0101
未經調整
調整-A1

[圖 2B]

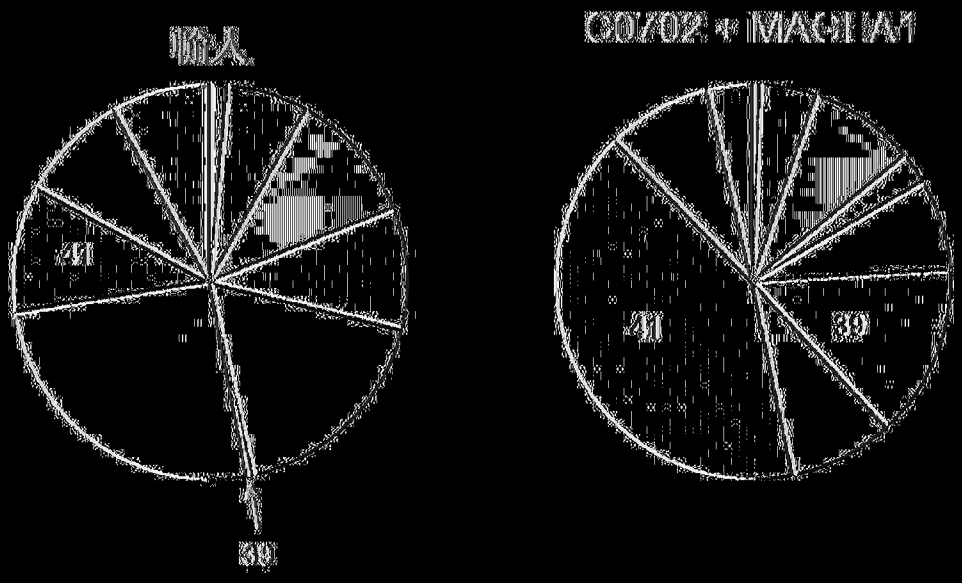
EP 4 345 099 A1 (19) European Patent Office (11) EP 4 345 099 A1 (12) EUROPEAN PATENT APPLICATION published in accordance with Art. 153(4) EPC (43) Date of publication: 03.04.2024 Bulletin 2024/14 (21) Application number: 22811652.0 (22) Date of filing: 20.05.2022 (51) International Patent Classification (IPC): C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01) (52) Cooperative Patent Classification (CPC): A61K 39/395; A61P 35/00; C07K 16/28 (86) International application number: PCT/CN2022/093994 (87) International publication number: WO 2022/247766 (01.12.2022 Gazette 2022/48) (84) Designated Contracting States: AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO RS SE SI SK SM TR (30) Priority: 27.05.2021 CN 202110586124 (71) Applicant: Shanghai Henlius Biotech, Inc. Shanghai 201203 (CN) (72) Inventors: • ZHANG, Yuanyuan Shanghai 201203 (CN) • LIU, Yuanyuan Shanghai 201203 (CN) • ZHANG, Yuanyuan Shanghai 201203 (CN) • ZHANG, Yuanyuan Shanghai 201203 (CN) • ZHANG



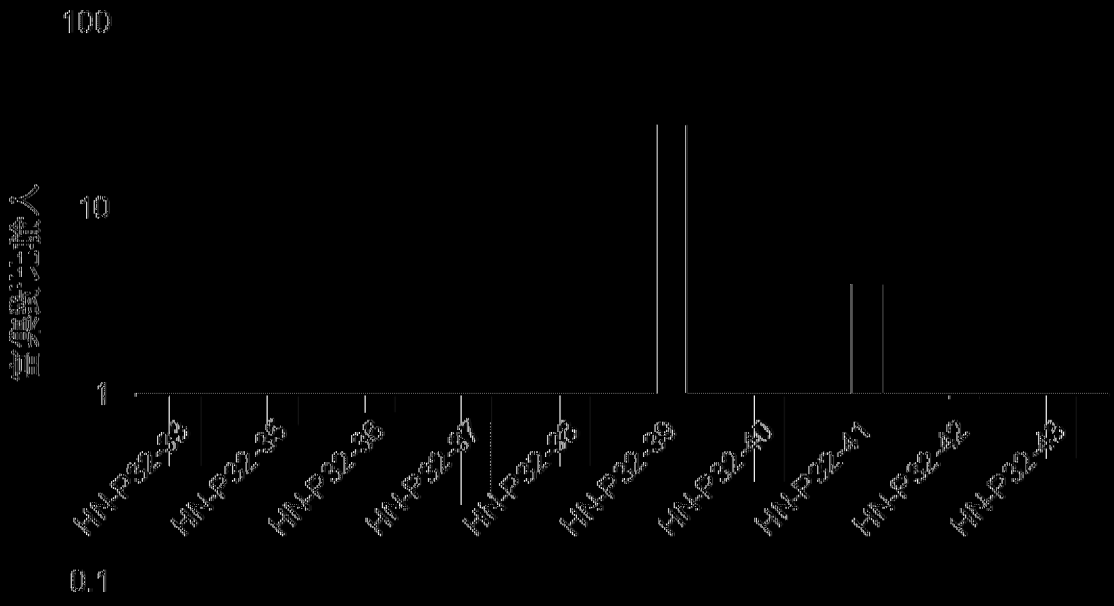
[(圖 2D)]



[圖 2E]



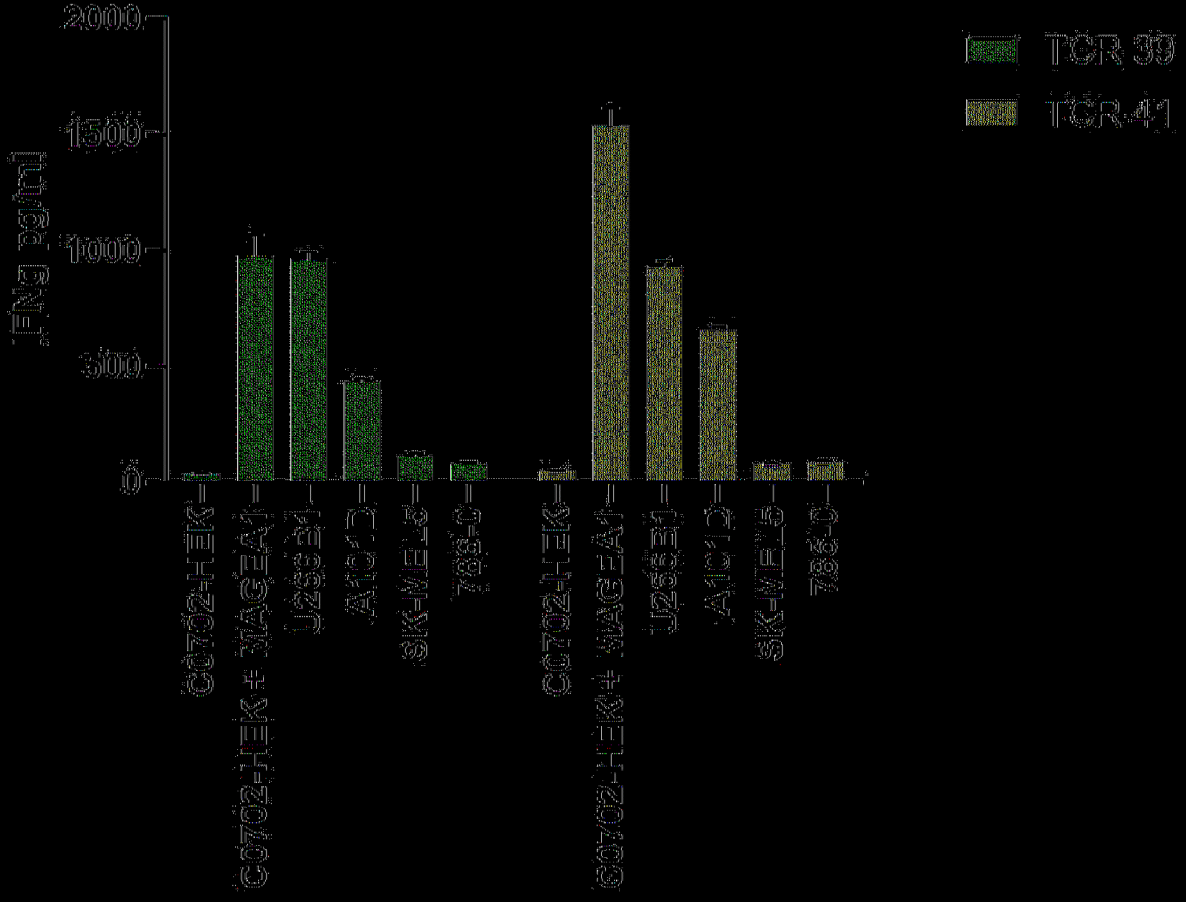
[圖 3A]



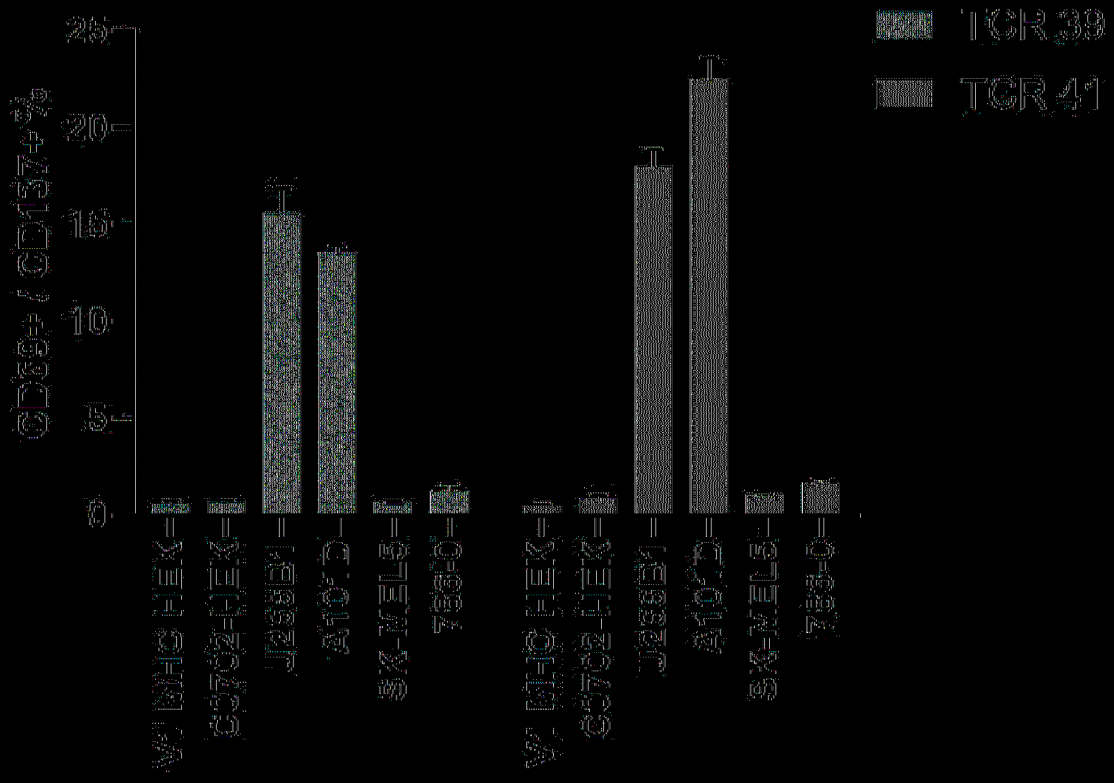
[圖 3B]

細胞株		MAGE A1 TPM
U266B1		657
A101D		359
SKMEL5		8
786-O		0.4

[圖 4A]


TCR 39
TCR 41
2000
1500
1000
500
0
Fold of Induction
30 nM H2O2
30 nM H2O2 + 1 μM Ex-4
30 nM H2O2 + 5 μM Ex-4
30 nM H2O2 + 10 μM Ex-4
30 nM H2O2 + 1 μM Ex-4 + 10 μM EX527
30 nM H2O2 + 5 μM Ex-4 + 10 μM EX527
30 nM H2O2 + 10 μM Ex-4 + 10 μM EX527
5 μM EX527
10 μM EX527

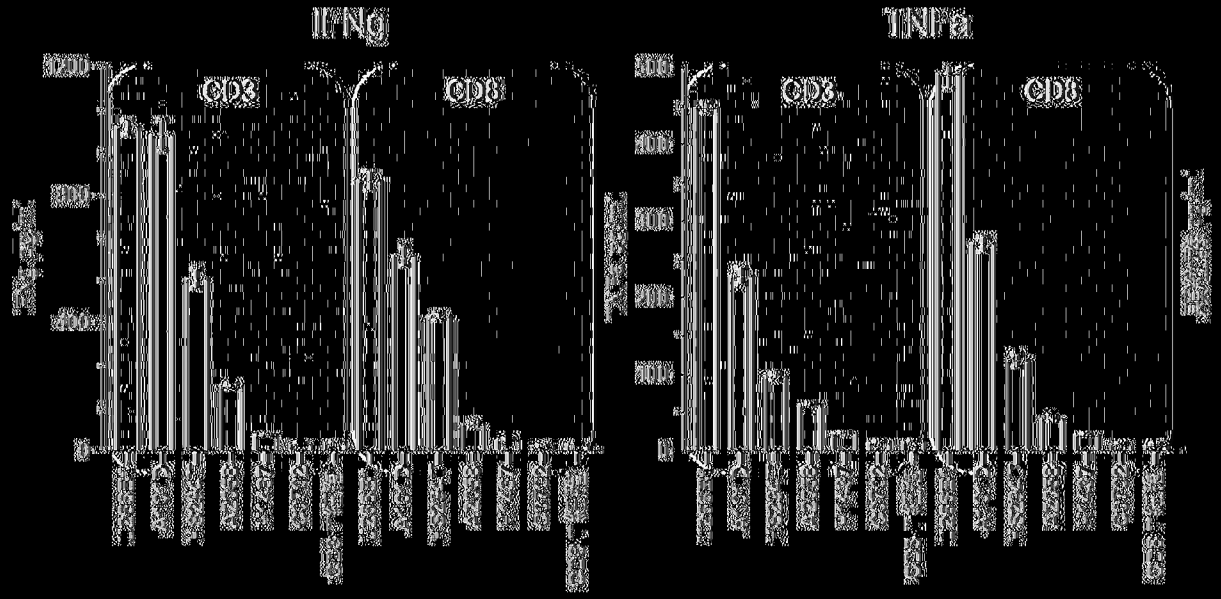
[圖 4B]


TCR39
TCR41
25
20
15
10
5
0
Fold of Induction
30 nM H2O2
30 nM H2O2 + 1 μM Ex-4
30 nM H2O2 + 5 μM Ex-4
30 nM H2O2 + 10 μM Ex-4
30 nM H2O2 + 1 μM Ex-4 + 10 μM EX527
30 nM H2O2 + 5 μM Ex-4 + 10 μM EX527
30 nM H2O2 + 10 μM Ex-4 + 10 μM EX527
5 μM EX527
10 μM EX527

[圖 4C]

細胞株	名称	MACHA1(TPM
U266B1	多発性骨髄腫	657
A101D	悪性黒色腫	359
HS294T	悪性黒色腫	267
A2058	悪性黒色腫	128
NCIH1437	肺腺癌	25
DLKC07022	肺癌	0

[図5A]



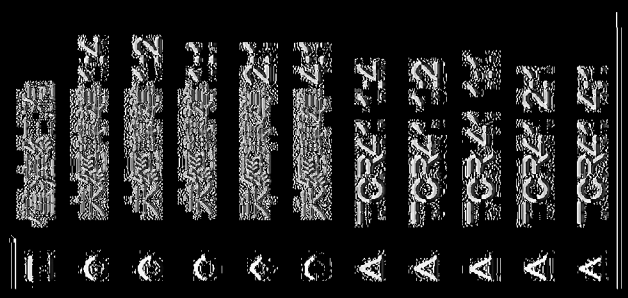


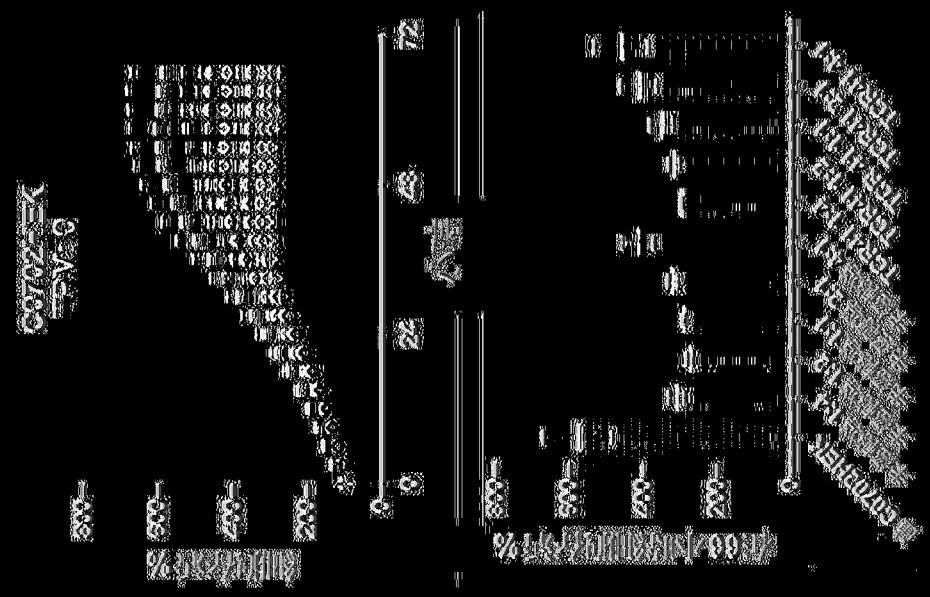
[図5B]

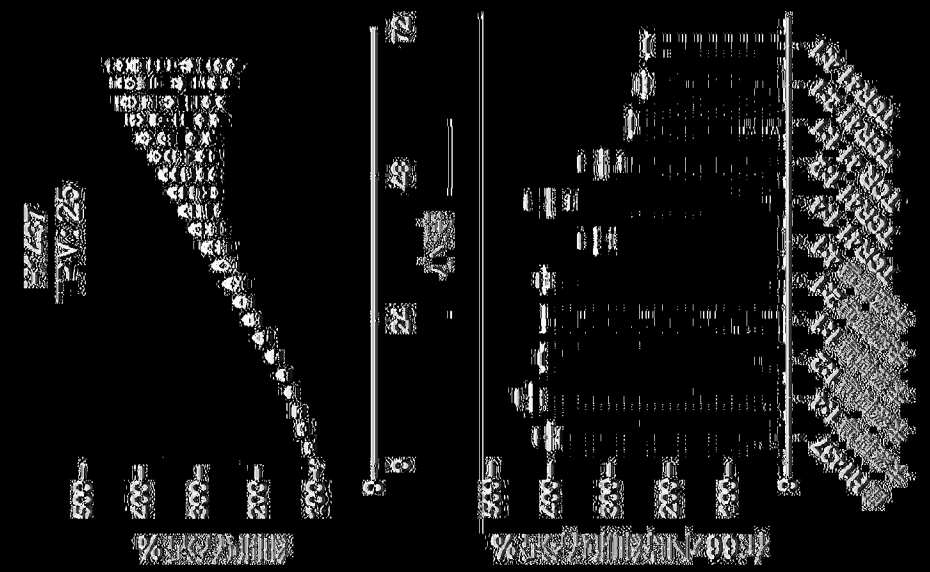
U2660D1
A10.1D
H1529AF
A2060
H1143R
C0702.1MK
GND_PWRGD
U2660D1
A10.1D
H1529AF
A2060
H1143R
C0702.1MK
GND_PWRGD
U2660D1
A10.1D
H1529AF
A2060
H1143R
C0702.1MK
GND_PWRGD

[圖 5C]

[圖 6A]







[圖 6B]

MAGEA4 + 0 TPM
CT-EFX555
MAGEA4 + 25 TPM
H1457
MAGEA4 + 128 TPM
A2058
MAGEA4 + 191 TPM
H2087
MAGEA4 + 359 TPM
A101D
NTP
TCR-ε
生存細胞(%)
時間(日)
0
24
48
72
100
80
60
40
20
0

[圖 6C]

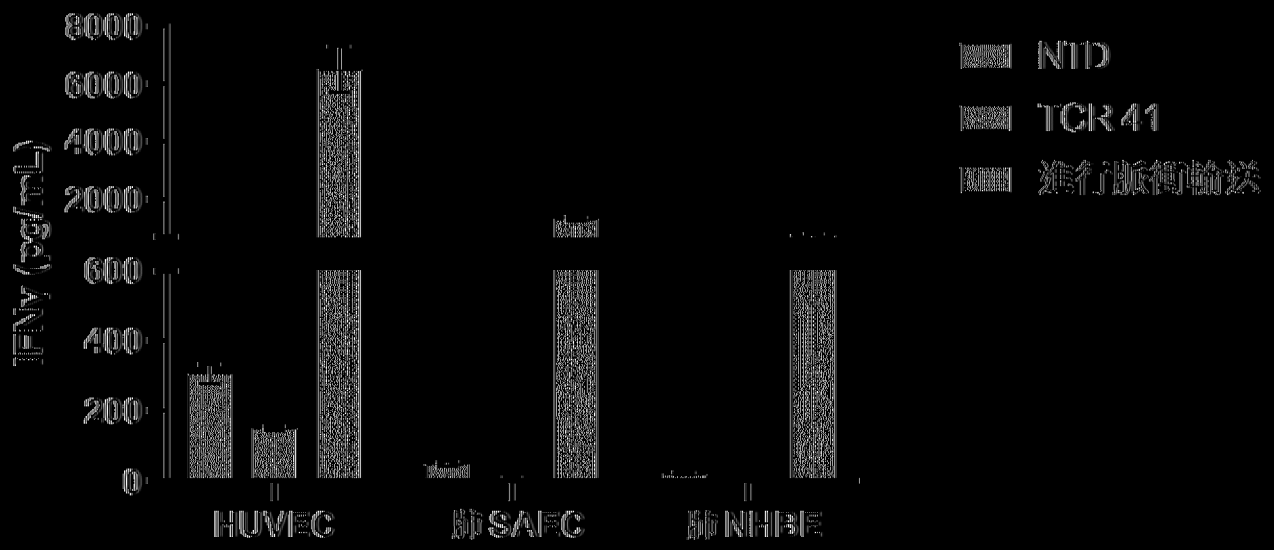
[圖 7]


600,000
500,000
400,000
300,000
200,000
100,000
0
200
300
200
300
200
0
SiC-GaN
SiC-GaAs
TAGFET
AlGaAs

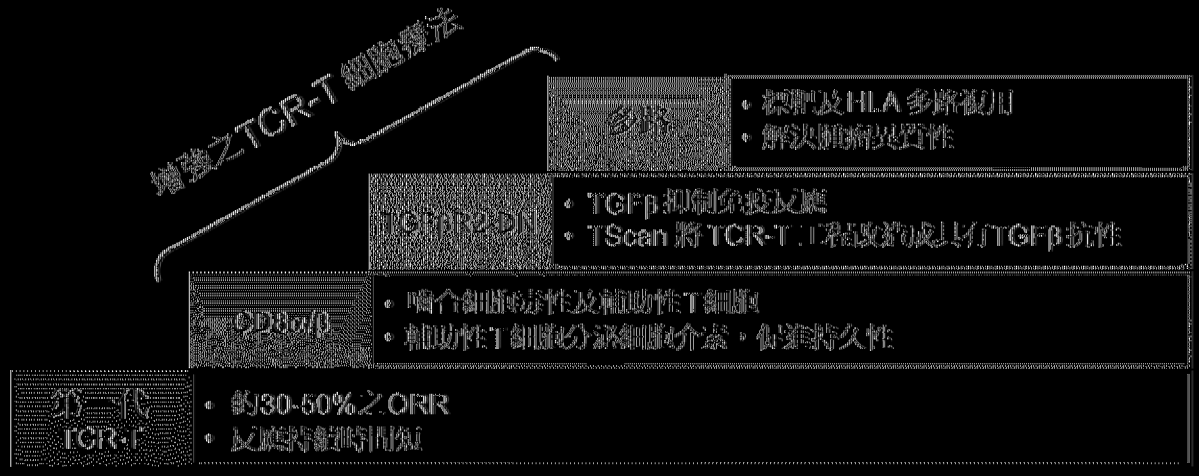
[圖 8]

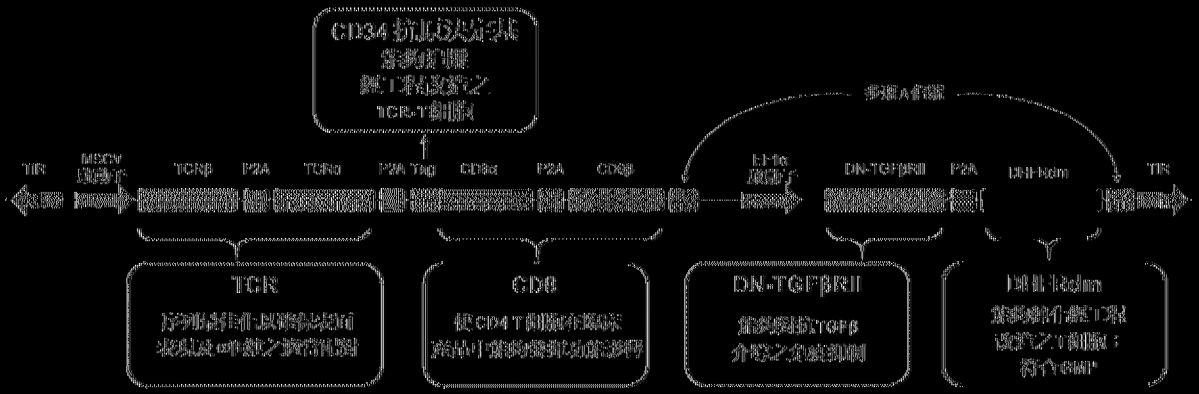
VAGEAX
JAVRAR
20000
2000
200
20
2
0.2
0.02
%dlll
VAGEAX
JAVRAR
%dlll
L.AVRDA.IIR
PIQQ
SI.C6VA13
TI.M3
M/AO|AA
M/AO|AA.IIA
%dlll

圖 9


8000
6000
4000
2000
600
400
200
0
[TCR+ cells/mL]
HUVEC
肺SAEC
肺NHBE
NTD
TCR41
進行脈衝輸送

[圖 10]


增強之TCR-T 細胞療法
多靶
• 標靶及HLA 多靶複合
• 解決腫瘤異質性
DNTGFBR2-DN
• TGFβ 抑制免疫之惡
• TScan 將TCR-T 工程設計成具有TGFβ 抗性
CD8α/β
• 嗜介細胞的活性及輔助性T 細胞
• 輔助性T 細胞的活細胞介素，促進持久性
第一代
TCR-T
• 約30-60%之ORR
• 反應持續時間短


CD34 抗體決定基
誘導自殺
靶T 細胞選擇
TCR-T 細胞
TIR
MSCV 啟動子
TCRβ
P2A
TCRα
P2A
TagBFP
CD8α
P2A
CD8β
EF1α 啟動子
DN-TGFβRII
P2A
CD34-Nolm
TIR
TCR
CD8
DN-TGFβRII
CD34-Nolm

[圖 11]