



(10) 申请公布号 CN 115427436 A

(43) 申请公布日 2022.12.02

(21) 申请号 202180023291.4

(22) 申请日 2021.01.22

(30) 优先权数据

62/965,231 2020.01.24 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.09.21

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/014490 2021.01.22

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/150804 EN 2021.07.29

(71) 申请人 里珍纳龙药品有限公司

地址 美国纽约州

(72) 发明人 N·鲍尔曼 J·汉森

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

专利代理师 陈文平 黄海波

(51) Int.Cl.

*C07K 14/47* (2006.01)

*A61K 35/17* (2006.01)

*C07K 14/725* (2006.01)

权利要求书9页 说明书71页

(54) 发明名称

黑素瘤优先表达抗原 (PRAME) T细胞受体及其使用方法

(57) 摘要

本发明提供了分离的T细胞受体 (TCR), 所述T细胞受体与HLA展示的癌睾丸抗原, 黑素瘤优先表达抗原 (PRAME) 肽特异性地结合, 以及使用那些分离的TCR的治疗和诊断方法。

1. 一种T细胞受体 (TCR), 所述T细胞受体与HLA-A2呈递的黑素瘤优先表达抗原 (PRAME) 肽特异性地结合, 所述PRAME肽包含RLDQLLRHV (SEQ ID NO:929) (PRAME312-320) 的氨基酸序列, 其中所述TCR包含 $\alpha$ 链可变结构域, 所述 $\alpha$ 链可变结构域包含互补决定区 (CDR) 3, 其中所述CDR3包含表3中列出的 $\alpha$ 链可变结构域CDR3氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列。

2. 一种T细胞受体 (TCR), 所述T细胞受体与HLA-A2呈递的黑素瘤优先表达抗原 (PRAME) 肽特异性地结合, 所述PRAME肽包含RLDQLLRHV (SEQ ID NO:929) (PRAME 312-320) 的氨基酸序列, 其中所述TCR包含 $\beta$ 链可变结构域, 所述 $\beta$ 链可变结构域包含互补决定区 (CDR) 3, 其中所述CDR3包含表3中列出的 $\beta$ 链可变结构域CDR3氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列。

3. 根据权利要求1至2中任一项所述的TCR, 其中所述TCR包含至少一个TCR $\alpha$ 链可变结构域和/或至少一个 $\beta$ 链可变结构域。

4. 根据权利要求3所述的TCR, 其中所述TCR包含TCR $\alpha$ 链可变结构域和TCR $\beta$ 链可变结构域。

5. 根据权利要求1至4中任一项所述的TCR, 其中所述 $\alpha$ 链可变结构域进一步包含CDR1和CDR2, 其中所述CDR1包含表3中列出的 $\alpha$ 链可变结构域CDR1氨基酸序列中的任一个, 并且所述CDR2独立地包含表3中列出的 $\alpha$ 链可变结构域CDR2氨基酸序列中的任一个。

6. 根据权利要求5所述的TCR, 其中所述 $\beta$ 链可变结构域进一步包含CDR1和CDR2, 其中所述CDR1包含表3中列出的 $\beta$ 链可变CDR1氨基酸序列中的任一个, 并且所述CDR2独立地包含表3中列出的 $\beta$ 链可变结构域CDR2氨基酸序列中的任一个。

7. 根据权利要求4至6中任一项所述的TCR, 其包含: $\alpha$ 链可变结构域CDR1、CDR2及CDR3, 其包含在表5中所列的 $\alpha$ 链可变结构域序列中的任一个内; 以及 $\beta$ 链可变结构域CDR1、CDR2和CDR3, 其包含在表5中所列的 $\beta$ 链可变结构域序列中的任一个内。

8. 一种T细胞受体 (TCR), 所述T细胞受体与HLA-A2呈递的黑素瘤优先表达抗原 (PRAME) 肽特异性地结合, 所述PRAME肽包含RLDQLLRHV (SEQ ID NO:929) (PRAME 312-320) 的氨基酸序列, 其中所述TCR包含 $\alpha$ 链CDR1、CDR2和CDR3/ $\beta$ 链CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列, 所述 $\alpha$ 链CDR1、CDR2和CDR3/ $\beta$ 链CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列选自 $\alpha$ 链/ $\beta$ 链可变结构域序列对: SEQ ID NO:217/219、221/223、225/227、229/231、233/235、237/239、241/243、245/247、249/251、253/255、257/259、261/263、265/267、269/271、273/275、277/279、281/283和285/287。

9. 根据权利要求1至8中任一项所述的TCR, 其包含 $\alpha$ 链可变结构域, 所述 $\alpha$ 链可变结构域具有与表5中所列的 $\alpha$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

10. 根据权利要求1至9中任一项所述的TCR, 其包含 $\beta$ 链可变结构域, 所述 $\beta$ 链可变结构域具有与表5中所列的 $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的所述完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

11. 根据权利要求1至10中任一项所述的TCR, 其包含: (a)  $\alpha$ 链可变结构域, 所述 $\alpha$ 链可变结构域具有与表5中所列的所述 $\alpha$ 链可变结构域氨基酸序列的所述氨基酸序列中的任一个的所述完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列; 以及 (b)  $\beta$ 链可变结构域, 所述 $\beta$ 链可变结构域具有与表5中所列的所述 $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列的所述氨基酸序列中的任一个的所述完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

12. 根据权利要求4至11中任一项所述的TCR, 其包含:

(a)  $\alpha$ 链可变结构域CDR1结构域,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、7、13、19、25、31、37、43、49、55、61、67、73、79、85、91、97和103;

(b)  $\alpha$ 链可变结构域CDR2结构域,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2、8、14、20、26、32、38、44、50、56、62、68、74、80、86、92、98和104;

(c)  $\alpha$ 链可变结构域CDR3结构域,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:3、9、15、21、27、33、39、45、51、57、63、69、75、81、87、93、99和105;

(d)  $\beta$ 链可变结构域CDR1,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:4、10、16、22、28、34、40、46、52、58、64、70、76、82、88、94、100和106;

(e)  $\beta$ 链可变结构域CDR2,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:5、11、17、23、29、35、41、47、53、59、65、71、77、83、89、95、101和107;以及

(f)  $\beta$ 链可变结构域CDR3,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:6、12、18、24、30、36、42、48、54、60、66、72、78、84、90、96、102和108。

13. 根据权利要求12所述的TCR,其包含选自由以下组成的组的 $\alpha$ 链可变结构域/ $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列对:SEQ ID NO:217/219、221/223、225/227、229/231、233/235、237/239、241/243、245/247、249/251、253/255、257/259、261/263、265/267、269/271、273/275、277/279、281/283和285/287。

14. 一种T细胞受体(TCR),所述T细胞受体与HLA-A2呈递的黑素瘤优先表达抗原(PRAME)肽特异性地结合,所述PRAME肽包含SLLQHLIGL(SEQ ID NO:930)(PRAME 425-433)的氨基酸序列,其中所述TCR包含 $\alpha$ 链可变结构域,所述 $\alpha$ 链可变结构域包含互补决定区(CDR)3,其中所述CDR3包含表6中列出的所述 $\alpha$ 链可变结构域CDR3氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列。

15. 一种T细胞受体(TCR),所述T细胞受体与HLA-A2呈递的黑素瘤优先表达抗原(PRAME)肽特异性地结合,所述PRAME肽包含SLLQHLIGL(SEQ ID NO:930)(PRAME 425-433)的氨基酸序列,其中所述TCR包含 $\beta$ 链可变结构域,所述 $\beta$ 链可变结构域包含互补决定区(CDR)3,其中所述CDR3包含表6中列出的所述 $\beta$ 链可变结构域CDR3氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列。

16. 根据权利要求14或15所述的TCR,其中所述 $\alpha$ 链可变结构域进一步包含CDR1和CDR2,其中所述CDR1包含表6中列出的 $\alpha$ 链可变结构域CDR1氨基酸序列中的任一个,并且所述CDR2独立地包含表6中列出的 $\alpha$ 链可变结构域CDR2氨基酸序列中的任一个。

17. 根据权利要求16所述的TCR,其中所述 $\beta$ 链可变结构域进一步包含CDR1和CDR2,其中所述CDR1包含表6中列出的 $\beta$ 链可变CDR1氨基酸序列中的任一个,并且所述CDR2独立地包含表6中列出的 $\beta$ 链可变结构域CDR2氨基酸序列中的任一个。

18. 根据权利要求14至17中任一项所述的TCR,其中所述TCR包含至少一个TCR $\alpha$ 链可变结构域和/或至少一个 $\beta$ 链可变结构域。

19. 根据权利要求18所述的TCR,其中所述TCR包含TCR $\alpha$ 链可变结构域和TCR  $\beta$ 链可变结构域。

20. 根据权利要求17至19中任一项所述的TCR,其包含: $\alpha$ 链可变结构域CDR1、CDR2及CDR3,其包含在表8中所列的 $\alpha$ 链可变结构域序列中的任一个内;以及 $\beta$ 链可变结构域CDR1、CDR2和CDR3,其包含在表8中所列的 $\beta$ 链可变结构域序列中的任一个内。

21. 一种T细胞受体 (TCR), 所述T细胞受体与HLA-A2呈递的黑素瘤优先表达抗原 (PRAME) 肽特异性地结合, 所述PRAME肽包含s11qhlig1 (SEQ ID NO:930) (PRAME425-433) 的氨基酸序列, 其中所述TCR包含 $\alpha$ 链CDR1、CDR2和CDR3/ $\beta$ 链CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列, 所述 $\alpha$ 链CDR1、CDR2和CDR3/ $\beta$ 链CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列选自 $\alpha$ 链/ $\beta$ 链可变结构域序列对: SEQ ID NO:769/771、773/775、777/779、781/783、785/787、789/791、793/795、797/799、801/803、805/807、809/811、813/815、817/819、821/823、825/827、829/831、833/835、837/839、841/843、845/847、849/851、853/855、857/859、861/863、865/867、869/871、873/875、877/879、881/883、885/887、889/891、893/805、897/899、901/903、905/907、909/911、913/915、917/919、921/923和925/927。

22. 根据权利要求14至21中任一项所述的TCR, 其包含 $\alpha$ 链可变结构域, 所述 $\alpha$ 链可变结构域具有与表8中所列的 $\alpha$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

23. 根据权利要求14至22中任一项所述的TCR, 其包含 $\beta$ 链可变结构域, 所述 $\beta$ 链可变结构域具有与表8中所列的 $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

24. 根据权利要求14至23中任一项所述的TCR, 其包含: (a)  $\alpha$ 链可变结构域, 所述 $\alpha$ 链可变结构域具有与表8中所列的所述 $\alpha$ 链可变结构域氨基酸序列的所述氨基酸序列中的任一个的所述完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列; 以及 (b)  $\beta$ 链可变结构域, 所述 $\beta$ 链可变结构域具有与表8中所列的所述 $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列的所述氨基酸序列中的任一个的所述完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

25. 根据权利要求17至24中任一项所述的TCR, 其包含:

(a)  $\alpha$ 链可变结构域CDR1结构域, 其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列: SEQ ID NO:289、295、301、307、313、319、325、331、337、343、349、355、361、367、373、379、385、391、397、403、409、415、421、427、433、439、445、451、457、463、469、475、481、487、493、499、505、511、517和523;

(b)  $\alpha$ 链可变结构域CDR2结构域, 其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:

SEQ ID NO:290、296、302、308、314、320、326、332、338、344、350、356、362、368、374、380、386、392、398、404、410、416、422、428、434、440、446、452、458、464、470、476、482、488、494、500、506、512、518和524;

(c)  $\alpha$ 链可变结构域CDR3结构域, 其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列: SEQ ID NO:291、297、303、309、315、321、327、333、339、345、351、357、363、369、375、381、387、393、399、405、411、417、423、429、435、441、447、453、459、465、471、477、483、489、495、501、507、513、519和525;

(d)  $\beta$ 链可变结构域CDR1, 其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列: SEQ ID NO:292、298、304、310、316、322、328、334、340、346、352、358、364、370、376、382、388、394、400、406、412、418、424、430、436、442、448、454、460、466、472、478、484、490、496、502、508、514、520和526;

(e)  $\beta$ 链可变结构域CDR2, 其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列: SEQ ID NO:293、299、305、311、317、323、329、335、341、347、353、359、365、371、377、383、389、395、401、407、

413、419、425、431、437、443、449、455、461、467、473、479、485、491、497、503、509、515、521和527;以及

(f)  $\beta$ 链可变结构域CDR3,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:294、300、306、312、318、324、330、336、342、348、354、360、366、372、378、384、390、396、402、408、414、420、426、432、438、444、450、456、462、468、474、480、486、492、498、504、510、516、522和528。

26. 根据权利要求25所述的TCR,其包含选自由以下组成的组的 $\alpha$ 链可变结构域/ $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列对:SEQ ID NO:769/771、773/775、777/779、781/783、785/787、789/791、793/795、797/799、801/803、805/807、809/811、813/815、817/819、821/823、825/827、829/831、833/835、837/839、841/843、845/847、849/851、853/855、857/859、861/863、865/867、869/871、873/875、877/879、881/883、885/887、889/891、893/895、897/899、901/903、905/907、909/911、913/915、917/919、921/923和925/927。

27. 一种TCR,所述TCR竞争结合根据权利要求1至26中任一项所述的TCR。

28. 一种TCR,所述TCR与根据权利要求1至26中任一项所述的TCR结合相同的表位。

29. 根据权利要求1至28中任一项所述的TCR,其进一步包含可检测部分。

30. 一种分离的细胞,其呈递根据权利要求1至29中任一项所述的TCR。

31. 一种分离的多核苷酸分子,其包含编码根据权利要求1至29中任一项所述的TCR的 $\alpha$ 链可变结构域的多核苷酸序列。

32. 一种分离的多核苷酸分子,其包含编码根据权利要求1至29中任一项所述的TCR的 $\beta$ 链可变结构域的多核苷酸序列。

33. 一种载体,其包含根据权利要求31或32所述的多核苷酸分子。

34. 一种分离的细胞,其表达根据权利要求33所述的载体。

35. 一种药物组合物,其包含根据权利要求34所述的分离的细胞和药学上可接受的载体或稀释剂。

36. 一种治疗患有PRAME相关的疾病或病症的受试者的方法,其包含向所述受试者施用治疗有效量的根据权利要求1至29中任一项所述的TCR、根据权利要求35所述的药物组合物,或者根据权利要求30所述的多种分离的细胞,从而治疗所述受试者。

37. 根据权利要求36所述的方法,其中所述PRAME相关的疾病或病症是PRAME相关的癌症。

38. 根据权利要求37所述的方法,其中所述PRAME相关的癌症是脂肪肉瘤、成神经细胞瘤、骨髓瘤、黑素瘤、转移性黑素瘤、滑膜肉瘤、膀胱癌、食管癌、食管鳞状细胞癌、肝细胞癌、头颈癌、非小细胞肺癌、卵巢癌、卵巢上皮癌、前列腺癌、乳腺癌、星形细胞瘤、多形性成胶质细胞瘤、间变性星形细胞瘤、脑肿瘤、输卵管癌、原发性腹膜腔癌、晚期实体瘤、软组织肉瘤、肉瘤、骨髓增生异常综合征、急性髓性白血病、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金病、多发性骨髓瘤、转移性实体瘤、结肠直肠癌、胃肿瘤、胃癌、横纹肌肉瘤、粘液样圆细胞脂肪肉瘤、子宫体子宫内膜癌、子宫癌肉瘤、睾丸生殖细胞肿瘤、葡萄膜黑素瘤、肾乳头状细胞癌、肾透明细胞癌、胸腺瘤、结肠腺癌、宫颈鳞状细胞癌、宫颈肿瘤、胰腺癌、肝癌、肝细胞癌、间皮瘤或复发性非小细胞肺癌。

39. 根据权利要求36至38中任一项所述的方法,其中所述TCR、所述药物组合物或所述

多种细胞与第二治疗剂组合施用至所述受试者。

40. 根据权利要求36至39中任一项所述的方法,其中所述TCR、所述药物组合物或所述多种细胞皮下、静脉内、皮内、腹膜内、口服、肌肉内或颅内施用至受试者。

41. 一种编码T细胞受体(TCR)的多核苷酸分子,所述T细胞受体与HLA-A2呈递的黑素瘤优先表达抗原(PRAME)肽特异性地结合,所述PRAME肽包含RLDQLLRHV (SEQ ID NO:929) (PRAME 312-320)的氨基酸序列,其中所述TCR包含 $\alpha$ 链可变结构域,所述 $\alpha$ 链可变结构域包含互补决定区(CDR)3,其中所述CDR3包含表5中列出的 $\alpha$ 链可变结构域CDR3氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列。

42. 一种编码T细胞受体(TCR)的多核苷酸分子,所述T细胞受体与HLA-A2呈递的黑素瘤优先表达抗原(PRAME)肽特异性地结合,所述PRAME肽包含RLDQLLRHV (SEQ ID NO:929) (PRAME 312-320)的氨基酸序列,其中所述TCR包含 $\beta$ 链可变结构域,所述 $\beta$ 链可变结构域包含互补决定区(CDR)3,其中所述CDR3包含表5中列出的 $\beta$ 链可变结构域CDR3氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列。

43. 根据权利要求41或42所述的多核苷酸分子,其编码至少一个TCR  $\alpha$ 链可变结构域和/或至少一个 $\beta$ 链可变结构域。

44. 根据权利要求43所述的多核苷酸分子,其中所述TCR包含: $\alpha$ 链可变结构域互补决定区(CDR)1、CDR2及CDR3,其包含在表5中所列的 $\alpha$ 链可变结构域序列中的任一个内;以及 $\beta$ 链可变结构域CDR1、CDR2和CDR3,其包含在表5中所列的 $\beta$ 链可变结构域序列中的任一个内。

45. 一种编码T细胞受体(TCR)的多核苷酸分子,所述T细胞受体与HLA-A2呈递的黑素瘤优先表达抗原(PRAME)肽特异性地结合,所述PRAME肽包含RLDQLLRHV (SEQ ID NO:929) (PRAME 312-320)的氨基酸序列,其中所述TCR包含 $\alpha$ 链CDR1、CDR2和CDR3/ $\beta$ 链CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列,所述 $\alpha$ 链CDR1、CDR2和CDR3/ $\beta$ 链CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列选自 $\alpha$ 链/ $\beta$ 链可变结构域序列对:SEQ ID NO:217/219、221/223、225/227、229/231、233/235、237/239、241/243、245/247、249/251、253/255、257/259、261/263、265/267、269/271、273/275、277/279、281/283和285/287。

46. 根据权利要求41至45中任一项所述的多核苷酸分子,其中所述TCR包含 $\alpha$ 链可变结构域,所述 $\alpha$ 链可变结构域具有与表5中所列的 $\alpha$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

47. 根据权利要求41至46中任一项所述的多核苷酸分子,其中所述TCR包含 $\beta$ 链可变结构域,所述 $\beta$ 链可变结构域具有与表5中所列的 $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

48. 根据权利要求41至47中任一项所述的多核苷酸分子,其中所述TCR包含(a)  $\alpha$ 链可变结构域,所述 $\alpha$ 链可变结构域具有与表5中所列的所述 $\alpha$ 链可变结构域氨基酸序列的所述氨基酸序列中的任一个的所述完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列;以及(b)  $\beta$ 链可变结构域,所述 $\beta$ 链可变结构域具有与表5中所列的所述 $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列的所述氨基酸序列中的任一个的所述完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

49. 根据权利要求41至48中任一项所述的多核苷酸分子,其中所述TCR包含

(a)  $\alpha$ 链可变结构域CDR1结构域,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID

NO:1、7、13、19、25、31、37、43、49、55、61、67、73、79、85、91、97和103;

(b)  $\alpha$ 链可变结构域CDR2结构域,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2、8、14、20、26、32、38、44、50、56、62、68、74、80、86、92、98和104;

(c)  $\alpha$ 链可变结构域CDR3结构域,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:3、9、15、21、27、33、39、45、51、57、63、69、75、81、87、93、99和105;

(d)  $\beta$ 链可变结构域CDR1,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:4、10、16、22、28、34、40、46、52、58、64、70、76、82、88、94、100和106;

(e)  $\beta$ 链可变结构域CDR2,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:5、11、17、23、29、35、41、47、53、59、65、71、77、83、89、95、101和107;以及

(f)  $\beta$ 链可变结构域CDR3,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:6、12、18、24、30、36、42、48、54、60、66、72、78、84、90、96、102和108。

50. 根据权利要求48所述的多核苷酸分子,其中所述TCR包含选自由以下组成的组的 $\alpha$ 链可变结构域/ $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列对:SEQ ID NO:217/219、221/223、225/227、229/231、233/235、237/239、241/243、245/247、249/251、253/255、257/259、261/263、265/267、269/271、273/275、277/279、281/283和285/287。

51. 根据权利要求48所述的多核苷酸分子,其中所述TCR包含

(a)  $\alpha$ 链可变结构域CDR1,其由选自由以下组成的组的核酸序列编码:SEQ ID NO:109、115、121、127、133、139、145、151、157、163、169、175、181、187、193、199、205和211;

(b)  $\alpha$ 链可变结构域CDR2,其由选自由以下组成的组的核酸序列编码:SEQ ID NO:110、116、122、128、134、140、146、152、158、164、170、176、182、188、194、200、206和212;

(c)  $\alpha$ 链可变结构域CDR3,其由选自由以下组成的组的核酸序列编码:SEQ ID NO:111、117、123、129、135、141、147、153、159、165、171、177、183、189、195、201、207和213;

(d)  $\beta$ 链可变结构域CDR1,其由选自由以下组成的组的核酸序列编码:SEQ ID NO:112、118、124、130、136、142、148、154、160、166、172、178、184、190、196、202、208和214;

(e)  $\beta$ 链可变结构域CDR2,其由选自由以下组成的组的核酸序列编码:SEQ ID NO:113、119、125、131、137、143、149、155、161、167、173、179、185、191、197、203、209和215;以及

(f)  $\beta$ 链可变结构域CDR3,其由选自由以下组成的组的核酸序列编码:SEQ ID NO:114、120、126、132、138、144、150、156、162、168、174、180、186、192、198、204、210和216。

52. 根据权利要求51所述的多核苷酸分子,其中所述TCR包含选自由以下组成的组的 $\alpha$ 链可变结构域/ $\beta$ 链可变结构域核酸序列对:SEQ ID NO:218/220、222/224、226/228、230/232、234/236、238/240、242/244、246/248、250/252、254/256、258/260、262/264、266/268、270/272、274/276、278/280、282/284和286/288。

53. 一种载体,其包含根据权利要求41至52中任一项所述的多核苷酸分子。

54. 一种分离的细胞,其包含根据权利要求53所述的载体。

55. 一种编码T细胞受体(TCR)的多核苷酸分子,所述T细胞受体与HLA-A2呈递的黑素瘤优先表达抗原(PRAME)肽特异性地结合,所述PRAME肽包含SLLQHLIGL(SEQ ID NO:930)(PRAME 425-433)的氨基酸序列,其中所述TCR包含 $\alpha$ 链可变结构域,所述 $\alpha$ 链可变结构域包含互补决定区(CDR)3,其中所述CDR3包含表8中列出的 $\alpha$ 链可变结构域CDR3氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列。

56. 一种编码T细胞受体 (TCR) 的多核苷酸分子, 所述T细胞受体与HLA-A2呈递的黑素瘤优先表达抗原 (PRAME) 肽特异性地结合, 所述PRAME肽包含SLLQHLIGL (SEQ ID NO:930) (PRAME 425-433) 的氨基酸序列, 其中所述TCR包含 $\beta$ 链可变结构域, 所述 $\beta$ 链可变结构域包含互补决定区 (CDR) 3, 其中所述CDR3包含表8中列出的 $\beta$ 链可变结构域CDR3氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列。

57. 根据权利要求55或56所述的多核苷酸分子, 其编码至少一个TCR  $\alpha$ 链可变结构域和/或至少一个 $\beta$ 链可变结构域。

58. 一种编码T细胞受体 (TCR) 的多核苷酸分子, 所述T细胞受体与HLA-A2呈递的黑素瘤优先表达抗原 (PRAME) 肽特异性地结合, 所述PRAME肽包含SLLQHLIGL (SEQ ID NO:930) (PRAME 425-433) 的氨基酸序列, 其中所述TCR包含 $\alpha$ 链CDR1、CDR2和CDR3/ $\beta$ 链CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列, 所述 $\alpha$ 链CDR1、CDR2和CDR3/ $\beta$ 链CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列选自 $\alpha$ 链/ $\beta$ 链可变结构域序列对: SEQ ID NO:769/771、773/775、777/779、781/783、785/787、789/791、793/795、797/799、801/803、805/807、809/811、813/815、817/819、821/823、825/827、829/831、833/835、837/839、841/843、845/847、849/851、853/855、857/859、861/863、865/867、869/871、873/875、877/879、881/883、885/887、889/891、893/895、897/899、901/903、905/907、909/911、913/915、917/919、921/923和925/927。

59. 根据权利要求58所述的多核苷酸分子, 其中所述TCR包含: $\alpha$ 链可变结构域互补决定区 (CDR) 1、CDR2及CDR3, 其包含在表8中所列的 $\alpha$ 链可变结构域序列中的任一个内; 以及 $\beta$ 链可变结构域CDR1、CDR2和CDR3, 其包含在表8中所列的 $\beta$ 链可变结构域序列中的任一个内。

60. 根据权利要求55至59中任一项所述的多核苷酸分子, 其中所述TCR包含 $\alpha$ 链可变结构域, 所述 $\alpha$ 链可变结构域具有与表8中所列的 $\alpha$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

61. 根据权利要求55至60中任一项所述的多核苷酸分子, 其中所述TCR包含 $\beta$ 链可变结构域, 所述 $\beta$ 链可变结构域具有与表8中所列的 $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

62. 根据权利要求55至61中任一项所述的多核苷酸分子, 其中所述TCR包含 (a)  $\alpha$ 链可变结构域, 所述 $\alpha$ 链可变结构域具有与表8中所列的所述 $\alpha$ 链可变结构域氨基酸序列的所述氨基酸序列中的任一个的所述完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列; 以及 (b)  $\beta$ 链可变结构域, 所述 $\beta$ 链可变结构域具有与表8中所列的所述 $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列的所述氨基酸序列中的任一个的所述完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

63. 根据权利要求55至62中任一项所述的多核苷酸分子, 其中所述TCR包含

(a)  $\alpha$ 链可变结构域CDR1结构域, 其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列: SEQ ID NO:289、295、301、307、313、319、325、331、337、343、349、355、361、367、373、379、385、391、397、403、409、415、421、427、433、439、445、451、457、463、469、475、481、487、493、499、505、511、517和523;

(b)  $\alpha$ 链可变结构域CDR2结构域, 其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列: SEQ ID NO:290、296、302、308、314、320、326、332、338、344、350、356、362、368、374、380、386、392、398、404、410、416、422、428、434、440、446、452、458、464、470、476、482、488、494、500、506、

512、518和524；

(c)  $\alpha$ 链可变结构域CDR3结构域，其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列：SEQ ID NO:291、297、303、309、315、321、327、333、339、345、351、357、363、369、375、381、387、393、399、405、411、417、423、429、435、441、447、453、459、465、471、477、483、489、495、501、507、513、519和525；

(d)  $\beta$ 链可变结构域CDR1，其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列：SEQ ID NO:292、298、304、310、316、322、328、334、340、346、352、358、364、370、376、382、388、394、400、406、412、418、424、430、436、442、448、454、460、466、472、478、484、490、496、502、508、514、520和526；

(e)  $\beta$ 链可变结构域CDR2，其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列：SEQ ID NO:293、299、305、311、317、323、329、335、341、347、353、359、365、371、377、383、389、395、401、407、413、419、425、431、437、443、449、455、461、467、473、479、485、491、497、503、509、515、521和527；以及

(f)  $\beta$ 链可变结构域CDR3，其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列：SEQ ID NO:294、300、306、312、318、324、330、336、342、348、354、360、366、372、378、384、390、396、402、408、414、420、426、432、438、444、450、456、462、468、474、480、486、492、498、504、510、516、522和528。

64. 根据权利要求63所述的多核苷酸分子，其中所述TCR包含选自由以下组成的组的 $\alpha$ 链可变结构域/ $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列对：SEQ ID NO:769/771、773/775、777/779、781/783、785/787、789/791、793/795、797/799、801/803、805/807、809/811、813/815、817/819、821/823、825/827、829/831、833/835、837/839、841/843、845/847、849/851、853/855、857/859、861/863、865/867、869/871、873/875、877/879、881/883、885/887、889/891、893/805、897/899、901/903、905/907、909/911、913/915、917/919、921/923和925/927。

65. 根据权利要求62所述的多核苷酸分子，其中所述TCR包含

(a)  $\alpha$ 链可变结构域CDR1，其由选自由以下组成的组的核酸序列编码：SEQ ID NO:529、535、541、547、553、559、565、571、577、583、589、595、601、607、613、619、625、631、637、643、649、655、661、667、673、679、685、691、697、703、709、715、721、727、733、739、745、751、757和763；

(b)  $\alpha$ 链可变结构域CDR2，其由选自由以下组成的组的核酸序列编码：SEQ ID NO:530、536、542、548、554、560、566、572、578、584、590、596、602、608、614、620、626、632、638、644、650、656、662、668、674、680、686、692、698、704、710、716、722、728、734、740、746、752、758和764；

(c)  $\alpha$ 链可变结构域CDR3，其由选自由以下组成的组的核酸序列编码：SEQ ID NO:531、537、543、549、555、561、567、573、579、585、591、597、603、609、615、621、627、633、639、645、651、657、663、669、675、681、687、693、699、705、711、717、723、729、735、741、747、753、759和765；

(d)  $\beta$ 链可变结构域CDR1，其由选自由以下组成的组的核酸序列编码：SEQ ID NO:532、538、544、550、556、562、568、574、580、586、592、598、604、610、616、622、628、634、640、646、652、658、664、670、676、682、688、694、700、706、712、718、724、730、736、742、748、754、760和

766;

(e)  $\beta$ 链可变结构域CDR2,其由选自以下组成的组的核酸序列编码:SEQ ID NO:533、539、545、551、557、563、569、575、581、587、593、599、605、611、617、623、629、635、641、647、653、659、665、671、677、683、689、695、701、707、713、719、725、731、737、743、749、755、761和767;以及

(f)  $\beta$ 链可变结构域CDR3,其由选自以下组成的组的核酸序列编码:SEQ ID NO:534、540、546、552、558、564、570、576、582、588、594、600、606、612、618、624、630、636、642、648、654、660、666、672、678、684、690、696、702、708、714、720、726、732、738、744、750、756、762和768。

66. 根据权利要求65所述的多核苷酸分子,其中所述TCR包含选自以下组成的组的 $\alpha$ 链可变结构域/ $\beta$ 链可变结构域核酸序列对:SEQ ID NO:770/772、774/776、778/780、782/784、786/788、790/792、794/796、798/800、802/804、806/808、810/812、814/816、818/820、822/824、826/828、830/832、834/836、838/840、842/844、846/848、850/852、854/856、858/860、862/864、866/868、870/872、874/876、878/880、882/884、886/888、890/892、894/896、898/900、902/904、906/908、910/912、914/916、918/920、922/924和926/928。

67. 一种载体,其包含根据权利要求55至66中任一项所述的多核苷酸分子。

68. 一种分离的细胞,其包含根据权利要求67所述的载体。

69. 一种治疗患有PRAME相关的疾病或病症的受试者的方法,其包含向所述受试者施用根据权利要求54或68所述的多种细胞,从而治疗所述受试者。

70. 根据权利要求69所述的方法,其中所述PRAME相关的疾病或病症是PRAME相关的癌症。

71. 根据权利要求70所述的方法,其中所述PRAME相关的癌症是脂肪肉瘤、成神经细胞瘤、骨髓瘤、黑色素瘤、转移性黑色素瘤、滑膜肉瘤、膀胱癌、食管癌、食管鳞状细胞癌、肝细胞癌、头颈癌、非小细胞肺癌、卵巢癌、卵巢上皮癌、前列腺癌、乳腺癌、星形细胞瘤、多形性成胶质细胞瘤、间变性星形细胞瘤、脑肿瘤、输卵管癌、原发性腹膜腔癌、晚期实体瘤、软组织肉瘤、肉瘤、骨髓增生异常综合征、急性髓性白血病、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金病、多发性骨髓瘤、转移性实体瘤、结肠直肠癌、胃肿瘤、胃癌、横纹肌肉瘤、粘液样圆细胞脂肪肉瘤、子宫体子宫内膜癌、子宫癌肉瘤、睾丸生殖细胞肿瘤、葡萄膜黑色素瘤、肾乳头状细胞癌、肾透明细胞癌、胸腺瘤、结肠腺癌、宫颈鳞状细胞癌、宫颈肿瘤、胰腺癌、肝癌、肝细胞癌、间皮瘤或复发性非小细胞肺癌。

72. 根据权利要求69至71中任一项所述的方法,其中所述多种细胞与第二治疗剂组合施用至所述受试者。

## 黑素瘤优先表达抗原 (PRAME) T细胞受体及其使用方法

### [0001] 相关申请

[0002] 本申请要求于2020年1月24日提交的美国临时申请第62/965,231号的优先权,其全部内容以引用的方式并入本文。

### [0003] 序列表

[0004] 本申请含有已经以ASCII格式电子提交的序列表,并且特此以全文引用的方式并入。在2021年1月20日创建的所述ASCII副本被命名为118003-00520\_SL.txt,并且大小为461,085字节。

### 背景技术

[0005] T细胞受体 (TCR) 是包含类似于免疫球蛋白可变 (V) 和恒定 (C) 区的 $\alpha$ 链和 $\beta$ 链的膜结合异二聚体。TCR $\alpha$ 链包括共价连接的V- $\alpha$ 链和C- $\alpha$ 链,而 $\beta$ 链包括共价连接至C- $\beta$ 链的V- $\beta$ 链。V- $\alpha$ 和V- $\beta$ 链形成口袋或裂缝,其可在主要组织相容性复合体 (MHC) (在人类中称为HLA复合体) 的背景下结合抗原。(Davis Ann.《免疫学概论3 (Rev.of Immunology 3)》:537 (1985);《基础免疫学第3版 (Fundamental Immunology 3rd Ed.)》,编辑W.Paul,纽约 (1993))。

[0006] TCR是免疫系统的主要效应器,其作为开发疗法的平台具有独特的优势。尽管抗体疗法限于识别血液和胞外间隙中的病原体,或者限于细胞表面上的蛋白靶点,但T细胞受体可识别细胞表面上与MHC分子一起展示的抗原,包括源自胞内蛋白的抗原。根据识别展示抗原并被活化的T细胞亚型,TCR可参与控制各种免疫应答。例如,T细胞通过诱导B细胞分化成抗体产生细胞而参与体液免疫应答的调节。此外,活化的T细胞起启动细胞介导的免疫应答的作用。因此,TCR可识别抗体无法获得的其它靶点。此外,已报道TCR介导细胞杀伤,增加B细胞增殖,且影响各种病症(包括癌症、过敏症、病毒感染及自体免疫病症)的发展及严重程度。

[0007] 考虑到TCR的功能,已经评价了抗原特异性TCR在免疫治疗中用于将T细胞重定向到表达抗原的肿瘤的能力。TCR将结合长度仅8至12个氨基酸的小肽,其通过主要组织相容性复合体 (MHC) 结合在靶细胞表面上。因此,TCR可识别源自癌症或病毒蛋白的细胞内抗原,因为这些抗原在表面MHC的背景下作为肽被加工和展示。因此,TCR可识别不能穿透细胞的抗体或疗法所无法获得的额外内部细胞靶点。

[0008] 然而,工业上的挑战是工程化当向患者施用缺乏免疫原性且对目标特定肽抗原具有良好特异性的TCR,而不与MHC上的其它肽或天然蛋白所有成分中发现的类似表位交叉反应的TCR。

[0009] 黑素瘤优先表达抗原或PRAME是公知的在X染色体上编码的癌-睾丸抗原 (CTA)。它首先被鉴定为肿瘤抗原,其在转移性皮肤黑素瘤中可被HLA-A\*24限制的细胞毒性T淋巴细胞识别(Ikeda H.等人,(1997)《免疫(Immunity)》6:199-208)。已经显示PRAME充当视黄酸受体的阻遏物,并且因此可以通过该机制赋予癌细胞生长优势(参见例如,Epping M.T.等人(2005)《细胞(Cell)》122:835-847)。

[0010] PRAME被许多不同组织学类型的肿瘤大量再表达,肿瘤包括黑素瘤、肾细胞癌、非小细胞肺癌(NSCLC)、成神经细胞瘤、乳腺癌、多发性骨髓瘤、急性白血病、慢性髓细胞性白血病、多发性肉瘤亚型以及原发性和转移性葡萄膜黑素瘤,但在正常健康成人组织中,PRAME表达限于睾丸。

[0011] 本文中对基于与PRAME抗原特异性地结合的T细胞受体的新型靶向剂以及用于在治疗和诊断环境中产生和使用此类试剂的方法的需求未得到满足。

## 发明内容

[0012] 本发明提供了在MHC(HLA-A2)的背景下针对PRAME肽抗原生成的T细胞受体(TCR)。所鉴定的独特TCR序列显示出与HLA分子沟中呈递的小肽PRAME特异性地结合。

[0013] 因此,在一方面,本发明提供了T细胞受体(TCR)(例如,分离的TCR或在分离的细胞上表达的TCR),其与HLA-A2呈递的癌睾丸抗原黑素瘤优先表达抗原(PRAME)肽特异性地结合,该肽包含RLDQLLRHV(SEQ ID NO:929)(PRAME 312-320)的氨基酸序列,其中TCR包含 $\alpha$ 链可变结构域, $\alpha$ 链可变结构域包含互补决定区(CDR)3,其中CDR3包含表3中列出的 $\alpha$ 链可变结构域CDR3氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列。

[0014] 在另一方面,本发明提供了T细胞受体(TCR)(例如,分离的TCR或在分离的细胞上表达的TCR),其与HLA-A2呈递的癌睾丸抗原黑素瘤优先表达抗原(PRAME)肽特异性地结合,该肽包含RLDQLLRHV(SEQ ID NO:929)(PRAME 312-320)的氨基酸序列,其中TCR包含 $\beta$ 链可变结构域, $\beta$ 链可变结构域包含互补决定区(CDR)3,其中CDR3包含表3中列出的 $\beta$ 链可变结构域CDR3氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列。

[0015] 在一些实施例中, $\alpha$ 链可变结构域进一步包含CDR1和CDR2,其中CDR1包含表3中列出的 $\alpha$ 链可变结构域CDR1氨基酸序列中的任一个,并且CDR2独立地包含表3中列出的 $\alpha$ 链可变结构域CDR2氨基酸序列中的任一个。

[0016] 在一些实施例中, $\beta$ 链可变结构域进一步包含CDR1和CDR2,其中CDR1包含表3中列出的 $\beta$ 链可变CDR1氨基酸序列中的任一个,并且CDR2独立地包含表3中列出的 $\beta$ 链可变结构域CDR2氨基酸序列中的任一个。

[0017] TCR可包括至少一个TCR $\alpha$ 链可变结构域和/或至少一个 $\beta$ 链可变结构域;或者TCR可包括TCR $\alpha$ 链可变结构域和TCR $\beta$ 链可变结构域。

[0018] 在一些实施例中,TCR包含 $\alpha$ 链可变结构域CDR1、CDR2及CDR3,其包含在表5中所列出的 $\alpha$ 链可变结构域序列中的任一个内;以及 $\beta$ 链可变结构域CDR1、CDR2和CDR3,其包含在表5中所列出的 $\beta$ 链可变结构域序列中的任一个内。

[0019] 在一些实施例中,TCR包含 $\alpha$ 链可变结构域,该 $\alpha$ 链可变结构域具有与表5中所列出的 $\alpha$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

[0020] 在一些实施例中,TCR包含 $\beta$ 链可变结构域,该 $\beta$ 链可变结构域具有与表5中所列出的 $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

[0021] 在一些实施例中,TCR包含(a) $\alpha$ 链可变结构域,其具有与表5中所列出的 $\alpha$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的

氨基酸序列;以及 (b)  $\beta$ 链可变结构域,其具有与表5中所列的 $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

[0022] 在一些实施例中,TCR包含 (a)  $\alpha$ 链可变结构域CDR1结构域,其具有选自自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、7、13、19、25、31、37、43、49、55、61、67、73、79、85、91、97和103; (b)  $\alpha$ 链可变结构域CDR2结构域,其具有选自自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2、8、14、20、26、32、38、44、50、56、62、68、74、80、86、92、98和104; (c)  $\alpha$ 链可变结构域CDR3结构域,其具有选自自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:3、9、15、21、27、33、39、45、51、57、63、69、75、81、87、93、99和105; (d)  $\beta$ 链可变结构域CDR1,其具有选自自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:4、10、16、22、28、34、40、46、52、58、64、70、76、82、88、94、100和106; (e)  $\beta$ 链可变结构域CDR2,其具有选自自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:5、11、17、23、29、35、41、47、53、59、65、71、77、83、89、95、101和107;以及 (f)  $\beta$ 链可变结构域CDR3,其具有选自自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:6、12、18、24、30、36、42、48、54、60、66、72、78、84、90、96、102和108。

[0023] 在一些实施例中,TCR包含选自自由以下组成的组的 $\alpha$ 链可变结构域/ $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列对:SEQ ID NO:217/219、229/231、237/239、241/243和285/287。

[0024] 在一些实施例中,TCR包含选自自由以下组成的组的 $\alpha$ 链可变结构域/ $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列对:SEQ ID NO:217/219、221/223、225/227、229/231、233/235、237/239、241/243、245/247、249/251、253/255、257/259、261/263、265/267、269/271、273/275、277/279、281/283和285/287。

[0025] 本发明还提供了一种TCR (例如,分离的TCR或在分离的细胞上表达的TCR),其完成与任何一种或多种本发明的TCR的结合。

[0026] 在一方面,本发明提供了T细胞受体 (TCR) (例如,分离的TCR或在分离的细胞上表达的TCR),其与HLA-A2呈递的癌睾丸抗原黑素瘤优先表达抗原 (PRAME) 肽特异性地结合,该肽包含SLLQHLIGL (SEQ ID NO:930) (PRAME 425-433) 的氨基酸序列,其中TCR包含 $\alpha$ 链可变结构域, $\alpha$ 链可变结构域包含互补决定区 (CDR) 3,其中CDR3包含表6中列出的 $\alpha$ 链可变结构域CDR3氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列。

[0027] 在另一方面,本发明提供了T细胞受体 (TCR) (例如,分离的TCR或在分离的细胞上表达的TCR),其与HLA-A2呈递的黑素瘤优先表达抗原 (PRAME) 肽特异性地结合,该肽包含SLLQHLIGL (SEQ ID NO:930) (PRAME 425-433) 的氨基酸序列,其中TCR包含 $\beta$ 链可变结构域, $\beta$ 链可变结构域包含互补决定区 (CDR) 3。其中CDR3包含表6中列出的 $\beta$ 链可变结构域CDR3氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列。

[0028] 在一些实施例中, $\alpha$ 链可变结构域进一步包含CDR1和CDR2,其中CDR1包含表6中列出的 $\alpha$ 链可变结构域CDR1氨基酸序列中的任一个,并且CDR2独立地包含表6中列出的 $\alpha$ 链可变结构域CDR2氨基酸序列中的任一个。

[0029] 在一些实施例中, $\beta$ 链可变结构域进一步包含CDR1和CDR2,其中CDR1包含表6中列出的 $\beta$ 链可变CDR1氨基酸序列中的任一个,并且CDR2独立地包含表6中列出的 $\beta$ 链可变结构域CDR2氨基酸序列中的任一个。

[0030] TCR可包括至少一个TCR $\alpha$ 链可变结构域和/或至少一个 $\beta$ 链可变结构域;或者TCR可包括TCR $\alpha$ 链可变结构域和TCR $\beta$ 链可变结构域。

[0031] 在一些实施例中,TCR包含 $\alpha$ 链可变结构域CDR1、CDR2及CDR3,其包含在表8中所列的 $\alpha$ 链可变结构域序列中的任一个内;以及 $\beta$ 链可变结构域CDR1、CDR2和CDR3,其包含在表8中所列的 $\beta$ 链可变结构域序列中的任一个内。

[0032] 在一些实施例中,TCR包含 $\alpha$ 链可变结构域,该 $\alpha$ 链可变结构域具有与表8中所列的 $\alpha$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

[0033] 在一些实施例中,TCR包含 $\beta$ 链可变结构域,该 $\beta$ 链可变结构域具有与表8中所列的 $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

[0034] 在一些实施例中,TCR包含(a) $\alpha$ 链可变结构域,其具有与表8中所列的 $\alpha$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列;以及(b) $\beta$ 链可变结构域,其具有与表8中所列的 $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

[0035] 在一些实施例中,TCR包含(a) $\alpha$ 链可变结构域CDR1结构域,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:289、295、301、307、313、319、325、331、337、343、349、355、361、367、373、379、385、391、397、403、409、415、421、427、433、439、445、451、457、463、469、475、481、487、493、499、505、511、517和523; (b) $\alpha$ 链可变结构域CDR2结构域,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID Nos:290、296、302、308、314、320、326、332、338、344、350、356、362、368、374、380、386、392、398、404、410、416、422、428、434、440、446、452、458、464、470、476、482、488、494、500、506、512、518和524; (c) $\alpha$ 链可变结构域CDR3结构域,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID Nos:291、297、303、309、315、321、327、333、339、345、351、357、363、369、375、381、387、393、399、405、411、417、423、429、435、441、447、453、459、465、471、477、483、489、495、501、507、513、519和525; (d) $\beta$ 链可变结构域CDR1,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:292、298、304、310、316、322、328、334、340、346、352、358、364、370、376、382、388、394、400、406、412、418、424、430、436、442、448、454、460、466、472、478、484、490、496、502、508、514、520和526; (e) $\beta$ 链可变结构域CDR2,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID Nos:293、299、305、311、317、323、329、335、341、347、353、359、365、371、377、383、389、395、401、407、413、419、425、431、437、443、449、455、461、467、473、479、485、491、497、503、509、515、521和527; 以及(f) $\beta$ 链可变结构域CDR3,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:294、300、306、312、318、324、330、336、342、348、354、360、366、372、378、384、390、396、402、408、414、420、426、432、438、444、450、456、462、468、474、480、486、492、498、504、510、516、522和528。

[0036] 在一些实施例中,TCR包含选自由以下组成的组的 $\alpha$ 链可变结构域/ $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列对:SEQ ID NO:825/827、845/847、853/855、857/859、865/867、873/875、885/887、893/805、897/899、901/903、913/915和925/927。

[0037] 在一些实施例中,TCR包含选自由以下组成的组的 $\alpha$ 链可变结构域/ $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列对:SEQ ID NO:769/771、773/775、777/779、781/783、785/787、789/791、793/795、797/799、801/803、805/807、809/811、813/815、817/819、821/823、825/827、829/831、833/835、837/839、841/843、845/847、849/851、853/855、857/859、861/863、865/867、869/

871、873/875、877/879、881/883、885/887、889/891、893/805、897/899、901/903、905/907、909/911、913/915、917/919、921/923和925/927。

[0038] 本发明还提供了一种TCR(例如,分离的TCR或在分离的细胞上表达的TCR),其完成与任何一种或多种本发明的TCR的结合。

[0039] 在一些实施例中,本发明的TCR进一步包含可检测的部分。

[0040] 本发明进一步提供药物组合物,其包含本发明的任何TCR,以及药学上可接受的载体或稀释剂;以及呈递本发明的任何TCR的分离的细胞。

[0041] 一方面,本发明提供分离的多核苷酸分子,其包含编码本发明的任何TCR的 $\alpha$ 链可变结构域的多核苷酸序列。

[0042] 另一方面,本发明提供分离的多核苷酸分子,其包含编码本发明的任何TCR的 $\beta$ 链可变结构域的多核苷酸序列。

[0043] 本发明还提供了包含本发明的多核苷酸分子的载体;表达本发明的载体的细胞。

[0044] 在一方面,本发明提供了治疗患有PRAME相关的疾病或病症的受试者的方法。该方法包括对受试者施用治疗有效量的本发明的TCR(例如,分离的TCR或在分离的细胞上表达的TCR)、药物组合物或多种细胞,从而治疗受试者。

[0045] 在一些实施例中,PRAME相关的疾病或病症是PRAME相关的癌症。

[0046] 在一些实施例中,PRAME相关的癌症是脂肪肉瘤、成神经细胞瘤、骨髓瘤、黑素瘤、转移性黑素瘤、滑膜肉瘤、膀胱癌、食管癌、食管鳞状细胞癌、肝细胞癌、头颈癌、非小细胞肺癌、卵巢癌、卵巢上皮癌、前列腺癌、乳腺癌、星形细胞瘤、多形性成胶质细胞瘤、间变性星形细胞瘤、脑肿瘤、输卵管癌、原发性腹膜腔癌、晚期实体瘤、软组织肉瘤、肉瘤、骨髓增生异常综合征、急性髓性白血病、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金病、多发性骨髓瘤、转移性实体瘤、结肠直肠癌、胃肿瘤、胃癌、横纹肌肉瘤、粘液样圆细胞脂肪肉瘤、子宫体子宫内膜癌、子宫癌肉瘤、睾丸生殖细胞肿瘤、葡萄膜黑素瘤、肾乳头状细胞癌、肾透明细胞癌、胸腺瘤、结肠腺癌、宫颈鳞状细胞癌、宫颈肿瘤、胰腺癌、肝癌、肝细胞癌、间皮瘤或复发性非小细胞肺癌。

[0047] 在本发明的一些实施例中,本发明的TCR(例如,分离的TCR或在分离的细胞上表达的TCR)、药物组合物或多种细胞与第二治疗剂组合施用至受试者。

[0048] TCR、药物组合物或多种细胞可皮下、静脉内、皮内、腹膜内、口服,肌肉内或颅内施用至受试者。

[0049] 在一方面,本发明提供了编码T细胞受体(TCR)的分离的核酸分子,其中TCR与HLA-A2呈递的癌睾丸抗原黑素瘤优先表达抗原(PRAME)肽特异性地结合,该肽包含RLDQLLRHV (SEQ ID NO:929) (PRAME 312-320)的氨基酸序列,其中TCR包含 $\alpha$ 链可变结构域, $\alpha$ 链可变结构域包含互补决定区(CDR)3,其中CDR3包含表5中列出的 $\alpha$ 链可变结构域CDR3氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列。

[0050] 在另一方面,本发明提供了编码T细胞受体(TCR)的分离的核酸分子,其中TCR与HLA-A2呈递的癌睾丸抗原黑素瘤优先表达抗原(PRAME)肽特异性地结合,该肽包含RLDQLLRHV (SEQ ID NO:929) (PRAME 312-320)的氨基酸序列,其中TCR包含 $\beta$ 链可变结构域, $\beta$ 链可变结构域包含互补决定区(CDR)3,其中CDR3包含表5中列出的 $\beta$ 链可变结构域CDR3氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列。

[0051] 在一些实施例中,分离的核酸分子编码至少一个TCR $\alpha$ 链可变结构域和/或至少一个 $\beta$ 链可变结构域。

[0052] 在一些实施例中,TCR包含 $\alpha$ 链可变结构域互补决定区(CDR)1、CDR2及CDR3,其包含在表5中所列的 $\alpha$ 链可变结构域序列中的任一个内;以及 $\beta$ 链可变结构域CDR1、CDR2和CDR3,其包含在表5中所列的 $\beta$ 链可变结构域序列中的任一个内。

[0053] 在一些实施例中,TCR(例如,分离的TCR或在分离的细胞上表达的TCR)包含 $\alpha$ 链可变结构域,该 $\alpha$ 链可变结构域具有与表5中所列的 $\alpha$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

[0054] 在一些实施例中,TCR包含 $\beta$ 链可变结构域,该 $\beta$ 链可变结构域具有与表5中所列的 $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

[0055] 在一些实施例中,TCR包含(a) $\alpha$ 链可变结构域,其具有与表5中所列的 $\alpha$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列;以及(b) $\beta$ 链可变结构域,其具有与表5中所列的 $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

[0056] 在一些实施例中,分离的抗原结合蛋白包含(a) $\alpha$ 链可变结构域CDR1结构域,其具有选自自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、7、13、19、25、31、37、43、49、55、61、67、73、79、85、91、97和103;(b) $\alpha$ 链可变结构域CDR2结构域,其具有选自自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2、8、14、20、26、32、38、44、50、56、62、68、74、80、86、92、98和104;(c) $\alpha$ 链可变结构域CDR3结构域,其具有选自自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:3、9、15、21、27、33、39、45、51、57、63、69、75、81、87、93、99和105;(d) $\beta$ 链可变结构域CDR1,其具有选自自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:4、10、16、22、28、34、40、46、52、58、64、70、76、82、88、94、100和106;(e) $\beta$ 链可变结构域CDR2,其具有选自自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:5、11、17、23、29、35、41、47、53、59、65、71、77、83、89、95、101和107;以及(f) $\beta$ 链可变结构域CDR3,其具有选自自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:6、12、18、24、30、36、42、48、54、60、66、72、78、84、90、96、102和108。

[0057] 在一些实施例中,TCR包含选自自由以下组成的组的 $\alpha$ 链可变结构域/ $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列对:SEQ ID NO:217/219、229/231、237/239、241/243和285/287。

[0058] 在一些实施例中,TCR包含选自自由以下组成的组的 $\alpha$ 链可变结构域/ $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列对:SEQ ID NO:217/219、221/223、225/227、229/231、233/235、237/239、241/243、245/247、249/251、253/255、257/259、261/263、265/267、269/271、273/275、277/279、281/283和285/287。

[0059] 在一些实施例中,分离的抗原结合蛋白包含(a) $\alpha$ 链可变结构域CDR1,其由选自自由以下组成的组的核酸序列编码:SEQ ID NO:109、115、121、127、133、139、145、151、157、163、169、175、181、187、193、199、205和211;(b) $\alpha$ 链可变结构域CDR2,其由选自自由以下组成的组的核酸序列编码:SEQ ID Nos:110、116、122、128、134、140、146、152、158、164、170、176、182、188、194、200、206和212;(c) $\alpha$ 链可变结构域CDR3,其由选自自由以下组成的组的核酸序列编码:SEQ ID Nos:111、117、123、129、135、141、147、153、159、165、171、177、183、189、195、201、207和213;(d) $\beta$ 链可变结构域CDR1,其由选自自由以下组成的组的核酸序列编码:

SEQ ID Nos:112、118、124、130、136、142、148、154、160、166、172、178、184、190、196、202、208和214；(e)  $\beta$ 链可变结构域CDR2,其由选自由以下组成的组的核酸序列编码:SEQ ID Nos:113、119、125、131、137、143、149、155、161、167、173、179、185、191、197、203、209和215；以及(f)  $\beta$ 链可变结构域CDR3,其由选自由以下组成的组的核酸序列编码:SEQ ID Nos:114、120、126、132、138、144、150、156、162、168、174、180、186、192、198、204、210和216。

[0060] 在一些实施例中,TCR包含选自由以下组成的组的 $\alpha$ 链可变结构域/ $\beta$ 链可变结构域核酸序列对:SEQ ID NO:218/220、222/224、226/228、230/232、234/236、238/240、242/244、246/248、250/252、254/256、258/260、262/264、266/268、270/272、274/276、278/280、282/284和286/288。

[0061] 本发明还提供了包含本发明的分离的核酸分子的载体和包含本发明的载体的分离的细胞。

[0062] 一方面,本发明提供分离的多核苷酸分子,其包含编码本发明的任何TCR的 $\alpha$ 链可变结构域的多核苷酸序列。

[0063] 另一方面,本发明提供分离的多核苷酸分子,其包含编码本发明的任何TCR的 $\beta$ 链可变结构域的多核苷酸序列。

[0064] 本发明还提供了包含本发明的多核苷酸分子的载体;表达本发明的载体的细胞。

[0065] 在一方面,本发明提供了治疗患有PRAME相关的疾病或病症的受试者的方法。该方法包括对受试者施用治疗有效量的本发明的TCR(例如,分离的TCR或在分离的细胞上表达的TCR)、药物组合物或多种细胞,从而治疗受试者。

[0066] 在一些实施例中,PRAME相关的疾病或病症是PRAME相关的癌症。

[0067] 在一些实施例中,PRAME相关的癌症是脂肪肉瘤、成神经细胞瘤、骨髓瘤、黑素瘤、转移性黑素瘤、滑膜肉瘤、膀胱癌、食管癌、食管鳞状细胞癌、肝细胞癌、头颈癌、非小细胞肺癌、卵巢癌、卵巢上皮癌、前列腺癌、乳腺癌、星形细胞瘤、多形性成胶质细胞瘤、间变性星形细胞瘤、脑肿瘤、输卵管癌、原发性腹膜腔癌、晚期实体瘤、软组织肉瘤、肉瘤、骨髓增生异常综合征、急性髓性白血病、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金病、多发性骨髓瘤、转移性实体瘤、结肠直肠癌、胃肿瘤、胃癌、横纹肌肉瘤、粘液样圆细胞脂肪肉瘤、子宫体子宫内膜癌、子宫癌肉瘤、睾丸生殖细胞肿瘤、葡萄膜黑素瘤、肾乳头状细胞癌、肾透明细胞癌、胸腺瘤、结肠腺癌、宫颈鳞状细胞癌、宫颈肿瘤、胰腺癌、肝癌、肝细胞癌、间皮瘤或复发性非小细胞肺癌。

[0068] 在本发明的一些实施例中,本发明的TCR(例如,分离的TCR或在分离的细胞上表达的TCR)、药物组合物或多种细胞与第二治疗剂组合施用至受试者。

[0069] TCR、药物组合物或多种细胞可皮下、静脉内、皮内、腹膜内、口服,肌肉内或颅内施用至受试者。

[0070] 在一方面,本发明提供了编码T细胞受体(TCR)的分离的核酸分子,其中TCR与HLA-A2呈递的癌睾丸抗原黑素瘤优先表达抗原(PRAME)肽特异性地结合,该肽包含SLLQHLIGL(SEQ ID NO:930)(PRAME 425-433)的氨基酸序列,其中TCR包含 $\alpha$ 链可变结构域, $\alpha$ 链可变结构域包含互补决定区(CDR)3,其中CDR3包含表8中列出的 $\alpha$ 链可变结构域CDR3氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列。

[0071] 在另一方面,本发明提供了编码T细胞受体(TCR)的分离的核酸分子,其中TCR与

HLA-A2呈递的癌睾丸抗原黑素瘤优先表达抗原 (PRAME) 肽特异性地结合, 该肽包含 SLLQHLIGL (SEQ ID NO:930) (PRAME 425-433) 的氨基酸序列, 其中TCR包含 $\beta$ 链可变结构域,  $\beta$ 链可变结构域包含互补决定区 (CDR) 3, 其中CDR3包含表8中列出的 $\beta$ 链可变结构域CDR3氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列。

[0072] 在一些实施例中, 分离的核酸分子编码至少一个TCR $\alpha$ 链可变结构域和/或至少一个 $\beta$ 链可变结构域。

[0073] 在一些实施例中, TCR包含 $\alpha$ 链可变结构域互补决定区 (CDR) 1、CDR2及CDR3, 其包含在表8中所列的 $\alpha$ 链可变结构域序列中的任一个内; 以及 $\beta$ 链可变结构域CDR1、CDR2和CDR3, 其包含在表8中所列的 $\beta$ 链可变结构域序列中的任一个内。

[0074] 在一些实施例中, TCR (例如, 分离的TCR或在分离的细胞上表达的TCR) 包含 $\alpha$ 链可变结构域, 该 $\alpha$ 链可变结构域具有与表8中所列的 $\alpha$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

[0075] 在一些实施例中, TCR包含 $\beta$ 链可变结构域, 该 $\beta$ 链可变结构域具有与表8中所列的 $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

[0076] 在一些实施例中, TCR包含 (a)  $\alpha$ 链可变结构域, 其具有与表8中所列的 $\alpha$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列; 以及 (b)  $\beta$ 链可变结构域, 其具有与表8中所列的 $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%氨基酸同一性的氨基酸序列。

[0077] 在一些实施例中, 分离的抗原结合蛋白包含 (a)  $\alpha$ 链可变结构域CDR1结构域, 其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列: SEQ ID NO:289、295、301、307、313、319、325、331、337、343、349、355、361、367、373、379、385、391、397、403、409、415、421、427、433、439、445、451、457、463、469、475、481、487、493、499、505、511、517和523; (b)  $\alpha$ 链可变结构域CDR2结构域, 其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列: SEQ ID Nos:290、296、302、308、314、320、326、332、338、344、350、356、362、368、374、380、386、392、398、404、410、416、422、428、434、440、446、452、458、464、470、476、482、488、494、500、506、512、518和524; (c)  $\alpha$ 链可变结构域CDR3结构域, 其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列: SEQ ID Nos:291、297、303、309、315、321、327、333、339、345、351、357、363、369、375、381、387、393、399、405、411、417、423、429、435、441、447、453、459、465、471、477、483、489、495、501、507、513、519和525; (d)  $\beta$ 链可变结构域CDR1, 其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列: SEQ ID NO:292、298、304、310、316、322、328、334、340、346、352、358、364、370、376、382、388、394、400、406、412、418、424、430、436、442、448、454、460、466、472、478、484、490、496、502、508、514、520和526; (e)  $\beta$ 链可变结构域CDR2, 其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列: SEQ ID Nos:293、299、305、311、317、323、329、335、341、347、353、359、365、371、377、383、389、395、401、407、413、419、425、431、437、443、449、455、461、467、473、479、485、491、497、503、509、515、521和527; 以及 (f)  $\beta$ 链可变结构域CDR3, 其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列: SEQ ID NO:294、300、306、312、318、324、330、336、342、348、354、360、366、372、378、384、390、396、402、408、414、420、426、432、438、444、450、456、462、468、474、480、486、492、498、504、510、516、522和528。

[0078] 在一些实施例中, TCR包含选自由以下组成的组的 $\alpha$ 链可变结构域/ $\beta$ 链可变结构域

氨基酸序列对:SEQ ID NO:825/827、845/847、853/855、857/859、865/867、873/875、885/887、893/805、897/899、901/903、913/915和925/927。

[0079] 在一些实施例中,TCR包含选自由以下组成的组的 $\alpha$ 链可变结构域/ $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列对:SEQ ID NO:769/771、773/775、777/779、781/783、785/787、789/791、793/795、797/799、801/803、805/807、809/811、813/815、817/819、821/823、825/827、829/831、833/835、837/839、841/843、845/847、849/851、853/855、857/859、861/863、865/867、869/871、873/875、877/879、881/883、885/887、889/891、893/805、897/899、901/903、905/907、909/911、913/915、917/919、921/923和925/927。

[0080] 在一些实施例中,分离的抗原结合蛋白包含(a)  $\alpha$ 链可变结构域CDR1,其由选自由以下组成的组的核酸序列编码:SEQ ID NO:529、535、541、547、553、559、565、571、577、583、589、595、601、607、613、619、625、631、637、643、649、655、661、667、673、679、685、691、697、703、709、715、721、727、733、739、745、751、757和763; (b)  $\alpha$ 链可变结构域CDR2,其由选自由以下组成的组的核酸序列编码:SEQ ID Nos:530、536、542、548、554、560、566、572、578、584、590、596、602、608、614、620、626、632、638、644、650、656、662、668、674、680、686、692、698、704、710、716、722、728、734、740、746、752、758和764; (c)  $\alpha$ 链可变结构域CDR3,其由选自由以下组成的组的核酸序列编码:SEQ ID Nos:531、537、543、549、555、561、567、573、579、585、591、597、603、609、615、621、627、633、639、645、651、657、663、669、675、681、687、693、699、705、711、717、723、729、735、741、747、753、759和765; (d)  $\beta$ 链可变结构域CDR1,其由选自由以下组成的组的核酸序列编码:SEQ ID NO:532、538、544、550、556、562、568、574、580、586、592、598、604、610、616、622、628、634、640、646、652、658、664、670、676、682、688、694、700、706、712、718、724、730、736、742、748、754、760和766; (e)  $\beta$ 链可变结构域CDR2,其由选自由以下组成的组的核酸序列编码:SEQ ID Nos:533、539、545、551、557、563、569、575、581、587、593、599、605、611、617、623、629、635、641、647、653、659、665、671、677、683、689、695、701、707、713、719、725、731、737、743、749、755、761和767; 以及(f)  $\beta$ 链可变结构域CDR3,其由选自由以下组成的组的核酸序列编码:SEQ ID NO:534、540、546、552、558、564、570、576、582、588、594、600、606、612、618、624、630、636、642、648、654、660、666、672、678、684、690、696、702、708、714、720、726、732、738、744、750、756、762和768。

[0081] 在一些实施例中,TCR包含选自由以下组成的组的 $\alpha$ 链可变结构域/ $\beta$ 链可变结构域核酸序列对:SEQ ID NO:770/772、774/776、778/780、782/784、786/788、790/792、794/796、798/800、802/804、806/808、810/812、814/816、818/820、822/824、826/828、830/832、834/836、838/840、842/844、846/848、850/852、854/856、858/860、862/864、866/868、870/872、874/876、878/880、882/884、886/888、890/892、894/896、898/900、902/904、906/908、910/912、914/916、918/920、922/924和926/928。

[0082] 本发明还提供了包含本发明的分离的核酸分子的载体和包含本发明的载体的分离的细胞。

[0083] 在一方面,本发明提供了治疗患有PRAME相关的疾病或病症的受试者的方法,其包含向受试者施用包含本发明的载体的多种细胞,从而治疗受试者。

[0084] 在一些实施例中,PRAME相关的疾病或病症是PRAME相关的癌症。

[0085] 在一些实施例中,PRAME相关的癌症是脂肪肉瘤、成神经细胞瘤、骨髓瘤、黑素瘤、

转移性黑素瘤、滑膜肉瘤、膀胱癌、食管癌、食管鳞状细胞癌、肝细胞癌、头颈癌、非小细胞肺癌、卵巢癌、卵巢上皮癌、前列腺癌、乳腺癌、星形细胞瘤、多形性成胶质细胞瘤、间变性星形细胞瘤、脑肿瘤、输卵管癌、原发性腹膜腔癌、晚期实体瘤、软组织肉瘤、肉瘤、骨髓增生异常综合征、急性髓性白血病、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金病、多发性骨髓瘤、转移性实体瘤、结肠直肠癌、胃肿瘤、胃癌、横纹肌肉瘤、粘液样圆细胞脂肪肉瘤、子宫体子宫内膜癌、子宫癌肉瘤、睾丸生殖细胞肿瘤、葡萄膜黑素瘤、肾乳头状细胞癌、肾透明细胞癌、胸腺瘤、结肠腺癌、宫颈鳞状细胞癌、宫颈肿瘤、胰腺癌、肝癌、肝细胞癌、间皮瘤或复发性非小细胞肺癌。

[0086] 在一些实施例中,将多种细胞与第二治疗剂组合施用至受试者。

[0087] 通过以下详细描述进一步说明本发明。

### 具体实施方式

[0088] 本发明提供了T细胞受体(TCR),其是在MHC(HLA-A2)的背景下针对PRAME肽抗原生成的。所鉴定的独特TCR序列显示出与HLA分子的沟中呈递的小肽PRAME特异性地结合。

[0089] I. 定义

[0090] 为了更容易地理解本发明,首先定义某些术语。此外,应当注意的是,无论何时叙述参数的值或值的范围,所叙述的值的中间值和范围也是本发明的一部分。

[0091] 在以下描述中,出于解释的目的,阐述了具体的数字、材料和配置,以便提供对本发明的透彻理解。然而,对于本领域的普通技术人员显而易见的是,可以在没有这些具体细节的情况下实践本发明。在某些情况下,可以省略或简化公知的特征,以免模糊本发明。此外,说明书中对如“一个实施例”或“实施例”的短语的引用意味着结合该实施例描述的特定特征、结构或特性被包括在本发明的至少一个实施例中。在说明书中不同地方出现的短语如“在一个实施例中”不一定都指同一实施例。

[0092] 冠词“一个”和“一种”在本文中指代冠词的一个/种或多于一个/种(即,至少一个/种)语法宾语。举例来说,“要素”意指一个/种要素或多于一个/种要素。

[0093] 术语“包含(comprising)”或“包含(comprises)”在本文中用于指组合物、方法和其相应组分,其对于本公开是必要的,但对于包括未指明的要素是开放的,无论是否必要。

[0094] 术语“由...组成”是指如本文所述的组合物、方法及其相应组分,其不包括在实施例的描述中未列举的任何要素。

[0095] 本文所用的术语“T细胞受体”(TCR)是指具有可变结合结构域、恒定结构域、跨膜区和短胞质尾区的免疫球蛋白超家族成员;参见例如,Janeway等人,《免疫生物学:健康和疾病中的免疫系统(Immunobiology:The Immune System in Health and Disease)》,第3版,当代生物学出版社,p.4:33,1997)能够特异性地结合与MHC受体结合的抗原肽。TCR可以在细胞的表面上发现,并且通常包含具有 $\alpha$ 链和 $\beta$ 链(也分别称为TCR $\alpha$ 和TCR $\beta$ )或 $\gamma$ 和 $\delta$ 链(也分别称为TCR $\gamma$ 和TCR $\delta$ )的异二聚体。与免疫球蛋白一样,TCR链的胞外部分(例如 $\alpha$ -链、 $\beta$ -链)含有两个免疫球蛋白区、可变区(例如TCR可变 $\alpha$ 区或V $\alpha$ 和TCR可变 $\beta$ 区或V $\beta$ ;典型地,基于在N端的Kabat编号的氨基酸1至116),和邻近细胞膜的一个恒定区(例如,TCR恒定结构域 $\alpha$ 或C $\alpha$ 和典型地基于Kabat的氨基酸117至259、TCR恒定结构域 $\beta$ 或C $\beta$ ,典型地基于Kabat的氨基酸117至295)。同样,与免疫球蛋白一样,可变结构域含有由骨架区(FR)分开的互补决定

区(CDR)。在某些实施例中,TCR在T细胞(或T淋巴细胞)的表面上发现并与CD3复合体结合。本公开的TCR的来源可以来自各种动物物种,如人、小鼠、大鼠、兔或其它哺乳动物。在优选的实施例中,本发明的TCR的来源是经基因工程化以产生包含人 $\alpha$ 链和 $\beta$ 链的TCR的小鼠(参见例如PCT公开案第W0 2016/164492号,其全部内容以引用的方式并入本文)。

[0096] 本文所用的术语“可变区”( $\alpha$ 链的可变区(V $\alpha$ )、 $\beta$ 链的可变区(V $\beta$ ))表示直接参与TCR与抗原结合的 $\alpha$ 链和 $\beta$ 链中的每一个。

[0097]  $\alpha$ 链和 $\beta$ 链的“恒定区”不直接参与TCR与抗原的结合,但表现出各种效应器功能。

[0098] 本文所用的术语“抗原”是指引起免疫系统产生针对其的抗体或特异性细胞介导的免疫应答的任何物质。疾病相关的抗原是与引起免疫系统产生针对其的抗体或特异性细胞介导的应答的任何疾病相关的任何物质。

[0099] 术语“PRAME”或“黑素瘤优先表达抗原”是指在许多癌症类型中再表达的公知的癌-睾丸抗原(CTA)。

[0100] PRAME的核苷酸序列是已知的,并且可以在例如GenBank收录号NM\_001291715.2 (SEQ ID NO:931)、NM\_001291716.2 (SEQ ID NO:932)、NM\_001291717.2 (SEQ ID NO:933)、NM\_001291719.2 (SEQ ID NO:934)、NM\_001318126.1 (SEQ ID NO:935)、NM\_001318127.1 (SEQ ID NO:936)、NM\_006115.5 (SEQ ID NO:937)、NM\_206956.3 (SEQ ID NO:938)、NM\_206955.2 (SEQ ID NO:939)、NM\_206954.3 (SEQ ID NO:940),和NM\_206953.2 (SEQ ID NO:941)中找到。全长PRAME的氨基酸序列是已知的,并且可以在例如GenBank收录号NP\_001278646.1 (SEQ ID NO:942)、NP\_006106.1 (SEQ ID NO:943)、NP\_996837.1 (SEQ ID NO:944)、NP\_996836.1 (SEQ ID NO:945)、NP\_996839.1 (SEQ ID NO:946)、NP\_996838.1 (SEQ ID NO:947)、NP\_001278644.1 (SEQ ID NO:948)、NP\_001305055.1 (SEQ ID NO:949)、NP\_001305056.1 (SEQ ID NO:950)、NP\_001278648.1 (SEQ ID NO:951),和NP\_001278645.1 (SEQ ID NO:952)中找到。术语“PRAME”包括重组PRAME或其片段。该术语还包括与例如组氨酸标签、小鼠或人Fc或者如ROR1的信号序列偶联的PRAME或其片段。在某些实施例中,该术语包含在HLA-A2的背景下与HLA-A2连接或由HLA-A2展示的PRAME或其片段。如本文所用,全长PRAME序列内的某些PRAME氨基酸残基的编号是关于SEQ ID NO:944。

[0101] 术语“HLA”指人白细胞抗原(HLA)系统或复合体,它是编码人主要组织相容性复合体(MHC)蛋白的基因复合体。这些细胞表面蛋白负责调节人的免疫系统。对应于MHC I类(A、B和C)的HLA呈递来自细胞内部的肽。

[0102] 术语“HLA-A”是指由HLA-A基因座编码的一组人白细胞抗原(HLA)。HLA-A是人MHC I类细胞表面受体的三种主要类型中的一种。受体是异二聚体,并由重 $\alpha$ 链和较小的 $\beta$ 链构成。 $\alpha$ 链由变异HLA-A基因编码,并且 $\beta$ 链( $\beta$ 2-微球蛋白)是不变的 $\beta$ 2微球蛋白分子。

[0103] 术语“HLA-A2”(也可称为HLA-A2\*01或HLA-A\*0201或HLA-A\*02:01)是HLA-A基因座处的一种特定的I类主要组织相容性复合体(MHC)等位基因组; $\alpha$ 链由HLA-A\*02基因编码,并且 $\beta$ 链由 $\beta$ 2-微球蛋白或B2M基因座编码。

[0104] 术语“特异性地结合”或“与.....特异性地结合”等是指TCR与抗原形成在生理条件下相对稳定的复合体。特异性结合的特征可在于至少约 $1 \times 10^{-6}$ M或更小,例如 $1 \times 10^{-8}$ M或更小的平衡解离常数(例如,较小的KD表示更紧密的结合)。确定两个分子是否特异性地结合的方法是本领域公知的,并且包括例如平衡透析、表面等离子共振等。如本文所述,本发明

的TCR与HLA-A2早递的癌睾丸黑素瘤优先表达抗原 (PRAME) 肽特异性地结合, 例如, 包含PRAME (例如, SEQ ID NO:944的全长PRAME序列) 的氨基酸残基312-320或425-433的肽。

[0105] 术语“脱靶肽”是指与靶肽 (例如PRAME 312-320肽或PRAME 425-433肽) 相差1、2、3、4、5或更多个氨基酸的肽。在某些实施例中, 该术语包括与靶肽相差小于或等于3个氨基酸的肽。例如, 对于9-mer肽, 如果1、2或3个氨基酸与靶肽不相同, 则认为是“脱靶”肽。在某些实施例中, 氨基酸同一性以“类似度程度” (DoS) 表示。如果9-mer肽中的6个或更多个氨基酸相同, 则DoS为6。在某些实施例中, 具有 $DoS \leq 6$ 的肽被认为是“脱靶”肽。术语“脱靶”肽也指与基于序列同源性的靶肽类似的肽, 预测其与HLA-A2结合并包含在基本正常组织中表达的蛋白中。因此, 在一些实施例中, 本公开的TCR可以与HLA-A2呈递的PRAME肽 (例如, 包含PRAME的氨基酸残基312-320或425-433的肽) 结合, 其亲和力对应于比其结合脱靶肽的亲和力低至少10倍的 $K_D$ 值。

[0106] 术语“分离的”指由人的手从天然状态改变的组合物、化合物、物质或分子。例如, 如果天然存在的组合物或物质或者两者已经被改变或从其原始环境中除去, 则被分离。例如, 天然存在于活体动物中的多核苷酸或多肽不是分离的, 但从其天然状态的共存材料中分离的相同多核苷酸或多肽是分离的, 如本文所用的术语。更具体地, 分离的TCR可以指已经从细胞中除去的TCR, 例如, 已经纯化的TCR。TCR也可由分离的细胞表达, 例如已从动物分离的细胞或来自细胞培养物的细胞。在该背景下, 分离的细胞可在其表面表达TCR (即, 细胞可“呈递”TCR)。

[0107] 本文所用的术语“重组”是指通过本领域已知作为重组DNA技术的技术或方法 (包括例如DNA剪接和转基因表达) 产生、表达、分离或获得的本发明的TCR。该术语是指在非人哺乳动物 (包括转基因非人哺乳动物, 例如转基因小鼠) 或细胞 (例如CHO细胞) 表达系统中表达或从重组组合人抗体文库中分离的TCR。

[0108] 如本文所用, 术语“多核苷酸”和“核酸分子”可互换使用, 是指任何长度的核苷酸的聚合形式。多核苷酸可含有脱氧核苷酸、核糖核苷酸和/或其类似物。核苷酸可以具有任何三维结构, 并且可以执行任何已知或未知的功能。术语“多核苷酸”包括例如单链、双链和三螺旋分子、基因或基因片段、外显子、内含子、mRNA、tRNA、rRNA、核酶、反义分子、cDNA、重组多核苷酸、分支多核苷酸、适体、质粒、载体、任何序列的分离DNA、任何序列的分离RNA、核酸探针和引物。核酸分子还可以包含修饰的核酸分子 (例如, 包含修饰的碱基、糖和/或核苷酸间接头)。

[0109] 术语“多肽”是指优选地基本上由20个天然氨基酸组成的任何聚合物, 而与其大小无关。尽管术语“蛋白”通常用于指相对大的蛋白, 而“肽”通常用于指小的多肽, 但这些术语在本领域中的使用通常是重叠的。除非另有说明, 术语“多肽”一般指蛋白、多肽和肽。通常根据本公开的有用的肽将通常在约0.1至100kDa之间或更大直至约1000kDa, 优选地在如通过标准分子大小测定技术, 如离心或SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳所判断的约0.1、0.2、0.5、1、2、5、10、20、30和50kDa之间。

[0110] 术语“载体”是能够在宿主细胞中自主复制并且能够接受外源DNA的核酸分子。载体携带其自身的复制起点、一个或多个可用于插入外源DNA的限制性内切核酸酶的独特识别位点, 和通常可选择的标记, 如编码抗生素抗性的基因, 和通常用于表达插入的DNA的识别序列 (例如启动子)。常见的载体包括质粒载体和噬菌体载体。

[0111] 在一些实施例中,本发明的TCR可偶联至如配体、可检测部分或治疗部分(“免疫偶联物”)的部分,如细胞毒素、抗癌药物,或可用于治疗包括PRAME相关的疾病或病症的疾病或病状的任何其它治疗部分,如PRAME相关的癌症。

[0112] 本文所用的术语“表面等离子共振”是指光学现象,其允许通过检测生物传感器基质内蛋白浓度的变化来分析实时生物分子相互作用,例如使用BIAcore™系统(法玛西亚生物传感器公司(Pharmacia BiosensorAB),瑞典乌普萨拉和新泽西州皮斯卡塔韦)。

[0113] 术语“KD”,也称为 $K_D$ 或 $K_d$ ,是指特定生物分子及其结合配偶体的平衡解离常数。KD测量尤其可用于评估蛋白-蛋白相互作用,例如在抗原结合蛋白-抗原相互作用中。KD值越小,抗原结合蛋白与抗原(例如靶标)之间的结合相互作用或亲和力越大(或例如越强)。KD值越大,抗原结合蛋白和抗原之间的结合相互作用或亲和力越弱。

[0114] 当指核酸或其片段时,术语“基本同一性”或“基本相同”表示,当与另一核酸(或其互补链)进行适当的核苷酸插入或缺失最佳比对时,在至少约90%,且更优选地至少约95%、96%、97%、98%或99%的核苷酸碱基中存在核苷酸序列同一性,如通过任何公知的序列同一性算法所测量的,如下所述。在某些情况下,与参考核酸分子具有基本同一性的核酸分子可以编码多肽,其具有与由参考核酸分子编码的多肽相同或基本类似的氨基酸序列。

[0115] 序列同一性可以使用算法计算,例如,尼德曼-翁施算法(尼德曼和翁施1970,《分子生物学杂志(J.Mol.Biol.)》48:443-453)用于全局比对,或者史密斯-沃特曼算法(史密斯和沃特曼1981,《分子生物学杂志》147:195-197)用于局部比对。在2002年Dufresne等人《自然生物技术(Nature Biotechnology)》(第20卷,第1269-71页)中描述了另一种优选算法,并将其用于软件GenePAST(麻萨诸塞州波士顿的GQ生命科学有限公司(GQ Life Sciences,Inc.))。

[0116] 当应用于多肽时,术语“基本类似度”或“基本类似”是指当如通过程序GAP或BESTFIT使用默认空位权重最佳比对时,两个肽序列共有至少90%序列同一性,甚至更优选地至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性。优选地,不相同的残基位置因保守氨基酸取代而不同。“保守氨基酸取代”是其中氨基酸残基被具有类似化学特性(例如电荷或疏水性)的侧链(R基团)的另一氨基酸残基取代的取代。通常,保守氨基酸取代基本上不会改变蛋白的功能特性。在两个或更多个氨基酸序列由于保守取代而彼此不同的情况下,可向上调整类似度的百分比或程度以校正取代的保守性质。用于进行这种调节的装置是本领域技术人员公知的。参见例如,Pearson(1994)《分子生物学方法(Methods Mol.Biol.)》24:307-331,其以引用的方式并入本文。具有类似化学特性的侧链的氨基酸组的实例包括1)脂肪族侧链:甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸;2)脂肪族-羟基侧链:丝氨酸和苏氨酸;3)含酰胺侧链:天冬酰胺和谷氨酰胺;4)芳族侧链:苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸;5)碱性侧链:赖氨酸、精氨酸和组氨酸;6)酸性侧链:天冬氨酸盐和谷氨酸盐,以及7)含硫侧链:半胱氨酸和甲硫氨酸。优选的保守氨基酸取代组是:缬氨酸-亮氨酸-异亮氨酸、苯丙氨酸-酪氨酸、赖氨酸-精氨酸、丙氨酸-缬氨酸、谷氨酸盐-天冬氨酸盐和天冬酰胺-谷氨酰胺。或者,保守置换是在PAM250对数似然矩阵中具有正值的任何变化,公开于Gonnet等人,(1992)《科学(Science)》256:1443-45,以引用的方式并入本文。“适度保守”置换是在PAM250对数似然矩阵中具有非负值的任何变化。

[0117] 通常使用序列分析软件测量多肽的序列类似度。蛋白分析软件使用指定为各种取代、缺失和其它修饰(包括保守氨基酸取代)的类似度度量来匹配类似序列。例如,GCG软件包含如GAP和BESTFIT的程序,其可与默认参数一起使用以确定密切相关的多肽(如来自不同物种的生物体的同源多肽)之间或者野生型蛋白与其突变蛋白之间的序列同源性或序列同一性。参见例如,GCG版本6.1。还可使用FASTA以默认或推荐参数对比多肽序列;GCG版本6.1中的程序。FASTA(例如FASTA2和FASTA3)提供查询和搜索序列之间最佳重叠区域的比对和百分比序列同一性(Pearson(2000)同上)。也可以使用史密斯-沃特曼同源性搜索算法,使用具有缺口开放罚分为12和缺口延伸罚分为2的仿射缺口搜索、BLOSUM矩阵62来比较序列。当将本发明的序列与含有来自不同生物体的大量序列的数据库进行比较时,另一种优选的算法是使用默认参数的计算机程序BLAST,特别是BLASTP或TBLASTN。参见例如Altschul等人,(1990)《分子生物学杂志》215:403-410和(1997)《核酸研究(Nucleic Acids Res.)》25:3389-3402,其中的每一个以引用的方式并入本文。

[0118] “患者来源的TCR”是通过分离PRAME反应性TCR的 $\alpha$ 链和 $\beta$ 链而产生的TCR,PRAME反应性TCR分离自T淋巴细胞,T淋巴细胞介导患有PRAME相关的癌症的受试者体内肿瘤消退。

[0119] “亲和力成熟的TCR”是通过体外诱变和选择产生的TCR。例如,可进行非靶向或靶向(例如寡核苷酸定向)诱变以在TCR序列中引入变异,然后可筛选后续的TCR对靶点的亲和力,例如通过使用噬菌体展示。

[0120] 术语“活化具有更强于或等于患者来源的PRAME-特异性TCR的信噪比的T细胞应答”或“活化具有更强于或等于亲和力成熟的PRAME-特异性TCR的信噪比的T细胞应答”是指生理活性的增加,即约2倍或更多,扩增,即约2倍,增强,即约2倍,或提高,即约2倍,所述生理活性即T细胞信号传导,如通过例如发光生物测定所测量。提及更好的T细胞应答或更强的T细胞应答或者活化信号可以互换使用。T细胞应答或T细胞活化的各种测量和测定是本领域技术人员公知的。

[0121] 短语“治疗有效量”是指产生其所施用的期望效果的量。确切的量将取决于治疗目的,并且将由本领域技术人员使用已知技术(参见例如Lloyd(1999)《药物调制的艺术、科学和技术(The Art,Science and Technology of Pharmaceutical Compounding)》)来确定。术语“有效量”旨在涵盖如药理学有效量或治疗有效量的上下文。例如,在某些实施例中,有效量能够实现筛选测定中的有益状态、有益结果、功能活性或者临床病状的改善。

[0122] 如本文所述,本发明的TCR可“施用”至受试者。“施用”本发明的TCR包括但不限于,施用表达本发明的TCR的细胞(例如,效应细胞,如T细胞),施用表达本发明的TCR的核酸(例如,表达这种TCR的载体),和施用包含本发明的TCR的多肽,其中多肽已被格式化用于此类施用(例如,包含TCR链和结合CD3的抗体链的双特异性多肽)。

[0123] 如本文所用,术语“受试者”是指需要改善、预防和/或治疗PRAME相关的疾病或病症,如PRAME相关的癌症(例如,PRAME阳性癌症)的动物,优选地哺乳动物。该术语包括患有PRAME相关的疾病或病症(如PRAME相关的癌症)或具有患有PRAME相关的疾病或病症(如PRAME相关的癌症)的风险的人类受试者。

[0124] 如本文所用,“抗癌药物”意指可用于治疗或改善或抑制癌症的任何药剂,包括但不限于细胞毒素和药剂,如抗代谢物、烷化剂、蒽环类药物、抗生素、抗有丝分裂剂、丙卡巴肼、羟基脲、天冬酰胺酶、皮质类固醇、环磷酰胺、米托坦(O,P'-DDD)、生物制剂(例如抗体

和干扰素)和放射性药剂。如本文所用,“细胞毒素或细胞毒性剂”还指化学治疗剂且意指对细胞有害的任何药剂。实例包括Taxol®(紫杉醇)、替莫唑胺、细胞松弛素B、短杆菌肽D、溴化乙锭、依米丁、顺铂、丝裂霉素、依托泊苷、替尼泊苷、长春新碱、长春碱、秋水仙碱、多柔比星、柔红霉素、二羟基蒽二酮、米托蒽醌、光神霉素、放线菌素D、1-脱氢睾酮、糖皮质激素、普鲁卡因、丁卡因、利多卡因、普萘洛尔和嘌呤霉素及其类似物或同系物。

[0125] 术语“预防(prevent)”、“预防(preventing)”、“预防(prevention)”、“预防性治疗(prophylactic treatment)”等是指降低受试者发展病症或病状的可能性,所述受试者不患有病症或病状但具有发展病症或病状的风险或易于发展病症或病状。预防等并不意味着防止受试者曾经患上特定疾病或病症。预防可能需要施用多剂量。预防可包括预防所有疾病症状消除的受试者的疾病复发,或者预防复发-缓解性疾病的复发。

[0126] II. PRAME T细胞(TCR)和包含PRAME TCR的组合物

[0127] T细胞是细胞亚群,其与其它免疫细胞类型(多形核细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、肥大细胞、B细胞、NK细胞)一起构成免疫系统的细胞组分。在生理条件下,T细胞在免疫监视和外源抗原的消除中起作用。然而,在病理条件下,有令人信服的证据表明T细胞在疾病的病因和传播中起主要作用。在这些病症中,中枢或外周T细胞免疫耐受性的破坏是引起自身免疫病的基本过程。

[0128] T细胞结合抗原呈递细胞表面上的小抗原决定簇上的表位,抗原呈递细胞与主要组织相容性复合体(MHC;小鼠中)或人白细胞抗原(HLA;在人类中)复合体相结合。T细胞通过T细胞表面上的T细胞受体(TCR)复合体结合这些表位。T细胞受体是由两种类型的链构成的异二聚体结构: $\alpha$ (alpha)和 $\beta$ (beta)链,或者 $\gamma$ (gamma)和 $\delta$ (delta)链。 $\alpha$ 链由位于 $\alpha$ 基因座(在人或小鼠染色体14上)内的核酸序列编码,其也包括整个 $\delta$ 基因座,并且 $\beta$ 链由位于 $\beta$ 基因座(在小鼠染色体6或人染色体7上)内的核酸序列编码。大部分T细胞具有 $\alpha\beta$ TCR;而少数T细胞携带 $\gamma\delta$ TCR。

[0129] T细胞受体 $\alpha$ 和 $\beta$ 多肽(以及类似地 $\gamma$ 和 $\delta$ 多肽)经由二硫键彼此相连。构成TCR的两种多肽中的每一种含有包含恒定区和可变区的胞外结构域、跨膜结构域和胞质尾区(跨膜结构域和胞质尾区也是恒定区的一部分)。TCR的可变区决定其抗原特异性,并且类似于免疫球蛋白,包含三个互补决定区(CDR)。TCR在体内大多数T细胞上表达,并且已知其参与MHC限制性抗原的识别。TCR $\alpha$ 链包括共价连接的 $V\alpha$ 和 $C\alpha$ 区,而 $\beta$ 链包括共价连接至 $C\beta$ 区的 $V\beta$ 区。 $V\alpha$ 和 $V\beta$ 区形成可结合主要组织相容性复合体(MHC)(或人类中的HLA)的背景下的抗原的口袋或裂缝。TCR是具有精致特异性的检测分子,并且像抗体一样表现出巨大的多样性。

[0130] TCR分子的一般结构及其制备和使用方法,包括与肽结合:已经公开了主要组织相容性复合体。参见例如PCT/US98/04274;PCT/US98/20263;W099/60120。

[0131] 非人类动物(例如啮齿动物,例如小鼠或大鼠)可经基因工程化以表达人或人源化T细胞受体(TCR),其包含由至少一个人TCR可变区基因区段编码的可变结构域,如例如PCT公开案第W0 2016/164492号中所描述,其全部内容以引用的方式并入本文。例如,VelociT®小鼠技术(再生元制药公司(Regeneron)),一种经基因修饰的小鼠,可用于产生本发明的TCR,该小鼠允许产生针对肿瘤和/或病毒抗原的完全地人治疗性TCR。本领域技术人员通过标准诱变技术,结合本文所述的测定,可获得改变的TCR序列并测试它们的特定结合亲和力和/或特异性。本领域已知的有用的诱变技术包括但不限于从头基因合成、寡核苷酸定向诱

变、区域特异性诱变、接头扫描诱变和通过PCR的定点诱变(参见例如,Sambrook等人(1989)以及Ausubel等人(1999))。

[0132] 简言之,在一些实施例中,用于生成针对PRAME 312-320肽或PRAME 425-433肽的TCR的方法可包括用PRAME 312-320肽或PRAME 425-433肽使非人动物(例如啮齿动物,例如小鼠或大鼠)免疫,如在其基因组中包含未重排的人TCR可变基因座的经基因工程化的非人动物;使该动物对该肽产生免疫应答;从该动物与对该肽具有反应性的T细胞分离;确定T细胞表达的人TCR可变区的核酸序列;将人TCR可变区克隆到包含人TCR恒定区的核酸序列的核苷酸构建体中,使得人TCR可变区与人TCR恒定区可操作地连接;以及分别从构建体表达对PRAME 312-320肽或PRAME 425-433肽具特异性的人T细胞受体。在一些实施例中,使用本领域技术人员已知的标准技术进行分离T细胞,确定T细胞表达的人TCR可变区的核酸序列,将人TCR可变区克隆到包含人TCR恒定区的核酸序列的核苷酸构建体中,以及表达人T细胞受体的步骤。

[0133] 在一些实施例中,编码对目标抗原具特异性的T细胞受体的核苷酸序列在细胞中表达。在一些实施例中,表达TCR的细胞选自CHO、COS、293、HeLa、PERC.6<sup>TM</sup>细胞等。

[0134] 在获得变体TCR编码序列时,本领域普通技术人员将认识到TCR衍生蛋白可由某些氨基酸取代、添加、缺失和翻译后修饰而修饰,而不损失或降低生物活性。特别地,众所周知,保守氨基酸取代,即一个氨基酸取代具有类似大小、电荷、极性和构象的另一个氨基酸,不可能显著改变蛋白功能。作为蛋白组分的20种标准氨基酸可大致分为如下4组保守氨基酸:非极性(疏水)组包括丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、色氨酸和缬氨酸;极性(不带电荷,中性)组包括天冬酰胺、半胱氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸;带正电荷的(碱性)组含有精氨酸、组氨酸和赖氨酸;以及带负电荷的(酸性)组含有天冬氨酸和谷氨酸。蛋白中一个氨基酸取代同一组中的另一个氨基酸不可能对蛋白的生物活性产生不利影响。

[0135] 在一些实施例中,本公开的TCR可包含与表5或表8的CDR序列(例如,如V $\alpha$  CDR3或V $\beta$  CDR3的CDR3序列)相比具有1个或更多个取代的CDR序列(例如,如V $\alpha$  CDR3或V $\beta$  CDR3的CDR3序列)。例如,本公开的TCR可包含与表5或表8的CDR序列相比具有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个取代的CDR序列。通常,本发明的TCR通过与HLA-A2呈递的PRAME 312-320肽或HLA-A2呈递的PRAME 425-433肽结合而起作用。如本文所用,HLA呈递的肽(如HLA-A2呈递的肽)可指结合人白细胞抗原(HLA)蛋白的肽,例如在细胞表面上表达的HLA蛋白。因此,与HLA呈递的肽结合的TCR与HLA结合的肽结合,并且任选地还与HLA本身结合。与HLA相互作用可赋予与特定HLA呈递的肽结合的特异性。在一些实施例中,TCR与分离的HLA呈递的肽结合。在一些实施例中,TCR与细胞表面上的HLA呈递的肽结合。

[0136] 通常,本发明的TCR可通过与HLA-A2呈递的PRAME肽(例如PRAME 312-320或PRAME 425-433)结合而起作用。

[0137] 本发明包括在HLA-A2的背景下以高特异性与PRAME 312-320肽或PRAME 425-433肽结合的PRAME TCR。在一些实施例中,在不存在HLA-A2的情况下,PRAME TCR不与PRAME 312-320肽或PRAME 425-433肽结合,或者这种结合极少。进一步,在一些实施例中,PRAME TCR不与HLA-A2背景下的脱靶肽结合,或者这种结合极少。如本文所用,脱靶肽可以指与靶肽相差1、2、3、4、5或更多个氨基酸的肽。在一些实施例中,结合特异性可以通过a)测量在

靶结合(例如,与HLA-A2呈递的PRAME (312-320) 肽或HLA-A2呈递的PRAME (425-433) 肽结合), b) 测量脱靶结合, 和c) 量化两者之间的差异(例如,通过计算比率) 而确定。该比率可以例如通过将a) 和b) 中获得的值相除来计算。例如,通过测量与肽/HLA四聚体试剂(例如, PRAME/HLA四聚体试剂) 的结合%, 或通过本领域已知的其它技术, 可以实现对在靶和脱靶结合的测量。在一些实施例中, 本公开的TCR的在靶结合/脱靶结合值(例如, 通过将上述a) 和b) 中获得的值相除而获得的值) 可大于5、大于6、大于7、大于8、大于9、大于10、大于11、大于12、大于13、大于14、大于15、大于16、大于17、大于18、大于19、大于20、大于21、大于22、大于23、大于24、大于25、大于26、大于27、大于28、大于29、大于30、大于35、大于40、大于45、大于50、大于55、大于60、大于65、大于70、大于75、大于80、大于85、大于90、大于95、大于100、大于110、大于120、大于130、大于140、大于150、大于160、大于170、大于180、大于190、大于200、大于225、大于250、大于275、大于300、大于325、大于350、大于375、大于400、大于425、大于450、大于475、大于500、大于550、大于600、大于650、大于700、大于750、大于800、大于850、大于900、大于950、大于1000、大于1100、大于1200、大于1300、大于1400、大于1500、大于1600、大于1700、大于1800、大于1900或大于2000。在一些实施例中, 在靶结合/脱靶结合值(例如, 通过将上述a) 和b) 中获得的值相除而获得的值) 可为约5至约20、约10至约30、约20至约80、约30至约70、约40至约60、约50至约250、约100至约200、约100至约1000、约300至约700、约500至约1500、约800至约1200、约900至约1100、约800至约1500、约1000至约1400, 或约1100至约1300。

[0138] 在一些实施例中, 本发明提供了与HLA-A2呈递的人PRAME (312-320) 肽的构象表位或与HLA-A2呈递的人PRAME (425-433) 肽的构象表位特异性地结合的重组抗原结合蛋白(例如, 分离的抗原结合蛋白), 其中抗原结合蛋白具有选自以下组成的组的特性: (a) 结合单体HLA-A2:PRAME (312-320) 肽或单体PRAME (312-320) 肽, 其结合解离平衡常数( $K_D$ ) 小于约20nM, 如在25°C下的表面等离子共振测定中所测量; (b) 结合单体HLA-A2:PRAME (425-433) 肽或单体PRAME (425-433) 肽, 其结合解离平衡常数( $K_D$ ) 小于约25nM, 如在25°C下的表面等离子共振测定中所测量; (c) 结合HLA-A2:PRAME (312-320) 肽表达细胞或PRAME (425-433) 肽表达细胞, 其 $EC_{50}$ 小于约6nM, 并且不与表达预测的脱靶肽的细胞结合, 如通过发光测定所确定; (d) 结合HLA-A2:PRAME (312-320) 肽表达细胞或PRAME (425-433) 肽表达的细胞, 其 $EC_{50}$ 小于约1nM, 并且基本上不与表达预测的脱靶肽的细胞结合, 如通过发光测定所确定; (e) 结合HLA-A2:PRAME (312-320) 肽表达细胞或PRAME (425-433) 肽表达细胞, 其 $EC_{50}$ 小于约30nM, 如通过流式细胞术测定所确定; (f) 结合HLA-A2:PRAME (312-320) 肽表达细胞或PRAME (425-433) 肽表达细胞, 其 $EC_{50}$ 小于约75nM, 如通过流式细胞术测定所确定; 以及(g) 构象表位包含SEQ ID NO:944的一个或多个氨基酸。

[0139] 在一些实施例中, 本公开的PRAME TCR对PRAME (312-320) 或对PRAME (425-433) 具有特异性活性或亲和力, 如通过体外测定所测量。例如, 可以用PRAME (312-320) 或PRAME (425-433) 多肽或脱靶多肽脉冲标记表达HLA的细胞(如T2细胞), 从而诱导细胞呈递与HLA结合的多肽。可替代地或除了使用脱靶多肽作为对照之外, 可以使用脱靶HLA(除了由目标TCR识别的HLA之外的HLA)。例如, 脱靶HLA可用于呈递PRAME肽以测试与HLA-A2呈递的PRAME肽结合的特异性。此外, 对照可以是既不表达PRAME也不表达靶HLA(例如HLA-A2) 的细胞系。可将细胞与表达目标TCR的T细胞群共培养, 并测量作为细胞产生的细胞因子(如干扰素 $\gamma$ )

量的函数的活性。在某些实施例中，该测定可包含在效应细胞：靶细胞比率为1:1 ( $1 \times 10^5$ 个效应细胞/96孔)时，将TCR表达性T细胞群与 $10^{-10}$ M装载肽的T2细胞进行体外共培养，和共培养后24小时的干扰素 $\gamma$ 测量(例如，通过中尺度发现(MSD®)扇形成像仪)。在某些实施例中，该测定可包含在效应细胞：靶细胞比率为5:1 ( $2.5 \times 10^5$ 个效应细胞： $5 \times 10^4$ 个靶细胞)时，将TCR表达性T细胞群与效应细胞进行体外共培养，和共培养后24小时的干扰素 $\gamma$ 测量(例如，通过Meso Scale Discovery(MSD®)扇形成像仪)。

[0140] 增加检测到的细胞因子的量可作为活性的指标。与对照(脱靶)多肽相比，目标TCR对其靶肽的活性或特异性，或者与脱靶HLA结合的靶肽相比，目标TCR对其在靶HLA结合的靶肽的活性或特异性可为2倍或更大、3倍或更大、4倍或更大、5倍或更大、6倍或更大、7倍或更大、8倍或更大、9倍或更大、10倍或更大、15倍或更大、20倍或更大、30倍或更大、40倍或更大、50倍或更大、100倍或更大、200倍或更大、300倍或更大、400倍或更大、500倍或更大、600倍或更大、700倍或更大、800倍或更大、900倍或更大、1,000倍或更大、1,500倍或更大、2,000倍或更大、2,500倍或更大、3,000倍或更大、4,000倍或更大、5,000倍或更大、10,000倍或更大、20,000倍或更大、30,000倍或更大、40,000倍或更大、50,000倍或更大、60,000倍或更大、70,000倍或更大、80,000倍或更大、90,000倍或更大，或100,000倍或更大。

[0141] 在某些实施例中，当预防性地向有需要的受试者施用时，本公开的PRAME TCR可用于抑制肿瘤的生长或延迟癌症的进展，并可增加受试者的生存期。例如，施用本发明的PRAME TCR可导致原发性肿瘤的缩小并可预防继发性肿瘤的转移或发展。在某些实施例中，当预防性地向有需要的受试者施用时，本发明的PRAME TCR可用于抑制肿瘤的生长，并可增加受试者的生存期。例如，对受试者施用治疗有效量的本发明的PRAME TCR可导致受试者中已建立的肿瘤的缩小和消失。

[0142] 在一些实施例中，本发明提供了与HLA-A2呈递的PRAME 312-320肽特异性地结合的TCR(例如，分离的TCR或在分离的细胞上表达的TCR)，其中抗原结合蛋白表现出一种或多种以下特征：(i) 包含 $\alpha$ 链可变结构域，其包含互补决定区(CDR)3，其中CDR3包含表3中列出的 $\alpha$ 链可变结构域CDR3氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列；(ii) 包含 $\beta$ 链可变结构域，其包含互补决定区(CDR)3，其中CDR3包含表3中列出的 $\beta$ 链可变结构域CDR3氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列；(iii) 包含 $\alpha$ 链可变结构域的CDR1，其包含表3中列出的CDR1氨基酸序列中的任一个，或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列，和 $\alpha$ 链可变结构域的CDR2，其独立地包含表3中列出的CDR2氨基酸序列中的任一个，或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列；(iv) 包含 $\beta$ 链可变结构域的CDR1，其包含表3中列出的CDR1氨基酸序列中的任一个或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列，和 $\beta$ 链可变结构域的CDR2，其独立地包含表3中列出的CDR2氨基酸序列中的任一个，或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列；(v) 包含 $\alpha$ 链可变结构域CDR1、CDR2和CDR3，其包含在表5中所列的 $\alpha$ 链可变结构域序列中的任一个内，或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列；和 $\beta$ 链可变结构域CDR1、CDR2和CDR3，其包含在表5中所列的 $\beta$ 链可变结构域序列中的任一个内，或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基

本上类似的序列；(vi) 包含 $\alpha$ 链可变结构域,其具有与表5中所列的 $\alpha$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或约100%氨基酸同一性的氨基酸序列；(vii) 包含 $\beta$ 链可变结构域,其具有与表5中所列的 $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或约100%氨基酸同一性的氨基酸序列；(viii) 包含 (a)  $\alpha$ 链可变结构域,其具有与表5中所列的 $\alpha$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或约100%氨基酸同一性的氨基酸序列；以及 (b)  $\beta$ 链可变结构域,其具有与表5中所列的 $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或约100%氨基酸同一性的氨基酸序列；(ix) 包含 (a)  $\alpha$ 链可变结构域CDR1域,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、7、13、19、25、31、37、43、49、55、61、67、73、79、85、91、97和103,或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列；(b)  $\alpha$ 链可变结构域CDR2结构域,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2、8、14、20、26、32、38、44、50、56、62、68、74、80、86、92、98和104,或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列；(c)  $\alpha$ 链可变结构域CDR3结构域,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:3、9、15、21、27、33、39、45、51、57、63、69、75、81、87、93、99和105,或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列；(d)  $\beta$ 链可变结构域CDR1,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:4、10、16、22、28、34、40、46、52、58、64、70、76、82、88、94、100和106,或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列；(e)  $\beta$ 链可变结构域CDR2,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:5、11、17、23、29、35、41、47、53、59、65、71、77、83、89、95、101和107,或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列；以及(f)  $\beta$ 链可变结构域CDR3,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:6、12、18、24、30、36、42、48、54、60、66、72、78、84、90、96、102和108,或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列；(x) 包含选自由以下组成的组的 $\alpha$ 链可变结构域/ $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列对:SEQ ID NO:217/219、229/231、237/239、241/243和285/287,或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列；(xi) 包含选自由以下组成的组的 $\alpha$ 链可变结构域/ $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列对:SEQ ID NO:217/219、221/223、225/227、229/231、233/235、237/239、241/243、245/247、249/251、253/255、257/259、261/263、265/267、269/271、273/275、277/279、281/283和285/287,或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列；(xii) 不与表达预测的脱靶肽的细胞特异性地结合,但也不与HLA-A2呈递的PRAME 312-320肽特异性地结合,如通过发光测定所确定；和/或(xiii) 活化T细胞应答比患者来源的PRAME特异性TCR高约2倍,例如,活化比患者来源的PRAME特异性TCR高约2倍,或高约3倍,或高约4倍的T

细胞应答,如通过TCR介导的T细胞信号传导发光生物测定所确定。

[0143] 在一些实施例中,本发明提供了与HLA-A2呈递的PRAME 425-433肽特异性地结合的TCR(例如,分离的TCR或在分离的细胞上表达的TCR),其中抗原结合蛋白表现出一种或多种以下特征:(i)包含 $\alpha$ 链可变结构域,其包含互补决定区(CDR)3,其中CDR3包含表6中列出的 $\alpha$ 链可变结构域CDR3氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列;(ii)包含 $\beta$ 链可变结构域,其包含互补决定区(CDR)3,其中CDR3包含表6中列出的 $\beta$ 链可变结构域CDR3氨基酸序列中的任一个的氨基酸序列;(iii)包含 $\alpha$ 链可变结构域的CDR1,其包含表6中列出的CDR1氨基酸序列中的任一个,或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列,和 $\alpha$ 链可变结构域的CDR2,其独立地包含表6中列出的CDR2氨基酸序列中的任一个,或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;(iv)包含 $\beta$ 链可变结构域的CDR1,其包含表6中列出的CDR1氨基酸序列中的任一个或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列,和 $\beta$ 链可变结构域的CDR2,其独立地包含表6中列出的CDR2氨基酸序列中的任一个,或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;(v)包含 $\alpha$ 链可变结构域CDR1、CDR2和CDR3,其包含在表8中所列的 $\alpha$ 链可变结构域序列中的任一个内,或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;和 $\beta$ 链可变结构域CDR1、CDR2和CDR3,其包含在表8中所列的 $\beta$ 链可变结构域序列中的任一个内,或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;(vi)包含 $\alpha$ 链可变结构域,其具有与表8中所列的 $\alpha$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或约100%氨基酸同一性的氨基酸序列;(vii)包含 $\beta$ 链可变结构域,其具有与表8中所列的 $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或约100%氨基酸同一性的氨基酸序列;(viii)包含(a) $\alpha$ 链可变结构域,其具有与表8中所列的 $\alpha$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或约100%氨基酸同一性的氨基酸序列;以及(b) $\beta$ 链可变结构域,其具有与表8中所列的 $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列的氨基酸序列中的任一个的完整氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或约100%氨基酸同一性的氨基酸序列;(ix)包含(a) $\alpha$ 链可变结构域CDR1域,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:289、295、301、307、313、319、325、331、337、343、349、355、361、367、373、379、385、391、397、403、409、415、421、427、433、439、445、451、457、463、469、475、481、487、493、499、505、511、517和523,或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列;(b) $\alpha$ 链可变结构域CDR2结构域,其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:290、296、302、308、314、320、326、332、338、344、350、356、362、368、374、380、386、392、398、404、410、416、422、428、434、440、446、452、458、464、470、476、482、488、494、500、506、512、518和524,或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至

少99%序列同一性的基本上类似的序列；(c)  $\alpha$ 链可变结构域CDR3结构域，其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列：SEQ ID NO：291、297、303、309、315、321、327、333、339、345、351、357、363、369、375、381、387、393、399、403、411、417、423、429、433、441、447、433、439、465、471、477、483、489、495、501、507、513、519和525，或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列；(d)  $\beta$ 链可变结构域CDR1，其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列：SEQ ID NO：292、298、304、310、316、322、328、334、340、346、352、358、364、370、376、382、388、394、400、406、412、418、424、430、436、442、448、454、460、466、472、478、484、490、496、502、508、514、520和526，或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列；(e)  $\beta$ 链可变结构域CDR2，其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列：SEQ ID NO：293、299、305、311、317、323、329、335、341、347、353、359、365、371、377、383、389、395、401、407、413、419、425、431、437、443、449、455、461、467、473、479、485、491、497、503、509、515、521和527，或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列；以及(f)  $\beta$ 链可变结构域CDR3，其具有选自由以下组成的组的氨基酸序列：SEQ ID NO：294、300、306、312、318、324、330、336、342、348、354、360、366、372、378、384、390、396、402、408、414、420、426、432、438、444、450、456、462、468、474、480、486、492、498、504、510、516、522和528，或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列；(x) 包含选自由以下组成的组的 $\alpha$ 链可变结构域/ $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列对：SEQ ID NO：825/827、845/847、853/855、857/859、865/867、873/875、885/887、893/805、897/899、901/903、913/915和925/927，或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列；(xi) 包含选自由以下组成的组的 $\alpha$ 链可变结构域/ $\beta$ 链可变结构域氨基酸序列对：SEQ ID NO：769/771、773/775、777/779、781/783、785/787、789/791、793/795、797/799、801/803、805/807、809/811、813/815、817/819、821/823、825/827、829/831、833/835、837/839、841/843、845/847、849/851、853/855、857/859、861/863、865/867、869/871、873/875、877/879、881/883、885/887、889/891、893/805、897/899、901/903、905/907、909/911、913/915、917/919、921/923和925/927，或其具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列；(xii) 不与表达预测的脱靶肽的细胞特异性地结合，但也不与HLA-A2呈递的PRAME 425-433肽特异性地结合，如通过发光测定所确定；和/或(xiii) 活化比患者来源的PRAME特异性TCR高约2倍的T细胞应答，例如，活化比患者来源的PRAME特异性TCR高约2倍，或高约3倍，或高约4倍的T细胞应答，如通过TCR介导的T细胞信号传导发光生物测定所确定。

[0144] 本发明的TCR可具有一或多种前述生物特征，或其任何组合。从对包括本文工作实例的本公开的综述来看，本发明的抗原结合蛋白的其它生物学特征对于本领域普通技术人员而言将是显而易见的。

[0145] 在某些实施例中，将编码本文所述的PRAME TCR的多核苷酸插入载体中。本文所用的术语“载体”是指编码蛋白的多核苷酸可共价插入其中以便引起该蛋白的表达和/或该多核苷酸的克隆的载体。此类载体也称为“表达载体”。可以使用本领域已知的任何合适的方法将分离的多核苷酸插入到载体中，例如但不限于，可以使用合适的限制酶来消化载体，然

后可以与具有匹配限制末端的分离的多核苷酸连接。表达载体具有整合和表达编码至少部分能够在细胞中转录的基因产物的异源或修饰的核酸序列的能力。在大多数情况下, RNA分子随后被翻译成蛋白。表达载体可含有多种控制序列, 其是指在特定宿主生物体中转录和可能翻译可操作连接的编码序列所必需的核酸序列。除了支配转录和翻译的控制序列外, 载体和表达载体还可以含有也具有其它功能的核酸序列, 这将在下文中讨论。表达载体可包含另外的元件, 例如, 表达载体可具有两个复制系统, 因此允许其在两种生物体中维持, 例如在人细胞中维持以用于表达和在原核宿主中维持以用于克隆和扩增。

[0146] 表达载体可以具有必要的5'上游和3'下游调节元件, 如启动子序列(如CMV、PGK和EF1 $\alpha$ 启动子)、核糖体识别和结合TATA盒, 和3'UTR AAUAAA转录终止序列, 用于在其各自的宿主细胞中有效的基因转录和翻译。其它合适的启动子包括猿猴病毒40(SV40)早期启动子的组成型启动子、小鼠乳腺肿瘤病毒(MMTV)、HIV LTR启动子、MoMuLV启动子, 禽白血病毒启动子、EBV立即早期启动子和劳斯肉瘤病毒启动子。也可以使用人基因启动子, 包括但不限于肌动蛋白启动子、肌球蛋白启动子、血红蛋白启动子和肌酸激酶启动子。在某些实施例中, 诱导型启动子也被考虑作为表达嵌合抗原受体的载体的一部分。这提供了能够开启目标多核苷酸序列表达或关闭表达的分子开关。诱导型启动子的实例包括但不限于金属硫蛋白启动子、糖皮质激素启动子、黄体酮启动子或四环素启动子。

[0147] 表达载体可以具有额外的序列, 如6x-组氨酸(SEQ ID NO:954)、c-Myc和FLAG标签, 其被整合到表达的TCR中。因此, 表达载体可经工程化以含有5'和3'非翻译调节序列, 5'和3'非翻译调节序列有时可充当增强子序列、启动子区和/或终止子序列, 增强子序列、启动子区和/或终止子序列可促进或增强表达载体上携带的目标核酸的有效转录。表达载体也可经工程化以在特定细胞类型、细胞位置或组织类型中进行复制和/或表达功能(例如, 转录和翻译)。表达载体可以包括用于在宿主或受体细胞中维持载体的可选择标志物。

[0148] 载体的实例是质粒、自主复制序列和转座元件。其它示范性载体包括但不限于质粒、噬菌粒、粘粒、人工染色体(如酵母人工染色体(YAC)、细菌人工染色体(BAC)或P1衍生的人工染色体(PAC))、噬菌体(如 $\lambda$ 噬菌体或M13噬菌体), 和动物病毒。可用作载体的动物病毒类别的实例包括但不限于逆转录病毒(包括慢病毒)、腺病毒、腺伴随病毒、疱疹病毒(例如单纯疱疹病毒)、痘病毒、杆状病毒、乳头瘤病毒和乳多空病毒(例如SV40)。表达载体的实例是用于在哺乳动物细胞中表达的Lenti-X<sup>TM</sup>双顺抗子表达系统(Neo)载体(Clontech公司)、pClneo载体(普洛麦格公司(Promega)); 用于哺乳动物细胞中慢病毒介导的基因转移和表达的pLenti4/V5-DEST<sup>TM</sup>、pLenti6/V5-DEST<sup>TM</sup>和pLenti6.2N5-GW/lacZ(美国英杰生命技术有限公司(Invitrogen))。可以将本文公开的TCR的编码序列连接到此类表达载体中, 以在哺乳动物细胞中表达嵌合蛋白。

[0149] 在某些实施例中, 在病毒载体中提供了编码本发明的TCR的核酸。病毒载体可以是源自逆转录病毒、慢病毒或泡沫病毒的那些病毒载体。如本文所使用的, 术语“病毒载体”是指核酸载体构建体, 其包括至少一种病毒来源的元件并且具有被包装到病毒载体颗粒中的能力。病毒载体可以含有代替非必需病毒基因的本文所描述的各种蛋白的编码序列。载体和/或颗粒可以用于在体外或体内将DNA、RNA或其它核酸转移到细胞中的目的。多种形式的病毒载体是本领域已知的。

[0150] 在某些实施例中, 含有本文所描述的TCR的编码序列的病毒载体是逆转录病毒载

体或慢病毒载体。术语“逆转录病毒载体”是指含有主要源自逆转录病毒的结构和功能遗传元件的载体。术语“慢病毒载体”是指LTR外部的含有主要源自慢病毒的结构和功能遗传元件的载体。

[0151] 用于本文的逆转录病毒载体可以源自任何已知的逆转录病毒(例如,c型逆转录病毒,如莫洛尼鼠肉瘤病毒(MoMSV)、哈维鼠肉瘤病毒(HaMuSV)、鼠乳腺肿瘤病毒(MuMTV)、长臂猿白血病病毒(GaLV)、猫白血病病毒(FLV)、泡沫病毒、弗兰德病毒(Friend)、鼠干细胞病毒(MSCV)和劳斯肉瘤病毒(RSV))。本发明的“逆转录病毒”还包括人T细胞白血病病毒、HTLV-1和HTLV-2以及逆转录病毒的慢病毒家族,如人免疫缺陷病毒、HIV-1、HIV-2、猿猴免疫缺陷病毒(SIV)、猫免疫缺陷病毒(FIV)、马免疫缺陷病毒(EIV)和其它类别的逆转录病毒。

[0152] 用于本文的慢病毒载体是指源自慢病毒,引起缓慢发展的疾病的逆转录病毒组(或属)的载体。包括在该组中的病毒包括HIV(人类免疫缺陷病毒;包括HIV1型和HIV2型);维斯纳-梅迪病毒;山羊关节炎-脑炎病毒;马传染性贫血病毒;猫免疫缺陷病毒(FIV);牛免疫缺陷病毒(BIV);以及猿猴免疫缺陷病毒(SIV)。重组慢病毒的制备可以使用根据Dull等人和Zufferey等人(Dull等人,《病毒学杂志(J. Virol)》,1998;72:8463-8471和Zufferey等人,《病毒学杂志》1998;72:9873-9880)的方法来实现。

[0153] 用于本发明的逆转录病毒载体(即,慢病毒和非慢病毒两者)都可以使用标准克隆技术,通过按本文所描述的顺序和朝向组合期望的DNA序列来形成(《当代分子生物学实验手册(Current Protocols in Molecular Biology)》,Ausubel, F.M.等人(编辑)格林出版协会(Greene Publishing Associates), (1989),第9.10-9.14节和其它标准实验室手册;Eglitis等人(1985),《科学》230:1395-1398;Danos和Mulligan(1988)《美国国家科学院院刊》85:6460-6464;Wilson等人(1988)《美国国家科学院院刊》85:3014-3018;Armentano等人(1990)《美国国家科学院院刊》87:6141-6145;Huber等人(1991)《美国国家科学院院刊》88:8039-8043;Ferry等人(1991)《美国国家科学院院刊》88:8377-8381;Chowdhury等人(1991)《科学》254:1802-1805;van Beusechem等人(1992)《美国国家科学院院刊》89:7640-7644;Kay等人(1992)《人类基因疗法(Human Gene Therapy)》3:641-647;Dai等人(1992)《美国国家科学院院刊》89:10892-10895;Hwu等人(1993)《免疫学杂志(J. Immunol)》150:4104-4115;美国专利第4,868,116号;美国专利第4,980,286号;PCT申请W0 89/07136;PCT申请W0 89/02468;PCT申请W0 89/05345;以及PCT申请W0 92/07573)。

[0154] 用于获得用于形成载体的逆转录病毒(即慢病毒和非慢病毒)序列的合适来源包括例如可从可商购获得的来源(包括美国典型培养物保藏中心(ATCC),马里兰州罗克维尔)获得的基因组RNA和cDNA。这些序列也可以化学合成。

[0155] 为了表达PRAME TCR,可将载体引入到宿主细胞中以允许多肽在宿主细胞内表达。表达载体可以含有用于控制表达的各种元件,包括但不限于启动子序列、转录起始序列、增强子序列、可选择标志物和信号序列。如上所述,本领域普通技术人员可以适当地选择这些元件。例如,可以选择启动子序列以促进载体中多核苷酸的转录。合适的启动子序列包括但不限于T7启动子、T3启动子、SP6启动子、 $\beta$ -肌动蛋白启动子、EF1a启动子、CMV启动子和SV40启动子。可以选择增强子序列以增强多核苷酸的转录。可以选择可选择标志物以允许从没有插入载体的宿主细胞中选择宿主细胞来插入载体,例如,可选择标志物可以是赋予抗生

素抗性的基因。可以选择信号序列以允许表达的多肽转运到宿主细胞外。

[0156] 为了克隆多核苷酸,可以将载体引入到宿主细胞(分离的宿主细胞)中以允许载体自身复制,并且从而扩增其中所含有的多核苷酸的拷贝。克隆载体可以含有序列组分,通常包括但不限于复制起点、启动子序列、转录起始序列、增强子序列和可选择标志物。这些元件可以由本领域普通技术人员适当地选择。例如,可以选择复制起点以促进载体在宿主细胞中的自主复制。

[0157] 在某些实施例中,本公开提供了含有本文提供的载体的分离的宿主细胞。含有载体的宿主细胞可用于表达或克隆载体中含有的多核苷酸。合适的宿主细胞可包括但不限于原核细胞、真菌细胞、酵母细胞或更高等的真核细胞,如哺乳动物细胞。用于此目的合适的原核细胞包括但不限于真细菌,如革兰氏阴性或革兰氏阳性生物体,例如肠杆菌科(Enterobacteriaceae),如埃希氏杆菌属(*Escherichia*) (例如,大肠杆菌(*E. coli*))、肠杆菌属(*Enterobacter*)、欧文氏菌属(*Erwinia*)、克雷伯氏菌属(*Klebsiella*)、变形杆菌属(*Proteus*)、沙门氏菌属(*Salmonella*) (例如,鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*))、沙雷氏菌属(*Serratia*) (例如,粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescans*)) 和志贺氏菌属(*Shigella*);以及芽孢杆菌属(*Bacilli*),如枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*) 地衣芽孢杆菌(*B. licheniformis*);假单胞菌属(*Pseudomonas*),如铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*) 和链霉菌属(*Streptomyces*)。

[0158] 使用本领域已知的转染和/或转导技术将本发明的TCR引入到宿主细胞中。本文所用的术语“转染”和“转导”是指将外源核酸序列引入宿主细胞的过程。核酸可以整合到宿主细胞DNA中或可以在染色体外维持。核酸可以瞬时维持或可以是稳定的引入。转染可以通过本领域已知的各种方法来完成,包括但不限于磷酸钙-DNA共沉淀、DEAE-葡聚糖介导的转染、聚凝胺介导的转染、电穿孔、显微注射、脂质体融合、脂质转染、原生质体融合、逆转录病毒感染和基因枪法。转导是指使用病毒或逆转录病毒载体通过病毒感染而不是通过转染来递送一个或多个基因。在某些实施例中,通过在与细胞接触前将载体包装到病毒体中来转导逆转录病毒载体。例如,由逆转录病毒载体携带的编码本发明的PRAME TCR的核酸可通过感染和前病毒整合而转导到细胞中。

[0159] 如本文所用,术语“经基因工程化的”或“经基因修饰的”是指将额外的遗传物质以DNA或RNA形式添加到细胞中的总遗传物质中。术语“经基因修饰的细胞”、“经修饰的细胞”和“重定向细胞”可互换使用。

[0160] 具体地,本发明的TCR被引入到免疫效应细胞中并表达,以便将它们的特异性重定向到目标靶抗原,例如HLA-A2展示的PRAME肽,例如PRAME的氨基酸残基312-320或425-433。

[0161] 本发明提供了制备表达本文所述的TCR的免疫效应细胞的方法。在一些实施例中,该方法包含转染或转导免疫效应细胞,例如分离自受试者(如患有PRAME相关的疾病或病症的受试者)的免疫效应细胞,使得免疫效应细胞表达本文所述的一种或多种TCR。在某些实施例中,免疫效应细胞从个体分离并经基因修饰而无需在体外进一步操纵。然后,可以将此类细胞直接再次施用到个体。在进一步的实施例中,免疫效应细胞在经基因修饰以表达TCR之前首先在体外被活化和刺激以增殖。在这方面,免疫效应细胞可以在经基因修饰(即转导或转染以表达本文所述的TCR)之前或之后培养。

[0162] 在本文所述的免疫效应细胞的体外操纵或基因修饰之前,可从受试者获得细胞来

源。具体地,与本文所述的TCR一起使用的免疫效应细胞包含T细胞。

[0163] T细胞可以从许多来源获得,包括外周血单核细胞、骨髓、淋巴结组织、脐带血、胸腺组织、来自感染部位的组织、腹水、胸腔积液、脾组织和肿瘤。在某些实施例中,可以使用本领域技术人员已知的任何数量的技术,如FICOLL分离,从收集自受试者的单位血液中获得T细胞。在一些实施例中,通过单采血液成分术获得来自个体的循环血液的细胞。单采血液成分术产品通常含有淋巴细胞,包括T细胞、单核细胞、粒细胞、B细胞、其它有核白细胞、红细胞和血小板。在一些实施例中,可以洗涤通过单采血液成分术收集的细胞以除去血浆部分并将细胞置于合适的缓冲液或介质中用于后续处理。在本发明的一些实施例中,用PBS洗涤细胞。在替代性实施例中,洗涤溶液缺乏钙,并且可能缺乏镁,或者可能缺乏许多(如果不是全部的话)二价阳离子。如本领域普通技术人员应了解的,洗涤步骤可以通过本领域技术人员已知的方法完成,如通过使用半自动流通离心机。洗涤后,可将细胞重悬于各种生物相容性缓冲液或其它含或不含缓冲液的盐水溶液中。在某些实施例中,可以在细胞直接重悬的培养基中除去不期望的单采血液成分术样品的组分。

[0164] 在某些实施例中,通过裂解红细胞并且消耗单核细胞,例如通过用PERCOLL™梯度离心,从外周血单核细胞(PBMC)中分离T细胞。可以通过阳性选择技术或阴性选择技术进一步分离特定的T细胞亚群,如CD28<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD45RA<sup>+</sup>和CD45RO<sup>+</sup>T细胞。例如,可以通过针对阴性选择的细胞特有的表面标志物的抗体的组合来完成通过阴性选择来富集T细胞群。本文使用的一种方法是通过使用单克隆抗体的混合物的负磁性免疫粘附或流式细胞术进行细胞分选和/或细胞选择,单克隆抗体针对存在于阴性选择的细胞上的细胞表面标志物。例如,为了通过阴性选择来富集CD4<sup>+</sup>细胞,单克隆抗体混合物通常包括针对CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR和CD8的抗体。流式细胞术和细胞分选也可用于分离用于本发明的目标细胞群。

[0165] 使用本文所述的方法,PBMC可以直接用于用TCR进行基因修饰。在某些实施例中,在分离PBMC之后,进一步分离T淋巴细胞,并且在某些实施例中,可以在基因修饰和/或扩增之前或之后将细胞毒性T淋巴细胞和辅助性T淋巴细胞分类为原初、记忆和效应T细胞亚群。

[0166] 可以在分离之后使用已知方法对如T细胞的免疫效应细胞进行基因修饰,或者可以在进行基因修饰之前对免疫效应细胞进行体外活化和扩增(或在祖细胞的情况下分化)。在一些实施例中,用本文所述的嵌合抗原受体对如T细胞的免疫效应细胞进行基因修饰(例如,用包含编码TCR的核酸的病毒载体进行转导)并且然后在体外活化和扩增。用于活化和扩增T细胞的方法在本领域中是已知的并且描述于例如美国专利第6,905,874号;美国专利第6,867,041号;美国专利第6,797,514号;WO2012079000,US 2016/0175358。

[0167] 本发明提供了用于治疗PRAME相关的疾病或病症(例如癌症)经修饰的免疫效应细胞群,经修饰的免疫效应细胞包含本文公开的PRAME TCR。

[0168] 如本文所述制备的TCR表达性免疫效应细胞可用于根据已知技术的过继性免疫疗法的方法和组合物,或其基于本公开对本领域技术人员显而易见的变化形式。参见例如,Gruenberg等人的美国专利申请公开第2003/0170238号;还参见Rosenberg的美国专利第4,690,915号。

[0169] III. 药物组合物

[0170] 本发明提供了包含本发明的PRAME TCR的治疗组合物或包含本发明的PRAME TCR

的免疫效应细胞。根据本发明的治疗组合物可以与合适的载体、赋形剂和其它试剂一起施用,载体、赋形剂和其它试剂掺入制剂中以提供改善的转移、递送、耐受性等。许多合适的制剂可以在所有药物化学家已知的配方中找到:《雷明顿制药科学(Remington's Pharmaceutical Sciences)》,麦克出版公司,宾夕法尼亚州伊斯顿。这些制剂包括例如粉剂、糊剂、软膏剂、胶冻剂、蜡、油、脂质、含有脂质(阳离子或阴离子)的囊泡(如LIPOFECTIN™)、DNA缀合物、无水吸收糊剂、水包油和油包水乳液、乳液碳蜡(各种分子量的聚乙二醇)、半固体凝胶和含有碳蜡的半固体混合物。还参见Powell等人“用于非肠道制剂的赋形剂纲要(Compendium of excipients for parenteral formulations)”PDA(1998)《医药科技杂志(J Pharm Sci Technol)》52:238-311。

[0171] 根据病状的严重程度,可以调节治疗的频率和持续时间。

[0172] 在某些实施例中,初始剂量之后可以施用第二或多个后续剂量的本发明的PRAME TCR或包含本发明的PRAME TCR的免疫效应细胞,PRAME TCR的量可以与初始剂量大致相同或小于初始剂量。

[0173] 在某些情况下,药物组合物可以在控释系统中递送。在一些实施例中,可以使用泵。

[0174] 可注射的制剂可包括用于静脉内、皮下、皮内、颅内、腹膜内和肌肉注射、滴注等的剂型。本文所述的TCR、药物组合物和细胞可通过肠胃外施用。本公开的制剂可以通过公知的方法制备。例如,可以通过将上述抗原结合蛋白或其盐溶解、悬浮或乳化在常规用于注射的无菌水性介质或油性介质中来制备制剂。作为用于注射的水性介质,存在例如生理盐水,含有葡萄糖和其它助剂等的等渗溶液,其可以与适当的增溶剂组合使用,如醇(例如乙醇)、多元醇(例如丙二醇、聚乙二醇)、非离子表面活性剂[例如聚山梨醇酯80、HCO-50(氢化蓖麻油的聚氧乙烯(50mol)加合物)]等。作为油性介质,使用例如芝麻油、大豆油等,其可以与增溶剂组合使用,如苯甲酸苄酯、苄醇等。如此制备的注射剂优选地填充在合适的安瓿中。

[0175] 在一些实施例中,TCR表达性免疫效应细胞是这样配制的,首先从其培养基中收获它们,并且然后在适于以治疗有效量施用的介质和容器系统(“药学上可接受的”载体)中洗涤和浓缩细胞。合适的输注介质可以是任何等渗介质制剂,通常是生理盐水, Normosol R(雅培公司(Abbott))或血浆-裂解物A(百特公司(Baxter)),但也可以使用在水中或林格氏乳酸中的5%葡萄糖。输注介质可以用人血清白蛋白补充。

[0176] 组合物中治疗有效的细胞数通常大于 $10^2$ 个细胞,且最多 $10^6$ 个,最多且包括 $10^8$ 或 $10^9$ 个细胞,并且可以多于 $10^{10}$ 个细胞。细胞的数量将取决于组合物的期望最终用途,其中包括的细胞的类型也是如此。

[0177] 细胞对于经历治疗的患者可以是自体的或异源的。如果需要,治疗还可包括施用如本文所述的促分裂原(例如PHA)或淋巴因子、细胞因子和/或趋化因子(例如IFN- $\gamma$ 、IL-2、IL-12、TNF- $\alpha$ 、IL-18、and TNF- $\beta$ 、GM-CSF、IL-4、IL-13、Flt3-L、RANTES、MIP1 $\alpha$ 等)以增强免疫应答的诱导。

[0178] 本发明的TCR表达性免疫效应细胞群可单独施用,或者作为药物组合物与稀释剂和/或与其它组分(如IL-2或其它细胞因子或者细胞群)组合施用。简言之,本发明的药物组合物可包含TCR表达性免疫效应细胞群,如本文所述的T细胞,以及一种或多种药学上或生理学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。此类组合物可以包含缓冲液,如中性缓冲盐水、磷

酸盐缓冲盐水等；碳水化合物，如葡萄糖、甘露糖、蔗糖或葡聚糖、甘露醇；蛋白；多肽或氨基酸，如甘氨酸；抗氧化剂；螯合剂，如EDTA或谷胱甘肽；佐剂（例如氢氧化铝）；和防腐剂。本发明的组合物优选地配制用于静脉内施用。

[0179] IV. PRAME TCR或包含PRAME TCR的免疫效应细胞的治疗用途

[0180] 通过使用本文所述的方法或本领域已知的其它方法施用本文所述的TCR表达性T细胞在受试者中诱导的抗肿瘤免疫应答可包括由能够杀死感染细胞的细胞毒性T细胞介导的细胞免疫应答、调节性T细胞和辅助性T细胞应答。也可以诱导主要由能够活化B细胞从而导致抗体产生的辅助性T细胞介导的体液免疫应答。可以使用在本领域中详细描述的技术来分析由本发明的组合物诱导的免疫应答的类型；例如，《当代免疫学手册 (Current Protocols in Immunology)》，由：纽约州纽约市约翰威立父子公司的John E.Coligan、Ada M.Kruisbeek、David H.Margulies、Ethan M.Shevach、Warren Strober (2001) 编辑。

[0181] 因此，本发明的PRAME TCR尤其可用于治疗、预防和/或改善与PRAME相关或由PRAME介导的任何疾病或病症。例如，本发明提供了通过向需要此类治疗的患者施用如本文所述的PRAME TCR (或包含PRAME TCR的药物组合物或者包含PRAME TCR的多种细胞) 来治疗PRAME相关的疾病或病症，如PRAME相关的癌症 (例如，PRAME阳性癌症) (肿瘤生长抑制) 的方法，以及用于治疗PRAME相关的癌症的PRAME TCR (或包含PRAME TCR的药物组合物)。本发明的抗原结合蛋白可用于治疗、预防和/或改善疾病或病症或病状，如PRAME相关的癌症和/或用于改善与此类疾病、病症或病状相关的至少一种症状。在本文所述的治疗的方法的上下文中，PRAME TCR (或药物组合物或者多种细胞) 可以作为单一疗法施用 (即，作为唯一的治疗剂) 或者与一种或多种另外的治疗剂 (其实例在本文别处描述) 组合施用。

[0182] 因此，本发明提供了治疗经诊断患有或疑似患有PRAME相关的疾病或病症 (例如PRAME相关的癌症) 或具有发展PRAME相关的疾病或病症风险的个体的方法，其包含向个体施用治疗有效量的如本文所述的TCR表达性免疫效应细胞。

[0183] 在一些实施例中，本发明提供了治疗诊断为PRAME阳性癌症的受试者的方法，其包含从诊断为PRAME阳性癌症的受试者中除去免疫效应细胞，用包含编码本发明TCR的核酸的载体对所述免疫效应细胞进行基因修饰，从而产生经修饰的免疫效应细胞群，并将经修饰的免疫效应细胞群施用至相同的受试者。在一些实施例中，免疫效应细胞包含T细胞。

[0184] 用于施用本文所述的细胞组合物的方法包括任何有效导致重新引入直接表达受试者中的本发明的TCR的经离体基因修饰的免疫效应细胞或重新引入免疫效应细胞的经基因修饰的祖细胞的方法，免疫效应细胞在引入到受试者中时分化为表达TCR的成熟免疫效应细胞。一种方法包含用根据本发明的核酸构建体离体转导外周血T细胞，并且将转导的细胞返回到受试者中。

[0185] 在本发明的一些实施例中，本文所述的组合物可用于治疗患有原发性或复发性癌症的受试者，癌症包括但不限于PRAME相关的癌症，例如PRAME相关的癌症为脂肪肉瘤、成神经细胞瘤、骨髓瘤、黑素瘤、转移性黑素瘤、滑膜肉瘤、膀胱癌、食管癌、食管鳞状细胞癌、肝细胞癌、头颈癌、非小细胞肺癌、卵巢癌、卵巢上皮癌、前列腺癌、乳腺癌、星形细胞瘤、多形性成胶质细胞瘤、间变性星形细胞瘤、脑肿瘤、输卵管癌、原发性腹膜腔癌、晚期实体瘤、软组织肉瘤、肉瘤、骨髓增生异常综合征、急性髓性白血病、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金病、多发性骨髓瘤、转移性实体瘤、结肠直肠癌、胃肿瘤、胃癌、横纹肌肉瘤、粘液样圆

细胞脂肪肉瘤或复发性非小细胞肺癌。在一些实施例中,PRAME相关的癌症是卵巢癌、黑色素瘤、非小细胞肺癌、肝细胞癌、结肠直肠癌、食管鳞状细胞癌、食管腺癌、胃肿瘤、膀胱癌、头颈癌、胃癌、滑膜肉瘤、子宫体子宫内膜癌、子宫癌肉瘤、睾丸生殖细胞肿瘤、葡萄膜黑色素瘤、肾乳头状细胞癌、肾透明细胞癌、胸腺瘤、结肠腺癌、宫颈鳞状细胞癌、宫颈肿瘤、胰腺癌、肝癌、肝细胞癌、间皮瘤,或粘液样圆细胞脂肪肉瘤。

[0186] TCR可用于治疗PRAME相关的癌症的早期或晚期症状。在一些实施例中,本发明的TCR可用于治疗晚期或转移性癌症。TCR可用于减少或抑制或者缩小肿瘤生长。在某些实施例中,使用本发明的TCR的治疗导致受试者中的肿瘤的超过40%消退、超过50%消退、超过60%消退、超过70%消退、超过80%消退或超过90%消退。在某些实施例中,TCR可用于预防肿瘤复发。在某些实施例中,TCR可用于延长患有PRAME相关的癌症的受试者的无进展生存期或总生存期。在一些实施例中,TCR可用于降低化疗或放疗引起的毒性,同时维持患有PRAME相关的癌症的患者的长期生存期。

[0187] 可施用一或多种本发明的TCR以减轻或预防或降低疾病或病症的一或多种症状或病状的严重程度。

[0188] 经考虑,本文将本发明的一种或多种TCR预防性地用于有发展疾病或病症风险的患者,如PRAME相关的疾病或病症,如PRAME相关的癌症。

[0189] 在本发明的进一步实施例中,本发明的TCR用于制备治疗患有PRAME相关的疾病或病症(如PRAME相关的癌症)的患者的药物组合物。在本发明的一些实施例中,本发明的TCR可用作与任何其它药剂或本领域技术人员已知的用于治疗PRAME相关的癌症的任何其它疗法的辅助疗法。

[0190] 组合疗法可包括本发明的PRAME TCR,如包含本发明的TCR的免疫效应细胞,或者本发明的药物组合物,以及可有利地与本发明的TCR组合的任何另外的治疗剂。本发明的TCR可以与用于治疗或抑制PRAME相关的疾病或病症的一种或多种抗癌药物或疗法协同组合,如PRAME阳性癌症,例如脂肪肉瘤、成神经细胞瘤、骨髓瘤、黑色素瘤、转移性黑色素瘤、滑膜肉瘤、膀胱癌、食管癌、食管鳞状细胞癌、肝细胞癌、头颈癌、非小细胞肺癌、卵巢癌、卵巢上皮癌、前列腺癌、乳腺癌、星形细胞肿瘤、多形性成胶质细胞瘤、间变性星形细胞瘤、脑肿瘤、输卵管癌、原发性腹膜腔癌、晚期实体瘤、软组织肉瘤、肉瘤、骨髓增生异常综合征、急性髓性白血病、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金病、多发性骨髓瘤、转移性实体瘤、结肠直肠癌、胃肿瘤、胃癌、横纹肌肉瘤、粘液样圆细胞脂肪肉瘤、子宫体子宫内膜癌、子宫癌肉瘤、睾丸生殖细胞肿瘤、葡萄膜黑色素瘤、肾乳头状细胞癌、肾透明细胞癌、胸腺瘤、结肠腺癌、宫颈鳞状细胞癌、宫颈肿瘤、胰腺癌、肝癌、肝细胞癌、间皮瘤,或复发性非小细胞肺癌。

[0191] 经考虑,本文将本发明的TCR与免疫刺激和/或免疫支持疗法组合使用以抑制肿瘤生长和/或增加癌症患者的生存期。免疫刺激疗法包括直接免疫刺激疗法以通过在抑制的免疫细胞上“释放制动”或“踩下气体”以活化免疫应答来增强免疫细胞活性。实例包括靶向其它检查点受体、疫苗接种和佐剂。免疫支持形式可以通过促进免疫原性细胞死亡、炎症或具有促进抗肿瘤免疫应答的其它间接作用来增加肿瘤的抗原性。实例包括放疗、化疗、抗血管生成剂和手术。

[0192] 在各种实施例中,本发明的一种或多种TCR可与PD-1抑制剂(例如,抗PD-1抗体,如纳武单抗、派姆单抗、匹地利珠单抗、BGB-A317或REGN2810)、PD-L1抑制剂(例如,抗PD-L1抗

体,如阿维单抗、阿替利珠单抗、杜瓦鲁单抗、MDX-1105或REGN3504)、CTLA-4抑制剂(例如,伊匹单抗)、TIM3抑制剂、BTLA抑制剂、TIGIT抑制剂、CD47抑制剂、GITR抑制剂、另一种T细胞共抑制剂或配体的拮抗剂(例如,针对CD-28、2B4、LY108、LAIR1、ICOS、CD160或VISTA的抗体)、吡咯胺-2,3-双加氧酶(IDO)抑制剂、血管内皮生长因子(VEGF)拮抗剂[例如“VEGF-Trap”,如阿柏西普或如US 7,087,411中所述的其它VEGF抑制性融合蛋白,或者抗VEGF抗体或其抗原结合片段(例如,贝伐单抗或兰尼单抗)或者VEGF受体的小分子激酶抑制剂(例如,舒尼替尼、索拉非尼或帕唑帕尼) ]、Ang2抑制剂(例如,奈伐苏单抗)、转化生长因子 $\beta$ (TGF $\beta$ )抑制剂、表皮生长因子受体(EGFR)抑制剂(例如,厄洛替尼、西妥昔单抗)、NY-ESO-1抑制剂(例如,抗NY-ESO-1抗体)、CD20抑制剂(例如抗CD20抗体,如利妥昔单抗)、针对肿瘤特异性抗原[例如CA9、CA125、黑素瘤相关的抗原3(MAGE3)、癌胚抗原(CEA)、波形蛋白、肿瘤-M2-PK、前列腺特异性抗原(PSA)、粘蛋白-1、MART-1和CA19-9]的抗体、疫苗(例如卡介苗、癌症疫苗)、增加抗原呈递的佐剂(例如粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子)、共刺激剂、双特异性抗体(例如,CD3 $\times$ CD20双特异性抗体、PSMA $\times$ CD3双特异性抗体或充当共刺激剂的双特异性抗体,如结合肿瘤抗原并具有共刺激活性的双特异性抗体)、细胞毒素、化疗剂(例如,达卡巴嗪、替莫唑胺、环磷酰胺、多西他赛、多柔比星、柔红霉素、顺铂、卡铂、吉西他滨、甲氨蝶呤、米托蒽醌、奥沙利铂、紫杉醇和长春新碱)、环磷酰胺、放疗、手术、IL-6R抑制剂(例如,sarilumab)、IL-4R抑制剂(例如,dupilumab)、IL-10抑制剂、细胞因子(如IL-2、IL-7、IL-21,和IL-15)、抗体-药物缀合物(ADC)(例如,抗CD19-DM4 ADC和抗DS6-DM4 ADC)、抗炎药物(例如,皮质类固醇和非甾体抗炎药物)、饮食补充剂,如抗氧化剂或任何其它治疗癌症的治疗护理。在某些实施例中,本发明的TCR可与癌症疫苗组合使用以增强抗肿瘤反应,癌症疫苗包括树突状细胞疫苗、溶瘤病毒、肿瘤细胞疫苗等。

[0193] 可与本发明的TCR组合使用的癌症疫苗的实例包括用于黑素瘤和膀胱癌的MAGE3疫苗、用于乳腺癌的MUC1疫苗、用于脑癌(包括多形性成胶质细胞瘤)的EGFRv3(例如,Rindopepimut)、ALVAC-CEA(用于CEA+癌症)和NY-ESO-1疫苗(例如,用于黑素瘤)。

[0194] 在某些实施例中,本发明的PRAME TCR可在生成长期持久的抗肿瘤反应和/或提高癌症患者生存期的方法中与放射治疗组合施用。在一些实施例中,本发明的PRAME TCR可以在对癌症患者进行放射治疗之前、同时或之后施用。例如,放射治疗可以以一个或多个剂量施用于肿瘤病变,然后施用一个或多个剂量的本发明的PRAME TCR。在一些实施例中,放射治疗可局部施用于肿瘤病变以增强患者肿瘤的局部免疫原性(辅助放射)和/或杀死肿瘤细胞(消融性放射),然后全身施用本发明的PRAME TCR。

[0195] 另外的治疗活性剂/组分可以在施用本发明的PRAME TCR之前、同时或之后施用。出于本公开的目的,此类施用方案被认为是PRAME TCR与第二治疗活性组分“组合”施用。

[0196] 另外的治疗活性组分可以在施用本发明的PRAME TCR之前施用至受试者。在其它实施例中,在施用本发明的PRAME TCR之后,可将另外的治疗活性组分施用至受试者。在又其它实施例中,将另外的治疗活性组分施用至受试者与施用本发明的PRAME TCR可以同时进行。就本发明的目的而言,“同时”施用包括例如将PRAME TCR和另外的治疗活性组分以单一剂量形式(例如共同配制的)或以分开的剂量形式彼此在约30分钟或更短时间内施用至受试者。如果以分开的剂量形式施用,则每种剂量形式可以通过相同的途径施用;或者,每种剂量形式可通过不同途径施用。在任何情况下,出于本公开的目的,通过相同途径以单一

剂量形式,以分开的剂量形式或者通过不同途径以分开的剂量形式施用组分部被认为是“同时施用”。出于本公开的目的,施用另外的治疗活性组分“之前”、“同时”或“之后”(如上文定义的那些术语)的PRAME TCR的施用被认为是PRAME TCR与另外的治疗活性组分“组合”施用。

[0197] 通过以下实例进一步说明本发明,这些实例不以任何方式限制本发明。在本申请中引用的所有参考文献、专利和公开的专利申请的全部内容在此以引用的方式并入本文。

[0198] 实例

[0199] 实例1.PRAME特异性T细胞受体的鉴定

[0200] 用由人HLA-A2特异性呈递,在PBS中稀释并与佐剂混合(例如与弗氏完全佐剂(CFA;Chondrex公司)相等体积)的PRAME(312-320)肽(RLDQLLRHV);SEQ ID NO:929)或PRAME(425-433)肽(SLLQHLIGL);SEQ ID NO:930)使细胞免疫系统组分人源化的小鼠、VelociT小鼠(参见例如,PCT公开案第WO 2016/164492号,其全部内容以引用的方式并入本文)免疫。分别从用萎凋肽免疫的小鼠获得脾悬浮液并分离。红细胞在ACK裂解缓冲液(美国生命技术公司(Life Technologies))中裂解,并且脾细胞悬浮在RPMI完全介质中。分选分离的脾细胞,通过荧光活化细胞分选(FACS)分离在MHC背景下结合用于免疫的PRAME肽(PRAME(312-320)或PRAME(425-433))的单个T细胞。将分离的T细胞单孔铺板并与TCR $\alpha$ 和 $\beta$ 可变区特异性PCR引物混合。通过逆转录酶(RT)反应合成每个单一T细胞的cDNA。然后将每个所得的RT产物分离并转移到两个对应的孔中用于后续TCR $\beta$ 和 $\alpha$ PCR。首先使用对TCR $\beta$ 可变区前导序列具特异性的5'简并引物或对TCR $\alpha$ 链可变区前导序列具特异性的5'简并引物和对TCR恒定区具特异性的3'引物通过PCR扩增一组所得的RT产物,以形成扩增子。然后使用对TCR $\beta$ 可变区框架1具特异性的5'简并引物或对TCR $\alpha$ 链可变区框架1具特异性的5'简并引物和对TCR恒定区具特异性的3'引物通过PCR再次扩增扩增子,以生成用于克隆的扩增子。将TCR $\beta$ 和 $\alpha$ 衍生的PCR产物分别克隆到含有 $\beta$ 恒定区和 $\alpha$ 恒定区的表达载体中。将表达全长 $\beta$ 和 $\alpha$ 链对的表达载体转染到CHO细胞中并测试与商用PRAME/HLA四聚体试剂的结合。CHO细胞与可溶性HLA-A2:PRAME(312-320)或HLA-A2:PRAME(425-433)(MBL国际公司(MBL International),马萨诸塞州沃本)四聚体以及对小鼠TCR恒定区具特异性的抗体(克隆H57-597)(Biolegend公司,加利福尼亚州圣迭戈)一起温育。然后在LSRFortessa X-20(BD生物科学公司(BD Biosciences),加利福尼亚州圣何塞)上分析样品。为了计算四聚体阳性细胞的百分比,使用FlowJo(LLC公司,俄勒冈州阿什兰)基于不与HLA-A2:PRAME(312-320)或HLA-A2:PRAME(425-433)(MBL国际公司,马萨诸塞州沃本)四聚体结合的阴性对照TCR设定抗原阳性(Ag+)门。所有Ag+TCR具有Ag+门中FlowJo标准 $\geq \pm 1\%$ 的细胞,平均荧光强度(MFI)为 $\geq \pm 1000$ 。通过下一代测序确定Ag+TCR。用PRAME(312-320)鉴定并表达相同TCR $\alpha$ 和 $\beta$ 核苷酸序列的TCR的总数如下表1所示。细胞频率或Ag+门中四聚体阳性细胞%代表表1第一栏中所示的TCR。用PRAME(425-433)鉴定并表达相同TCR $\alpha$ 和 $\beta$ 核苷酸序列的TCR的总数如下表2所示。细胞频率或Ag+门中四聚体阳性细胞%代表表2第一栏中所示的TCR。

[0201] 用如上所述的PRAME(312-320)鉴定的TCR的 $\beta$ 链可变结构域CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列以及 $\alpha$ 链可变结构域CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的详细列表提供于表3中。用如上所述的PRAME(312-320)鉴定的TCR的 $\beta$ 链可变结构域CDR1、CDR2和CDR3多核苷酸序列以及 $\alpha$ 链可变结构域CDR1、CDR2和CDR3多核苷酸序列的详细列表提供于表4中。表5提供了用PRAME

(312-320) 鉴定的TCR的β链可变区和α链可变区的氨基酸序列和核苷酸序列。

[0202] 用如上所述的PRAME (425-433) 鉴定的TCR的β链可变结构域CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列以及α链可变结构域CDR1、CDR2和CDR3氨基酸序列的详细列表提供于表6中。用如上所述的PRAME (425-433) 鉴定的TCR的β链可变结构域CDR1、CDR2和CDR3多核酸序列以及α链可变结构域CDR1、CDR2和CDR3多核酸序列的详细列表提供于表7中。表8提供了用PRAME (425-433) 鉴定的TCR的β链可变区和α链可变区的氨基酸序列和核苷酸序列。

[0203] 表9提供了用PRAME (312-320) 鉴定的分离的TCR的α和β可变区和连接区的TCR基因家族,并且表11提供了用PRAME (312-320) 鉴定的TCR的α和β可变链和CDR的氨基酸序列标识符和多核酸序列标识符。

[0204] 表10提供了用PRAME (425-433) 鉴定的分离的TCR的α和β可变区和连接区的TCR基因家族,并且表12提供了用PRAME (425-433) 鉴定的TCR的α和β可变链和CDR的氨基酸序列标识符和多核酸序列标识符。

[0205] 表1

[0206]

TCR ID	Ag+ TCR 总数	细胞频率 ≥1000 MFI, ≥1%
PN46909	21	52.60
PN46889	21	92.50
PN46733	2	87.90
PN46723	52	72.50
PN46714	1	62.10
PN46735	1	17.90
PN46678	1	11.00
PN46884	3	59.00

[0207]

PN46914	1	11.50
PN46883	13	64.70
PN46857	1	53.90
PN46880	5	31.90
PN46871	2	44.70
PN46853	2	35.40
PN46731	1	15.70
PN46777	99	98.90
PN46797	1	57.30
PN46738	1	23.00

[0208] 表2.

TCR ID	Ag+ TCR 总数	细胞频率 ≥1000 MFI, ≥1%
PN42365	96	95.80
PN42879	1	93.10
PN42774	3	91.60
PN42498	30	90.30
PN42558	1	85.70
PN42386	1	82.20
PN42378	2	77.50
PN42776	1	60.20
PN42455	1	53.00
PN42840	21	52.50
PN42795	14	49.40
PN42870	8	7.27
PN42689	21	4.92
PN42888	22	87.40
PN42450	4	62.20
PN42750	2	40.80
PN42562	5	92.00
PN42483	29	86.40
PN42712	11	80.70
PN42561	150	80.20
PN42442	3	61.30
PN42476	1	54.20
PN42496	1	45.00
PN42655	7	27.00
PN42677	1	25.30
PN42706	1	24.70
PN42654	1	20.10
PN42441	1	15.50
PN42683	2	11.10
PN42845	1	10.50
PN42826	1	9.26
PN42707	10	7.28
PN42833	2	6.86
PN42762	12	4.95
PN42780	1	4.89
PN42746	1	4.39
PN42815	30	4.35
PN42711	1	4.26
PN42895	3	4.09
PN42610	1	6.08

[0209] [0210] [0211] 表3.对PRAME (312-320) /HLA-A2具特异性的VelociT TCR的氨基酸CDR序列

[0212]

TCR ID	V $\alpha$ CDR1	SEQ ID NO:	V $\alpha$ CDR2	SEQ ID NO:	V $\alpha$ CDR3	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR1	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR2	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR3	SEQ ID NO:
PN46678	TRDITYY	1	RNSFDEQN	2	ALSEFDRGSTLGRLY	3	SGHKS	4	YYEKEE	5	ASSRDINEKLF	6
PN46714	VSGLRG	7	LYSAGEE	8	AVQADGGSQGNLI	9	SGHKS	10	YYEKEE	11	ASSLDINSPLH	12
PN46723	VSGLRG	13	LYSAGEE	14	AVQEDGGSQGNLI	15	SGHKS	16	YYEKEE	17	ASSRDINEKLF	18
PN46731	DSASNY	19	IRSNVGE	20	AAWNYGQNFV	21	PRHDT	22	FYEKMQ	23	ASSLEGSEAF	24
PN46733	NSASDY	25	IRSNMDK	26	AENNYGQNFV	27	MNHNS	28	SASEGT	29	ASSDWGQGVVEAF	30
PN46735	TISGTDY	31	GLTSN	32	ILREYMYSGGGADGLT	33	SGHKS	34	YYEKEE	35	ASSFQAGVNYGYT	36
PN46738	TSENNYY	37	QEAYKQQN	38	AFGMYSGGGADGLT	39	WSHSY	40	SAAADI	41	ASSDGTGYGYT	42
PN46777	TSENNYY	43	QEAYKQQN	44	ALMEYGNKLV	45	WSHSY	46	SAAADI	47	ASSDGTGYGYT	48
PN46797	TSENNYY	49	QEAYKQQN	50	ALMEYENKLV	51	WSHSY	52	SAAADI	53	ASSDGTGYGYT	54
PN46853	SSNFYA	55	MTLNGDE	56	ACGGSGNTGKLI	57	PRHDT	58	FYEKMQ	59	ASSSQGPQH	60
PN46857	TRDITYY	61	RNSFDEQN	62	ALSEGYGNKLV	63	KGSH	64	LQKENI	65	ASSHRDDTEAF	66
PN46871	DSAIYN	67	IQSSQRE	68	AVEGTTDSWGKFK	69	PRHDT	70	FYEKMQ	71	ASSSQGPQH	72
PN46880	YSGSPE	73	HISR	74	ALSGASGGSYIPT	75	KGSH	76	LQKENI	77	ASSHRDDTEAF	78
PN46883	TRDITYY	79	RNSFDEQN	80	ALSVSSYNTDKLI	81	KGSH	82	LQKENI	83	ASSHRDDTEAF	84
PN46884	TRDITYY	85	RNSFDEQN	86	ALSEGYNTDKLI	87	MDHEN	88	SYDVKM	89	ASSLGGANTY	90
PN46889	DRGSQS	91	IYSNGD	92	AVNIPNSGYSTLT	93	MNHEY	94	SVGEGT	95	ASSYWEGTEAF	96
PN46909	TSENNYY	97	QEAYKQQN	98	AFDYGQNFV	99	MNHNY	100	SVGAGI	101	ASSYGGQTEAF	102
PN46914	TRDITYY	103	RNSFDEQN	104	ALSEGYNQGGKLI	105	MDHEN	106	SYDVKM	107	ASGADSNQPQH	108

[0213]

表4. 对PRAME (312-320) /HLA-A2具特异性的VelociT TCR的核酸CDR序列

[0214]

TCR ID	V $\alpha$ CDR1	SEQ ID NO:	V $\alpha$ CDR2	SEQ ID NO:	V $\alpha$ CDR3	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR1	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR2	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR3	SEQ ID NO:
PN46678	ACCCGT GATACT ACTTAT TAC	109	CGGAACTC TTTTGATG AGCAAAAT	110	GCTCTGAGTG AGTTTGACAG AGGCTCAACC CTGGGGAGGC TATAC	111	TCTGG GCAC AAGA GT	112	TATTAT GAGAA AGAAG AG	113	GCCAGCAG CCGGGACA TTAATGAA AAACTGTT T	114
PN46714	GTCAGC GGTTTA AGAGG G	115	CTGTATTC AGCTGGGG AAGAA	116	GCTGTGCAGG CCGATGGAGG AAGCCAAGGA AATCTCATC	117	TCTGG GCAC AAGA GT	118	TATTAT GAGAA AGAAG AG	119	GCCAGCAG CTTGGACA TTAATCA CCCCTCCA C	120
PN46723	GTCAGC GGTTTA AGAGG G	121	CTGTATTC AGCTGGGG AAGAA	122	GCTGTGCAGG AGGATGGAGG AAGCCAAGGA AATCTCATC	123	TCTGG GCAC AAGA GT	124	TATTAT GAGAA AGAAG AG	125	GCCAGCAG CCGGGACA TTAATGAA AAACTGTT T	126
PN46731	GACAGT GCCTCA AACTAC	127	ATTCGTTC AAATGTGG GCGAA	128	GCAGCATGGA ACTATGGTCAG AATTTTGTG	129	CCTAG ACAC GACA CT	130	TTTTAT GAAA GATGCA G	131	GCCAGCAG CTTAGAGG GGTCTGAA GCTTTC	132

[0215]

TCR ID	V $\alpha$ CDR1	SEQ ID NO:	V $\alpha$ CDR2	SEQ ID NO:	V $\alpha$ CDR3	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR1	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR2	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR3	SEQ ID NO:
PN46733	AACAGC GCCTCA GACTAC	133	ATTCGTTC AAATATGG ACAAA	134	GCAGAGAATA ACTATGGTCAG AATTTTGTC	135	ATGAA CCATA ACTCC	136	TCAGCT TCTGAG GGTACC	137	GCCAGCAG TGACTGGG GACAGGGG GTTGAAGC TTTC	138
PN46735	ACAATC AGTGGGA ACTGAT TAC	139	GGTCTTAC AAGCAAT	140	ATCCTGAGAG AATACATGTAT TCAGGAGGAG GTGCTGACGG ACTCACC	141	TCTGG GCAC AAGA GT	142	TATTAT GAGAA AGAAG AG	143	GCCAGCAG CTTCCAAG CAGGGGTT AACTATGG CTACACC	144
PN46738	ACCAGT GAGAAT AATTAT TAT	145	CAAGAAGC TTATAAGC AACAGAAT	146	GCTTTCGGTAT GTATTCAGGAG GAGGTGCTGA CGGACTCACC	147	TGGA GCCAC AGCTA T	148	TCAGCA GCTGCT GATATT	149	GCCAGCAG TGATGGGA CAGGGTAC TATGGCTA CACC	150
PN46777	ACCAGT GAGAAT AATTAT TAT	151	CAAGAAGC TTATAAGC AACAGAAT	152	GCCTTATGGA ATATGAAAACA AACTGGTC	153	TGGA GCCAC AGCTA T	154	TCAGCA GCTGCT GATATT	155	GCCAGCAG TGATGGGA CAGGGTAC TATGGCTA CACC	156
PN46797	ACCAGT GAGAAT AATTAT TAT	157	CAAGAAGC TTATAAGC AACAGAAT	158	GCCTTATGGA ATATGAAAACA AACTGGTC	159	TGGA GCCAC AGCTA T	160	TCAGCA GCTGCT GATATT	161	GCCAGCAG TGATGGGA CAGGGTAC TATGGCTA CACC	162
PN46853	TCCAGC AATTTT TATGCC	163	ATGACTTT AAATGGGG AT	164	GCCTGTGGGG GTTCTGGCAAC ACAGGCAAAC TAATC	165	CCTAG ACAC GACA CT	166	TTTTAT GAAAA GATGCA G	167	GCCAGCAG CTCCCAGG GTCAGCCC CAGCAT	168
PN46857	ACCCGT GATACT ACTTAT TAC	169	CGGAACTC TTTTGATG AGCAAAAT	170	GCTCTGAGTG AGGGATATGGA AACAACTGG TC	171	AAAG GACA CAGTC AT	172	CTCCAG AAAGA AAATAT C	173	GCCAGCTC ACACAGGG ACGACACT GAAGCTTT C	174
PN46871	GATAGC GCTATT TACAAC	175	ATTCAGTC AAGTCAGA GAGAG	176	GCTGTGGAGG GGACAATGA CAGCTGGGGG AAATTCCAG	177	CCTAG ACAC GACA CT	178	TTTTAT GAAAA GATGCA G	179	GCCAGCAG CTCCCAGG GTCAGCCC CAGCAT	180
PN46880	TATTCT GGGAGT CCTGAA	181	CACATCTC TAGA	182	GCTCTAAGTGG GGCATCAGGA GGAAGCTACAT ACCTACA	183	AAAG GACA CAGTC AT	184	CTCCAG AAAGA AAATAT C	185	GCCAGCTC ACACAGGG ACGACACT GAAGCTTT C	186
PN46883	ACCCGT GATACT ACTTAT TAC	187	CGGAACTC TTTTGATG AGCAAAAT	188	GCTCTGAGTGT ATCATCTTATA ACACCGACAA GCTCATC	189	AAAG GACA CAGTC AT	190	CTCCAG AAAGA AAATAT C	191	GCCAGCTC ACACAGGG ATGACACT GAAGCTTT C	192
PN46884	ACCCGT GATACT ACTTAT TAC	193	CGGAACTC TTTTGATG AGCAAAAT	194	GCTCTGAGTG AGGGGTATAAC ACCGACAAGC TCATC	195	ATGGA CCATG AAAAT	196	TCATAT GATGTT AAAATG	197	GCCAGCAG TTTAGGGG GGGCGAAC ACCATATAT	198
PN46889	GACCGA GGTTCC CAGTCC	199	ATATACTCC AATGGTGA C	200	GCCGTGAACA TTCCGAATTCA GGATACAGCA CCCTCACC	201	ATGAA CCATG AATAC	202	TCAGTT GGTGA GGGTAC A	203	GCCAGCAG TTACTGGG AGGGCACT GAAGCTTT C	204
PN46909	ACCAGT GAGAAT AATTAT TAT	205	CAAGAAGC TTATAAGC AACAGAAT	206	GCTTTCGACTA TGGTCAGAATT TTGTC	207	ATGAA CCATA ACTAC	208	TCAGTT GGTGCT GGTATC	209	GCCAGCAG TTACGGGG GGGGGCAG ACTGAAGC TTTC	210

[0216]

TCR ID	V $\alpha$ CDR1	SEQ ID NO:	V $\alpha$ CDR2	SEQ ID NO:	V $\alpha$ CDR3	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR1	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR2	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR3	SEQ ID NO:
PN46914	ACCCGT GATACT ACTTAT TAC	211	CGGAACTC TTTTGATG AGCAAAAT	212	GCTCTGAGTG AGGGTTATAAC CAGGGAGGAA AGCTTATC	213	ATGGA CCATG AAAAT	214	TCATAT GATGTT AAAATG	215	GCCAGCGG GGCAGATA GCAATCAG CCCCAGCA T	216

[0217] 表5:对PRAME (312-320)/HLA-A2特异性的VeloCiT TCR的氨基酸序列和核酸序

列

[0218]

结构域名称	结构域序列 氨基酸序列 (SEQ ID NO); CDR1、CDR2 和 CDR3 序列用下划线表示 核酸序列 (SEQ ID NO); CDR1、CDR2 和 CDR3 序列用下划线表示
PN46678 V $\alpha$	<p>AQKVTQAQPEISVVEKEDVTLDCVYETRDTTYLFWYKQPPSGELVFLIRR NSFDEQNEISGRYSWNFQKSTSSFNFTITASQVVDSAVYFC<u>ALSEFDRGSTL</u> <u>GRLYFGRGTQLTVWP</u> (SEQ ID NO: 217)</p> <p>GCTCAGAAGGTAAGTCAAGCGCAGCCTGAAATTTCTGTGGTGGAGAAG GAGGATGTGACCTTGGACTGTGTGTATGAA<u>ACCCGTGATACTACTTATTA</u> <u>CTTATTCTGGTACAAGCAACCACCAAGTGGAGAATTGGTTTTCTTATTC</u> <u>GTTCGGA</u>ACTCTTTT<u>GATGAGCAAAATGAAATAAGTGGTCGGTATTCTTG</u> GAACTTCCAGAAATCCACCAGTTCCTTCAACTTCACCATCACAGCCTCA CAAGTCGTGGACTCAGCAGTATACTTCTGT<u>GCTCTGAGTGAGTTTGACA</u> <u>GAGGCTCAACCCTGGGGAGGCTATACTTTGGAAGAGGAACTCAGTTGA</u> CTGTCTGGCCT (SEQ ID NO: 218)</p>
PN46678 V $\beta$	<p>DAGVTQSPHLLIKTRGQQVTLRCSPIS<u>GHKSVSWYQQVLGQGPQFIFQYYE</u> <u>KEERGRGNFPDRFSARQFPNYSELNVNALLGDSALYLCASSRDINEKLF</u> FGSGTQLSVL (SEQ ID NO: 219)</p> <p>GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAACGAGAGGA CAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTATCTCTGGGCACAAGAGTGTGT CCTGGTACCAACAGGTCCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTATCTTTT<u>CAGTAT</u> <u>TATGAGAAAGAAGAGAGAGGAAGAGGAAACTTCCCTGATCGATTCTCA</u> GCTCGCCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGTGAACGCCTTGT GCTGGGGGACTCGGCCCTGTATCTCTGT<u>GCCAGCAGCCGGGACATTAAT</u> <u>GAAAAACTGTTTTTTGGCAGTGGAACCCAGCTCTCTGTCTTG</u> (SEQ ID NO: 220)</p>
PN46714 V $\alpha$	<p>EDQVTQSPEALRLQEGESSLNCSYTVSGLRGLFWYRQDPGKGPEFLFTLY <u>SAGEEKEKERLKATLTKKESFLHITAPKPEDSATYLC</u>AVQADGGSGQGNLIFG KGTKLSVKP (SEQ ID NO: 221)</p> <p>GAAGACCAGGTGACGCAGAGTCCCGAGGCCCTGAGACTCCAGGAGGG AGAGAGTAGCAGTCTCAACTGCAGTTACACAGTCAGCGGTTTAAGAGG <u>GCTGTTCTGGTATAGGCAAGATCCTGGGAAAGGCCCTGAATTCCTCTTC</u> <u>ACCCTGTATT</u>CAGCTGGGGAAGAAAAGGAGAAAGAAAGGCTAAAAGCC ACATTAACAAAGAAGGAAAGCTTTCTGCACATCACAGCCCCTAAACCTG AAGACTCAGCCACTTATCTCTGTGCTGTGCAGGCCGATGGAGGAAGCCA <u>AGGAAATCTCATCTTTGGAAAAGGCACTAAACTCTCTGTAAACCA</u> (SEQ ID NO: 222)</p>

[0219]

<p>PN46714 Vβ</p>	<p>DAGVTQSPH<b>LIKTRGQQVTLRCSPISGHKSVSWYQQVLGQGPFIFQYYE</b> <b>KEERGRGNFPDRFSARQFPNYSSELNVNALLGDSALYLCASSLDINSPLHF</b> GNGTRLTVT (SEQ ID NO: 223)</p> <p>GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAACGAGAGGA CAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTATCTCTGGGCACAAGAGTGTGT CCTGGTACCAACAGGTCTGGGTCTAGGGGCCCCAGTTTATCTTTCAGTAT TATGAGAAAGAAGAGAGAGGAAGAGGAAACTTCCCTGATCGATTCTCA GCTCGCCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGTGAACGCCTTGT GCTGGGGACTCGGCCCTGTATCTCTGTGCCAGCAGCTTGGACATTAATT CACCCCTCCACTTTGGGAACGGGACCAGGCTCACTGTGACA (SEQ ID NO: 224)</p>
<p>PN46723 Vα</p>	<p>EDQVTQSPEALRLQEGESSLNCSYTVSGLRGLFWYRQDPGKGPEFLFTLY SAGEEKEKERLKATLTKKESFLHITAPKPEDSATYLCAVQEDGGSQGNLIFG KGTKLSVKP (SEQ ID NO: 225)</p> <p>GAAGACCAGGTGACGCAGAGTCCCGAGGCCCTGAGACTCCAGGAGGG AGAGAGTAGCAGTCTCAACTGCAGTTACACAGTCAGCGGTTAAGAGG GCTGTTCTGGTATAGGCAAGATCCTGGGAAAGGCCCTGAATTCCTCTTC ACCCTGTATTCAGCTGGGGAAGAAAAGGAGAAAAGAAAGGCTAAAAGCC ACATTAACAAAGAAGGAAAGCTTTCTGCACATCACAGCCCTAAACCTG AAGACTCAGCCACTTATCTCTGTGCTGTGCAGGAGGATGGAGGAAGCCA AGGAAATCTCATCTTTGGAAAAGGCACTAAACTCTCTGTAAACCA (SEQ ID NO: 226)</p>
<p>PN46723 Vβ</p>	<p>DAGVTQSPH<b>LIKTRGQQVTLRCSPISGHKSVSWYQQVLGQGPFIFQYYE</b> <b>KEERGRGNFPDRFSARQFPNYSSELNVNALLGDSALYLCASSRDINEKLF</b> FGSGTQLSVL (SEQ ID NO: 227)</p> <p>GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAACGAGAGGA CAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTATCTCTGGGCACAAGAGTGTGT CCTGGTACCAACAGGTCTGGGTCTAGGGGCCCCAGTTTATCTTTCAGTAT TATGAGAAAGAAGAGAGAGGAAGAGGAAACTTCCCTGATCGATTCTCA GCTCGCCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGTGAACGCCTTGT GCTGGGGACTCGGCCCTGTATCTCTGTGCCAGCAGCCGGGACATTAAT GAAAAACTGTTTTTTGGCAGTGGAACCCAGCTCTCTGTCTTG (SEQ ID NO: 228)</p>
<p>PN46731 Vα</p>	<p>GENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYSDSASNYFPWYKQELGKRPQLIIDIRS NVGEKKDQRIAVTLNKTAKHFSLHITETQPEDSAVYFCAAWNYGQNFVFG PGTRLSVLP (SEQ ID NO: 229)</p> <p>GGAGAGAATGTGGAGCAGCATCCTTCAACCCTGAGTGTCCAGGAGGGA GACAGCGCTGTTATCAAGTGTAATTATTCAGACAGTGCCTCAAACCTACTT CCCTTGGTATAAGCAAGAACTTGGAAAAAGACCTCAGCTTATTATAGAC ATTCGTTCAAATGTGGGCGAAAAGAAAAGACCAACGAATTGCTGTTACAT TGAACAAGACAGCCAAACATTTCTCCCTGCACATCACAGAGACCCAAC CTGAAGACTCGGCTGTCTACTTCTGTGCAGCATGGAACCTATGGTTCAGAA TTTTGCTTTTGGTCCCGGAACCAGATTGTCCGTGCTGCC (SEQ ID NO: 230)</p>
<p>PN46731 Vβ</p>	<p>AAGVIQSPRHLIKEKRETATLKCYPPIRHDTVYWYQQGPGQDPQFLISFYE KMQSDKGSIPDRFSAQQFSDYHSELNMSSLELGDALYFCASSLEGSEAFF</p>

[0220]

	<p>GQGTRLTVV (SEQ ID NO: 231)</p> <p>GCTGCTGGAGTCATCCAGTCCCCAAGACATCTGATCAAAGAAAAGAGG                  GAAACAGCCACTCTGAAATGCTATCCTATCCCTAGACACGACACTGTCTA                  CTGGTACCAGCAGGGTCCAGGTCAGGACCCCCAGTTCCTCATTTCGTTT                  TATGAAAAGATGCAGAGCGATAAAGGAAGCATCCCTGATCGATTCTCAG                  CTCAACAGTTCAGTGAATCATTCTGAACTGAACATGAGCTCCTTGGA                  GCTGGGGGACTCAGCCCTGTACTTCTGTGCCAGCAGCTTAGAGGGGTCT                  GAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO:                  232)</p>
PN46733 V $\alpha$	<p>GESVGLHLPVLSVQEGDNSIINCAYSNSASDYFIWYKQESGKGPQFIIDIRSN                  MDKRQGRVTVLLNKTVKHLSLQIAATQPGDSAVYFCAENNYGQNFVFGP                  GTRLSVLP (SEQ ID NO: 233)</p> <p>GGAGAGAGTGTGGGGCTGCATCTTCCCTACCCTGAGTGTCCAGGAGGGT                  GACAACCTTATTATCAACTGTGCTTATTCAAACAGCGCCTCAGACTACTT                  CATTGGTACAAGCAAGAATCTGGAAAAGGTCTCAATTCATTATAGACA                  TTCGTTCAAATATGGACAAAAGGCCAAGGCCAAAGAGTCACCGTTTTATT                  GAATAAGACAGTGAAACATCTCTCTGCAAATTGCAGCTACTCAACCT                  GGAGACTCAGCTGTCTACTTTTGTGCAGAGAATAACTATGGTCAGAATTT                  TGTCTTTGGTCCCGGAACCAGATTGTCCGTGCTGCC (SEQ ID NO: 234)</p>
PN46733 V $\beta$	<p>NAGVTQTPKFQVLKTKQSMTLQCAQDMNHNSMYWYRQDPGMGLRLIYY                  SASEGTTDKGEVPNGYNVSRNLKREFSLRLESAAPSQTSVYFCASSDWGQ                  GVEAFFGQGTRLTVV (SEQ ID NO: 235)</p> <p>AATGCTGGTGTCACTCAGACCCCAAATTCAGGTCCTGAAGACAGGA                  CAGAGCATGACTGTCAGTGTGCCAGGATATGAACCATAACTCCATGT                  ACTGGTATCGACAAGACCCAGGCATGGGACTGAGGCTGATTTATTACTC                  AGCTTCTGAGGGTACCCTGACAAAGGAGAAGTCCCCAATGGCTACAAT                  GTCTCCAGATTAACAACAGGGAGTTCTCGCTCAGGCTGGAGTCGGCTG                  CTCCCTCCAGACATCTGTGTAATCTGTGCCAGCAGTACTGGGGACA                  GGGGGTTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTA                  (SEQ ID NO: 236)</p>
PN46735 V $\alpha$	<p>DAKTTQPNSMESNEEPPVHLPCNHSTISGTDYIHWYRQLPSQGPEYVIHGL                  TSNVNNRMASLAIAEDRKSSTLILHRATLRDAAVYYCILREYMYSGGGAD                  GLTFGKGTHLIQP (SEQ ID NO: 237)</p> <p>GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTCATGGAGAGTAACGAAGAAGAG                  CCTGTTCCTTGCCTTGTAACCACTCCACAATCAGTGGAACTGATTACAT                  ACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCAGGGTCCAGAGTACGTGATTCATG                  GTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGGCAATCGCTGA                  AGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTGCTACCTTGAGAGAT                  GCTGCTGTGTACTACTGCATCCTGAGAGAATACATGTATTACAGGAGGAG                  GTGCTGACGGACTCACCTTTGGCAAAGGGACTCATCTAATCATCCAGCC                  C (SEQ ID NO: 238)</p>
PN46735 V $\beta$	<p>DAGVTQSPHLLIKTRGQVTLRCSPISGHKSVSWYQQVLGQGPQFIFQYYE                  KEERGRGNFPDRFSARQFPNYSELNVNALLLGDSALYLCASSFQAGVNY                  GYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 239)</p> <p>GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAACGAGAGGA</p>

[0221]

	<p>CAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTATCTCTGGGCACAAGAGTGTGT  CCTGGTACCAACAGGTCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTATCTTTCAGTAT  TATGAGAAAGAAGAGAGAGGAAGAGGAACTTCCCTGATCGATTCTCA  GCTCGCCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGTGAACGCCTTGT  GCTGGGGGACTCGGCCCTGTATCTCTGTGCCAGCAGCTTCCAAGCAGGG  GTAACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTAAACCGTTGTA  (SEQ ID NO: 240)</p>
PN46738 V $\alpha$	<p>AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDTSENNYYLFWYKQPPSRQMILVIR  QEAYKQONATENRFSVNFQKAASKSFLKISDSQLGDTAMYFCAFGMYSGG  GADGLTFGKGTHLIQP (SEQ ID NO: 241)</p> <p>GCCCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGGCA  GAGACTGTGACCCTGAGTTGCACATATGACACCAGTGAGAATAATTATTA  TTTGTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGATTCTCGTTATTC  GCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACGGAGAATCGTTTCTCTGT  GAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTCTCAAGATCTCAGACTCA  CAGCTGGGGGACACTGCGATGTATTTCTGTGCTTTCGGTATGTATTCAGG  AGGAGGTGCTGACGGACTCACCTTTGGCAAAGGGACTCATCTAATCATC  CAGCCC (SEQ ID NO: 242)</p>
PN46738 V $\beta$	<p>DAGITQSPRYKITETGRQVTLMCHQTWSHSYMFWYRQDLGHGLRLIYYS  AADITDKGEVPDGYVVSRSKTENFPLTLESATRSQTSVYFCASSDGTGYG  YTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 243)</p> <p>GATGCTGGAATCACCCAGAGCCCAAGATACAAGATCACAGAGACAGGA  AGGCAGGTGACCTTGATGTGTACCAGACTTGGAGCCACAGCTATATGT  TCTGGTATCGACAAGACCTGGGACATGGGCTGAGGCTGATCTATTACTC  AGCAGCTGCTGATATTACAGATAAAGGAGAAGTCCCCGATGGCTATGTT  GTCTCCAGATCCAAGACAGAGAATTTCCCCCTCACTCTGGAGTCAGCTA  CCCGTCCCAGACATCTGTGTATTTCTGCGCCAGCAGTGATGGGACAGG  GTAATATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTAAACCGTTGTA (SEQ  ID NO: 244)</p>
PN46777 V $\alpha$	<p>AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDTSENNYYLFWYKQPPSRQMILVIR  QEAYKQONATENRFSVNFQKAASKSFLKISDSQLGDTAMYFCALMEYGNK  LVFGAGTILRVKS (SEQ ID NO: 245)</p> <p>GCCCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGGCA  GAGACTGTGACCCTGAGTTGCACATATGACACCAGTGAGAATAATTATTA  TTTGTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGATTCTCGTTATTC  GCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACGGAGAATCGTTTCTCTGT  GAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTCTCAAGATCTCAGACTCA  CAGCTGGGGGACACTGCGATGTATTTCTGTGCCCTTATGGAATATGGAAA  CAAAGTGGTCTTTGGCGCAGGAACCATTCTGAGAGTCAAGTCC (SEQ ID  NO: 246)</p>
PN46777 V $\beta$	<p>DAGITQSPRYKITETGRQVTLMCHQTWSHSYMFWYRQDLGHGLRLIYYS  AADITDKGEVPDGYVVSRSKTENFPLTLESATRSQTSVYFCASSDGTGYG  YTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 247)</p> <p>GATGCTGGAATCACCCAGAGCCCAAGATACAAGATCACAGAGACAGGA  AGGCAGGTGACCTTGATGTGTACCAGACTTGGAGCCACAGCTATATGT  TCTGGTATCGACAAGACCTGGGACATGGGCTGAGGCTGATCTATTACTC</p>

[0222]

	<p><u>AGCAGCTGCTGATATTACAGATAAAGGAGAAGTCCCCGATGGCTATGTTGTCTCCAGATCCAAGACAGAGAATTTCCCCTCACTCTGGAGTCAGCTACCCGCTCCAGACATCTGTGTATTTCTGCGCCAGCAGTGATGGGACAGGGTACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTA</u> (SEQ ID NO: 248)</p>
PN46797 V $\alpha$	<p><u>AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSTYDTSENNYYLFWYKQPPSRQMILVIRQEAYKQQNATENRFSVNFQKAAKSFSCLKISDSQLGDTAMYFCALMEYENKLVFGAGTILRVKS</u> (SEQ ID NO: 249)</p> <p><u>GCCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGGCCAGACTGTGACCCTGAGTTGCACATATGACACCAGTGAGAATAATTATTATTTGTTCTGGTACAAGCAGCCTCCAGCAGGCAGATGATTCTCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACGGAGAATCGTTTCTCTGTGAACCTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTCTCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGACACTGCGATGATTTCTGTGCCCTTATGGAATATGAAAACAAAGTGGTCTTTGGCGCAGGAACCATTCTGAGAGTCAAGTCC</u> (SEQ ID NO: 250)</p>
PN46797 V $\beta$	<p><u>DAGITQSPRYKITETGRQVTLMCHQTWSHSMFWYRQDLGHGLRLIYYSAAADITDKGEVDPGYVVSRSKTENFPLTLESATRSQTSVYFCASSDGTGYGYTYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 251)</p> <p><u>GATGCTGGAATCACCCAGAGCCCAAGATACAAGATCACAGAGACAGGAAGGCAGGTGACCTTGATGTGTACCAGACTTGGAGCCACAGCTATATGTTCTGGTATCGACAAGACCTGGGACATGGGCTGAGGCTGATCTATTACTCAGCAGCTGCTGATATTACAGATAAAGGAGAAGTCCCCGATGGCTATGTTGTCTCCAGATCCAAGACAGAGAATTTCCCCTCACTCTGGAGTCAGCTACCCGCTCCAGACATCTGTGTATTTCTGCGCCAGCAGTGATGGGACAGGGTACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTA</u> (SEQ ID NO: 252)</p>
PN46853 V $\alpha$	<p><u>ILNVEQSPQSLHVQEGDSTNFTCSFPSSNFYALHWYRWETAKSPEALFVMTLNGDEKKKGRISATLNTKEGYSYLYIKGSQPEDSATYLCACGGSGNTGKLI</u> <u>FGQGTTLQVKP</u> (SEQ ID NO: 253)</p> <p><u>ATACTGAACGTGGAACAAAGTCCTCAGTCACTGCATGTTTCAGGAGGGAACAGCACCAATTTACCTGCAGCTTCCCTTCCAGCAATTTTTATGCCTTCACTGGTACAGATGGGAAACTGCAAAAAGCCCCGAGGCCTTGTTTGTAAATGACTTTAAATGGGGATGAAAAGAAGAAAGGACGAATAAGTGCCACTCTTAATACCAAGGAGGGTTACAGCTATTTGTACATCAAAGGATCCAGCTGAAGACTCAGCCACATACCTCTGTGCCTGTGGGGGTTCTGGCAACACAGGCAAATAATCTTTGGGCAAGGGACAACCTTACAAGTAAAACCA</u> (SEQ ID NO: 254)</p>
PN46853 V $\beta$	<p><u>AAGVIQSPRHLIKEKRETATLKCYPPIRHDTVYWYQQGPGQDPQFLISFYEKMQSDKGSIPDRFSAQQFSDYHSELNMSSLELGDSALYFCASSSQGPQHF</u> <u>GDGTRLSIL</u> (SEQ ID NO: 255)</p> <p><u>GCTGCTGGAGTCATCCAGTCCCCAAGACATCTGATCAAAGAAAAGAGGGAAACAGCCACTCTGAAATGCTATCCTATCCCTAGACACGACTGTCTACTGGTACCAGCAGGGTCCAGGTCAGGACCCCCAGTTCCTCATTTTCGTTTATGAAAAGATGCAGAGCGATAAAGGAAGCATCCCTGATCGATTCTCAGCTCAACAGTTCAGTGACTATCATTCTGAACTGAACATGAGCTCCTTGGGA</u></p>

[0223]

	<p><u>GCTGGGGGACTCAGCCCTGTACTTCTGTGCCAGCAGCTCCCAGGGTCAG</u> <u>CCCAGCATTTTGGTGATGGGACTCGACTCTCCATCCTA</u> (SEQ ID NO: 256)</p>
PN46857 V $\alpha$	<p><u>AQKVTQATREISVVEKEDVTLDCVYETRDTTYLFWYKQPPSGELVFLIRR</u> <u>NSFDEQNEISGRYSWNFQKSTSSFNFTITASQVVDSAVYFC</u><u>ALSEGYGNKL</u> <u>VFGAGTILRVKS</u> (SEQ ID NO: 257)</p> <p>GCTCAGAAGGTAAGTCAAGCGACTAGAGAAATTTCTGTGGTGGAGAAG GAGGATGTGACCTTGGACTGTGTGTATGAA<u>ACCCGTGATACTACTTATTA</u> <u>CTTATTCTGGTACAAGCAACCACCAAGTGGAGAATTGGTTTTCTTATTC</u> <u>GTCCGAACTCTTTTGATGAGCAAAATGAAATAAGTGGTCGGTATTCTTG</u> <u>GAATTCCAGAAATCCACCAGTTCCTTCAACTTCACCATCACAGCCTCA</u> <u>CAAGTCGTGGACTCAGCAGTATACTTCTGTGCTCTGAGTGAGGGATATG</u> <u>GAAACAACTGGTCTTTGGCGCAGGAACCATTCTGAGAGTCAAGTCC</u> (SEQ ID NO: 258)</p>
PN46857 V $\beta$	<p><u>NAGVMQNPRHLVRRRGQEARLRCSPMKGHSHVYWYRQLPEEGLKFMVY</u> <u>LQKENIIDESGMPKERFSAEFPKEGPSILRIQQVVRGDSAAYFC</u><u>ASSHRDDT</u> <u>EAFFGQGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 259)</p> <p>AATGCCGGCGTCATGCAGAACCCAAGACACCTGGTCAGGAGGAGGGGA CAGGAGGCAAGACTGAGATGCAGCCCAATGAAAGGACACAGTCATGTT TACTGGTATCGGCAGCTCCAGAGGAAGGTCTGAAATTCATGGTTTATCT <u>CCAGAAAGAAAATATCATAGATGAGTCAGGAATGCCAAAGGAACGATTT</u> <u>TCTGCTGAATTTCCCAAAGAGGGCCCCAGCATCCTGAGGATCCAGCAGG</u> <u>TAGTGCGAGGAGATTTCGGCAGCTTATTTCTGTGCCAGCTCACACAGGGA</u> <u>CGACACTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTA</u> (SEQ ID NO: 260)</p>
PN46871 V $\alpha$	<p><u>KQEVTQIPAALSYPEGENLVLNCSFTDSAIYNLQWFRQDPGKGLTSLLLIQS</u> <u>SQREQTSGRNLNASLDKSSGRSTLYIAASQPGDSATYLC</u><u>AVEGTTDSWGKQFQ</u> <u>FGAGTQVVVTP</u> (SEQ ID NO: 261)</p> <p>AAACAGGAGGTGACGCAGATTCTGCAGCTCTGAGTGTCCCAGAAGGA GAAACTTGGTTCTCAACTGCAGTTTCACTGATAGCGCTATTTACAACCT CCAGTGGTTTAGGCAGGACCCTGGGAAAGGTCTCACATCTCTGTTGCTT <u>ATTCAGTCAAGTCAGAGAGAGCAAACAAGTGGAAGACTTAATGCCTCG</u> <u>CTGGATAAATCATCAGGACGTAGTACTTTATACATTGCAGCTTCTCAGCC</u> <u>TGGTACTCAGCCACCTACCTCTGTGCTGTGGAGGGGACA</u><u>ACTGACAG</u> <u>CTGGGGGAAATTCAGTTTGGAGCAGGGACCCAGGTTGTGGTCACCCC</u> A (SEQ ID NO: 262)</p>
PN46871 V $\beta$	<p><u>AAGVIQSPRHLIKEKRETATLKCYPIPRHDTVYWYQQGPGQDPQFLISFYE</u> <u>KMQSDKGSIPDRFSAQQFSDYHSELNMSSLELGDSALYFC</u><u>ASSSQGPQHF</u> <u>GDGTRLSIL</u> (SEQ ID NO: 263)</p> <p>GCTGCTGGAGTCATCCAGTCCCCAAGACATCTGATCAAAGAAAAGAGG GAAACAGCCACTCTGAAATGCTATCCTATCCCTAGACACGACACTGTCTA CTGGTACCAGCAGGGTCCAGGTCCAGGACCCCCAGTTCCTCATTTTCGTTT <u>TATGAAAAGATGCAGAGCGATAAAGGAAGCATCCCTGATCGATTCTCAG</u> <u>CTCAACAGTTCAGTACTATCATTCTGAACTGAACATGAGCTCCTTGGGA</u> <u>GCTGGGGGACTCAGCCCTGTACTTCTGTGCCAGCAGCTCCCAGGGTCAG</u> <u>CCCAGCATTTTGGTGATGGGACTCGACTCTCCATCCTA</u> (SEQ ID NO:</p>

[0224]

	264)
PN46880 V $\alpha$	<p>AQRVTQPEKLLSVFKGAPVELKCNYSYSGSPELFWYVQYSRQRLQLLLRHI  <u>SRESIKGFTADLNKGETSFHLKKPFAQEEDSAMYYCALSGASGGSYIPTFG</u>                  RGTSLIVHP (SEQ ID NO: 265)</p> <p>GCCCAGAGAGTGACTCAGCCCCGAGAAGCTCCTCTCTGTCTTTAAAGGG                  GCCCCAGTGGAGCTGAAGTGCAACTATTCTTATTCTGGGAGTCCTGAAC                  TCTTCTGGTATGTCCAGTACTCCAGACAACGCCTCCAGTTACTCTTGAGA                  CACATCTCTAGAGAGAGCATCAAAGGCTTCACTGCTGACCTTAACAAAG                  GCGAGACATCTTCCACCTGAAGAAACCATTGCTCAAGAGGAAGACTC                  AGCCATGTATTACTGTGCTCTAAGTGGGGCATCAGGAGGAAGCTACATA                  CCTACATTTGGAAGAGGAACCAGCCTTATTGTTCATCCG (SEQ ID NO:                  266)</p>
PN46880 V $\beta$	<p>NAGVMQNPRHLVRRRGQEARLRCSPMKGHSHVYWYRQLPEEGLKFMVY  <u>LQENIIDESGMPKERFSAEFPKEGPSILRIQQVVRGDSAAYFCASSHRDDT</u>                  EAFFGQGTRLTVV (SEQ ID NO: 267)</p> <p>AATGCCGGCGTCATGCAGAACCCAAGACACCTGGTCAGGAGGAGGGGA                  CAGGAGGCAAGACTGAGATGCAGCCCAATGAAAGGACACAGTCATGTT                  TACTGGTATCGGCAGCTCCCAGAGGAAGGTCTGAAATTCATGGTTTATCT                  CCAGAAAGAAAATATCATAGATGAGTCAGGAATGCCAAAGGAACGATTT                  TCTGCTGAATTTCCCAAAGAGGGCCCCAGCATCCTGAGGATCCAGCAGG                  TAGTGCGAGGAGATTTCGGCAGCTTATTTCTGTGCCAGCTCACACAGGGA                  CGACTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTA                  (SEQ ID NO: 268)</p>
PN46883 V $\alpha$	<p>AQKVTQAQTEISVVEKEDVTLDCVYETRDTTYLFWYKQPPSGELVFLIRR  <u>NSFDEQNEISGRYSWNFQKSTSSFNFTITASQVVDSAVYFCALSVSSYNTDK</u>                  LIFGTGTRLQVFP (SEQ ID NO: 269)</p> <p>GCTCAGAAGGTA ACTCAAGCGCAGACTGAAATTTCTGTGGTGGAGAAG                  GAGGATGTGACCTTGGACTGTGTGTATGAAACCCGTGATACTACTTATTA                  CTTATTCTGGTACAAGCAACCACCAAGTGGAGAATTGGTTTTCTTATTC                  GTCGGA ACTCTTTTGATGAGCAAAATGAAATAAGTGGTCGGTATTCTTG                  GAACTTCCAGAAATCCACCAGTTCCTTCAACTTCAACATCACAGCCTCA                  CAAGTCGTGGACTCAGCAGTATACTTCTGTGCTCTGAGTGTATCATCTTA                  TAACACCGACAAGCTCATCTTTGGGACTGGGACCAGATTACAAGTCTTT                  CCA (SEQ ID NO: 270)</p>
PN46883 V $\beta$	<p>NAGVMQNPRHLVRRRGQEARLRCSPMKGHSHVYWYRQLPEEGLKFMVY  <u>LQENIIDESGMPKERFSAEFPKEGPSILRIQQVVRGDSAAYFCASSHRDDT</u>                  EAFFGQGTRLTVV (SEQ ID NO: 271)</p> <p>AATGCCGGCGTCATGCAGAACCCAAGACACCTGGTCAGGAGGAGGGGA                  CAGGAGGCAAGACTGAGATGCAGCCCAATGAAAGGACACAGTCATGTT                  TACTGGTATCGGCAGCTCCCAGAGGAAGGTCTGAAATTCATGGTTTATCT                  CCAGAAAGAAAATATCATAGATGAGTCAGGAATGCCAAAGGAACGATTT                  TCTGCTGAATTTCCCAAAGAGGGCCCCAGCATCCTGAGGATCCAGCAGG                  TAGTGCGAGGAGATTTCGGCAGCTTATTTCTGTGCCAGCTCACACAGGGA                  TGACTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTA                  (SEQ ID NO: 272)</p>
PN46884	AQKVTQAQPEISVVEKEDVTLDCVYETRDTTYLFWYKQPPSGELVFLIRR

[0225]

<p>V<math>\alpha</math></p>	<p><u>NSFDEQNEISGRYSWNFQKSTSSFNFTITASQVVDSAVYFCALSEGYNTDKL</u> <u>IFGTGTRLQVFP (SEQ ID NO: 273)</u></p> <p><u>GCTCAGAAGGTA</u><u>ACTCAAGCGCAGCCTGAAATTTCTGTGGTGGAGAAG</u> <u>GAGGATGTGACCTTGGACTGTGTGTATGAAACCCGTGATACTACTTATTA</u> <u>CTTATTCTGGTACAAGCAACCACCAAGTGGAGAATTGGTTTTCTTATTC</u> <u>GTCGGA</u><u>ACTCTTTTGATGAGCAAAATGAAATAAGTGGTCGGTATTCTTG</u> <u>GA</u><u>ACTTCCAGAAATCCACCAGTTCCTTCAACTTCACCATCACAGCCTCA</u> <u>CAAGTCGTGGACTCAGCAGTATACTTCTGTGCTCTGAGTGAGGGGTATA</u> <u>ACACCGACAAGCTCATCTTTGGGACTGGGACCAGATTACAAGTCTTCC</u> <u>A (SEQ ID NO: 274)</u></p>
<p>PN46884 V<math>\beta</math></p>	<p><u>DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMHENMFWYRQDPGLRLLIYFS</u> <u>YDKMKEKGDIPYGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLCASSLGGANT</u> <u>IYFGESWLTVV (SEQ ID NO: 275)</u></p> <p><u>GATGTGAAAGTA</u><u>ACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAGGACGGGA</u> <u>GAGAAAGTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAAAATATGT</u> <u>TCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGATCTATTTCTCA</u> <u>TATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCCTGAGGGGTACAGTG</u> <u>TCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCTGATTCTGGAGTCCGCCAG</u> <u>CACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGTGCCAGCAGTTTAGGGGGGGCG</u> <u>AACACCATATATTTGGAGAGGGAAGTTGGCTCACTGTTGTA (SEQ ID</u> <u>NO: 276)</u></p>
<p>PN46889 V<math>\alpha</math></p>	<p><u>QKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRGSQSFFWYRQYSGKSPELIMSIYS</u> <u>NGDKEDGRFTAQLNKASQYVSLLRDSQPSDSATYLC</u><u>AVNIPNSGYSTLTFG</u> <u>KGTMLLVSP (SEQ ID NO: 277)</u></p> <p><u>CAGAAGGAGGTGGAGCAGAATTCTGGACCCCTCAGTGTTCCAGAGGGA</u> <u>GCCATTGCCTCTCTCAACTGCACTTACAGTGACCGAGGTTCCAGTCCT</u> <u>TCTTCTGGTACAGACAATATTCTGGGAAAAGCCCTGAGTTGATAATGTCC</u> <u>ATATACTCCAATGGTGACA</u><u>AAAGAAGATGGAAGGTTTACAGCACAGCTCA</u> <u>ATAAAGCCAGCCAGTATGTTTCTCTGCTCATCAGAGACTCCCAGCCCAG</u> <u>TGATT</u><u>CAGCCACCTACCTCTGTGCCGTGAACATTCCGAATTCAGGATACA</u> <u>GCACCCCTCACCTTTGGGAAGGGGACTATGCTTCTAGTCTCTCCA (SEQ</u> <u>ID NO: 278)</u></p>
<p>PN46889 V<math>\beta</math></p>	<p><u>NAGVTQTPKFRVLKTGQSMILLCAQDMNHEYMYWYRQDPGMGLRLIHY</u> <u>SVGEGTTAKGEVPDGYNVSRLLKQNFLLGLESAAPSQTSVYFCASSYWEG</u> <u>TEAFFGQGTRLTVV (SEQ ID NO: 279)</u></p> <p><u>AATGCTGGTGTCACTCAGACCCCAAATTCGGGGTCCTGAAGACAGGA</u> <u>CAGAGCATGACACTGCTGTGTGCCAGGATATGAACCATGAATACATGT</u> <u>ACTGGTATCGACAAGACCCAGGCATGGGGCTGAGGCTGATTCATTACTC</u> <u>AGTTGGTGAGGGTACA</u><u>ACTGCCAAAGGAGAGGTCCCTGATGGCTACAA</u> <u>TGTCTCCAGATTA</u><u>AAAAAACAGAATTTCTGCTGGGGTTGGAGTCGGCT</u> <u>GCTCCCTCCAAACATCTGTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTACTGGGAGG</u> <u>GCACTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTA (SEQ</u> <u>ID NO: 280)</u></p>
<p>PN46909 V<math>\alpha</math></p>	<p><u>AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDTSENNYYLFWYKQPPSRQMILVIR</u> <u>QEAYKQQNATENRFSVNFQKA</u><u>AKSFSCLKISDSQLGDTAMYFC</u><u>AFDYGQNF</u> <u>VFGPGTRLSVLP (SEQ ID NO: 281)</u></p>

[0226]

	<p><u>GCCCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGGCA</u>  <u>GAGACTGTGACCCTGAGTTGCACATATGACACCAGTGAGAATAATTATTA</u>  <u>TTTGTCTGGTACAAGCAGCCTCCAGCAGGCAGATGATTCTCGTTATTC</u>  <u>GCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACGGAGAATCGTTTCTCTGT</u>  <u>GAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTCTCAAGATCTCAGACTCA</u>  <u>CAGCTGGGGGACACTGCGATGATTTCTGTGCTTTCGACTATGGTCAGAA</u>  <u>TTTTGTCTTTGGTCCCGGAACCAGATTGTCCGTGCTGCC</u> (SEQ ID NO:                  282)</p>
PN46909 Vβ	<p><u>NAGVTQTPKFRILKIGQSMTLQCAQDMNHNYMYWYRQDPGMGLKLIYYS</u>  <u>VGAGITDKGEVPNGYNVSRSTTEYFPLRLELAAPSQTSVYFCASSYGGGQT</u>  <u>EAFFGQGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 283)</p> <p><u>AATGCTGGTGTCACTCAGACCCCAAATTCGCATCCTGAAGATAGGAC</u>  <u>AGAGCATGACACTGCAGTGTGCCAGGATATGAACCATAACTACATGTA</u>  <u>CTGGTATCGACAAGACCCAGGCATGGGGCTGAAGCTGATTTATTATTCAG</u>  <u>TTGGTGCTGGTATCACTGATAAAGGAGAAGTCCCGAATGGCTACAACGT</u>  <u>CTCCAGATCAACCACAGAGTATTTCCCGCTCAGGCTGGAGTTGGTCTGT</u>  <u>CCCTCCAGACATCTGTGTA</u><u>CTTCTGTGCCAGCAGTTACGGGGGGGGGC</u>  <u>AGACTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTA</u> (SEQ                  ID NO: 284)</p>
PN46914 Vα	<p><u>AQKVTQAQPEISVVEKEDVTLDCVYETRDTTYLFWYKQPPSGELVFLIRR</u>  <u>NSFDEQNEISGRYSWNFQKSTSSFNFTITASQVVDSAVYFCALSEGYNOGG</u>  <u>KLIFGQGTLSVKP</u> (SEQ ID NO: 285)</p> <p><u>GCTCAGAAGGTA</u><u>ACTCAAGCGCAGCCTGAAATTTCTGTGGTGGAGAAG</u>  <u>GAGGATGTGACCTTGGACTGTGTGTATGAAACCCGTGATACTACTTATTA</u>  <u>CTTATTCTGGTACAAGCAACCACCAAGTGGAGAATTGGTTTTCCTTATTC</u>  <u>GTCCGAACTCTTTTGATGAGCAAAAATGAAATAAGTGGTCGGTATTCTTG</u>  <u>GA</u><u>ACTTCCAGAAATCCACCAGTTCCTTCAACTTCACCATCACAGCCTCA</u>  <u>CAAGTCGTGGACTCAGCAGTATACTTCTGTGCTCTGAGTGAGGGTTATA</u>  <u>ACCAGGGAGGAAAGCTTATCTTCGGACAGGGAACGGAGTTATCTGTGA</u>  <u>AACCC</u> (SEQ ID NO: 286)</p>
PN46914 Vβ	<p><u>DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLIYFS</u>  <u>YDVKMKEKGDIPGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLCASGADSNQP</u>  <u>QHFGDGTRLSIL</u> (SEQ ID NO: 287)</p> <p><u>GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAGGACGGGA</u>  <u>GAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAAAATATGT</u>  <u>TCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGATCTATTTCTCA</u>  <u>TATGATGTTAAAATGAAAGAAAAGGAGATATTCCTGAGGGGTACAGTG</u>  <u>TCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGTCTCCCTGATTCTGGAGTCCGCCAG</u>  <u>CACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGTGCCAGCGGGGCAGATAGCAAT</u>  <u>CAGCCCCAGCATTTTGGTGATGGGACTCGACTCTCCATCCTA</u> (SEQ ID                  NO: 288)</p>

[0227] 表6. 对PRAME (425-433) /HLA-A2具特异性的VeloCiT TCR的氨基酸CDR序列

[0228]

TCR ID	V $\alpha$ CDR1	SEQ ID NO:	V $\alpha$ CDR2	SEQ ID NO:	V $\alpha$ CDR3	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR1	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR2	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR3	SEQ ID NO:
PN42365	SVFSS	289	VVTGGEV	290	AANGGSQGNLI	291	SGHDT	292	YYEEEE	293	ASSLQDYGYT	294
PN42378	TISGTDY	295	GLTSN	296	ILRPDSWGKFKQ	297	SGHDT	298	YYEEEE	299	ASSLQDYGYT	300
PN42386	SVFSS	301	VVTGGEV	302	ATNGGSQGNLI	303	SGHDT	304	YYEEEE	305	ASSLQDYGYT	306
PN42441	TISGTDY	307	GLTSN	308	IRRPGNQFY	309	MNHEY	310	SMNVEV	311	ASSLWTGSEAF	312
PN42442	SVFSS	313	VVTGGEV	314	AGGTSGTYKYI	315	MNHEY	316	SMNVEV	317	ASSPGTANYGYT	318
PN42450	YSGSPE	319	HISR	320	ALGNTDKLI	321	MDHEN	322	SYDVKM	323	ASSPRTGWYGYT	324
PN42455	TISGTDY	325	GLTSN	326	ILRPDSWGKFKQ	327	SGHDT	328	YYEEEE	329	ASSLVDYGYT	330
PN42476	TISGTDY	331	GLTSN	332	ILRPDSWGKFKQ	333	MDHEY	334	SMNVEV	335	ASSLGGVDERLS	336
PN42483	SVFSS	337	VVTGGEV	338	AGDGGSQGNLI	339	MNHEY	340	SMNVEV	341	ASSLGGADEKLF	342
PN42496	TISGTDY	343	GLTSN	344	ILGQGAQKLV	345	MNHEY	346	SMNVEV	347	ASSLWTGGGYT	348
PN42498	SVFSS	349	VVTGGEV	350	AGDGGSQGNLI	351	SGHDT	352	YYEEEE	353	ASSLVDYGYT	354
PN42558	DSVNN	355	IPSGT	356	VLGGGSQGNLI	357	SGHDT	358	YYEEEE	359	ASSFTDYGYT	360
PN42561	TISGTDY	361	GLTSN	362	ILRDGTGNQFY	363	MNHEY	364	SMNVEV	365	ASSLWTGGGYT	366
PN42562	SVFSS	367	VVTGGEV	368	AGGPGSYKYI	369	MNHEY	370	SMNVEV	371	ASSPGTPNYGYT	372
PN42610	DRGSQS	373	IYSNGD	374	AGNYGQNFV	375	PRHDT	376	FYEKMQ	377	ASSIGLNQPH	378
PN42654	TISGTDY	379	GLTSN	380	ILRDGIGNQFY	381	MNHEY	382	SMNVEV	383	ASSLWTGGGYT	384
PN42655	TISGTDY	385	GLTSN	386	ILRPDSWGKFKQ	387	MNHEY	388	SMNVEV	389	ASSLWTGGGYT	390
PN42677	TISGTDY	391	GLTSN	392	ILRDGTGNQFY	393	MNHEY	394	SMNVEV	395	ASSSTGYGYT	396
PN42683	TISGTDY	397	GLTSN	398	ILRDREYGNKLV	399	MNHEY	400	SMNVEV	401	ASSLWTGGGYT	402
PN42689	SVFSS	403	VVTGGEV	404	AEDGGSQGNLI	405	SGHDT	406	YYEEEE	407	ASSLSDYGYT	408
PN42706	DSVNN	409	IPSGT	410	AVEASGYKYI	411	MNHEY	412	SMNVEV	413	ASSWGTGGYGYT	414
PN42707	NSASDY	415	IRSNMDK	416	AENKRDNYGQNFV	417	MNHEY	418	SMNVEV	419	ASSFWNTEAF	420
PN42711	DSVNN	421	IPSGT	422	AVGSSNGYKLS	423	MNHEY	424	SMNVEV	425	ASSPGTGGFSPLH	426
PN42712	DSVNN	427	IPSGT	428	AVGSSNDYKLS	429	MNHEY	430	SMNVEV	431	ASSPGTGGFSPLH	432
PN42746	NSASDY	433	IRSNMDK	434	AENRQDNYGQNFV	435	MNHEY	436	SMNVEV	437	ASSLWVNTEAF	438
PN42750	TISGTDY	439	GLTSN	440	ILRPDSWGKFKQ	441	MDHEN	442	SYDVKM	443	ASSTVRQGNNGYGYT	444
PN42762	TISGTDY	445	GLTSN	446	ILNTGTASKLT	447	MNHEY	448	SMNVEV	449	ASSLSSNTEAF	450
PN42774	DRGSQS	451	IYSNGD	452	AVNRGTDKLI	453	SGHDT	454	YYEEEE	455	ASSWTDYGYT	456
PN42776	TISGTDY	457	GLTSN	458	ILRPDSWGKFKQ	459	SGHDT	460	YYEEEE	461	ASSWTDYGYT	462
PN42780	SVFSS	463	VVTGGEV	464	AGGTSGTYKYI	465	MNHEY	466	SMNVEV	467	ASSPGTPNYGYT	468
PN42795	NSASQS	469	VYSSGN	470	VVNGGSQGNLI	471	SGHDT	472	YYEEEE	473	ASSVGDYGYT	474
PN42815	NSASDY	475	IRSNMDK	476	AENNYGQNFV	477	MNHEY	478	SMNVEV	479	ASSLWDSSPLH	480
PN42826	NMFDY	481	ISSIKDK	482	AASAGSARQLT	483	MNHEY	484	SMNVEV	485	ASSLYTHTEAF	486
PN42833	TISGNEY	487	GLKNN	488	IVRDTSGYTYKYI	489	MNHEY	490	SMNVEV	491	ASSLSSTGFSPLH	492
PN42840	SVFSS	493	VVTGGEV	494	AEGGGSQGNLI	495	SGHDT	496	YYEEEE	497	ASSWTDYGYT	498
PN42845	SVFSS	499	VVTGGEV	500	AGIRSNDYKLS	501	MNHEY	502	SMNVEV	503	ASSSWTAHTEAF	504
PN42870	SVFSS	505	VVTGGEV	506	AENSGGGADGLT	507	SGHDT	508	YYEEEE	509	ASSFTDYGYT	510
PN42879	SVFSS	511	VVTGGEV	512	AGEDFGNEKLT	513	SGHDT	514	YYEEEE	515	ASSWADYGYT	516
PN42888	SSNFYA	517	MTLNGDE	518	AFLTGNQFY	519	MDHEN	520	SYDVKM	521	ASSTVRQGNNGYGYT	522
PN42895	NMFDY	523	ISSIKDK	524	AASAGSARQLT	525	MNHEY	526	SMNVEV	527	ASSLWSNTEAF	528

[0229] 表7. 对PRAME (425-433) /HLA-A2具特异性的VelociT TCR的核酸CDR序列

[0230]

TCR ID	V $\alpha$ CDR1	SEQ ID NO:	V $\alpha$ CDR2	SEQ ID NO:	V $\alpha$ CDR3	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR1	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR2	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR3	SEQ ID NO:
PN42365	AGTGT TTCCAGC	529	GTAGTT ACGGGT GGAGAA GTG	530	GCCGCTAATGG AGGAAGCCAA GGAAATCTCAT C	531	TCTG GGCA TGAC ACT	532	TATTAT GAGG AGGA AGAG	533	GCCAGCAGCT TACAGGACTA TGGCTACACC	534

[0231]

TCR ID	V $\alpha$ CDR1	SEQ ID NO:	V $\alpha$ CDR2	SEQ ID NO:	V $\alpha$ CDR3	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR1	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR2	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR3	SEQ ID NO:
PN42378	ACAATCAG TGGAAGCTG ATTAC	535	GGTCTT ACAAGC AAT	536	ATCCTGCGGCC TGACAGCTGG GGGAAATTCC AG	537	TCTG GGCA TGAC ACT	538	TATTAT GAGG AGGA AGAG	539	GCCAGCAGCT TACAGGACTA TGGCTACACC	540
PN42386	AGTGTTTT TTCCAGC	541	GTAGTT ACGGGT GGAGAA GTG	542	GCCACTAATGG AGGAAAGCCAA GGAAATCTCAT C	543	TCTG GGCA TGAC ACT	544	TATTAT GAGG AGGA AGAG	545	GCCAGCAGCT TACAGGACTA TGGCTACACC	546
PN42441	ACAATCAG TGGAAGCTG ATTAC	547	GGTCTT ACAAGC AAT	548	ATCAGGCGGC CCGGTAACCA GTTCTAT	549	ATGA ACCA TGAG TAT	550	TCAAT GAATG TTGAG GTG	551	GCCAGCAGTT TATGGACAGG GTCTGAAGCT TTC	552
PN42442	AGTGTTTT TTCCAGC	553	GTAGTT ACTGGT GGAGAA GTG	554	GCAGGAGGGA CCTCAGGAAC CTACAAATACA TC	555	ATGA ACCA TGAG TAT	556	TCAAT GAATG TTGAG GTG	557	GCCAGCAGTC CAGGGACAGC TAACTATGGCT ACACC	558
PN42450	TATTCTGG GAGTCTCTG AA	559	CACATC TCTAGA	560	GCTCTAGGGA ACACCGACAA GTCATC	561	ATGG ACCA TGAA AAT	562	TCATA TGATG TTAAA ATG	563	GCCAGCAGTT CGCCCAGGAC AGGGTGGTAT GGCTACACC	564
PN42455	ACAATCAG TGGAAGCTG ATTAC	565	GGTCTT ACAAGC AAT	566	ATCCTGCGGCC TGACAGCTGG GGGAAATTCC AG	567	TCTG GGCA TGAC ACT	568	TATTAT GAGG AGGA AGAG	569	GCCAGCAGCT TGGTGGATTAT GGCTACACC	570
PN42476	ACAATCAG TGGAAGCTG ATTAC	571	GGTCTT ACAAGC AAT	572	ATCCTGCGGCC TGACAGCTGG GGGAAATTCC AG	573	ATGG ACCA TGAG TAT	574	TCAAT GAATG TTGAG GTG	575	GCCAGCAGTT TAGGGGGCGT GGATGAAAGA CTGTCT	576
PN42483	AGTGTTTT TTCCAGC	577	GTAGTT ACGGGT GGAGAA GTG	578	GCAGGGGATG GAGGAAGCCA AGGAAATCTCA TC	579	ATGA ACCA TGAG TAT	580	TCAAT GAATG TTGAG GTG	581	GCCAGCAGTT TAGGGGGCGC GGATGAAAAA CTGTTT	582
PN42496	ACAATCAG TGGAAGCTG ATTAC	583	GGTCTT ACAAGC AAT	584	ATCCTGGGTCA GGGAGCCCAG AAGCTGGTA	585	ATGA ACCA TGAG TAT	586	TCAAT GAATG TTGAG GTG	587	GCCAGCAGTT TATGGACAGG GGGCGGCTAC ACC	588
PN42498	AGTGTTTT TTCCAGC	589	GTAGTT ACGGGT GGAGAA GTG	590	GCAGGGGATG GAGGAAGCCA AGGAAATCTCA TC	591	TCTG GGCA TGAC ACT	592	TATTAT GAGG AGGA AGAG	593	GCCAGCAGCT TGGTGGATTAT GGCTACACC	594
PN42558	GACTCTGT GAACAAT	595	ATTCCCT CAGGGA CA	596	GTCTAGGGG GAGGAAGCCA AGGAAATCTCA TC	597	TCTG GGCA TGAC ACT	598	TATTAT GAGG AGGA AGAG	599	GCCAGCAGCT TTACAGACTAT GGCTACACC	600
PN42561	ACAATCAG TGGAAGCTG ATTAC	601	GGTCTT ACAAGC AAT	602	ATCCTGAGAG ACGGGACCGG TAACCAGTTCT AT	603	ATGA ACCA TGAG TAT	604	TCAAT GAATG TTGAG GTG	605	GCCAGCAGTT TATGGACAGG GGGTGGCTAC ACC	606
PN42562	AGTGTTTT TTCCAGC	607	GTAGTT ACGGGT GGAGAA GTG	608	GCAGGAGGAC CCTCAGGAAC CTACAAATACA TC	609	ATGA ACCA TGAG TAT	610	TCAAT GAATG TTGAG GTG	611	GCCAGCAGTC CCGGGACACC TAACTATGGCT ACACC	612
PN42610	GACCGAG GTTCCAG TCC	613	ATATACT CCAATG GTGAC	614	GCCGGAACT ATGGTCAGAAT TTTGTC	615	CCTA GACA CGAC ACT	616	TTTAA TGAAA AGATG CAG	617	GCCAGCAGCA TCGGACTTAAT CAGCCCCAGC AT	618
PN42654	ACAATCAG TGGAAGCTG ATTAC	619	GGTCTT ACAAGC AAT	620	ATCCTGAGAG ACGGCATCGGT AACCAGTTCTA T	621	ATGA ACCA TGAG TAT	622	TCAAT GAATG TTGAG GTG	623	GCCAGCAGTT TATGGACAGG GGGAGGCTAC ACC	624
PN42655	ACAATCAG TGGAAGCTG ATTAC	625	GGTCTT ACAAGC AAT	626	ATCCTGCGGCC TGACAGCTGG GGGAAATTCC AG	627	ATGA ACCA TGAG TAT	628	TCAAT GAATG TTGAG GTG	629	GCCAGCAGTT TATGGACAGG GGGAGGCTAC ACC	630

[0232]

TCR ID	V $\alpha$ CDR1	SEQ ID NO:	V $\alpha$ CDR2	SEQ ID NO:	V $\alpha$ CDR3	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR1	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR2	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR3	SEQ ID NO:
PN42677	ACAATCAG TGGAAGCTG ATTAC	631	GGTCTT ACAAGC AAT	632	ATCCTGAGAG ACGGCACCGG TAACCAGTTCT AT	633	ATGA ACCA TGAG TAT	634	TCAAT GAATG TTGAG GTG	635	GCCAGCAGTT CGACAGGGTA CTATGGCTACA CC	636
PN42683	ACAATCAG TGGAAGCTG ATTAC	637	GGTCTT ACAAGC AAT	638	ATCCTGAGAG ACGGGAATAT GGAAACAAAC TGGTC	639	ATGA ACCA TGAG TAT	640	TCAAT GAATG TTGAG GTG	641	GCCAGCAGTT TATGGACAGG GGCGGCTAC ACC	642
PN42689	AGTGTTTT TTCCAGC	643	GTAGTT ACGGGT GGAGAA GTG	644	GCAGAAGATG GAGGAAGCCA AGGAAATCTCA TC	645	TCTG GGCA TGAC ACT	646	TATTAT GAGG AGGA AGAG	647	GCCAGCAGCT TATCAGACTAT GGCTACACC	648
PN42706	GACTCTGT GAACAAT	649	ATTCCT CAGGGA CA	650	GCTGTGGAGG CCTCAGGAAC CTACAAATACA TC	651	ATGA ACCA TGAG TAT	652	TCAAT GAATG TTGAG GTG	653	GCCAGCAGTT GGGGGACAGG GGGCTATGGC TACACC	654
PN42707	AACAGCG CCTCAGAC TAC	655	ATTCGTT CAAATA TGGACA AA	656	GCAGAGAATA AGCGGGATAA CTATGGTCAGA ATTTTGTC	657	ATGA ACCA TGAG TAT	658	TCAAT GAATG TTGAG GTG	659	GCCAGCAGTT TCTGGGTGAA CACTGAAGCT TTC	660
PN42711	GACTCTGT GAACAAT	661	ATTCCT CAGGGA CA	662	GCTGTGGGGA GTTCTAACGGC TACAAGCTCA GC	663	ATGA ACCA TGAG TAT	664	TCAAT GAATG TTGAG GTG	665	GCCAGCAGTC CCGGGACAGG GGGATTTTCA CCCTCCAC	666
PN42712	GACTCTGT GAACAAT	667	ATTCCT CAGGGA CA	668	GCTGTGGGGA GTTCTAACGAC TACAAGCTCA GC	669	ATGA ACCA TGAG TAT	670	TCAAT GAATG TTGAG GTG	671	GCCAGCAGTC CCGGGACAGG GGGATTTTCA CCCTCCAC	672
PN42746	AACAGCG CCTCAGAC TAC	673	ATTCGTT CAAATA TGGACA AA	674	GCAGAGAATA GGCAGGATAA CTATGGTCAGA ATTTTGTC	675	ATGA ACCA TGAG TAT	676	TCAAT GAATG TTGAG GTG	677	GCCAGCAGTT TATGGGTAAAC ACTGAAGCTT TC	678
PN42750	ACAATCAG TGGAAGCTG ATTAC	679	GGTCTT ACAAGC AAT	680	ATCTGCGGCC TGACAGCTGG GGGAAGTTCC AG	681	ATGG ACCA TGAA AAT	682	TCATA TGATG TTAAA ATG	683	GCCAGCAGTA CCGTGAGGCA GGGAAGCTAT GGCTACACC	684
PN42762	ACAATCAG TGGAAGCTG ATTAC	685	GGTCTT ACAAGC AAT	686	ATCTGAATAC CGGCACTGCC AGTAAACTCA CC	687	ATGA ACCA TGAG TAT	688	TCAAT GAATG TTGAG GTG	689	GCCAGCAGTT TATCGTCGAA CACTGAAGCT TTC	690
PN42774	GACCGAG GTTCCCAG TCC	691	ATATACT CCAATG GTGAC	692	GCCGTGAACA GAGGCACCGA CAAGCTCATC	693	TCTG GGCA TGAC ACT	694	TATTAT GAGG AGGA AGAG	695	GCCAGCAGCT GGACAGACTA TGGCTACACC	696
PN42776	ACAATCAG TGGAAGCTG ATTAC	697	GGTCTT ACAAGC AAT	698	ATCTGCGGCC TGACAGCTGG GGGAAATTCC AG	699	TCTG GGCA TGAC ACT	700	TATTAT GAGG AGGA AGAG	701	GCCAGCAGCT GGACAGACTA TGGCTACACC	702
PN42780	AGTGTTTT TTCCAGC	703	GTAGTT ACGGGT GGAGAA GTG	704	GCAGGAGGAA CCTCAGGAAC CTACAAATACA TC	705	ATGA ACCA TGAG TAT	706	TCAAT GAATG TTGAG GTG	707	GCCAGCAGTC CCGGGACACC CAACTATGGCT ACACC	708
PN42795	AACAGTGC TTCTCAGT CT	709	GTATACT CCAGTG GTAAT	710	GTGGTGAATG GAGGAAGCCA AGGAAATCTCA TC	711	TCTG GGCA TGAC ACT	712	TATTAT GAGG AGGA AGAG	713	GCCAGCAGCG TAGGGGACTA TGGCTACACC	714
PN42815	AACAGCG CCTCAGAC TAC	715	ATTCGTT CAAATA TGGACA AA	716	GCAGAGACA ACTATGGTCAG AATTTTGTC	717	ATGA ACCA TGAG TAT	718	TCAAT GAATG TTGAG GTG	719	GCCAGCAGTT TATGGGACAG TTCACCCCTC CAC	720
PN42826	AACAGCAT GTTTGATT AT	721	ATAAGT TCCATTA AGGATA AA	722	GCAGCAAGCG CCGGTTCTGCA AGGCAACTGA CC	723	ATGA ACCA TGAG TAT	724	TCAAT GAATG TTGAG GTG	725	GCCAGCAGTT TATACACCCAC ACTGAAGCTT TC	726

[0233]

TCR ID	V $\alpha$ CDR1	SEQ ID NO:	V $\alpha$ CDR2	SEQ ID NO:	V $\alpha$ CDR3	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR1	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR2	SEQ ID NO:	V $\beta$ CDR3	SEQ ID NO:
PN42833	ACCATCAG TGGAAATG AGTAT	727	GGTCTA AAAAAC AAT	728	ATCGTCAGAG ACACTACCTCA GGAACCTACA AATACATC	729	ATGA ACCA TGAG TAT	730	TCAAT GAATG TTGAG GTG	731	GCCAGCAGTT TATCCTCGACA GGTTTTTCAC CCCTCCAC	732
PN42840	AGTGTTTT TTCCAGC	733	GTAGTT ACGGGT GGAGAA GTG	734	GCAGAGGGGG GAGGAAGCCA AGGAAATCTCA TC	735	TCTG GGCA TGAC ACT	736	TATTAT GAGG AGGA AGAG	737	GCCAGCAGCT GGACAGACTA TGGCTACACC	738
PN42845	AGTGTTTT TTCCAGC	739	GTAGTT ACGGGT GGAGAA GTG	740	GCAGGGATAC GTTCTAACGAC TACAAGCTCA GC	741	ATGA ACCA TGAG TAT	742	TCAAT GAATG TTGAG GTG	743	GCCAGCAGTT CCTGGACAGC CCACACTGAA GCTTTC	744
PN42870	AGTGTTTT TTCCAGC	745	GTAGTT ACGGGT GGAGAA GTG	746	GCAGAAAATT CAGGAGGAGG TGCTGACGGA CTCACC	747	TCTG GGCA TGAC ACT	748	TATTAT GAGG AGGA AGAG	749	GCCAGCAGCT TCACAGACTA TGGCTACACC	750
PN42879	AGTGTTTT TTCCAGC	751	GTAGTT ACGGGT GGAGAA GTG	752	GCAGGAGAGG ACTTTGGAAAT GAGAAATTA CC	753	TCTG GGCA TGAC ACT	754	TATTAT GAGG AGGA AGAG	755	GCCAGCAGCT GGGCGGATTA TGGCTACACC	756
PN42888	TCCAGCAA TTTTTATG CC	757	ATGACT TTAAAT GGGGAT GAA	758	GCCTTCTCAC CGGTAACCAG TTCTAT	759	ATGG ACCA TGAA AAT	760	TCATA TGATG TTAAA ATG	761	GCCAGCAGTA CCGTGAGGCA GGGGAACAT GGCTACACC	762
PN42895	AACAGCAT GTTTGATT AT	763	ATAAGT TCCATTA AGGATA AA	764	GCAGCAAGCG CCGTTCTGCA AGGCAACTGA CC	765	ATGA ACCA TGAG TAT	766	TCAAT GAATG TTGAG GTG	767	GCCAGCAGTT TATGGTCGAA CACTGAAGCT TTC	768

[0234] 表8:对PRAME (425-433) /HLA-A2具特异性的VelociT TCR的氨基酸和核酸序列

[0235]

结构域名称	结构域序列 氨基酸序列 (SEQ ID NO); CDR1、CDR2 和 CDR3 序列用下划线表示 核酸序列 (SEQ ID NO); CDR1、CDR2 和 CDR3 序列用下划线表示
PN42365 V $\alpha$	TQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVVV <u>GGEVKKLRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCAANGGSQGNLIF</u> GKGTKLSVKP (SEQ ID NO: 769)  ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGGGGA GAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTTTTTCCAGCTTAC AATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCTCCTGGTGACA <u>GTAGTTACGGGTGGAGAAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACCTTTC</u> <u>GTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGCGGCCCA</u> <u>GCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTCTGTGCCGCTAATGGAGGAAGCCA</u> <u>AGGAAATCTCATCTTTGGAAAAGGCACTAAACTCTCTGTAAACCA</u> (SEQ ID NO: 770)
PN42365 V $\beta$	DAGVTQSPHLLIKTRGQQVTLRCSKSGHDTVSWYQQALGQGPQFIFQY <u>YEEEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSSELNVNALLGDSALYLCASSLQDYG</u> <u>YTFGSGRLTVV</u> (SEQ ID NO: 771)  GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAAACGAGAGG ACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACACTGT

[0236]

	<p>GTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTATCTTTCA  <u>GTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTTCCCTGATCGATT</u>                  CTCAGGTCACCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGTGAACGCC                  TTGTTGCTGGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCAGCTTACAGG  <u>ACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTA</u> (SEQ                  ID NO: 772)</p>
PN42378 V $\alpha$	<p>DAKTTQPNSMESNEEEPVHLPCNHSTISGTDYIHWYRQLPSQGPEYVIHG  <u>LTSNVNRMASLAIAEDRKSSTLILHRSTLRDAAVYYCILRPDSWGKFQF</u>                  GAGTQVVVTP (SEQ ID NO: 773)</p> <p>GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTCAATGGAGAGTAACGAAGAAGA                  GCCTGTTCACTTGCCTTGTAACCACTCC<u>ACAATCAGTGGA</u>ACTGATTAC                  ATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCCAGGGTCCAGAGTACGTGATT                  ATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGGCAATCG                  CTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTTCTACCTTGA                  GAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCCTGCGGCCTGACAGCTGGGGGA  <u>AATCCAGTTTGAGCAGGGACCCAGGTTGTGGTCA</u>CCCCA (SEQ ID                  NO: 774)</p>
PN42378 V $\beta$	<p>DAGVTQSPHLLIKTRGQVTLRCSPKSGHDTVSWYQQALGQGPQFIFQY  <u>YEEEE</u>RQRGNFPDRFSGHQFPNYSSELNVNALLLGDSALYLC<u>ASSLQDYG</u>                  YTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 775)</p> <p>GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAACGAGAGG                  ACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACACTGT                  GTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTATCTTTCA  <u>GTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTTCCCTGATCGATT</u>                  CTCAGGTCACCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGTGAACGCC                  TTGTTGCTGGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCAGCTTACAGG  <u>ACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTA</u> (SEQ                  ID NO: 776)</p>
PN42386 V $\alpha$	<p>TQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVV  <u>TGGEVKKLKR</u>LTFFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCATNGGSQGNLIF                  GKGTKLSVKP (SEQ ID NO: 777)</p> <p>ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGGGA                  GAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTTTTTTCCAGCTTAC                  AATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCTCCTGGTGACA  <u>GTAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACCTTTCA</u>                  GTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGCGGCCCA                  GCCTGGTGATACAGGCCTTACCTCTGTGCCACTAATGGAGGAAGCCA  <u>AGGAAATCTCATCTTTGGAAAAGGCACTAACTCTCTGTAAACCA</u>                  (SEQ ID NO: 778)</p>
PN42386 V $\beta$	<p>DAGVTQSPHLLIKTRGQVTLRCSPKSGHDTVSWYQQALGQGPQFIFQY  <u>YEEEE</u>RQRGNFPDRFSGHQFPNYSSELNVNALLLGDSALYLC<u>ASSLQDYG</u>                  YTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 779)</p> <p>GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAACGAGAGG                  ACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACACTGT                  GTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTATCTTTCA</p>

[0237]

	<p><u>GTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTTCCTGATCGATT</u>  <u>CTCAGGTCACCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGTGAACGCC</u>  <u>TTGTTGCTGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCAGCTTACAGG</u>  <u>ACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTA</u> (SEQ          ID NO: 780)</p>
PN42441 V $\alpha$	<p><u>DAKTTQPNSMESNEEEPVHLPCNHSTISGTDYIHWYRQLPSQGPEYVIHG</u>  <u>LTSNVNRMASLAI AEDRKSSTLILHRATLRDAAVYYCIRRPNGNQFYFGT</u>  <u>GTSLTVIP</u> (SEQ ID NO: 781)</p> <p><u>GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTCAATGGAGAGTAACGAAGAAGA</u>  <u>GCCTGTTCACTTGCCTTGTAACCACTCCACAATCAGTGGAAGTACTGATTAC</u>  <u>ATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCCAGGGTCCAGAGTACGTGATTC</u>  <u>ATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGGCAATCG</u>  <u>CTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTGCTACCTTGA</u>  <u>GAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCAGGCGGCCCGGTAACCAGTTCTA</u>  <u>TTTTGGGACAGGGACAAGTTTGACGGTCATTCCA</u> (SEQ ID NO: 782)</p>
PN42441 V $\beta$	<p><u>EAQVTQNPRYLITVTGKCLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYYS</u>  <u>MNVEVTDKGDVPEGYKVS RKEKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSLWTGS</u>  <u>EAFGQGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 783)</p> <p><u>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTGG</u>  <u>AAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTATATG</u>  <u>TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTATT</u>  <u>CAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAGGGTACA</u>  <u>AAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCCTGGAGTCGC</u>  <u>CCAGCCCCAACAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTTATGGAC</u>  <u>AGGGTCTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTA</u>          (SEQ ID NO: 784)</p>
PN42442 V $\alpha$	<p><u>TQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVVT</u>  <u>GGEVKKLRKRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCAGGTSPTYKIIF</u>  <u>GTGTRLKVLA</u> (SEQ ID NO: 785)</p> <p><u>ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGGGA</u>  <u>GAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTTTTTCCAGCTTAC</u>  <u>AATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCTCCTGGTGACA</u>  <u>GTAGTTACTGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACCTTTCA</u>  <u>GTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGCGGCCCA</u>  <u>GCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTCTGTGCAGGAGGGACCTCAGGAAC</u>  <u>CTACAAATACATCTTTGGAACAGGCACCAGGCTGAAGGTTTTAGCA</u>          (SEQ ID NO: 786)</p>
PN42442 V $\beta$	<p><u>EAQVTQNPRYLITVTGKCLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYYS</u>  <u>MNVEVTDKGDVPEGYKVS RKEKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSPGTAN</u>  <u>YGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 787)</p> <p><u>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTGG</u>  <u>AAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTATATG</u>  <u>TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTATT</u>  <u>CAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAGGGTACA</u>  <u>AAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCCTGGAGTCGC</u>  <u>CCAGCCCCAACAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGCAGTCCAGGGA</u></p>

[0238]

	<u>CAGCTAACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGT A (SEQ ID NO: 788)</u>
PN42450 V $\alpha$	<u>AQRVTQPEKLLSVFKGAPVELKCNYSYSGSPELFWYVQYSRQRLQLLLR HISRESIKGFTADLNKGETSFHLKKPFAQEEDSAMYYCALGNTDKLIFGTG TRLQVFP (SEQ ID NO: 789)</u>  GCCCAGAGAGTGACTCAGCCCGAGAAGCTCCTCTCTGTCTTTAAAGGG GCCCCAGTGGAGCTGAAGTGCAACTATTCCTATTCTGGGAGTCCTGAA CTCTTCTGGTATGTCCAGTACTCCAGACAACGCCTCCAGTTACTCTTGA GACACATCTCTAGAGAGAGCATCAAAGGCTTCACTGCTGACCTTAACA AAGGCGAGACATCTTTCCACCTGAAGAAACCATTGCTCAAGAGGAA GACTCAGCCATGTATTACTGTGCTCTAGGGAACACCGACAAGTCCATCT TTGGGACTGGGACCAGATTACAAGTCTTTCCA (SEQ ID NO: 790)
PN42450 V $\beta$	<u>DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLCVQMDHENMFWYRQDPGLGLRLIYF SYDVKMKEKGDIPPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLCASSPRTG WYGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 791)</u>  GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAGGACGGGA GAGAAAGTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAAAATATGT TCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGATCTATTTCTC ATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCCTGAGGGGTACAG TGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCTGATTCTGGAGTCCGC CAGACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGTGCCAGCAGTTCGCCCCAG GACAGGGTGGTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGT TGTA (SEQ ID NO: 792)
PN42455 V $\alpha$	<u>DAKTTQPNSMESNEEEPVHLPCNHSTISGTDYIHWYRQLPSQGPEYVIHG LTSNVNRMASLAIAEDRKSSTLILHRSTLRDAAVYYCILRPDSWGKQF GAGTQVVVTP (SEQ ID NO: 793)</u>  GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTCAATGGAGAGTAACGAAGAAGA GCCTGTTCACTTGCCTTGTAACCACTCCACAATCAGTGGAACTGATTAC ATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCCAGGGTCCAGAGTACGTGATTC ATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGGCAATCG CTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTTCTACCTTGA GAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCCTGCGGCCTGACAGCTGGGGGA AATTCCAGTTTGGAGCAGGGACCCAGGTTGTGGTCACCCCA (SEQ ID NO: 794)
PN42455 V $\beta$	<u>DAGVTQSPHLLIKTRGQQVTLRCSPKSGHDTVSWYQQALGQGPQFIFQY YEEEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSSELNVNALLLGDSALYLCASSLVDYG YTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 795)</u>  GACGCTGGAGTCACCCAAAGCCCCACACACCTGATCAAACGAGAGG ACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACACTGT GTCCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCCAGGGGCCCCAGTTTATCTTTCA GTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTCCCTGATCGATT CTCAGGTCACCAAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGTGAACGCC TTGTTGCTGGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCAGCTTGGTG GATTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 796)
PN42476	<u>DAKTTQPNSMESNEEEPVHLPCNHSTISGTDYIHWYRQLPSQGPEYVIHG</u>

[0239]

<p>V<math>\alpha</math></p>	<p><u>LTSNVN</u>NRMASLAI<u>AEDRKS</u>STLILHRSTLRDAAVYYC<u>ILRPDS</u>WGKFQF GAGTQVVVTP (SEQ ID NO: 797)</p> <p>GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTCAATGGAGAGTAACGAAGAAGA GCCTGTTCACTTGCCTTGTAACCACTCC<u>ACAATCAGT</u>GGA<u>ACTGATTAC</u> ATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCCAGGGTCCAGAGTACGTGATTC ATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGGCAATCG CTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTTCTACCTTGA GAGATGCTGCTGTGTACTACTGC<u>ATCCTGCGGCCTGACAGCTGGGGGA</u> <u>AATCCAGTTTGGAGCAGGGACCCAGGTTGTGGTCACCCCA</u> (SEQ ID NO: 798)</p>
<p>PN42476 V<math>\beta</math></p>	<p>EAQVTQSPRYLITVTGKKLTVTCSQN<u>MDHEY</u>MSWYRQDPGLGLRQIYY<u>S</u> <u>MNVEV</u>TDKGDVPEGYKVPRKEKRSFPLILESPCCSQTPLYLC<u>ASSLGGVD</u> <u>ERLSFGSGTQLSVL</u> (SEQ ID NO: 799)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAGCCCAAGATACCTCATCACAGTGACTGG AAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGGACCATGAGTATATG TCCTGGTATCGACAGGACCCGGGGCTGGGCCTAAGGCAGATCTACTAT <u>TCAATGAATGTTGAGGTGACAGATAAGGGAGATGTTCTGAAGGGTAC</u> AAAGTCCCTCGAAAAGAGAAGAGGAGTTTCCCCTGATCCTGGAGTC GCCCTGCTGCAGCCAGACCCCTCTGTACCTCTGT<u>GCCAGCAGTTTAGG</u> <u>GGGCGTGGATGAAAGACTGTCTTTTGGCAGTGGAACCCAGCTCTCCGT</u> CTTG (SEQ ID NO: 800)</p>
<p>PN42483 V<math>\alpha</math></p>	<p>TQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSS<u>VFSSL</u>QWYRQEPGEGPVLLVT<u>VVT</u> <u>GGEV</u>KKLR<sup>L</sup>TFQFGDARKDSSLHITAAQP<sup>G</sup>DTGLYLC<u>AGDGG</u>SQGNLIF GKGTKLSVKP (SEQ ID NO: 801)</p> <p>ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGGGA GAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGT<u>TTTTTCCAGCTTAC</u> AATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCCTCCTGGTGACA <u>GTAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACCTTTCA</u> GTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCAGTGCAGCCCA GCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTCTGTGCAGGGGATGGAGGAAGCCA <u>AGGAAATCTCATCTTTGGAAAAGGCACTAAACTCTCTGTAAACCA</u> (SEQ ID NO: 802)</p>
<p>PN42483 V<math>\beta</math></p>	<p>EAQVTQSPRYLITVTGKKLTVTCSQN<u>MNHEY</u>MSWYRQDPGLGLRQIYY<u>S</u> <u>MNVEV</u>TDKGDVPEGYKVS<sup>R</sup>KEKRN<sup>F</sup>PLILESPSPNQ<sup>T</sup>SLYFC<u>ASSLGGAD</u> <u>EKLFFGSGTQLSVL</u> (SEQ ID NO: 803)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAGCCCAAGATACCTCATCACAGTGACTGG AAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTATATG TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTATT <u>CAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAGGGTACA</u> AAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCCTGGAGTCGC CCAGCCCAACCAGACCTCTCTGTACTTCTGT<u>GCCAGCAGTTTAGGGG</u> <u>GCGCGGATGAAAACTGTTTTTTGGCAGTGGAACCCAGCTCTCTGTCT</u> TG (SEQ ID NO: 804)</p>
<p>PN42496 V<math>\alpha</math></p>	<p>DAKTTQPNSMESNEEPVHLPCNHSTISGTDYIHWYRQLPSQGPEYVIHG <u>LTSNVN</u>NRMASLAI<u>AEDRKS</u>STLILHRATLRDAAVYYC<u>ILGQGAQKLVFG</u> QGTRLTINP (SEQ ID NO: 805)</p>

[0240]

	<p>GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTCAATGGAGAGTAACGAAGAAGA  GCCTGTTCACTTGCCTTGTAACTACTCCACAATCAGTGGAAGTACTGATTAC  ATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCCAGGGTCCAGAGTACGTGATTCC  ATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGGCAATCG  CTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTGCTACCTTGA  GAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCCTGGGTCAGGGAGCCAGAAGC  TGGTATTTGGCCAAGGAACCAGGCTGACTATCAACCCA (SEQ ID NO:  806)</p>
PN42496 Vβ	<p>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYYS  MNVEVTDKGDVPEGYKVSKEKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSLWTGG  GYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 807)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCAAGATACCTCATCACAGTGACTGG  AAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTATATG  TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTAT  CAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAGGGTACA  AAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCCTGGAGTCGC  CCAGCCCAACCAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTTATGGAC  AGGGGGCGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTA  (SEQ ID NO: 808)</p>
PN42498 Vα	<p>TQLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLVTVVT  GGEVKKLRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCAGDGGSQGNLIF  GKGTKLSVKP (SEQ ID NO: 809)</p> <p>ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGGGA  GAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTTTTTTCCAGCTTAC  AATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCTGTCTCCTGGTGACA  GTAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACCTTTCA  GTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGCGGCCCA  GCCTGGTGATACAGGCCTTACCTCTGTGCAGGGGATGGAGGAAGCCA  AGGAAATCTCATCTTTGGAAAAGGCACTAAACTCTCTGTAAACCA  (SEQ ID NO: 810)</p>
PN42498 Vβ	<p>DAGVTQSPHTRGQVTLRCSPKSGHDTVSWYQQALGQGPQFIFQY  YEEEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSSELNVNALLGDSALYLCASSLVDYG  YTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 811)</p> <p>GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCACACACCTGATCAAAAACGAGAGG  ACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACACTGT  GTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTGAGGGGCCCCAGTTTATCTTTCA  GTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTCCCTGATCGATT  CTCAGGTCACCAGTTCCTAATACTATAGCTCTGAGCTGAATGTGAACGCC  TTGTTGCTGGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCAGCTTGGTG  GATTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTA (SEQ  ID NO: 812)</p>
PN42558 Vα	<p>GIQVEQSPDLILQEGANSTLRNFSDSVNNLQWFHQNPWGQLINLFYIPS  GTKQNGRLSATTVATERYSLYISSSQTTDSGVYFCVLGGGSQGNLIFGKG  TKLSVKP (SEQ ID NO: 813)</p> <p>GGAATACAAGTGGAGCAGAGTCCTCCAGACCTGATTCTCCAGGAGGG</p>

[0241]

	<p>AGCCAATTCCACGCTGCGGTGCAATTTTTCTGACTCTGTGAACAATTTG                  CAGTGGTTTCATCAAAAACCCTTGGGGACAGCTCATCAACCTGTTTTACA                  TTCCCTCAGGGACA AAACAGAATGGAAGATTAAGCGCCACGACTGTCG                  CTACGGAACGCTACAGCTTATTGTACATTCCTCTTCCCAGACCACAGA                  CTCAGGCGTTTATTTCTGTGTCTAGGGGGAGGAAGCCAAGGAAATCT                  CATCTTGGAAAAGGCACTAAACTCTCTGTAAACCA (SEQ ID NO:                  814)</p>
PN42558 Vβ	<p>DAGVTQSPHLLIKTRGQVTLRCSKSGHDTVSWYQALGQGPQFIFQY                  YEEEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSSELNVNALLLGDSALYLCASSFTDYG                  YTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 815)</p> <p>GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAAACGAGAGG                  ACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACTGT                  GTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTGAGGGGCCCCAGTTTATCTTTCA                  GTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTTCCCTGATCGATT                  CTCAGGTCACCAGTTCCTAATACTATAGCTCTGAGCTGAATGTGAACGCC                  TTGTTGCTGGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCAGCTTTACAG                  ACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTA (SEQ                  ID NO: 816)</p>
PN42561 Vα	<p>DAKTTQPNMESNEEEPVHLPCNHSTISGTDYIHWYRQLPSQGPEYVIHG                  LTSNVNRMASLAIAEDRKSSTLILHRATLRDAAVYYCILRDGTGNQFYF                  GTGTSLVIP (SEQ ID NO: 817)</p> <p>GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTCAATGGAGAGTAACGAAGAAGA                  GCCTGTTCACTTGCCTTGTAACCACTCCACAATCAGTGGAAGTATTAC                  ATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCCAGGGTCCAGAGTACGTGATTC                  ATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGGCAATCG                  CTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTGCTACCTGA                  GAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCCTGAGAGACGGGACCGGTAACC                  AGTTCTATTTTGGGACAGGGACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID                  NO: 818)</p>
PN42561 Vβ	<p>EAQVTQNPRLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYY                  MNVEVTDKGDVPEGYKVSKEKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSLWTGG                  GYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 819)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAAGATACCTCATCACAGTGACTGG                  AAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTATATG                  TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTAT                  CAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAAGGGTACA                  AAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCCTGATCCTGGAGTCGC                  CCAGCCCCAACAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTTATGGAC                  AGGGGGTGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTA                  (SEQ ID NO: 820)</p>
PN42562 Vα	<p>TQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVV                  GGEVKKLRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCAGGPPSGTYKYIF                  GTGTRLKVLA (SEQ ID NO: 821)</p> <p>ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGGGA                  GAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTTTTTCCAGCTTAC                  AATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCTCTCTGGTGACA</p>

[0242]

	<p><u>GTAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACCTTTCA</u>  <u>GTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGCGGCCCA</u>  <u>GCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTCTGTGCAGGAGGACCCTCAGGAAC</u>  <u>CTACAAATACATCTTTGGAACAGGCACCAGGCTGAAGGTTTTAGCA</u>                  (SEQ ID NO: 822)</p>
PN42562 Vβ	<p><u>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYYS</u>  <u>MNVEVTDKGDVPEGYKVS RKEKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSPGTPN</u>  <u>YGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 823)</p> <p><u>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTGG</u>  <u>AAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTATATG</u>  <u>TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTATT</u>  <u>CAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAGGGTACA</u>  <u>AAGTCTCTGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCCTGATCCTGGAGTCGC</u>  <u>CCAGCCCAACCAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGCAGTCCCGGGA</u>  <u>CACCTA ACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGT</u>  <u>A</u> (SEQ ID NO: 824)</p>
PN42610 Vα	<p><u>QKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRGSQSFFWYRQYSGKSPELIMSIY</u>  <u>SNGDKEDGRFTAQLNKASQYVSLLRDSQPSDSATYLCAGNYGQNFVFGP</u>  <u>GTRLSVLP</u> (SEQ ID NO: 825)</p> <p><u>CAGAAGGAGGTGGAGCAGAATTCTGGACCCCTCAGTGTTCCAGAGGG</u>  <u>AGCCATTGCCTCTCTCAACTGCACTTACAGTGACCGAGGTTCCAGTC</u>  <u>CTTCTTCTGGTACAGACAATATTCTGGGAAAAGCCCTGAGTTGATAATG</u>  <u>TCCATATACTCCAATGGTGACAAAGAAGATGGAAGGTTTACAGCACAG</u>  <u>CTCAATAAAGCCAGCCAGTATGTTTCTCTGCTCATCAGAGACTCCCAGC</u>  <u>CCAGTGATTCAGCCACCTACCTCTGTGCCGGGAACTATGGTCAGAATTT</u>  <u>TGCTTTGGTCCCGGAACCAGATTGTCCGTGCTGCC</u> (SEQ ID NO: 826)</p>
PN42610 Vβ	<p><u>AAGVIQSPRHLIKEKRETATLKCYPPIRHDTVYWYQQGPGDPOFLISFYE</u>  <u>KMQSDKGSIPDRFSAQQFSDYHSELNMSLELGDSALYFCASSIGLNQPQ</u>  <u>HFGDGTRLSIL</u> (SEQ ID NO: 827)</p> <p><u>GCTGCTGGAGTCATCCAGTCCCCAAGACATCTGATCAAAGAAAAGAGG</u>  <u>GAAACAGCCACTCTGAAATGCTATCCTATCCCTAGACACGACTGTCT</u>  <u>ACTGGTACCAGCAGGGTCCAGGTCAGGACCCCCAGTTCCTCATTTCTG</u>  <u>TTTATGAAAAGATGCAGAGCGATAAAGGAAGCATCCCTGATCGATTCTC</u>  <u>AGCTCAACAGTTCAGTGACTATCATTCTGAACTGAACATGAGCTCCTTG</u>  <u>GAGCTGGGGGACTCAGCCCTGTACTTCTGTGCCAGCAGCATCGGACTT</u>  <u>AATCAGCCCCAGCATTTTGGTGATGGGACTCGACTCTCCATCCTA</u> (SEQ                  ID NO: 828)</p>
PN42654 Vα	<p><u>DAKTTQPNSMESNEEPVHLPCNHSTISGTDYIHWYRQLPSQGPEYVIHG</u>  <u>LTSNVNRMASLAIAEDRKSSTLILHRATLRDAAVYYCILRDGIGNQFYFG</u>  <u>TGTSLTVIP</u> (SEQ ID NO: 829)</p> <p><u>GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTCAATGGAGAGTAACGAAGAAGA</u>  <u>GCCTGTTCACTTGCCTTGTAACCACTCCACAATCAGTGGAAGTATTAC</u>  <u>ATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCCAGGGTCCAGAGTACGTGATTC</u>  <u>ATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGGCAATCG</u>  <u>CTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTGCTACCTGA</u>  <u>GAGATGCTGCTGTGTA TACTACTGCATCCTGAGAGACGGCATCGGTAACC</u></p>

[0243]

	<p><u>AGTTCTATTTTGGGACAGGGACAAGTTTGACGGTCATTCCA</u> (SEQ ID NO: 830)</p>
PN42654 Vβ	<p><u>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYYS</u> <u>MNVEVTDKGDVPEGYKVS RKEKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSLWTGG</u> <u>GYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 831)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTGG AAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTATATG TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTATT <u>CAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAGGGTACA</u> AAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCCTGGAGTCGC CCAGCCCAACCAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTTATGGAC <u>AGGGGGAGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTA</u> (SEQ ID NO: 832)</p>
PN42655 Vα	<p><u>DAKTTQPNSMESNEEPPVHLPCNHSTISGTDYIHWYRQLPSQGPEYVIHG</u> <u>LTSNVNRMASLAIAEDRKSSTLILHRSTLRDAAVYYCILRPDSWGKFQF</u> <u>GAGTQVVVTP</u> (SEQ ID NO: 833)</p> <p>GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTCAATGGAGAGTAACGAAGAAGA GCCTGTTCACTTGCCTTGTAACCACTCCACAATCAGTGGAAGTACTGATTAC ATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCCAGGGTCCAGAGTACGTGATTC ATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGGCAATCG CTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTTCTACCTTGA GAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCCTGCGGCCTGACAGCTGGGGGA <u>AATCCAGTTTGAGACAGGGACCCAGGTTGTGGTCAACCCCA</u> (SEQ ID NO: 834)</p>
PN42655 Vβ	<p><u>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYYS</u> <u>MNVEVTDKGDVPEGYKVS RKEKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSLWTGG</u> <u>GYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 835)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTGG AAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTATATG TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTATT <u>CAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAGGGTACA</u> AAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCCTGGAGTCGC CCAGCCCAACCAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTTATGGAC <u>AGGGGGAGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTA</u> (SEQ ID NO: 836)</p>
PN42677 Vα	<p><u>DAKTTQPNSMESNEEPPVHLPCNHSTISGTDYIHWYRQLPSQGPEYVIHG</u> <u>LTSNVNRMASLAIAEDRKSSTLILHRATLRDAAVYYCILRDGTGNQFYF</u> <u>GTGTSLVIP</u> (SEQ ID NO: 837)</p> <p>GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTCAATGGAGAGTAACGAAGAAGA GCCTGTTCACTTGCCTTGTAACCACTCCACAATCAGTGGAAGTACTGATTAC ATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCCAGGGTCCAGAGTACGTGATTC ATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGGCAATCG CTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTGCTACCTTGA GAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCCTGAGAGACGGCACCGGTAACC <u>AGTTCTATTTTGGGACAGGGACAAGTTTGACGGTCATTCCA</u> (SEQ ID NO: 838)</p>

[0244]

<p>PN42677 Vβ</p>	<p><u>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYYS</u> <u>MNVEVTDKGDVPEGYKVSrKEKRNFLILESPSPNQTSlyFCASSTGYY</u> <u>GYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 839)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTGG AAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTATATG TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTATT CAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAGGGTACA AAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCCTGATCCTGGAGTCGC CCAGCCCAACCAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTCGACAG GGTACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTAAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 840)</p>
<p>PN42683 Vα</p>	<p><u>DAKTTQPNSMESNEEPPVHLPCNHSTISGTDYIHWYRQLPSQGPEYVIHG</u> <u>LTSNVNRMASLAIAEDRKSSTLILHRATLRDAAVYYCILRDREYGNKLV</u> <u>FGAGTILRVKS</u> (SEQ ID NO: 841)</p> <p>GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTCATGGAGAGTAACGAAGAAGA GCCTGTTCACTTGCCTTGTAACCACTCCACAATCAGTGGAAGTACTGATTAC ATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCAGGGTCCAGAGTACGTGATTC ATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGGCAATCG CTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTGCTACCTTGA GAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCCTGAGAGACCGGGAATATGGAA ACAACTGGTCTTTGGCGCAGGAACCATTCTGAGAGTCAAGTCC (SEQ ID NO: 842)</p>
<p>PN42683 Vβ</p>	<p><u>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYYS</u> <u>MNVEVTDKGDVPEGYKVSrKEKRNFLILESPSPNQTSlyFCASSLWTGG</u> <u>GYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 843)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTGG AAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTATATG TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTATT CAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAGGGTACA AAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCCTGATCCTGGAGTCGC CCAGCCCAACCAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTTATGGAC AGGGGGCGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTAAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 844)</p>
<p>PN42689 Vα</p>	<p><u>TQLLEQSPQFLSIQEGENLVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVVV</u> <u>GGEVKKLRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCAEDGGSQGNLIF</u> <u>GKGTKLSVKP</u> (SEQ ID NO: 845)</p> <p>ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGGGA GAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTTTTTTCCAGCTTAC AATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCTCCTGGTGACA GTAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACCTTTCA GTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGCGGCCCA GCCTGGTGATACAGGCCTTACCTCTGTGCAGAAGATGGAGGAAGCCA AGGAAATCTCATCTTTGGAAAAGGCACTAAACTCTCTGTAAACCA (SEQ ID NO: 846)</p>
<p>PN42689 Vβ</p>	<p><u>DAGVTQSPHLLIKTRGQQVTLRCSPKSGHDTVSWYQQALGQGPQFIFQY</u> <u>YEEEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSSELNVNALLLGDSALYLCASSLSYDG</u></p>

[0245]

	<p><u>YTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 847)</p> <p>GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAAACGAGAGG  ACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACACTGT  GTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTGAGGGGCCCCAGTTTATCTTTCA  <u>GTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTCCCTGATCGATT</u>  CTCAGGTCACCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGTGAACGCC  TTGTTGCTGGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCAGCTTATCAG  <u>ACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTA</u> (SEQ  ID NO: 848)</p>
PN42706 V $\alpha$	<p><u>GIQVEQSPDLILQEGANSTLRCNFS</u><u>DSVNNLQWFHQNPWGQLINLFYIPS</u>  <u>GTKQNGRLSATTVATERYSLYISSQT</u><u>TDSGVYFC</u><u>AVEASGTYKYIFGTG</u>  <u>TRLKVLA</u> (SEQ ID NO: 849)</p> <p>GGAATACAAGTGGAGCAGAGTCCTCCAGACCTGATTCTCCAGGAGGG  AGCCAATTCCACGCTGCGGTGCAATTTTTCTGACTCTGTGAACAATTTG  CAGTGGTTTCATCAAAACCCTTGGGGACAGCTCATCAACCTGTTTTACA  <u>TTCCCTCAGGGACAAAACAGAATGGAAGATTAAGCGCCACGACTGTGC</u>  CTACGGAACGCTACAGCTTATTGTACATTCCCTCTTCCAGACCACAGA  CTCAGGCGTTTATTTCTGTGCTGTGGAGGCCTCAGGAACCTACAAATAC  <u>ATCTTTGGAACAGGCACCAGGCTGAAGGTTTTAGCA</u> (SEQ ID NO: 850)</p>
PN42706 V $\beta$	<p><u>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYYS</u>  <u>MNVEVTDKGDVPEGYKVS</u><u>RKEKRNFLILESPSPNQTSLYFC</u><u>ASSWGTGG</u>  <u>YGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 851)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTGG  AAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTATATG  TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTAT  <u>CAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAGGGTACA</u>  AAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCCTGGAGTCGC  CCAGCCCAACCAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTGGGGGA  <u>CAGGGGGCTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTG</u>  <u>TA</u> (SEQ ID NO: 852)</p>
PN42707 V $\alpha$	<p><u>GESVGLHPLTSLVQEGDNSIINCAYSNSASDYFIWYKQESGKGPQFIIDIRS</u>  <u>NMDKRQGQRVTVLLNKTVKHL</u><u>SLQIAATQPGDSAVYFC</u><u>AENKRDNYGQ</u>  <u>NFVFGPGRLSVLP</u> (SEQ ID NO: 853)</p> <p>GGAGAGAGTGTGGGGCTGCATCTTCCCTACCCTGAGTGTCCAGGAGGGT  GACAACCTCTATTATCAACTGTGCTTATTCAAACAGCGCCTCAGACTACT  TCATTTGGTACAAGCAAGAATCTGGAAAAGGTCTCAATTCATTATAGA  <u>CATTCGTTCAAATATGGACAAAAGGCAAGGCCAAAGAGTCACCGTTTT</u>  ATTGAATAAGACAGTGAAACATCTCTCTCTGCAAATTGCAGCTACTCAA  CCTGGAGACTCAGCTGTCTACTTTTTGTGCAGAGAATAAGCGGGATAAC  <u>TATGGTCAGAATTTTGTCTTTGGTCCC</u><u>GGAACCAGATTGTCCGTGCTGC</u>  <u>CC</u> (SEQ ID NO: 854)</p>
PN42707 V $\beta$	<p><u>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYYS</u>  <u>MNVEVTDKGDVPEGYKVS</u><u>RKEKRNFLILESPSPNQTSLYFC</u><u>ASSFWVNT</u>  <u>EAFFGQGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 855)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTGG</p>

[0246]

	<p>AAAGAAGTTAACAGTGACTTGTTCAGAAATATGAACCATGAGTATATG  TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTATT  CAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAGGGTACA  AAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCCTGGAGTCGC  CCAGCCCCAACAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTTCTGGG  TGAACACTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTA  (SEQ ID NO: 856)</p>
PN42711 V $\alpha$	<p>GIQVEQSPDLILQEGVNSTLRNFSVNNLQWFHQNPWGQLINLFYIPS  GTKQNGRLSATTVATERYSLLYISSRRTDSDGVYFCAVGSSNGYKLSFGAG  TTVTVRA (SEQ ID NO: 857)</p> <p>GGAATACAAGTGGAGCAGAGTCCTCCAGACCTGATTCTCCAGGAGGG  AGTCAATTCACGCTGCGGTGCAATTTTTCTGACTCTGTGAACAATTTG  CAGTGGTTTCATCAAAACCCTTGGGGACAGCTCATCAACCTGTTTTACA  TTCCCTCAGGGACAAAACAGAATGGAAGATTAAGCGCCACGACTGTG  GCTACGGAACGCTACAGCTTATTGTACATTTCTCTTCCCGGACCACAG  ACTCAGGCGTTTATTTCTGTGCTGTGGGGAGTTCTAACGGCTACAAGCT  CAGCTTTGGAGCTGGAACCACAGTAACTGTAAGAGCA (SEQ ID NO:  858)</p>
PN42711 V $\beta$	<p>EAQVTQNPRLITVTGKCLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYYS  MNVEVTDKGDVPEGYKVSKEKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSPGTGG  FSPLHFGNGTRLTVT (SEQ ID NO: 859)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTGG  AAAGAAGTTAACAGTGACTTGTTCAGAAATATGAACCATGAGTATATG  TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTATT  CAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAGGGTACA  AAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCCTGGAGTCGC  CCAGCCCCAACAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGCAGTCCCGGGA  CAGGGGATTTTACCCTCCACTTTGGGAACGGGACCAGGCTCACTG  TGACA (SEQ ID NO: 860)</p>
PN42712 V $\alpha$	<p>GIQVEQSPDLILQEGANSTLRNFSVNNLQWFHQNPWGQLINLFYIPS  GTKQNGRLSATTVATERYSLLYISSQTDDSDGVYFCAVGSSNDYKLSFGAG  TTVTVRA (SEQ ID NO: 861)</p> <p>GGAATACAAGTGGAGCAGAGTCCTCCAGACCTGATTCTCCAGGAGGG  AGCCAATTCACGCTGCGGTGCAATTTTTCTGACTCTGTGAACAATTTG  CAGTGGTTTCATCAAAACCCTTGGGGACAGCTCATCAACCTGTTTTACA  TTCCCTCAGGGACAAAACAGAATGGAAGATTAAGCGCCACGACTGTG  CTACGGAACGCTACAGCTTATTGTACATTTCTCTTCCAGACCACAGA  CTCAGGCGTTTATTTCTGTGCTGTGGGGAGTTCTAACGACTACAAGCTC  AGCTTTGGAGCCGGAACCACAGTAACTGTAAGAGCA (SEQ ID NO: 862)</p>
PN42712 V $\beta$	<p>EAQVTQNPRLITVTGKCLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYYS  MNVEVTDKGDVPEGYKVSKEKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSPGTGG  FSPLHFGNGTRLTVT (SEQ ID NO: 863)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTGG  AAAGAAGTTAACAGTGACTTGTTCAGAAATATGAACCATGAGTATATG  TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTATT  CAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAGGGTACA</p>

[0247]

	<p>AAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCCTGGAGTCGC  CCAGCCCCAACAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGCAGTCCCGGGA  CAGGGGATTTTCACCCCTCCACTTTGGGAACGGGACCAGGCTCACTG  TGACA (SEQ ID NO: 864)</p>
PN42746 V $\alpha$	<p>GESVGLHLPTLSVQEGDNSIINCAYSNSASDYFIWYKQESGKGPQFIIDIRS  NMDKRQGQRVTVLLNKTVKHLSLQIAATQPGDSAVYFC AENRQDNYGQ  NFVFGPGTRLSVLP (SEQ ID NO: 865)</p> <p>GGAGAGAGTGTGGGGCTGCATCTTCTACCCTGAGTGTCCAGGAGGGT  GACAACCTATTATCAACTGTGCTTATTCAAACAGCGCCTCAGACTACT  TCATTTGGTACAAGCAAGAATCTGGAAAAGGTCCTCAATTCATTATAGA  CATTCGTTCAAATATGGACAAAAGGCCAAGGCCAAAGAGTCACCGTTTT  ATTGAATAAGACAGTGAACATCTCTCTGCAAAATTGCAGTACTCAA  CCTGGAGACTCAGCTGTCTACTTTTGTGCAGAGAATAGGCAGGATAAC  TATGGTCAGAATTTTGTCTTTGGTCCCAGGACCAGATTGTCCGTGCTGC  CC (SEQ ID NO: 866)</p>
PN42746 V $\beta$	<p>EAQVTQNPRLITVTGKCLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYYS  MNVEVTDKGDVPEGYKVS RKEKRNFLILESPSPNQTSLYFC ASSLWVNT  EAFFGQGTRLTVV (SEQ ID NO: 867)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTGG  AAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTATATG  TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTATT  CAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAGGGTACA  AAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCCTGGAGTCGC  CCAGCCCCAACAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTTATGGGT  TAACACTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTA  (SEQ ID NO: 868)</p>
PN42750 V $\alpha$	<p>DAKTTQPNSMESNEEPVHLPCNHSTISGTDYIHWYRQLPSQGPEYVIHG  LTSNVNRMASLAIAEDRKSSTLILHRSTLRDAAVYYCILRPDSWGKFQF  GAGTQVVVTP (SEQ ID NO: 869)</p> <p>GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTCAATGGAGAGTAACGAAGAAGA  GCCTGTTCACTTGCCTTGTAACCACTCCACAATCAGTGGAAGTACTGATTAC  ATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCCAGGGTCCAGAGTACGTGATTCC  ATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGGCAATCG  CTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTTCTACCTTGA  GAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCCTGCGGCCTGACAGCTGGGGGA  AGTTCCAGTTTGGAGCAGGGACCCAGGTTGTGGTCCACCCCA (SEQ ID  NO: 870)</p>
PN42750 V $\beta$	<p>DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLIYF  SYDVKMKEKGDIP EGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLCASSTVRQ  GNYGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 871)</p> <p>GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAGGACGGGA  GAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAAAATATGT  TCTGGTATCGACAAGACCCAGGCTGGGGCTACGGCTGATCTATTTCTC  ATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCCTGAGGGGTACAG  TGCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCTGATTCTGGAGTCCGC  CAGACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGTGCCAGCAGTACCGTGAG</p>

[0248]

	<p><u>GCAGGGGA</u>ACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGT TGTA (SEQ ID NO: 872)</p>
PN42762 V $\alpha$	<p>DAKTTQPNSMESNEEEPVHLPCNHSTISGTDYIHWYRQLPSQGPEYVIHG <u>LTSN</u>VNNRMASLAI AEDRKSSTLILHRATLRDAAVYYC<u>ILNTGTASKLTFG</u> TGTRLQVTL (SEQ ID NO: 873)</p> <p>GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTCAATGGAGAGTAACGAAGAAGA GCCTGTTCACTTGCCTTGTAACCACTCC<u>ACAATCAGTGGA</u>ACTGATTAC ATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCCAGGGTCCAGAGTACGTGATTC ATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGGCAATCG CTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTGCTACCTTGA GAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCCTGAATACCGGCACTGCCAGTAA <u>ACTCACCTTTGGG</u>ACTGGAACAAGACTTCAGGTCACGCTC (SEQ ID NO: 874)</p>
PN42762 V $\beta$	<p>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYYS <u>MNVEV</u>TDKGDVPEGYKVS RKEKRNFLILESPSPNQTSLYFC<u>ASSLSSNTE</u> AFGQGTRLTVV (SEQ ID NO: 875)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTGG AAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTATATG TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTATT <u>CAATGAATGTTGAGGTG</u>ACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAGGGTACA AAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCCTGGAGTCGC CCAGCCCCAACAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTTATCGTC <u>GAACACTGAAGCTTTCTTTGG</u>ACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 876)</p>
PN42774 V $\alpha$	<p>QKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYS<u>DRGSQS</u>FFWYRQYSGKSPELIMSIY <u>SNGDKEDGRFTAQLNKASQYV</u>SLLRDSQPSDSATYLC<u>AVNRGTDKLIFG</u> TGTRLQVFP (SEQ ID NO: 877)</p> <p>CAGAAGGAGGTGGAGCAGAATTCTGGACCCCTCAGTGTTCCAGAGGG AGCCATTGCCTCTCTCAACTGCACTTACAGTGACCGAGGTTCCCAGTC <u>CTTCTTCTGGTACAGACA</u>AATATTCTGGGAAAAGCCCTGAGTTGATAATG TCCATATACTCCAATGGTGACA AAGAAGATGGAAGGTTTACAGCACAG CTCATAAAGCCAGCCAGTATGTTTCTCTGCTCATCAGAGACTCCCAGC CCAGTGATCAGCCACCTACCTCTGTGCCGTGAACAGAGGCACCGACA <u>AGCTCATCTTTGGG</u>ACTGGGACCAGATTACAAGTCTTTCCA (SEQ ID NO: 878)</p>
PN42774 V $\beta$	<p>DAGVTQSPHLLIKTRGQQVTLRCSPK<u>SGHDT</u>VSWYQQALGQGPQFIFQY <u>YEEEE</u>RQRGNFPDRFSGHQFPNYSSELNVNALLLGDSALYLC<u>ASSWTDY</u> GYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 879)</p> <p>GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAAACGAGAGG ACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACTGT GTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCCAGGGGCCCCAGTTTATCTTTCA <u>GTATTATGAGGAGGAAGAG</u>AGACAGAGAGGCAACTCCCTGATCGATT CTCAGGTCACCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGTAACGCC TTGTTGCTGGGGACTCGGCCCTATCTCTGTGCCAGCAGCTGGACA <u>GA</u>CTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 880)</p>

[0249]

<p>PN42776 V<math>\alpha</math></p>	<p><u>DAKTTQPNSMESNEEEPVHLPCNHSTISGTDYIHWYRQLPSQGPEYVIHG</u> <u>LTSNVNRMASLAIAEDRKSSTLILHRSTLRDAAVYYCILRPDSWGKFQF</u> GAGTQVVVTP (SEQ ID NO: 881)</p> <p>GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTCAATGGAGAGTAACGAAGAAGA GCCTGTTCACTTGCCTTGTAACCACTCC<u>ACAATCAGTGGA</u>ACTGATTAC ATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCCAGGGTCCAGAGTACGTGATT ATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGGCAATCG CTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTTCTACCTTGA GAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCCTGCGGCCTGACAGCTGGGGGA <u>AATCCAGTTTGAGCAGGGACCCAGGTTGTGGTCACCCCA</u> (SEQ ID NO: 882)</p>
<p>PN42776 V<math>\beta</math></p>	<p><u>DAGVTQSPTHLIKTRGQQVTLRCSKSGHDTVSWYQQALGQGPQFIFQY</u> <u>YEEEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSSELNVNALLGDSALYLCASSWTDY</u> <u>GTYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 883)</p> <p>GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAACGAGAGG ACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACACTGT GTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTGAGGGGCCCCAGTTTATCTTTCA <u>GTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTTCCCTGATCGATT</u> <u>CTCAGGTCACCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGTGAACGCC</u> <u>TTGTTGCTGGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCAGCTGGACA</u> <u>GACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTA</u> (SEQ ID NO: 884)</p>
<p>PN42780 V<math>\alpha</math></p>	<p><u>TQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVV</u> <u>GGEVKKLRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPAGDTGLYLCAGGTSPTYKYIF</u> <u>GTGTRLKVLA</u> (SEQ ID NO: 885)</p> <p>ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGGGA GAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTTTTTTCCAGCTTAC AATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCCTCCTGGTGACA <u>GTAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACCTTTCA</u> <u>GTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGCGGCCCA</u> <u>GCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTCTGTGCAGGAGGAACCTCAGGAAC</u> <u>CTACAAATACATCTTTGGAACAGGCACCAGGCTGAAGTTTTAGCA</u> (SEQ ID NO: 886)</p>
<p>PN42780 V<math>\beta</math></p>	<p><u>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYYS</u> <u>MNVEVTDKGDVPEGYKVSKEKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSPGTPN</u> <u>YGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 887)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTGG AAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTATATG TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTATT <u>CAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAGGGTACA</u> <u>AAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCCTGATCCTGGAGTCGC</u> <u>CCAGCCCAACCAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGCAGTCCCGGGA</u> <u>CACCCA</u>ACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTG TA (SEQ ID NO: 888)</p>
<p>PN42795 V<math>\alpha</math></p>	<p><u>RKEVEQDPGPFNVPEGATVAFNCTYSNSASQSFFWYRQDCRKEPKLLMS</u> <u>VYSSGNEDGRFTAQLNRSQYISLLIRDSKLSDSATYLCVVNGGSQGNLIF</u></p>

[0250]

	<p>GKGTKLSVKP (SEQ ID NO: 889)</p> <p>CGGAAGGAGGTGGAGCAGGATCCTGGACCCTTCAATGTTCCAGAGGG  AGCCACTGTCGCTTCAACTGTACTTACAGCAACAGTGCTTCTCAGTCT  TTCTTCTGGTACAGACAGGATTGCAGGAAAGAACCTAAGTTGCTGATG  TCCGTATACTCCAGTGGTAATGAAGATGGAAGGTTTACAGCACAGCTC  AATAGAGCCAGCCAGTATATTTCCCTGCTCATCAGAGACTCCAAGCTCA  GTGATTCAGCCACCTACCTCTGTGTGGTGAATGGAGGAAGCCAAGGAA  ATCTCATCTTTGGAAAAGGCACTAAACTCTCTGTAAACCA (SEQ ID  NO: 890)</p>
PN42795 Vβ	<p>DAGVTQSPHLLIKTRGQVTLRCSPKSGHDTVSWYQQALGQGPQFIFQY  YEEEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSSELNVNALLLGDALYLCASSVGDYQ  YTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 891)</p> <p>GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAACGAGAGG  ACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACACTGT  GTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTGAGGGGCCCCAGTTTATCTTTCA  GTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTTCCCTGATCGATT  CTCAGGTCACCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGTGAACGCC  TTGTTGCTGGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCAGCGTAGGG  GACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCCTTGTGTA  (SEQ ID NO: 892)</p>
PN42815 Vα	<p>GESVGLHLPVLSVQEGDNSIINCAYSNSASDYFIWYKQESGKGPQFIIDIRS  NMDKRQGRVTVLLNKTVKHLSLQIAATQPGDSAVYFCAENNYGQNFV  FGPGTRLSVLP (SEQ ID NO: 893)</p> <p>GGAGAGAGTGTGGGGCTGCATCTTCTACCCTGAGTGTCCAGGAGGGT  GACAACCTCTATTATCAACTGTGCTTATTCAAACAGCGCCTCAGACTACT  TCATTTGGTACAAGCAAGAATCTGGAAAAGGTCCTCAATTCATTATAGA  CATTCTGTTCAAATATGGACAAAAGGCAAGGCCAAAGAGTCCACCGTTTT  ATTGAATAAGACAGTGAACATCTCTCTCTGCAAATTGCAGCTACTCAA  CCTGGAGACTCAGCTGTCTACTTTTGTGAGAGAACTATGGTCCAG  AATTTGTCTTTGGTCCCGGAACCAGATTGTCCGTGCTGCC (SEQ ID  NO: 894)</p>
PN42815 Vβ	<p>EAQVTQNPRLITVTGKCLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYYS  MNVEVTDKGDVPEGYKVSRRKEKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSLWDSS  PLHFGNGTRLTVT (SEQ ID NO: 895)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAAGATACCTCATCACAGTGACTGG  AAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTATATG  TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTATT  CAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAAGGGTACA  AAGTCTCTCGAAAAGAGAAGGAATTTCCCCCTGATCCTGGAGTCGC  CCAGCCCAACCAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTTATGGG  ACAGTTCACCCCTCCACTTTGGGAACGGGACCAGGCTCACTGTGACA  (SEQ ID NO: 896)</p>
PN42826 Vα	<p>DQVVKQNSPVLVQEGRISILNCDYTNMFMFDYFLWYKKYPAEGPTFLISIS  SIKDKNEDGRFTVFLNKSALHLSLHIVPSQPGDSAVYFCAASAGSARQLTF  GSGTQLTVLP (SEQ ID NO: 897)</p>

[0251]

	<p>GACCAGCAAGTTAAGCAAATTCCACATCCCTGAGCGTCCAGGAAGG  AAGAATTTCTATTCTGAACTGTGACTATACTAACAGCATGTTTGATTAT  TCCTATGGTACAAAAAATACCCTGCTGAAGGTCCTACATTCCTGATATC  TATAAGTTCCATTAAGGATAAAAATGAAGATGGAAGATTCACTGTTTTTC  TTAAACAAAAGTGCCAAGCACCTCTCTCTGCACATTGTGCCCTCCCAG  CCTGGAGACTCTGCAGTGTACTTCTGTGCAGCAAGCGCCGGTTCTGCA  AGGCAACTGACCTTTGGATCTGGGACACAATTGACTGTTTTACCT (SEQ  ID NO: 898)</p>
PN42826 Vβ	<p>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYYS  MNVEVTDKGDVPEGYKVSRRKEKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSLYTHT  EAFGGQGTRLTVV (SEQ ID NO: 899)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTGG  AAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTATATG  TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTATT  CAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAAGGTACA  AAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCCTGATCCTGGAGTCGC  CCAGCCCCAACAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTTATACAC  CCACACTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTA  (SEQ ID NO: 900)</p>
PN42833 Vα	<p>DAKTTQPPSMDCAEGRAANLPCNHSTISGNEYVYWYRQIHSQGPQYIIHG  LKNNETNEMASLIHEDRKSSTLILPHATLRDRTAVYYCIVRDTTSGTYKYIF  GTGTRLKVLA (SEQ ID NO: 901)</p> <p>GATGCTAAGACCACCCAGCCCCCTCCATGGATTGCGCTGAAGGAAGA  GCTGCAAACCTGCCTTGTAATCACTCTACCATCAGTGAAATGAGTATG  TGTATTGGTATCGACAGATTCCTCCAGGGCCACAGTATATCATTAT  GGTCTAAAAACAATGAAACCAATGAAATGGCCTCTCTGATCATCACA  GAAGACAGAAAGTCCAGCACCTTGATCCTGCCCCACGCTACGCTGAGA  GACTGCTGTGTACTATTGCATCGTCAGAGACACTACCTCAGGAACCT  ACAAATACATCTTTGGAACAGGCACCAGGCTGAAGGTTTTAGCA (SEQ  ID NO: 902)</p>
PN42833 Vβ	<p>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYYS  MNVEVTDKGDVPEGYKVSRRKEKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSLSTGF  SPLHFGNGTRLTVT (SEQ ID NO: 903)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTGG  AAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTATATG  TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTATT  CAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAAGGTACA  AAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCCTGATCCTGGAGTCGC  CCAGCCCCAACAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTTATCCTC  GACAGGTTTTTACCCCTCCACTTTGGGAACGGGACCAGGCTCACTGT  GACA (SEQ ID NO: 904)</p>
PN42840 Vα	<p>TQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVVV  GGEVKKLRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLC AEGGGSQGNLIF  GKGTKLSVKP (SEQ ID NO: 905)</p> <p>ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGGGA  GAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTTTTTCCAGCTTAC</p>

[0252]

	<p>AATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCCTCCTGGTGACA  G<u>TAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACCTTTCA</u>  GTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGCGGCCCA  GCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTCTGTGCAGAGGGGGGAGGAAGCC  AAGGAAATCTCATCTTTGGAAAAGGCACTAAACTCTCTGTAAACCA  (SEQ ID NO: 906)</p>
PN42840 Vβ	<p>DAGVTQSPHLLIKTRGQVTLRCSPKSGHDTVSWYQQALGQGPQFIFQY  Y<u>EEEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSSELNVNALLLGDSALYLCASSWTDY</u>  GYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 907)</p> <p>GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCACACACCTGATCAAAACGAGAGG  ACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACACTGT  GTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTGAGGGGCCCCAGTTTATCTTTCA  G<u>TATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTTCCTGATCGATT</u>  CTCAGGTCACCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGTGAACGCC  TTGTTGCTGGGGACTCGGCCCTATCTCTGTGCCAGCAGCTGGACA  GACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTA (SEQ  ID NO: 908)</p>
PN42845 Vα	<p>TQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVVV  G<u>GEVKKLRKRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCAGIRSNDYKLSF</u>  GAGTTVTVRA (SEQ ID NO: 909)</p> <p>ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGGGA  GAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTTTTTTCCAGCTTAC  AATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCCTCCTGGTGACA  G<u>TAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACCTTTCA</u>  GTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGCGGCCCA  GCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTCTGTGCAGGGATACGTTCTAACGCAC  TACAAGCTCAGCTTTGGAGCCGGAACCACAGTAAGTGAAGAGCA  (SEQ ID NO: 910)</p>
PN42845 Vβ	<p>EAQVTQNPRYLITVTGKLLVTVCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYYS  M<u>NVEVTDKGDVPEGYKVS</u>RKEKRNPLILESPSPNQTSLYFCASSSWTAH  TEAFGQGTRLTVV (SEQ ID NO: 911)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCAAGATACCTCATCACAGTGACTGG  AAAGAAGTTAACAGTACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTATATG  TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTATT  CAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAAGGTACA  AAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCCTGATCCTGGAGTCGC  CCAGCCCCAACAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTCCTGGA  CAGCCCACTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGTTG  TA (SEQ ID NO: 912)</p>
PN42870 Vα	<p>TQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVVV  G<u>GEVKKLRKRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLC</u>AENSGGGADGL  TFGKGTHLIIQP (SEQ ID NO: 913)</p> <p>ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGGGA  GAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTTTTTTCCAGCTTAC  AATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCCTCCTGGTGACA  G<u>TAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACCTTTCA</u></p>

[0253]

	<p>GTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGCGGCCCA GCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTCTGTGCAGAAAATTTCAGGAGGAGG TGCTGACGGACTCACCTTTGGCAAAGGGACTCATCTAATCATCCAGCC C (SEQ ID NO: 914)</p>
PN42870 Vβ	<p>DAGVTQSPHLLIKTRGQQVTLRCSFKSGHDTVSWYQQALGQGPQFIFQY YEEEEQRGNFPDRFSGHQFPNYSSELNVNALLGDSALYLCASSFTDYG YTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 915)</p> <p>GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAAACGAGAGG ACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACACTGT GTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCAGGGGGCCCCAGTTTATCTTTCA GTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTTCCCTGATCGATT CTCAGGTCACCAAGTTCCTAATACTATAGCTCTGAGCTGAATGTGAACGCC TTGTTGCTGGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCAGCTTCACA GACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCCTTGTA (SEQ ID NO: 916)</p>
PN42879 Vα	<p>TQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVVV GGEVKKLRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCAGEDFGNEKLT GTGTRLTIIP (SEQ ID NO: 917)</p> <p>ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGTCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGGGA GAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTTTTTTCCAGCTTAC AATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCTCCTGGTGACA GTAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACCTTTCA GTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGCGGCCCA GCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTCTGTGCAGGAGAGGACTTTGGAAA TGAGAAATTAACCTTTGGGACTGGAACAAGACTCACCATCATACCC (SEQ ID NO: 918)</p>
PN42879 Vβ	<p>DAGVTQSPHLLIKTRGQQVTLRCSFKSGHDTVSWYQQALGQGPQFIFQY YEEEEQRGNFPDRFSGHQFPNYSSELNVNALLGDSALYLCASSWADY GYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 919)</p> <p>GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAAACGAGAGG ACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACACTGT GTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCAGGGGGCCCCAGTTTATCTTTCA GTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTTCCCTGATCGATT CTCAGGTCACCAAGTTCCTAATACTATAGCTCTGAGCTGAATGTGAACGCC TTGTTGCTGGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCAGCTGGGCG GATTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCCTTGTA (SEQ ID NO: 920)</p>
PN42888 Vα	<p>ILNVEQSPQSLHVQEGDSTNFTCSFPSSNFYALHWYRWETAKSPEALFVM TLNGDEKKKGRISATLNTKEGYSYLYIKGSQPEDSATYLC AFLTGNQFYF GTGTSLTVIP (SEQ ID NO: 921)</p> <p>ATACTGAACGTGGAACAAAGTCCCTCAGTCACTGCATGTTTCAGGAGGGA GACAGCACCAATTTACCTGCAGCTTCCCTTCCAGCAATTTTTATGCCT TACTGTTACAGATGGGAAACTGCAAAAAGCCCCGAGGCCTTGTTTG TAATGACTTTAAATGGGGATGAAAAGAAGAAAGGACGAATAAGTGCCA CTCTTAATACCAAGGAGGGTTACAGCTATTTGTACATCAAAGGATCCCA GCCTGAAGACTCAGCCACATACTCTGTGCCTTTCTCACC GGTAACCA</p>

[0254]

	<u>GTTCTATTTTGGGACAGGGACAAGTTTGACGGTCATTCCA</u> (SEQ ID NO: 922)
PN42888 Vβ	<u>DVKVTQSSRYLVKRTGKVFLECVQMDHENMFWYRQDPGLGLRLIYF</u> <u>SYDVKMKEKGDIPGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLICASSTVRQ</u> <u>GNYGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 923)  GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAGGACGGGA GAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAAAATATGT TCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGATCTATTTCTC <u>ATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCCTGAGGGGTACAG</u> TGCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCTGATTCTGGAGTCCGC CAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGTGCCAGCAGTACCGTGAG <u>GCAGGGGA</u> ACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGT TGTA (SEQ ID NO: 924)
PN42895 Vα	<u>DQQVKQSSPSLSVQEGRISILNCDYTNSMFDYFLWYKKYPAEGPTFLISIS</u> <u>SIKDKNEDGRFTVFLNKS</u> AKHLSLHIVPSQPGDSAVYFC <u>AASAGSARQLTF</u> <u>GSGTQLTVLP</u> (SEQ ID NO: 925)  GACCAGCAAGTTAAGCAAAGTTCACCATCCCTGAGCGTCCAGGAAGG AAGAATTTCTATTCTGAACTGTGACTATACTAACAGCATGTTTGATTATT TCCTATGGTACAAAAAATACCCTGCTGAAGGTCCTACATTCCTGATATC <u>TATAAGTTCCATTAAGGATAAAAATGAAGATGGAAGATTC</u> ACTGTTTTC TTAAACAAAAGTGCCAAGCACCTCTCTCTGCACATTGTGCCCTCCCAG CCTGGAGACTCTGCAGTGTACTTCTGTGCAGCAAGCGCCGTTCTGCA <u>AGGCAACTGACCTTTGGATCTGGGACACAATTGACTGTTTTACCT</u> (SEQ ID NO: 926)
PN42895 Vβ	<u>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYY</u> <u>MNVEVTDKGDVPEGYKVS</u> RKEKRNFLILESPSPNQTS <u>SLYFCASSLWSNT</u> <u>EAFFGQGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 927)  GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTACTGG AAAGAAGTTAACAGTACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTATATG TCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCTACTAT <u>CAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAAGGGTACA</u> AAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCCTGGAGTCGC CCAGCCCCAACCAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTTATGGTC <u>GAACACTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTA</u> (SEQ ID NO: 928)

[0255] 表9:对PRAME (312-320) /HLA-A2具特异性的VelociT TCR的α链和β链的可变(V)区和连接(J)区基因家族

[0256]

TCR ID	Vβ	Jβ	Vα	Ja
PN46909	6-6	1-1	38-1	26
PN46889	6-2	1-1	12-2	11
PN46733	6-1	1-1	13-2	26
PN46723	5-5	1-4	20-1	42
PN46714	5-5	1-6	20-1	42
PN46735	5-5	1-2	26-2	45

[0257]

PN46678	5-5	1-4	19-1	18
PN46884	28-1	1-3	19-1	34
PN46914	28-1	1-5	19-1	23
PN46883	18-1	1-1	19-1	34
PN46857	18-1	1-1	19-1	47
PN46880	18-1	1-1	16-1	6
PN46871	13-1	1-5	21-1	24
PN46853	13-1	1-5	24-1	37
PN46731	13-1	1-1	13-1	26
PN46777	10-2	1-2	38-1	47
PN46797	10-2	1-2	38-1	47
PN46738	10-2	1-2	38-1	45

[0258] 表10:对PRAME (425-433)/HLA-A2特异性的VelociT TCR的 $\alpha$ 链和 $\beta$ 链的可变(v)和连接(J)区基因家族

[0259]

TCR ID	Vb	Jb	Va	Ja
PN42365	5-6	1-2	27-1	42-1
PN42879	5-6	1-2	27-1	48-1
PN42774	5-6	1-2	12-2	34-1
PN42498	5-6	1-2	27-1	42-1
PN42558	5-6	1-2	22-1	42-1
PN42386	5-6	1-2	27-1	42-1
PN42378	5-6	1-2	26-2	24-1
PN42776	5-6	1-2	26-2	24-1
PN42455	5-6	1-2	26-2	24-1
PN42840	5-6	1-2	27-1	42-1
PN42795	5-6	1-2	12-1	42-1
PN42870	5-6	1-2	27-1	45-1
PN42689	5-6	1-2	27-1	42-1
PN42888	28-1	1-2	24-1	49-1
PN42450	28-1	1-2	16-1	34-1
PN42750	28-1	1-2	26-2	24-1
PN42562	27-1	1-2	27-1	40-1
PN42483	27-1	1-4	27-1	42-1
PN42712	27-1	1-6	22-1	20-1
PN42561	27-1	1-2	26-2	49-1
PN42442	27-1	1-2	27-1	40-1
PN42476	27-1	1-4	26-2	24-1
PN42496	27-1	1-2	26-2	54-1
PN42655	27-1	1-2	26-2	24-1
PN42677	27-1	1-2	26-2	49-1
PN42706	27-1	1-2	22-1	40-1
PN42654	27-1	1-2	26-2	49-1
PN42441	27-1	1-1	26-2	49-1
PN42683	27-1	1-2	26-2	47-1
PN42845	27-1	1-1	27-1	20-1
PN42826	27-1	1-1	29/DV5	22-1
PN42707	27-1	1-1	13-2	26-1

[0260]

PN42833	27-1	1-6	26-1	40-1
PN42762	27-1	1-1	26-2	44-1
PN42780	27-1	1-2	27-1	40-1
PN42746	27-1	1-1	13-2	26-1
PN42815	27-1	1-6	13-2	26-1
PN42711	27-1	1-6	22-1	20-1
PN42895	27-1	1-1	29/DV5	22-1
PN42610	13-1	1-5	12-2	26-1

[0261] 表11:用PRAME (312-320) 鉴定的TCR $\alpha$ 和 $\beta$ 可变链和CDR的氨基酸序列标识符和多核苷酸序列标识符。

[0262]

TCR ID	氨基酸序列									多核酸序列								
	$\alpha$ CDR					$\beta$ CDR				$\alpha$ CDR					$\beta$ CDR			
	V $\alpha$	CDR1	CDR2	CDR3	V $\beta$	CDR1	CDR2	CDR3	V $\alpha$	CDR1	CDR2	CDR3	V $\beta$	CDR1	CDR2	CDR3		
	SEQ ID NO:									SEQ ID NO:								
PN46678	217	1	2	3	219	4	5	6	218	109	110	111	220	112	113	114		
PN46714	221	7	8	9	223	10	11	12	222	115	116	117	224	118	119	120		
PN46723	225	13	14	15	227	16	17	18	226	121	122	123	228	124	125	126		
PN46731	229	19	20	21	231	22	23	24	230	127	128	129	232	130	131	132		
PN46733	233	25	26	27	235	28	29	30	234	133	134	135	236	136	137	138		
PN46735	237	31	32	33	239	34	35	36	238	139	140	141	240	142	143	144		
PN46738	241	37	38	39	243	40	41	42	242	145	146	147	244	148	149	150		
PN46777	245	43	44	45	247	46	47	48	246	151	152	153	248	154	155	156		
PN46797	249	49	50	51	251	52	53	54	250	157	158	159	252	160	161	162		
PN46853	253	55	56	57	255	58	59	60	254	163	164	165	256	166	167	168		
PN46857	257	61	62	63	259	64	65	66	258	169	170	171	260	172	173	174		
PN46871	261	67	68	69	263	70	71	72	262	175	176	177	264	178	179	180		
PN46880	265	73	74	75	267	76	77	78	266	181	182	183	268	184	185	186		
PN46883	269	79	80	81	271	82	83	84	270	187	188	189	272	190	191	192		
PN46884	273	85	86	87	275	88	89	90	274	193	194	195	276	196	197	198		
PN46889	277	91	92	93	279	94	95	96	278	199	200	201	280	202	203	204		
PN46909	281	97	98	99	283	100	101	102	282	205	206	207	284	208	209	210		
PN46914	285	103	104	105	287	106	107	108	286	211	212	213	288	214	215	216		

[0263] 表12:用PRAME (425-433) 鉴定的TCR  $\alpha$ 和 $\beta$ 可变链和CDR的氨基酸序列标识符和多核苷酸序列标识符。

[0264]

TCR ID	氨基酸序列									多核酸序列								
	$\alpha$ CDR					$\beta$ CDR				$\alpha$ CDR					$\beta$ CDR			
	V $\alpha$	CDR1	CDR2	CDR3	V $\beta$	CDR1	CDR2	CDR3	V $\alpha$	CDR1	CDR2	CDR3	V $\beta$	CDR1	CDR2	CDR3		
	SEQ ID NO:									SEQ ID NO:								
PN42365	769	289	290	291	771	292	293	294	770	529	530	531	772	532	533	534		
PN42378	773	295	296	297	775	298	299	300	774	535	536	537	776	538	539	540		
PN42386	777	301	302	303	779	304	305	306	778	541	542	543	780	544	545	546		
PN42441	781	307	308	309	783	310	311	312	782	547	548	549	784	550	551	552		
PN42442	785	313	314	315	787	316	317	318	786	553	554	555	788	556	557	558		
PN42450	789	319	320	321	791	322	323	324	790	559	560	561	792	562	563	564		
PN42455	793	325	326	327	795	328	329	330	794	565	566	567	796	568	569	570		
PN42476	797	331	332	333	799	334	335	336	798	571	572	573	800	574	575	576		
PN42483	801	337	338	339	803	340	341	342	802	577	578	579	804	580	581	582		

[0265]

TCR ID	氨基酸序列								多核酸序列							
	α CDR				β CDR				α CDR				β CDR			
	Vα	CDR1	CDR2	CDR3	Vβ	CDR1	CDR2	CDR3	Vα	CDR1	CDR2	CDR3	Vβ	CDR1	CDR2	CDR3
SEQ ID NO:	SEQ ID NO:							SEQ ID NO:								
PN42496	805	343	344	345	807	346	347	348	806	583	584	585	808	586	587	588
PN42498	809	349	350	351	811	352	353	354	810	589	590	591	812	592	593	594
PN42558	813	355	356	357	815	358	359	360	814	595	596	597	816	598	599	600
PN42561	817	361	362	363	819	364	365	366	818	601	602	603	820	604	605	606
PN42562	821	367	368	369	823	370	371	372	822	607	608	609	824	610	611	612
PN42610	825	373	374	375	827	376	377	378	826	613	614	615	828	616	617	618
PN42654	829	379	380	381	831	382	383	384	830	619	620	621	832	622	623	624
PN42655	833	385	386	387	835	388	389	390	834	625	626	627	836	628	629	630
PN42677	837	391	392	393	839	394	395	396	838	631	632	633	840	634	635	636
PN42683	841	397	398	399	843	400	401	402	842	637	638	639	844	640	641	642
PN42689	845	403	404	405	847	406	407	408	846	643	644	645	848	646	647	648
PN42706	849	409	410	411	851	412	413	414	850	649	650	651	852	652	653	654
PN42707	853	415	416	417	855	418	419	420	854	655	656	657	856	658	659	660
PN42711	857	421	422	423	859	424	425	426	858	661	662	663	860	664	665	666
PN42712	861	427	428	429	863	430	431	432	862	667	668	669	864	670	671	672
PN42746	865	433	434	435	867	436	437	438	866	673	674	675	868	676	677	678
PN42750	869	439	440	441	871	442	443	444	870	679	680	681	872	682	683	684
PN42762	873	445	446	447	875	448	449	450	874	685	686	687	876	688	689	690
PN42774	877	451	452	453	879	454	455	456	878	691	692	693	880	694	695	696
PN42776	881	457	458	459	883	460	461	462	882	697	698	699	884	700	701	702
PN42780	885	463	464	465	887	466	467	468	886	703	704	705	888	706	707	708
PN42795	889	469	470	471	891	472	473	474	890	709	710	711	892	712	713	714
PN42815	893	475	476	477	895	478	479	480	894	715	716	717	896	718	719	720
PN42826	897	481	482	483	899	484	485	486	898	721	722	723	900	724	725	726
PN42833	901	487	488	489	903	490	491	492	902	727	728	729	904	730	731	732
PN42840	905	493	494	495	907	496	497	498	906	733	734	735	908	736	737	738
PN42845	909	499	500	501	911	502	503	504	910	739	740	741	912	742	743	744
PN42870	913	505	506	507	915	508	509	510	914	745	746	747	916	748	749	750
PN42879	917	511	512	513	919	514	515	516	918	751	752	753	920	754	755	756
PN42888	921	517	518	519	923	520	521	522	922	757	758	759	924	760	761	762
PN42895	925	523	524	525	927	526	527	528	926	763	764	765	928	766	767	768

[0266] 实例2剂量依赖性T细胞受体活化

[0267] 通过基因破坏生成缺乏内源性TCRα和TCRβ表达的Jurkat细胞系。然后用允许单拷贝Cre重组酶介导的转基因TCR构建体插入的基因组着陆区位点使这些细胞工程化。后续将活化蛋白1 (AP1) 应答元件驱动的荧光素酶报告基因掺入该亲代生物测定细胞系中。通过表达VelociT®衍生的TCRα和TCRβ序列的构建体的Cre介导的插入生成特异性TCR生物测定系。

[0268] 使用荧光活化细胞分选 (FACS) 将表达TCR构建体的Jurkat生物测定系分选至同质,然后在肽-MHC刺激测定中测试。将HEK293T细胞 (HLA-A2\*01) 置于具有抗原性PRAME肽 (PRAME 425-433;SEQ ID NO:930) 或无关HLA-A2限制性肽 (SLLMWITQC;SEQ ID NO:953) 的不同稀释液的测定孔中。如表13所示制备这些稀释液。

[0269] 表13:用于测试抗PRAME TCR的剂量反应的肽稀释液

[0270]

稀释液	浓度 (μM)	无关肽 (μg/ml)	PRAME (425-433) 肽 (μg/ml)
1	100	109	98.9
2	20	21.8	19.8
3	4	4.4	4.0
4	0.8	0.87	0.79
5	0.16	0.17	0.16

6	0.032	0.035	0.032
7	0.0064	0.0070	0.0063
8	0.00128	0.0014	0.0013
9	0.000256	0.00028	0.00025
10	0.0000512	5.6E-5	5.1E-5
11	0.00001024	1.1E-5	1.0E-5
12	0(无肽)	0	0

[0271] 温育2小时后,将工程化的Jurkat细胞以3:1的Jurkat:293T细胞比例加入孔中,并进一步温育5小时。通过测量测定孔中的终点发光输出来确定荧光素酶报告基因活性。PRAME特异性TCR介导对HLA-A2\*01 HEK293T细胞应答的剂量依赖性AP1报道基因活化,HEK293T细胞用同源肽脉冲标记,但不是用无关肽脉冲标记的那些细胞。EC50数据示于下表14中。

[0272] 表14:HLA-A2/PRAME (425-433) 特异性TCR在Jurkat细胞生物测定中的抗原特异性应答,相对于阴性对照标准化

[0273]

TCR ID	EC50 ( $\mu\text{M}$ )
PN42365	0.01594
PN42386	0.02711
PN42441	0.8205
PN42442	0.2324
PN42450	0.03355
PN42483	*
PN42496	0.02937
PN42498	0.002418
PN42558	0.2614
PN42561	0.0137
PN42562	0.02807
PN42610	*
PN42654	*
PN42655	
PN42677	*
PN42683	*
PN42689	0.0095
PN42706	0.7274
PN42707	0.01182

[0274]	PN42711	0.05688
	PN42712	0.01329
	PN42746	0.04598
	PN42762	114.8
	PN42774	0.8757
	PN42780	1.255
	PN42795	0.2454
	PN42815	0.1261
	PN42826	4.915
	PN42833	0.04786
	PN42840	0.03092
	PN42845	0.911
	PN42870	0.1302
	PN42879	*
	PN42888	0.0119
	PN42895	0.94

[0275] \*不高于阴性对照/在测定中没有反应

[0276] 等同物

[0277] 仅使用常规实验,本领域技术人员将认识到或能够确定本文所述的本发明的具体实施例的许多等同物。这些等同物旨在被以下权利要求所涵盖。在本申请中引用的所有参考文献、专利和公开的专利申请的内容在此以引用的方式并入本文。