

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2015106749, 26.07.2013

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
27.07.2012 US 61/676,373

(43) Дата публикации заявки: 20.09.2016 Бюл. № 26

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 27.02.2015(86) Заявка РСТ:
US 2013/052283 (26.07.2013)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2014/018863 (30.01.2014)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, строение 3,
ООО "Юридическая фирма Городиский и
Партнеры"

(71) Заявитель(и):

**ДЗЕ БОРД ОФ ТРАСТИЗ ОФ ДЗЕ
ЮНИВЕРСИТИ ОФ ИЛЛИНОЙС (US)**

(72) Автор(ы):

**СМИТ Шина Н. (US),
КРАНЦ Дэвид М. (US)**(54) **КОНСТРУИРОВАНИЕ Т-КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ**

(57) Формула изобретения

1. Модифицированный Т-клеточный рецептор или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий V α и V β , полученные из Т-клеточного рецептора дикого типа, при этом V α , V β или обе содержат мутацию в одной или нескольких определяющих комплементарность областях (CDR) по сравнению с Т-клеточным рецептором дикого типа, при этом модифицированный Т-клеточный рецептор связывается с некогнатным пептидом-МНС, не связываемым Т-клеточным рецептором дикого типа.

2. Модифицированный Т-клеточный рецептор по п. 1, в котором Т-клеточный рецептор дикого типа содержит аминокислотную последовательность V α , указанную в SEQ ID NO: 1, и аминокислотную последовательность V β , указанную в SEQ ID NO: 2.

3. Модифицированный Т-клеточный рецептор по п. 2, содержащий модифицированную V α , содержащую аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 80% идентичность с аминокислотной последовательностью V α , указанной в SEQ ID NO: 1, и модифицированную V β , содержащую аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 80% идентичность с аминокислотной последовательностью V β , указанной в SEQ ID NO: 2, при этом модифицированный Т-клеточный рецептор не связывается с когнатным пептидом-МНС, связываемым Т-клеточным рецептором дикого типа.

4. Модифицированный Т-клеточный рецептор по п. 2, в котором модифицированный

Т-клеточный рецептор содержит аминокислотную замену в одном или нескольких положениях CDR1 α 31, CDR3 α 98, CDR3 β 99, CDR3 α 97, CDR3 β 102, CDR3 α 99, CDR3 β 100, CDR3 β 101, CDR1 α 32, CDR1 β 30, CDR3 β 98.

5. Модифицированный Т-клеточный рецептор по п. 2, в котором модифицированный Т-клеточный рецептор содержит аминокислоту дикого типа в положении CDR2 α 51.

6. Модифицированный Т-клеточный рецептор по п. 5, в котором модифицированный Т-клеточный рецептор дополнительно содержит аминокислоту дикого типа в положении CDR1 α 31.

7. Модифицированный Т-клеточный рецептор по п. 6, в котором модифицированный Т-клеточный рецептор дополнительно содержит аминокислоту дикого типа в положении CD1 α 28 и CD1 α 52.

8. Модифицированный Т-клеточный рецептор по п. 1, в котором Т-клеточный рецептор дикого типа представляет собой одноцепочечный Т-клеточный рецептор A6-X15, содержащий аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3.

9. Модифицированный Т-клеточный рецептор по п. 1, в котором некогатный пептид-MHC содержит Mart1:HLA.A2, SL9 HIV:HLA.A2, WT-1:HLA.A2 или SURV:HLA.A2.

10. Модифицированный Т-клеточный рецептор по п. 9, содержащий 1) модифицированную V α -область, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90% идентичность с V α -областью с аминокислотной последовательностью, указанной в одной из последовательностей SEQ ID NO: 33, 41 или 42, и 2) модифицированную V β -область, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90% идентичность с V β -областью с аминокислотной последовательностью, указанной в одной из последовательностей SEQ ID NO: 33, 41 или 42.

11. Модифицированный Т-клеточный рецептор по п. 10, содержащий аминокислотную последовательность, указанную в одной из последовательностей SEQ ID NO: 33, 41 или 42.

12. Модифицированный Т-клеточный рецептор по п. 1, в котором модифицированный Т-клеточный рецептор создан с использованием селекции *in vitro* библиотеки мутантных Т-клеточных рецепторов в дрожжевом дисплее.

13. Модифицированный Т-клеточный рецептор по п. 1, в котором Т-клеточный рецептор дикого типа является рецептором человека.

14. Модифицированный Т-клеточный рецептор по п. 1, в котором модифицированный Т-клеточный рецептор представляет собой одноцепочечный Т-клеточный рецептор.

15. Модифицированный Т-клеточный рецептор по п. 1, в котором Т-клеточный рецептор дикого типа связывает HLA-A2.

16. Полипептид, кодирующий модифицированный Т-клеточный рецептор по п. 1.

17. Полинуклеотид, кодирующий полипептид по п. 16.

18. Модифицированный Т-клеточный рецептор или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий V α и V β , полученные из Т-клеточного рецептора дикого типа, при этом V α содержит аминокислотные остатки 140 - 256 последовательности SEQ ID NO: 34, и при этом V β содержит аминокислотные остатки 1-122 последовательности SEQ ID NO: 34.

19. Модифицированный Т-клеточный рецептор или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий V α и V β , полученные из Т-клеточного рецептора дикого типа, при этом V α содержит аминокислотные остатки 140 - 255 последовательности SEQ ID NO: 43, и при этом V β содержит аминокислотные остатки 1-122 последовательности SEQ ID NO: 43.

20. Способ конструирования Т-клеточного рецептора или его антигенсвязывающего фрагмента с требуемой специфичностью, включающий:

а) выделение полинуклеотида, который кодирует Т-клеточный рецептор дикого типа или его антигенсвязывающий фрагмент;

б) создание библиотеки мутантных Т-клеточных рецепторов или их антигенсвязывающих фрагментов, при этом мутантные Т-клеточные рецепторы или их антигенсвязывающие фрагменты содержат мутацию в одной или нескольких определяющих комплементарность областях по сравнению с Т-клеточным рецептором дикого типа;

в) экспрессию мутантных Т-клеточных рецепторов на поверхности системы дисплея; и

г) селекцию мутантных Т-клеточных рецепторов, которые связываются с некогнатным пептидом-МНС.

21. Способ по п. 20, в котором Т-клеточный рецептор дикого типа содержит аминокислотную последовательность V α , указанную в SEQ ID NO: 1, и аминокислотную последовательность V β , указанную в SEQ ID NO: 2.

22. Способ по п. 20, в котором Т-клеточный рецептор дикого типа представляет собой одноцепочечный Т-клеточный рецептор A6-X15, содержащий аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 3.

23. Способ по п. 20, в котором системой поверхностного дисплея является система дрожжевого дисплея.

24. Способ по п. 20, в котором некогнатный пептид-МНС представляет собой Mart1: HLA.A2, SL9 HIV:HLA.A2, WT-1:HLA.A2 или SURV:HLA.A2.

25. Способ по п. 20, дополнительно включающий стадию созревания аффинности.