

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **201992002** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
2020.02.20

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2018.03.23

---

(54) **Т-КЛЕТОЧНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ И ИММУННАЯ ТЕРАПИЯ PRAME-  
ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ РАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ С ИХ ПРИМЕНЕНИЕМ**

---

(31) 10 2017 106 305.6; 62/475,329

(72) Изобретатель:

(32) 2017.03.23

Альтен Леони, Маурер Доминик, Бунк  
Себастиан, Вагнер Клаудиа (DE),  
Фербер Матиас (FR)

(33) DE; US

(86) PCT/EP2018/057482

(87) WO 2018/172533 2018.09.27

(88) 2018.12.13

(74) Представитель:

(71) Заявитель:

Глухарёва А.О., Угрюмов В.М.,  
Гизатуллин Ш.Ф. (RU)

**ИММАТИКС БАЙОТЕКНОЛОДЖИЗ  
ГМБХ (DE)**

---

(57) Настоящее изобретение относится к антигенраспознающим структурам к опухолеассоциированным антигенам (ТАА), в частности к антигену PRAME, преимущественно экспрессируемому в меланоме. В частности, в изобретении предложены новые молекулы на основе Т-клеточного рецептора (ТКР), являющиеся селективными и специфическими к экспрессируемому опухолью антигену по изобретению. ТКР по изобретению и связывающиеся с ТАА фрагменты, полученные из этого ТКР, применимы для диагностики, лечения и профилактики раковых заболеваний, при которых экспрессируется антиген ТАА. Предложены также нуклеиновые кислоты, кодирующие антигенраспознающие структуры по изобретению, векторы, включающие данные нуклеиновые кислоты, рекомбинантные клетки, экспрессирующие эти антигенраспознающие структуры, и фармацевтические композиции, включающие соединения по изобретению.

---

**A1**

**201992002**

**201992002**

**A1**

## **Т-КЛЕТОЧНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ И ИММУННАЯ ТЕРАПИЯ PRAME-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ РАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ С ИХ ПРИМЕНЕНИЕМ**

Настоящее изобретение относится к антигенраспознающим структурам к опухолеассоциированным антигенам (ТАА), в частности к антигену PRAME, преимущественно экспрессируемому в меланоме. В частности, в изобретении предложены новые молекулы на основе Т-клеточного рецептора (ТКР), являющиеся селективными и специфическими к экспрессируемому опухолью антигену по изобретению. ТКР по изобретению и связывающиеся с ТАА фрагменты, полученные из этого ТКР, применимы для диагностики, лечения и профилактики раковых заболеваний, при которых экспрессируется антиген ТАА. Предложены также нуклеиновые кислоты, кодирующие антигенраспознающие структуры по изобретению, векторы, включающие данные нуклеиновые кислоты, рекомбинантные клетки, экспрессирующие эти антигенраспознающие структуры, и фармацевтические композиции, включающие соединения по изобретению.

### **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

Белок PRAME кодируется геном PRAME, который экспрессируется на высоком уровне в большой доле опухолей, включая меланомы, немелкоклеточные карциномы легких, карциномы яичника, почечно-клеточные карциномы (ПКК), карциному молочной железы, карциному шейки матки, карциному толстой кишки, саркому, нейробластому, а также при нескольких видах лейкоза. PRAME является наиболее хорошо охарактеризованным членом семейства белков PRAME, содержащих богатые лейцином повторы (LRR). Многочисленные представители семейства PRAME входят в геномы млекопитающих, тогда как в геномах других позвоночных был идентифицирован лишь один PRAME-подобный белок LRR. PRAME – это раково-тестикулярный антиген, экспрессирующийся на очень низком уровне в нормальных взрослых тканях за исключением яичек, но на высоких уровнях в ряду раковых клеток.

Мишени иммунотерапии, основанной на Т-клетках, представлены пептидными эпитопами, полученными из опухолеассоциированных или опухолеспецифических

белков, которые презентуются молекулами главного комплекса гистосовместимости человека (МНС). Данные опухолеассоциированные антигены (ТАА) могут быть пептидами, образованными из любого класса белков, таких как ферменты, рецепторы, факторы транскрипции и т. д., которые экспрессируются и обычно имеют, по сравнению с неизменными клетками того же происхождения, повышенный уровень в клетках соответствующей опухоли.

Специфические элементы клеточных иммунных ответов способны к специфическому распознаванию и уничтожению опухолевых клеток. Выделение Т-клеток из популяций опухоль-инфильтрирующих клеток или из периферической крови предполагает, что такие клетки играют важную роль в естественной иммунной защите против рака. В частности, CD8-положительные Т-клетки, которые распознают пептиды, связанные с молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС) I класса, играют важную роль в этом ответе. Эти пептиды обычно состоят из 8-10 аминокислотных остатков, полученных из белков или дефектных рибосомных продуктов (DRiP), находящихся в цитозоле. Молекулы МНС человека называются также человеческими лейкоцитарными антигенами (HLA).

Существуют два класса молекул МНС, МНС I класса и МНС II класса. Комплексы пептида и молекул МНС I класса распознаются CD8-положительными Т-клетками, несущими подходящий Т-клеточный рецептор (ТКР), тогда как комплексы пептида и молекул МНС II класса распознаются CD4-положительными хелперными Т-клетками, несущими подходящий ТКР. Поскольку оба вида ответов, зависящие от клеток CD8 и CD4, вносят свой вклад в противоопухолевый эффект сообща и синергически, то идентификация и определение характеристик опухолеассоциированных антигенов и соответствующих Т-клеточных рецепторов являются важными при разработке видов противораковой иммунотерапии, таких как вакцины и клеточная терапия.

В зависящей от МНС I класса иммунной реакции пептиды не только должны быть в состоянии связываться с конкретными молекулами МНС I класса, экспрессируемыми опухолевыми клетками, но они также должны затем распознаваться Т-клетками, несущими специфические Т-клеточные рецепторы

(ТКР). Поэтому антигены ТАА являются отправной точкой для разработки терапии на основе Т-клеток, включающей противоопухолевые вакцины и средства клеточной терапии, но не ограничивающейся ими.

Приблизительно 90 процентов Т-клеток периферической крови экспрессируют ТКР, состоящий из  $\alpha$ -полипептида и  $\beta$ -полипептида. Небольшая доля Т-клеток (около 5% всех Т-клеток), как было показано, экспрессируют ТКР, состоящий из  $\gamma$ -полипептида и  $\delta$ -полипептида.  $\gamma\delta$  Т-клетки были обнаружены с наиболее высокой копийностью на слизистой оболочке кишечника, в составе популяции лимфоцитов, известных как внутриэпителиальные лимфоциты (IEL). До сих пор мало известно об антигенных молекулах, которые активируют  $\gamma\delta$  Т-клетки. Тем не менее,  $\gamma\delta$  Т-клетки не рестриктированы по МНС и, по-видимому, способны распознавать белки целиком, а не пептиды, требуемые для презентации молекулами МНС на антигенпрезентирующих клетках, хотя некоторые из них распознают молекулы МНС класса IB. V $\gamma$ 9/V $\delta$ 2 Т-клетки человека, которыми представлена наиболее крупная популяция  $\gamma\delta$  Т-клеток в периферической крови, являются уникальными в том, что они специфически и быстро отвечают на небольшой непептидный микробный метаболит, НМВ-РР, предшественник изопентенил пиррофосфата. Согласно расчетам доля Т-клеток, которые могут быть обнаружены в периферической крови здоровых доноров, является следующей: CD3+=70,78% $\pm$ 4,71; CD3+CD4+=38,97% $\pm$ 5,66; CD3+CD8+=28,955% $\pm$ 7,43; CD3+CD56+=5,22% $\pm$ 1,74; CD3-CD56+=10,305% $\pm$ 4,7; CD3+CD45RA+=45,00% $\pm$ 7,19; и CD3+CD45RO+=27,21% $\pm$ 7,34.

Каждая из цепей Т-клеточного антигенного рецептора клона Т-клетки состоит из уникальной комбинации доменов, называемых варибельный (V), [участок разнообразия (D),] соединительный (J) и константный (C). В каждом клоне Т-клетки комбинация доменов V, D и J обеих цепей, альфа и бета, или дельта и гамма, участвует в распознавании антигена таким способом, который является исключительно характерным для этого клона Т-клетки, и определяет уникальный сайт связывания, также известный как идиотип клона Т-клетки. Напротив, домен C не участвует в связывании антигена.

ТКР – это гетеродимерный белок клеточной поверхности надсемейства

иммуноглобулинов, которое ассоциируется с инвариантными белками комплекса CD3, участвующими в опосредовании передачи сигналов. ТКР существуют в  $\alpha\beta$ - и  $\gamma\delta$ -формах, которые сходны по структуре, однако имеют весьма различное анатомическое расположение и, вероятно, функции. Внеклеточная часть каждого из встречающихся в природе гетеродимерных  $\alpha\beta$ ТКР и  $\gamma\delta$ ТКР содержит два полипептида, каждый из которых имеет расположенный ближе к мембране константный домен и расположенный дальше от мембраны переменный домен. Каждый из константных и переменных доменов включает дисульфидную связь внутри цепи. Переменные домены содержат высоко полиморфные петли, аналогичные участкам, определяющим комплементарность (CDR) антител. Применение генной терапии на основе ТКР позволяет преодолеть многие из имеющихся преград. Она позволяет снабдить собственные Т-клетки пациента желаемой специфичностью и вырабатывать достаточное число Т-клеток в короткий период времени без их истощения. ТКР трансдуцируют в высокоактивные Т-клетки (например, центральные Т-клетки памяти или Т-клетки с характеристиками стволовых клеток), что может обеспечить лучшую устойчивость и сохранение функциональности при переносе. Пациентам, больным раком, с лимфопенией, вызванной химиотерапией или лучевой терапией, с помощью инфузии вводят Т-клетки с встроенными ТКР, что позволяет провести успешное приживление, но при этом ингибирует иммуносупрессию.

Несмотря на достижения в разработке молекулярно-таргетных препаратов для противораковой терапии, в этой области остается потребность в развитии новых противораковых препаратов, мишенями которых были бы молекулы, высоко специфические для раковых клеток. Настоящее описание направлено на удовлетворение этой потребности, предлагая новые PRAME-специфичные ТКР, соответствующие рекомбинантные ТКР-структуры, нуклеиновые кислоты, векторы и клетки-хозяева, которые специфически связываются с предложенными в изобретении эпитопами ТАА; и способы применения таких молекул в лечении рака. Понятие «ТАА - опухолеассоциированный антиген» в контексте настоящего изобретения относится, в частности, к следующим предпочтительным белкам: PRAME и их фрагментам или аналогам, в частности, фрагментам или аналогам, включающим или состоящим из последовательностей антигенного пептида, представленных в SEQ ID NO: 97 по 115, предпочтительно в SEQ ID NO: 97 по 106,

более предпочтительно в SEQ ID NO: 97.

Задача изобретения в первом аспекте решена с помощью антигенраспознающей структуры, включающей по меньшей мере один комплементарный детерминантный участок (CDR) 3, последовательность которого по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или предпочтительно на 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID NO: 3, 9, 15, 21, 27, 33, 39, 45, 51, 57, 63, 69, 75, 81, 129 и 135.

В некоторых вариантах осуществления антигенраспознающая структура по изобретению специфически связывается с комплексом пептида TAA и молекулы HLA, где пептид TAA включает или – альтернативно – состоит из варианта TAA, который по меньшей мере на 66%, предпочтительно, по меньшей мере на 77% и более предпочтительно по меньшей мере на 88% гомологичен (предпочтительно, по меньшей мере на 77% или по меньшей мере на 88% идентичен) аминокислотной последовательности TAA по изобретению, где указанный вариант связывается с молекулой HLA I или II класса и/или индуцирует перекрестную реакцию Т-клеток с указанным пептидом, или его фармацевтически приемлемой солью, где указанный пептид не является базовым полипептидом полной длины.

В контексте настоящего описания понятия «идентичный» или процентная доля «идентичности», если они используются где-либо в настоящем документе в контексте двух или более последовательностей нуклеиновой кислоты или белка/полипептида, относятся к двум или более последовательностям или подпоследовательностям, которые являются одинаковыми или обладают (или обладают по меньшей мере) указанным процентом аминокислотных остатков или нуклеотидов, которые являются одинаковыми (т. е., они идентичны на, или по меньшей мере примерно на 60%, предпочтительно идентичны на, или по меньшей мере на 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93% или 94%, и, более предпочтительно, идентичны на, или по меньшей мере примерно на 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, или выше на протяжении указанной области - предпочтительно на протяжении всей длины последовательности, при сравнении и выравнивании для максимального соответствия на протяжении окна сравнения или намеченной

области) при определении с использованием алгоритмов сравнения последовательностей или путем выравнивания вручную и визуального исследования (см., например, веб-сайт NCBI). В конкретном варианте осуществления, например, при сравнении последовательности белка или нуклеиновой кислоты антигенраспознающей структуры по изобретению с другим белком /геном процентная доля идентичности может быть определена с помощью инструмента «Blast searches», поддерживаемого на веб-сайте NCBI; в частности, в отношении аминокислотной идентичности поиском с использованием BLASTP со следующими параметрами: *Expected threshold* (порог ожидания) 10; *Word size* (размер слова): 6; *Matrix* (матрица): BLOSUM62; *Gap Costs* (штраф за пропуск): *Existence* (открытие): 11, *Extension* (удлинение): 1; *Neighboring words threshold* (пороговая длина соседних слов): 11; *Compositional adjustments* (композиционные поправки): *Conditional compositional score matrix adjustment* (условная композиционная поправка матрицы).

В контексте настоящего изобретения следует понимать, что любые варианты осуществления, в которых упомянуто «включающие» конкретные признаки изобретения, следует трактовать как такие, которые в некоторых более предпочтительных вариантах осуществления включают более ограниченные описания понятиями «состоящие из» или «по существу состоящие из» тех же самых признаков данного изобретения.

В другом дополнительном или альтернативном варианте осуществления изобретения антигенраспознающая структура может дополнительно включать последовательность доменов CDR1 и/или CDR2, или более предпочтительно – CDR2bis. Внутри варибельного домена CDR1 и CDR2 или CDR2bis расположены в варибельном домене (V) полипептидной цепи, и CDR3 включает некоторые из V-доменов, все сегменты разнообразия (D) и соединительные сегменты (J). CDR3 является наиболее варибельным и основным CDR, отвечающим за специфическое и селективное распознавание антигена. Последовательности CDR1, CDR2 или CDR2bis могут быть выбраны из последовательности CDR аллеля варибельного домена цепи человека.

Встречающиеся в природе альфа-бета гетеродимерные TCR имеют альфа-цепь и

бета-цепь. Каждая цепь включает переменные, соединительные и константные сегменты, а бета-цепь обычно также включает между переменными и соединительными сегментами короткий сегмент разнообразия, однако этот сегмент разнообразия часто рассматривается как часть соединительного сегмента. Каждая переменная область включает три участка CDR (*Complementarity Determining Regions*, участки, определяющие комплементарность), встраиваемых в каркасную последовательность, один из них является гиперпеременной областью, называемым CDR3. Имеется несколько видов переменных областей ( $V\alpha$ ) альфа-цепи и несколько видов переменных областей ( $V\beta$ ) бета-цепи, различаемых по их каркасным областям, последовательностям CDR1 и CDR2, и по – отчасти определенной – последовательности CDR3. В номенклатуре IMGT (международная иммуногенетическая информационная система) виды  $V\alpha$  обладают уникальным номером TRAV, виды  $V\beta$  – уникальным номером TRBV. Более подробную информацию об иммуноглобулине (антитело) и генах ТКР можно получить в международной информационной системе ImMunoGeneTics information system®, Lefranc M-P et al (Nucleic Acids Res. 2015 Jan;43 (выпуск о банках данных):D413-22; и по адресу <http://www.imgt.org/>).

Таким образом, в одном дополнительном или альтернативном варианте осуществления изобретения антигенраспознающая структура согласно изобретению включает последовательности CDR1, CDR2, CDR2bis и CDR3 в комбинациях, как далее представлено в Таблице 1 настоящего документа, в которой демонстрируется соответствующий аллель переменной области цепи вместе с последовательностью CDR3. Таким образом, предпочтительными являются антигенраспознающие структуры согласно изобретению, которые включают по меньшей мере одну, предпочтительно, все четыре последовательности CDR – CDR1, CDR2, CDR2bis и CDR3. Предпочтительно, если антигенраспознающая структура согласно изобретению включает соответствующие последовательности с CDR1, CDR2bis и CDR3 одной отдельной раскрытой в данном документе переменной области ТКР согласно изобретению (см. Таблицу 1, представленную в настоящем документе ниже и раздел примеров).

Понятия «специфичность» или «специфичность к антигену» или «специфичный к»

данному антигену, используемые в настоящем контексте, означают, что антигенраспознающая структура может специфически связываться с указанным антигеном, предпочтительно ТАА-антигеном, более предпочтительно, с высокой авидностью, когда указанный антиген представляется в комплексе с HLA, предпочтительно, с HLA A2. Например, можно считать, что ТКР, представленный в качестве антигенраспознающей структуры, имеет «антигенную специфичность» к ТАА, если Т-клетки, экспрессирующие ТКР, и при контакте с HLA, презентующим ТАА, секретируют по меньшей мере 200 пг/мл или более (например, 250 пг/мл или более, 300 пг/мл или более, 400 пг/мл или более, 500 пг/мл или более, 600 пг/мл или более, 700 пг/мл или более, 1000 пг/мл или более, 2000 пг/мл или более, 2500 пг/мл или более, 5000 пг/мл или более) интерферона  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) при совместном культивировании с клетками-мишенями, нагруженными низкой концентрацией ТАА, такого как эпитопы ТАА и антигены, предложенные далее в настоящем контексте (например, около  $10^{-11}$  моль/л,  $10^{-10}$  моль/л,  $10^{-9}$  моль/л,  $10^{-8}$  моль/л,  $10^{-7}$  моль/л,  $10^{-6}$  моль/л,  $10^{-5}$  моль/л). Альтернативно или дополнительно можно считать, что ТКР имеет «антигенную специфичность» к ТАА, если Т-клетки, экспрессирующие ТКР, секретируют по меньшей мере в два раза больше IFN- $\gamma$  по сравнению с фоновым уровнем IFN- $\gamma$  в нетрансдуцированных клетках при совместном культивировании с клетками-мишенями, нагруженными низкой концентрацией ТАА-антигенов. Анализ такой «специфичности», описанной выше, можно провести, например, с помощью метода ELISA.

В одном альтернативном или дополнительном варианте осуществления изобретения антигенраспознающая структура селективно связывается с антигенным пептидом, полученным из ТАА; предпочтительно, если антигенный пептид ТАА является эпитопом или пептидом белка с аминокислотной последовательностью, представленной последовательностью с SEQ ID NO: 97 по 115, наиболее предпочтительно с SEQ ID NO: 97, или ее вариантом, где вариант содержит делецию, добавление, вставку или замену аминокислоты не более чем в трех, предпочтительно – двух и, наиболее предпочтительно – не более чем в одной аминокислотной позиции.

Под термином «селективность» или «селективное распознавание/связывание»

понимается свойство антигенраспознающей структуры, такой как ТКР или антитело, селективно распознавать или связываться, предпочтительно, только с одним специфическим эпитопом и, предпочтительно не проявлять, или по существу не проявлять перекрестного взаимодействия с другим эпитопом. Предпочтительно, «селективность» или «селективное распознавание/связывание» означает, что антигенраспознающая структура (например, ТКР) селективно распознает или связывается с предпочтительно, только с одним специфическим эпитопом и, предпочтительно, не проявляет, или по существу не проявляет перекрестного взаимодействия с другим эпитопом, где указанный эпитоп является уникальным для одного белка, так что антигенраспознающая структура не проявляет или, по существу, не проявляет перекрестного взаимодействия с другим эпитопом и другим белком.

Антигенраспознающая структура в соответствии с изобретением предпочтительно выбрана из антитела или его производного или его фрагмента, или Т-клеточного рецептора (ТКР) или его производного или его фрагмента. Производное или его фрагмент антитела или ТКР по изобретению предпочтительно сохраняет способность связываться/распознавать антиген, свойственную родительской молекуле, в частности, ее специфичность и/или селективность, как поясняется выше. Такая функциональность по связыванию может быть сохранена за счет присутствия участка CDR3, как определено в контексте настоящего изобретения.

В одном из вариантов осуществления изобретения ТКР по изобретению способны распознавать ТАА-антигены за счет главного комплекса гистосовместимости (МНС) I класса. Понятие «за счет МНС I класса» в контексте настоящего изобретения обозначает, что ТКР вызывает иммунный ответ при связывании с ТАА-антигенами в контексте молекулы МНС I класса. Молекула МНС I класса может быть любой молекулой МНС I класса, известной в этой области техники, например, молекулами HLA-A. В предпочтительном варианте осуществления изобретения молекула МНС I класса является молекулой HLA-A2.

В изобретении предложены как одноцепочечная антигенраспознающая структура, так и двухцепочечные распознающие структуры.

В одном варианте осуществления альфа-вариабельный домен ТКР имеет по меньшей мере одну мутацию по отношению к альфа-домену ТКР, представленному в Таблице 1; и/или бета-вариабельный домен ТКР имеет по меньшей мере одну мутацию по отношению к альфа-домену ТКР, представленному в Таблице 1. В одном варианте осуществления ТКР, содержащий по меньшей мере одну мутацию в альфа-вариабельном домене ТКР и/или бета-вариабельном домене ТКР, имеет аффинность связывания по отношению к и/или полупериод связывания с комплексом пептида ТАА и молекулы HLA, которые по меньшей мере вдвое выше, чем у ТКР, содержащего альфа-домен ТКР без мутаций и/или бета-домен ТКР без мутаций.

Альфа-цепи ТКР согласно настоящему описанию могут дополнительно включать трансмембранный домен альфа-цепи ТКР и/или внутриклеточный домен альфа-цепи ТКР. Бета-цепи ТКР согласно настоящему описанию могут дополнительно включать трансмембранный домен бета-цепи ТКР и/или внутриклеточный домен бета-цепи ТКР.

В изобретении, в частности, в качестве антигенраспознающей структуры предложен ТКР или его фрагмент или его производное. Предпочтительно, если это ТКР человека, что подразумевает, что он получен из человеческого локуса ТКР и, таким образом, включает последовательности человеческого ТКР. Более того, ТКР по изобретению может быть охарактеризован таким образом, что он имеет человеческое происхождение и специфически распознает ТАА-антиген по изобретению.

В другом варианте осуществления изобретения дополнительно или в качестве альтернативы предложена антигенраспознающая структура, описанная выше, которая вызывает иммунный ответ, предпочтительно, где иммунный ответ характеризуется увеличением уровней интерферона (ИФН)-гамма.

ТКР по изобретению могут быть предложены в виде одноцепочечных  $\alpha$  или  $\beta$ , или  $\gamma$  или  $\delta$ , молекул или, в качестве альтернативы, в виде двухцепочечной структуры, состоящей из обеих цепей,  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепи, или  $\gamma$ - и  $\delta$ -цепи.

Антигенраспознающая структура в соответствии с изобретением может включать  $\alpha$ - или  $\gamma$ -цепь ТКР; и/или  $\beta$ - или  $\delta$ -цепь ТКР; где  $\alpha$ - или  $\gamma$ -цепь ТКР включает CDR3, последовательность которого по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID No. 3, 15, 27, 39, 51, 63, 75 и 129, и/или где  $\beta$ - или  $\delta$ -цепь ТКР включает CDR3, последовательность которого по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID No. 9, 21, 33, 45, 57, 69, 81 и 135.

Наиболее предпочтительно, в некоторых дополнительных вариантах осуществления, где раскрытие сущности изобретения относится к антигенраспознающим структурам, включающим любые один, два, три или все участки CDR1, CDR2, CDR2bis и CDR3 раскрытых в настоящем документе цепей ТКР (см. Таблицу 1), предпочтительными могут быть такие антигенраспознающие структуры, которые включают соответствующую последовательность CDR по изобретению, имеющую не более трех, двух и, предпочтительно, одного модифицированного аминокислотного остатка. Модифицированный аминокислотный остаток может быть выбран из вставки, делеции или замены аминокислоты. Наиболее предпочтительно, когда все три, два, предпочтительно один модифицированный аминокислотный остаток является первым или последним аминокислотным остатком соответствующей последовательности CDR. Если модификация является заменой, тогда в некоторых вариантах осуществления предпочтительно, чтобы замена была консервативной заменой аминокислоты.

Если антигенраспознающая структура в соответствии с изобретением образована по меньшей мере двумя аминокислотными цепями, такими как двухцепочечный ТКР или его антиген связывающий фрагмент, эта антигенраспознающая структура может включать в первой полипептидной цепи аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 3, и во второй полипептидной цепи аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 9; или в первой полипептидной цепи аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 15, и во второй полипептидной цепи аминокислотную

последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 21; или в первой полипептидной цепи аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 27, и во второй полипептидной цепи аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 33; или в первой полипептидной цепи аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 39, и во второй полипептидной цепи аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 45; или в первой полипептидной цепи аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 51, и во второй полипептидной цепи аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 57; или в первой полипептидной цепи аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 63, и во второй полипептидной цепи аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 69; или в первой полипептидной цепи аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 75, и во второй полипептидной цепи аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 81; или в первой полипептидной цепи аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 129, и во второй полипептидной цепи аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 135. Любой из упомянутых ранее двухцепочечных ТКР или его антиген-связывающих фрагментов является предпочтительным ТКР согласно настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления CDR3 двухцепочечного ТКР по изобретению может иметь мутацию. Мутации последовательностей CDR3, как представлено выше, предпочтительно включают замену, делецию, добавление или вставку не более чем трех, предпочтительно двух, и, наиболее предпочтительно, не более одного аминокислотного остатка. В некоторых вариантах осуществления первая полипептидная цепь может быть  $\alpha$ - или  $\gamma$ -цепью ТКР и вторая полипептидная цепь может быть  $\beta$ - или  $\delta$ -цепью ТКР. Предпочтительной является комбинация  $\alpha\beta$ - или  $\gamma\delta$ -ТКР.

ТКР или его антиген-связывающий фрагмент в некоторых вариантах осуществления образован из  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепи ТКР или  $\gamma$ - и  $\delta$ -цепи ТКР. Такой двухцепочечный ТКР включает в каждой из своих цепей переменные области, и каждая из переменных областей включает одну последовательность CDR1, одну последовательность CDR2 или более предпочтительно одну последовательность CDR2bis и одну последовательность CDR3. Эти ТКР включают

последовательности с CDR1, CDR2, CDR2bis и CDR3, которые включены в аминокислотную последовательность вариабельной цепи с SEQ ID NO: 4 и 10; или 16 и 22; или 28 и 34; или 40 и 46; или 52 и 58; или 64 и 70; или 76 и 82; или 130 и 136.

Некоторые варианты осуществления изобретения относятся к ТКР или его фрагменту, образованному  $\alpha$ -цепью ТКР и  $\beta$ -цепью ТКР, где указанный ТКР включает последовательности вариабельной области, последовательность которых по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или предпочтительно на 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепи в соответствии с последовательностями с SEQ ID NO: 4 и 10; или 16 и 22; или 28 и 34; или 40 и 46; или 52 и 58; или 64 и 70; или 76 и 82; или 130 и 136.

В особенно предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения предложен усовершенствованный ТКР, называемый R11P3D3\_KE, образованный  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепью ТКР, где указанный ТКР включает последовательности вариабельной области, последовательность которых по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или предпочтительно на 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепи в соответствии с SEQ ID NO: 132 и 138. Данный ТКР продемонстрировал неожиданно улучшенную функциональность в отношении распознавания опухолевых клеток в сравнении с исходным рецептором, называемым в настоящем документе R11P3D3.

ТКР согласно изобретению могут дополнительно включать константную область, полученную от любых подходящих видов, таких как любое млекопитающее, например, человек, крыса, обезьяна, кролик, осел или мышь. В одном варианте осуществления изобретения ТКР согласно изобретению дополнительно включают константную область человека. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления константная область ТКР по изобретению может быть незначительно модифицирована, например, за счет введения гетерологичных последовательностей, предпочтительно, последовательностей мыши, что может повышать экспрессию и стабильность ТКР. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления вариабельная область ТКР по изобретению может быть

незначительно модифицирована, например, за счет введения отдельных точечных мутаций, чтобы оптимизировать стабильность ТКР и/или содействовать правильному спариванию цепей ТКР.

Некоторые варианты осуществления изобретения относятся к ТКР или его фрагменту, образованному  $\alpha$ -цепью ТКР и  $\beta$ -цепью ТКР, где указанный ТКР включает константную область, последовательность которого по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или предпочтительно на 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепи в соответствии с последовательностями с SEQ ID NO: 5 и 11; или с 17 и 23; или с 29 и 35; или с 41 и 47; или с 53 и 59; или с 65 и 71; или с 77 и 83; или с 131 и 137.

$\alpha$ - или  $\gamma$ -цепь ТКР по изобретению может дополнительно включать CDR1, последовательность которого по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID No. 1, 13, 25, 37, 49, 61, 73 и 127, и/или CDR2, последовательность которого по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID No. 2, 14, 26, 38, 50, 62, 74, и 128; и/или более предпочтительно CDR2bis, последовательность которого по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID NO: 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202 и 204..

В соответствии с изобретением  $\beta$ - или  $\delta$ -цепь ТКР может далее включать CDR1, последовательность которого по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID No. 7, 19, 31, 43, 55, 67, 79 и 133, и/или CDR2, последовательность которого по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID No. 8, 20, 32, 44, 56, 68, 80 и 134, и/или более предпочтительно CDR2bis, последовательность которого по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID NO: 8, 20, 32,

44, 56, 68, 80 и 134.

Антигенраспознающая структура в другом варианте осуществления может включать связывающий фрагмент ТКР, и где указанный связывающий фрагмент включает в одной цепи CDR1, CDR2, CDR2bis и CDR3, факультативно выбранный из последовательностей CDR1, CDR2, CDR2bis и CDR3, имеющих аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 1, 2, 3, 196; или 7, 8, 9; или 13, 14, 15, 197; или 19, 20, 21; или 25, 26, 27, 198; или 31, 32, 33; или 37, 38, 39, 199; или 43, 44, 45; или 49, 50, 51, 200; или 55, 56, 57; или 61, 62, 63, 201; или 67, 68, 69; или 73, 74, 75, 202; или 79, 80, 81; или 127, 128, 129, 204; или 133, 134, 135.

В других вариантах осуществления изобретения антигенраспознающая структура согласно описанию, представленному в других местах данного документа, является ТКР или его фрагментом, состоящим по меньшей мере из одной последовательности  $\alpha$ - и одной последовательности  $\beta$ -цепи ТКР, где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1, CDR2, CDR2bis и CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 1 по 3 и 196, и указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 7 по 9; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1, CDR2, CDR2bis и CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 13 по 15 и 197, и указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 19 по 21; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1, CDR2, CDR2bis и CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 25 по 27 и 198, и указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 31 по 33; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1, CDR2, CDR2bis и CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 37 по 39 и 199, и указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 43 по 45; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательности

CDR1, CDR2, CDR2bis и CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 49 по 51 и 200, и указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 55 по 57; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1, CDR2, CDR2bis и CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 61 по 63 и 201, и указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 67 по 69; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1, CDR2, CDR2bis и CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 73 по 75 и 202, и указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 79 по 81; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1, CDR2, CDR2bis и CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 127 по 129 и 204, и указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 133 по 135.

В других вариантах осуществления изобретения антигенраспознающая структура согласно представленному в данном документе ранее описанию является ТКР или его фрагментом, включающим по меньшей мере одну последовательность  $\alpha$ - и одну последовательность  $\beta$ -цепи ТКР, где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 4, и где указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 10; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 16, и где указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 22; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 28, и где указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 34; или где указанная последовательность  $\alpha$ -

цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 40, и где указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 46; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 52, и где указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 58; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 64, и где указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 70; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 76, и где указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 82; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 130, и где указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 136.

В других вариантах осуществления изобретения антигенраспознающая структура согласно представленному в данном документе ранее описанию является ТКР или его фрагментом, дополнительно включающая константную область ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID NO: 5, 11, 17, 23, 29, 35, 41, 47, 53, 59, 65, 71, 77, 83, 131 и 137; предпочтительно, где ТКР состоит по меньшей мере из одной последовательности  $\alpha$ -цепи ТКР и одной последовательности  $\beta$ -цепи ТКР, где эта последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает константную область, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID NO: 5, 17, 29, 41, 53, 65, 77 и 131; и где эта последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает константную область,

последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID NO: 11, 23, 35, 47, 59, 71, 83 и 137.

Также предложены антигенраспознающие структуры согласно представленному в данном документе ранее описанию, включающие первую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 6, и вторую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 12. В изобретении также предложены ТКР, включающие первую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 18, и вторую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 24. В других вариантах осуществления в изобретении предложены антигенраспознающие структуры, которые являются ТКР и включают первую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 30, и вторую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 36. В других вариантах осуществления в изобретении предложены антигенраспознающие структуры, которые являются ТКР и включают первую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 42, и вторую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 48. В других вариантах осуществления в изобретении предложены антигенраспознающие структуры, которые являются ТКР и включают первую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 54, и вторую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%,

60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 60. В других вариантах осуществления в изобретении предложены антигенраспознающие структуры, которые являются ТКР и включают первую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 66, и вторую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 72. В других вариантах осуществления в изобретении предложены антигенраспознающие структуры, которые являются ТКР и включают первую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 78, и вторую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 84. В других вариантах осуществления в изобретении предложены антигенраспознающие структуры, которые являются ТКР и включают первую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 132, и вторую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 138.

В контексте настоящего описания понятия «мышиный» или «человеческий», когда они относятся к антигенраспознающей структуре или к ТКР, или к любому из компонентов ТКР, описанных в настоящем контексте (например, участок, определяющий комплементарность (CDR), переменная область, константная область,  $\alpha$ -цепь и/или  $\beta$ -цепь), обозначают ТКР (или его компонент), который получен из локуса мышиного или человеческого ТКР без перегруппировок, соответственно.

В одном варианте осуществления изобретения предложены химерные ТКР, где цепи ТКР включают последовательности нескольких биологических видов. Предпочтительно, когда ТКР согласно изобретению может включать  $\alpha$ -цепь, включающую человеческую переменную область  $\alpha$ -цепи и, например, мышиную

константную область  $\alpha$ -цепи ТКР мыши.

В одном варианте осуществления ТКР по изобретению является человеческим ТКР, включающим человеческие переменные области в соответствии с представленными выше вариантами осуществления и человеческие константные области.

В некоторых вариантах осуществления антигенраспознающая структура мураинизирована или гуманизирована. Эти понятия используются, когда аминокислотные последовательности чужеродных видов введены в структуру по изобретению.

ТКР по изобретению может быть предложен в виде одноцепочечного ТКР. Одноцепочечный ТКР в соответствии с изобретением будет включать в одной полипептидной цепи целиком или частично последовательность альфа-цепи и целиком или частично последовательность бета-цепи, предпочтительно, связанные за счет пептидного линкера. Одноцепочечный ТКР может включать полипептид переменной области первой цепи ТКР (например, альфа-цепи) и полипептид всей (полной длины) второй цепи ТКР целиком (например, бета-цепи), или наоборот. Более того, одноцепочечный ТКР может, факультативно, включать один или несколько линкеров, которые соединяют два или более полипептидов друг с другом. Линкер может быть, например, пептидом, который соединяет вместе две одиночные цепи согласно описанию в данном документе. Также предложен такой одноцепочечный ТКР по изобретению, который слит с человеческим цитокином, таким как ИЛ-2, ИЛ-7 или ИЛ-15.

Антигенраспознающая структура в соответствии с изобретением может быть также предложена в форме мультимерного комплекса, включающего по меньшей мере две молекулы одноцепочечных ТКР, где каждая из указанных молекул одноцепочечных ТКР слита по меньшей мере с одним биотиновым компонентом или другой связывающей молекулой/линкером, и где указанные одноцепочечные ТКР соединены между собой за счет взаимодействия биотин-стрептавидин, позволяя образовываться указанному мультимерному комплексу. Возможными являются также похожие подходы, известные в области техники для получения

мультимерных ТКР, и они включены в настоящее изобретение. Также предложены мультимерные комплексы более высокого порядка, включающие более чем два двухцепочечных ТКР по изобретению.

В целях настоящего изобретения ТКР является компонентом, имеющим по меньшей мере один переменный домен альфа- или гамма-цепи ТКР и/или переменный домен бета- или дельта-цепи ТКР. В общем, они включают как альфа-переменный домен ТКР, так и бета-переменный домен ТКР, альтернативно как гамма-переменный домен ТКР, так и дельта-переменный домен ТКР. Они могут быть  $\alpha\beta/\gamma\delta$ -гетеродимерами или иметь одноцепочечный формат. Для применения в рамках адоптивной терапии  $\alpha\beta$ - или  $\gamma\delta$ -гетеродимерные ТКР могут быть, например, трансфицированы как цепи полной длины, имеющие как цитоплазматические, так и трансмембранные домены. По желанию может присутствовать введенная дисульфидная связь между остатками соответствующих константных доменов.

В предпочтительном варианте осуществления антигенраспознающая структура является ТКР человека или его фрагментом или его производным. ТКР человека или его фрагмент или его производное является ТКР, который включает свыше 50% соответствующей последовательности ТКР человека. Предпочтительно, если только малая часть последовательности ТКР искусственного происхождения или получена от других видов. Тем не менее, известно, что преимущества имеют химерные ТКР, например, человеческого происхождения с мышинными последовательностями в константных доменах. Поэтому особенно предпочтительным является ТКР в соответствии с настоящим изобретением, который содержит мышинные последовательности во внеклеточной части их константных доменов.

Таким образом, также предпочтительным является то, что антигенраспознающая структура по изобретению способна распознавать свой антиген по зависимому от человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) механизму, предпочтительно по HLA-A\*02-зависимому механизму. Понятие «по HLA-зависимому механизму» в контексте настоящего описания означает, что антигенраспознающая структура связывается с антигеном только в том случае, если антигенный пептид

презентируется указанным HLA.

Антигенраспознающая структура в соответствии с изобретением в одном варианте осуществления предпочтительно индуцирует иммунный ответ, предпочтительно где иммунный ответ характеризуется повышением уровней интерферона (ИФН)-гамма.

В изобретении также предложен полипептид, включающий функциональный участок любого из ТКР (или его функциональных вариантов), описанных в настоящем контексте, например, любого из ТКР, выбранных из R11P3D3, R16P1C10, R16P1E8, R17P1A9, R17P1D7, R17P1G3, R17P2B6 и R11P3D3\_KE, предложенных в разделе примеров и Таблице 1. Понятие «полипептид» в контексте настоящего описания включает олигопептиды и относится к одиночной цепи аминокислот, связанных одной или несколькими пептидными связями. В отношении полипептидов по изобретению функциональный участок может быть любым участком, включающим смежные аминокислоты ТКР (или его функционального варианта), частью которого он является, при условии, что функциональный участок специфически связывается с ТAA-антигеном, предпочтительно, как раскрыто в настоящем описании в Таблице 2, и пептидами A1–A9 (SEQ ID NO: 97 и 98–106, и пептидами T1–T9 (SEQ ID NO:107–115)). Понятие «функциональный участок», когда оно используется в отношении ТКР (или его функционального варианта), относится к любой части или фрагменту ТКР (или его функционального варианта) по изобретению, часть или фрагмент которого сохраняет биологическую активность ТКР (или его функционального варианта), частью которого он является (исходный ТКР или его исходный функциональный вариант). Функциональные участки охватывают, например, те части ТКР (или его функционального варианта), которые сохраняют способность специфически связываться с ТAA-антигеном (по HLA-зависимому механизму) или выявлять, лечить или предотвращать рак в подобной степени, в равной степени или в большей степени, чем исходный ТКР (или его функциональный вариант). В отношении исходного ТКР (или его функционального варианта) функциональный участок может включать, например, около 10%, 25%, 30%, 50%, 68%, 80%, 90%, 95% или более переменных последовательностей исходного ТКР (или его функционального варианта).

Функциональный участок может включать дополнительные аминокислоты на аминном или карбоксильном конце участка или на обоих концах, на которых дополнительные аминокислоты не обнаруживаются в аминокислотной последовательности исходного ТКР или его функционального варианта. Желательно, чтобы дополнительные аминокислоты не мешали осуществлению биологической функции функционального участка, например, специфическому связыванию с ТАА-антигенами; и/или имеющейся способности выявлять рак, лечить или предотвращать рак и т. д. Более желательно, чтобы дополнительные аминокислоты усиливали биологическую активность по сравнению с биологической активностью исходного ТКР или его функционального варианта.

Полипептид может включать функциональный участок одной из или обеих  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей ТКР или его функционального варианта согласно изобретению, такой как, например, функциональный участок, включающий один или более CDR1, CDR2, CDR2bis и (предпочтительно) CDR3 вариабельной(-ых) области(-ей)  $\alpha$ -цепи и/или  $\beta$ -цепи ТКР или его функционального варианта согласно изобретению. В одном варианте осуществления изобретения полипептид может включать функциональный участок, включающий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 3, 9, 15, 21, 27, 33, 39, 45, 51, 57, 63, 69, 75, 81, 129 и 135 (CDR3 вариабельных областей ТКР по изобретению) или их комбинацию. В одном варианте осуществления изобретения полипептид по изобретению может включать, например, вариабельную область ТКР по изобретению или его функционального варианта, включающий комбинацию участков CDR, предложенных выше. В этом отношении полипептид может включать аминокислотную последовательность с любой из SEQ ID NO: 4, 10, 16, 22, 28, 34, 40, 46, 52, 58, 64, 70, 76, 82, 130 и 136 (вариабельные области  $\alpha$ - или  $\beta$ -цепей ТКР по изобретению).

В некоторых случаях структура по изобретению может включать одну или две полипептидные цепи, включающие последовательность в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID NO: 1 по 84 и SEQ ID NO: 127 по 138 и SEQ ID NO: 196 по 202 и 204 (последовательности CDR, константные и вариабельные области и последовательности полной длины), или их функциональные

фрагменты, и дополнительно включает(ют) другие аминокислотные последовательности, например, аминокислотную последовательность, кодирующую иммуноглобулин или его фрагмент, тогда белок по изобретению может быть слитым белком. В этом отношении в изобретении также предложен слитый белок, включающий по меньшей мере один из полипептидов по изобретению, описанный в данном контексте наряду с по меньшей мере одним другим полипептидом. Другой полипептид может существовать как отдельный полипептид слитого белка, или может существовать в качестве полипептида, который экспрессирован в рамке (в тандеме) с одним из полипептидов по изобретению, описанных в данном контексте. Другой полипептид может включать любую пептидную или белковоподобную молекулу или ее фрагмент, включая иммуноглобулин, CD3, CD4, CD8, молекулу МНС, молекулу CD1, например, CD1a, CD1b, CD1c, CD1d и т. д., но без ограничения ими.

Слитый белок может включать одну или несколько копий полипептида по изобретению и/или одну или несколько копий другого полипептида. Например, слитый белок может включать 1, 2, 3, 4, 5 или более копий полипептида по изобретению и/или другого полипептида. Подходящие способы получения слитых белков известны из области техники и включают, например, рекомбинантные способы. В некоторых вариантах осуществления изобретения ТКР (и их функциональные участки и их функциональные варианты), полипептиды и белки по изобретению могут быть экспрессированы в виде отдельного белка, включающего линкерный пептид, связывающий  $\alpha$ -цепь и  $\beta$ -цепь и связывающий  $\gamma$ -цепь и  $\delta$ -цепь. В этом отношении ТКР (и их функциональные участки и их функциональные варианты), полипептиды и белки по изобретению, включающие аминокислотные последовательности переменных областей ТКР по изобретению, и могут дополнительно включать линкерный пептид. Линкерный пептид может с пользой способствовать экспрессии рекомбинантного ТКР (включая его функциональные участки и его функциональные варианты), полипептида и/или белка в клетке-хозяине. Линкерный пептид может включать любую подходящую аминокислотную последовательность. Линкерные последовательности для одноцепочечных ТКР-структур хорошо известны из уровня техники. Так, одноцепочечная структура может дополнительно включать одну или две последовательности константного домена. При экспрессии

структуры, включающей линкерный пептид, в клетке-хозяине линкерный пептид также может быть расщеплен, приводя к образованию отдельных  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей и отдельных  $\gamma$ - и  $\delta$ -цепей.

Как уже упоминалось выше, функциональность по связыванию ТКР по изобретению может быть обеспечена за счет каркаса антитела. Например, последовательности CDR ТКР по изобретению, включающие, возможно, дополнительные 3, 2 или 1 N- и/или C-концевые каркасные остатки, могут быть непосредственно встроены в последовательность вариабельной области тяжелой/легкой цепи антитела. Понятие «антитело» в своих различных грамматических формах используется в настоящем контексте для обозначения молекул иммуноглобулина и иммунологически активных участков молекул иммуноглобулина, т. е. молекул, которые содержат антиген-связывающий центр или паратоп. Такие молекулы называются также «антиген-связывающие фрагменты» молекул иммуноглобулина. В изобретении далее предложено антитело или его антиген-связывающий участок, который специфически связывается с антигенами, описанными в настоящем документе. Антитело может быть иммуноглобулином любого вида, известного из уровня техники. Например, антитело может быть любого изотипа, например, IgA, IgD, IgE, IgG, IgM и т. д. Антитело может быть моноклональным или поликлональным. Антитело может быть встречавшимся в природе антителом, например, антителом, выделенным и/или очищенным из клеток млекопитающего, например, мыши, кролика, козы, лошади, курицы, хомяка, человека и т. д. В качестве альтернативы антитело может быть получено методами генной инженерии, например, гуманизированным антителом или химерным антителом. Антитело может быть в форме мономера или полимера.

Понятие «антитело» включает, но без ограничения, полученные методами генной инженерии или модифицированные другими способами формы иммуноглобулинов, такие как интратела, химерные антитела, полностью человеческие антитела, гуманизированные антитела (например, полученные с помощью «трансплантации CDR»), фрагменты антител и гетероконъюгированные антитела (например, биспецифические антитела, диатела, триатела, тетратела и т. д.). Понятие «антитело» включает цис-диатела и мини-антитела. Таким

образом, все без исключения варианты осуществления, предложенные в данном контексте в отношении «антител» или «подобных антителам структур» также предполагают в качестве варианта осуществления биспецифические антитела, диатела, scFv-фрагменты, конструкции химерных рецепторов антител (CAR), диатела и/или мини-антитела, если не было явно указано иное. Понятие «антитело» включает полипептид из семейства иммуноглобулинов или полипептид, включающий фрагменты иммуноглобулина, который способен нековалентно, обратимо и специфическим образом связываться с соответствующим антигеном, предпочтительно, ТАА по изобретению согласно раскрытию сущности в данном контексте. Типичные структурные единицы антитела включают тетрамер. В некоторых вариантах осуществления антитело полной длины может состоять из двух идентичных пар полипептидных цепей, причем каждая пара имеет одну «легкую» и одну «тяжелую» цепь (связанные посредством дисульфидной связи). Структура и изотипы антител хорошо известны опытному специалисту данной области (например, из работы Janeway, Immunobiology, издание 9-ое, 2016 г.).

Известные гены иммуноглобулинов млекопитающих включают гены константной области, кодирующие каппа-, лямбда-, альфа-, гамма-, дельта-, эпсилон- и мю-цепи в равной степени, как и большое число генов варибельной области иммуноглобулинов (более подробную информацию о генах иммуноглобулинов см. в международной информационной системе Im-MunoGeneTics information system®, Lefranc M-P et al, Nucleic Acids Res. 2015 Jan;43(выпуск о банках данных):D413-22; и <http://www.imgt.org/>).

.В случае цепей полной длины легкие цепи классифицируют либо как каппа, либо как лямбда. В случае цепей полной длины тяжелые цепи классифицируют как гамма, мю, альфа, дельта или эпсилон, которые, в свою очередь, определяют собой классы иммуноглобулинов IgG, IgM, IgA, IgD и IgE, соответственно. N-конец каждой из цепей определяет варибельную область из примерно 100–110 или более аминокислот, отвечающих, в первую очередь, за распознавание антигена. Понятия «варибельная область легкой цепи» (VL) и «варибельная область тяжелой цепи» (VH) относятся к этим областям легкой или тяжелой цепи, соответственно. Согласно использованию в контексте настоящего изобретения,

«антитело» включает в себя все вариации антител и их фрагментов. Таким образом, в пределы данной концепции входят все антитела полной длины, химерные антитела, гуманизированные антитела, одноцепочечные антитела (scFv), Fab, Fab' и мультимерные варианты этих фрагментов (например, F(ab')<sub>2</sub>) с такой же, по существу такой же или подобной специфичностью связывания. В некоторых вариантах осуществления антитело специфически связывается с пептидом ТАА по изобретению. Предпочтительные антигенраспознающие структуры в соответствии с изобретением включают тяжелую цепь антитела, предпочтительно ее переменный домен или ее антиген-связывающий фрагмент, и/или легкую цепь антитела, предпочтительно ее переменный домен или ее антиген-связывающий фрагмент. Подобным образом стабилизированные дисульфидной связью фрагменты переменной области (dsFv) могут быть получены по технологии рекомбинантных ДНК, фрагменты антител по изобретению, тем не менее, не ограничены этими отдельными типами фрагментов антител. Также антитело или его антиген-связывающий участок могут быть модифицированы таким образом, чтобы включать поддающуюся обнаружению метку, такую как, например, радиоизотоп, флуорофор (например, флуоресцеинизотиоцианат (FITC), фикоэритрин (PE)), фермент (например, щелочную фосфатазу, пероксидазу хрена) и частицы элементов (например, частицы золота). В некоторых случаях последовательность CDR3 ТКР может иметь несущественные модификации, но, предпочтительно, не более чем 3 аминокислотных остатков, предпочтительно только в двух и – наиболее предпочтительно – только в одной аминокислотной позиции в сравнении с последовательностями CDR3, предложенными в SEQ ID NO. 3, 9, 15, 21, 27, 33, 39, 45, 51, 57, 63, 69, 75, 81, 129 и 135. Предпочтительно, если антитела включают CDR3, предпочтительно, все области с CDR1, CDR2, CDR2bis и CDR3 в комбинации, как указано для ТКР по изобретению в Таблице 1, в каждом случае независимо, факультативно – с не более чем тремя или двумя, предпочтительно, одной заменой(ами), вставкой(ами) и/или делецией(ами) аминокислоты по сравнению с этими последовательностями.

Подходящие способы получения антител известны из уровня техники. Например, стандартные гибридомные технологии описаны, например, в работе Kohler and Milstein, *Eur. J. Immunol*, 5, 51 1-519 (1976), Harlow and Lane (eds.), *Antibodies: A*

Laboratory Manual, CSH Press (1988) и С.А. Janeway et al. (eds.), Immunobiology, 8 Ed., Garland Publishing, New York, NY (201 1)). В качестве альтернативы, другие способы, такие как технологии гибридомы EBV (Haskard and Archer, J. Immunol. Methods, 74(2), 361-67 (1984) и Roder et al, Methods Enzymol, 121, 140-67 (1986)), и векторные системы экспрессии на основе бактериофагов (см., например, Huse et al., Science, 246, 1275-81 (1989)) известны из уровня техники. Кроме того, способы получения антител у животных нечеловеческого происхождения описаны, например, в патентах США 5 545 806, 5 569 825 и 5 714 352 и патентной заявке США № 2002/0197266.

Некоторые варианты осуществления изобретения также относятся к ТКР или их функциональным фрагментам и их полипептидам, которые являются растворимыми ТКР. В контексте настоящего описания понятие «растворимый Т-клеточный рецептор» относится к гетеродимерным усеченным вариантам природных ТКР, которые включают внеклеточные участки  $\alpha$ -цепи и  $\beta$ -цепи ТКР, например, связанные дисульфидной связью, но не имеющих трансмембранный и цитозольный домены природного белка. Понятия «последовательность  $\alpha$ -цепи растворимого Т-клеточного рецептора» и «последовательность  $\beta$ -цепи растворимого Т-клеточного рецептора» относятся к последовательностям  $\alpha$ -цепи и  $\beta$ -цепи ТКР, в которых отсутствуют трансмембранный и цитозольный домены. Последовательность (аминокислот или нуклеиновых кислот)  $\alpha$ -цепи и  $\beta$ -цепи растворимого ТКР может быть идентичной соответствующим последовательностям природного ТКР или могут включать варианты последовательностей  $\alpha$ -цепи и  $\beta$ -цепи растворимого ТКР по сравнению с соответствующими последовательностями природного ТКР. Понятие «растворимый Т-клеточный рецептор», используемое в настоящем контексте, включает растворимые ТКР с вариантными или невариантными последовательностями  $\alpha$ -цепи и  $\beta$ -цепи растворимого ТКР. Вариации могут быть в переменных или константных областях последовательностей  $\alpha$ -цепи и  $\beta$ -цепи растворимого ТКР и могут включать, но без ограничения, мутации аминокислотной делеции, вставки, замещения, а также изменения в последовательности нуклеиновой кислоты, которые не изменяют аминокислотную последовательность. Растворимый ТКР по изобретению в любом случае сохраняет функциональность своих исходных молекул по связыванию.

Обозначенная выше проблема решена также с помощью нуклеиновой кислоты, кодирующей антигенраспознающую структуру по изобретению или любую из упомянутых ранее белковых или полипептидных структур. Нуклеиновая кислота предпочтительно (а) имеет нить, кодирующую антигенраспознающую структуру в соответствии с изобретением; (б) имеет нить, комплементарную по отношению к нити из (а); или (в) имеет нить, которая при жестких условиях гибридизируется с молекулой, описанной в (а) или (б). Жесткие условия известны специалисту данной области, в частности, из работы Sambrook и соавт., «Molecular Cloning». Кроме того, нуклеиновая кислота факультативно имеет дополнительные последовательности, которые необходимы для экспрессии последовательности нуклеиновой кислоты, соответствующей белку, в особенности для экспрессии в клетке млекопитающего/человека. Используемая нуклеиновая кислота может быть включена в вектор, пригодный для осуществления экспрессии последовательности нуклеиновой кислоты, соответствующей пептиду, в клетке. Тем не менее, нуклеиновые кислоты могут также использоваться для трансформации антигенпрезентирующей клетки, которые не ограничиваются классическими антигенпрезентирующими клетками, такими как дендритные клетки, таким образом, что они сами образуют соответствующие белки на их клеточной поверхности.

В некоторых вариантах осуществления полипептиды антигенраспознающих структур могут кодироваться нуклеиновыми кислотами и экспрессироваться *in vivo* или *in vitro*. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления предложена нуклеиновая кислота, кодирующая антигенраспознающую структуру. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота кодирует одну часть или мономер антигенраспознающей структуры по изобретению (например, одну или двух цепей ТКР по изобретению), и/или другая нуклеиновая кислота кодирует другую часть или мономер антигенраспознающей структуры по изобретению (например, другую из двух цепей ТКР по изобретению). В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота кодирует две или более полипептидные цепи антигенраспознающей структуры, например по меньшей мере 2 цепи ТКР. Нуклеиновые кислоты, кодирующие несколько цепей антигенраспознающей структуры, могут включать сайты расщепления нуклеиновых кислот между, по

меньшей мере, двумя последовательностями цепей, могут кодировать сайт начала транскрипции или трансляции между двумя или несколькими последовательностями цепей, и/или могут кодировать протеолитические сайты-мишени между двумя или несколькими цепями антигенраспознающей структуры.

Понятия «нуклеиновая кислота» в настоящем контексте включает «полинуклеотид», «олигонуклеотид» и «молекулу нуклеиновой кислоты» и в общем обозначает полимер ДНК или РНК, который может быть одноцепочечным или двухцепочечным, синтезированным или полученным (например, выделенным и/или очищенным) из природных источников, который может содержать встречающиеся в природе, не встречающиеся в природе или измененные нуклеотиды и может содержать встречающуюся в природе, не встречающуюся в природе или измененную межнуклеотидную связь, такую как фосфороамидатную связь или фосфоротиоатную связь вместо фосфодиэфирной, существующей между нуклеотидами немодифицированного олигонуклеотида.

Предпочтительно, если нуклеиновые кислоты по изобретению являются рекомбинантными. В настоящем контексте понятие «рекомбинантный» означает (i) молекулы, конструкции которых получены вне живых клеток за счет соединения фрагментов встречающихся в природе или синтетических нуклеиновых кислот с молекулами нуклеиновых кислот, которые могут реплицироваться в живой клетке, или (ii) молекул, полученных в результате репликации тех, что описаны выше в (i). В целях настоящего изобретения репликация может быть репликацией *in vitro* или репликацией *in vivo*. Нуклеиновая кислота может включать любую нуклеотидную последовательность, которая кодирует любой из ТКР, полипептидов или белков или их функциональных фрагментов или функциональных вариантов, описанных в настоящем контексте.

Кроме того, в изобретении предложен вектор, включающий нуклеиновую кислоту в соответствии с изобретением, как описано выше. Желательно, чтобы вектор являлся вектором экспрессии или рекомбинантным вектором экспрессии. Понятие «рекомбинантный вектор экспрессии» в контексте настоящего изобретения относится к нуклеиновокислотной конструкции, которая делает возможной экспрессию мРНК, белка или полипептида в подходящей клетке-хозяине.

Рекомбинантный вектор экспрессии по изобретению может быть любым подходящим рекомбинантным вектором экспрессии и может быть использован для трансформации или трансфекции любого подходящего хозяина. Подходящие векторы включают такие векторы, которые сконструированы для распространения и размножения или для экспрессии или того и другого, такие как плазмиды и вирусы. Примеры векторов экспрессии животных включают рEUK-CI, рMAM и рMAMneo. Предпочтительно, когда рекомбинантный вектор экспрессии является вирусным вектором, например, ретровирусным вектором. Рекомбинантный вектор экспрессии включает регуляторные последовательности, такие как инициации транскрипции и трансляции и терминирующие кодоны, которые являются специфическими для вида клетки-хозяина (например, бактериальная, грибная, растительная или животная), в которую необходимо ввести вектор и в которой может быть осуществлена экспрессия нуклеиновой кислоты по изобретению. Кроме того, вектор согласно изобретению может включать один или более маркерный ген, который позволяет производить выбор трансформированных или трансфицированных хозяев. Рекомбинантный вектор экспрессии может включать нативный или нормальный промотор, функционально связанный с нуклеотидной последовательностью, кодирующей структуры по изобретению, или с нуклеотидной последовательностью, которая является комплементарной по отношению к или которая гибридизируется с нуклеотидной последовательностью, кодирующей структуры по изобретению. Выбор промоторов включает, например, сильные, слабые, индуцируемые, специфические для тканей и органов промоторы. Промотор может быть вирусного или невирусного происхождения. Рекомбинантные векторы экспрессии по изобретению могут быть сконструированы для кратковременной или устойчивой экспрессии или обоих видов. Также рекомбинантные векторы экспрессии могут быть сконструированы для конститутивной экспрессии или для индуцируемой экспрессии.

Изобретение также относится к клетке-хозяину, включающей антигенраспознающую структуру в соответствии с изобретением. В частности, клетка-хозяин по изобретению содержит нуклеиновую кислоту или вектор, как описано в данном контексте выше. Клетка-хозяин может быть эукариотической клеткой, например, клеткой растения, животного, грибов или водорослей, или может быть прокариотической клеткой, например, клеткой бактерий или

простейших. Клетка-хозяин может быть клеткой из культуры или первичной клеткой, т. е. выделенной непосредственно из организма, например, человека. Клетка-хозяин может быть прилипающей клеткой или суспендированной клеткой, т. е. клеткой, выращиваемой в суспензии. В целях получения рекомбинантного ТКР, полипептида или белка клетка-хозяин предпочтительно является клеткой млекопитающего. Наиболее предпочтительно, чтобы клетка-хозяин являлась клеткой человека. Хотя клетка-хозяин может быть клеткой любого вида, может быть получена из любого вида ткани и может находиться на любой стадии развития, предпочтительно, чтобы клетка-хозяин являлась лейкоцитом периферической крови (ЛПК) или мононуклеарной клеткой периферической крови (МКПК). Более предпочтительно, если клетка-хозяин является Т-клеткой. Т-клетка может быть любой Т-клеткой, такой как Т-клетка из культуры клеток, например, первичной Т-клеткой, или Т-клеткой из культуры линии Т-клеток, например, Jurkat, SupT1 и т. д., или Т-клеткой, полученной из организма млекопитающего, предпочтительно, Т-клеткой или предшественником Т-клетки организма пациента-человека. Если Т-клетка получена из организма млекопитающего, то она может быть получена из многочисленных источников, включая кровь, костный мозг, лимфатический узел, вилочковую железу или другие ткани или жидкости, но без ограничения перечисленным. Т-клетки также могут быть обогащены или очищены. Предпочтительно, если Т-клетка является Т-клеткой человеческого происхождения. Более предпочтительно, если Т-клетка является Т-клеткой, выделенной из человеческого организма. Т-клетка может быть Т-клеткой любого вида и любой стадии развития, включая CD4-положительные и/или CD8-положительные, CD4-положительные хелперные Т-клетки, например, клетки Th1 и Th2, CD8-положительные Т-клетки (например, цитотоксические Т-клетки), инфильтрующие опухоль клетки (TIL), Т-клетки памяти, наивные Т-клетки и тому подобное, но без ограничения перечисленным. Предпочтительно, если Т-клетка является CD8-положительной Т-клеткой или CD4-положительной Т-клеткой.

Предпочтительно, если клетка-хозяин по изобретению является лимфоцитом, предпочтительно, Т-лимфоцитом, таким как CD4-положительная или CD8-положительная Т-клетка. Клетка-хозяин, кроме того, предпочтительно, является опухолерепреактивной Т-клеткой, специфической для опухолевых клеток, экспрессирующих ТАА.

Задача изобретения также решена за счет предложения способа получения ТАА-специфичной антигенраспознающей структуры или линии клеток, экспрессирующей ТАА-специфичную антигенраспознающую структуру, включающего

- а. обеспечение подходящей клетки-хозяина,
- б. обеспечение генетической конструкции, включающей кодирующую последовательность, кодирующую антигенраспознающую структуру в соответствии с настоящим изобретением,
- в. введение в указанную подходящую клетку-хозяина указанной генетической конструкции,
- г. экспрессию указанной генетической конструкции указанной подходящей клеткой-хозяином.

Способ может далее включать этап презентации указанной антигенраспознающей структуры на поверхности указанной подходящей клетки-хозяина.

В других предпочтительных вариантах осуществления генетическая конструкция является экспрессионной конструкцией, включающей промоторную последовательность, функционально связанную с указанной кодирующей последовательностью. Предпочтительно, если указанная антигенраспознающая структура происходит от млекопитающего, предпочтительно от человека. Предпочтительная подходящая клетка-хозяин для применения в способе по изобретению является клеткой млекопитающего, такой как клетка человека, в частности, Т-лимфоцит человека. Т-клетки для применения в изобретении описаны в настоящем контексте выше.

Изобретение включает также варианты осуществления, где указанная антигенраспознающая структура является модифицированным ТКР, где указанная модификация представляет собой добавление функциональных доменов, таких как метка или терапевтически активная субстанция. Кроме того, предложены ТКР с альтернативными доменами, такими как альтернативный мембранный якорный домен вместо эндогенной трансмембранной области. Также в изобретение включены ТКР с точечными мутациями в вариабельном или константном домене

ТКР в целях улучшения экспрессии или стабильности ТКР и/или спаривания цепей ТКР.

Желательно, если система трансфекции для введения генетической конструкции в указанную подходящую клетку-хозяина является ретровирусной векторной системой. Такие системы хорошо известны для опытного специалиста.

В настоящее изобретение также включен в одном варианте осуществления дополнительный этап способа – выделения и очистки антигенраспознающей структуры из клетки и, факультативно, восстановления транслированных фрагментов антигенраспознающей структуры в Т-клетке.

В альтернативном аспекте изобретения предложена Т-клетка, полученная или которую можно получить способом получения Т-клеточного рецептора (ТКР), который специфичен для опухолевых клеток и обладает высокой авидностью, как это описывалось ранее в настоящем контексте. Такая Т-клетка зависит от клетки-хозяина, используемой в способе по изобретению, например, Т-клетка человеческого или нечеловеческого происхождения, предпочтительно, ТКР человеческого происхождения.

Понятие «выделенный», используемое в настоящем контексте в отношении полипептида, такого как антигенраспознающая структура (примером которого может быть антитело), относится к полипептиду, очищенному от белков или полипептидов или других загрязнений, которые оказывали бы негативное влияние на его применение в лечении, постановке диагноза, предупреждении заболеваний, исследованиях или другие виды применения. Антигенраспознающая структура в соответствии с изобретением может быть рекомбинантной, синтетической или модифицированной (не встречающийся в природе) антиген-связывающей структурой. Понятие «выделенная» («выделенные»), используемое в настоящем контексте в отношении нуклеиновой кислоты или клеток относится к нуклеиновой кислоте или клеткам, которая(ые) очищена(ы) от ДНК, РНК, белков или полипептидов или других загрязнений (таких как другие клетки), которые оказывали бы негативное влияние на ее (их) применение в лечении, постановке диагноза, профилактике заболеваний, исследованиях или другие виды

применения, или оно относится к рекомбинантной, синтетической или модифицированной (не встречающийся в природе) нуклеиновой кислоте. В настоящем контексте «рекомбинантный» («рекомбинантная») белок/полипептид или нуклеиновая кислота является полученным(ой) с помощью рекомбинантных технологий. Способы и методики получения рекомбинантных нуклеиновых кислот и белков хорошо известны из уровня техники.

В одном дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к предложенным в настоящем контексте антигенраспознающим структурам, нуклеиновым кислотам, векторам, фармацевтическим композициям и/или клетке-хозяину для применения в медицине. Применение в медицине в одном предпочтительном варианте осуществления включает применение в диагностике, предупреждении и/или лечении опухолевого заболевания, такого как злокачественное или доброкачественное опухолевое заболевание. Опухолевое заболевание является, например, опухолевым заболеванием, характеризующимся экспрессией антигена ТАА в раковой или опухолевой клетке указанного опухолевого заболевания.

В отношении упомянутого выше медицинского применения антигенраспознающих структур и других материалов, полученных из них, относящихся к ним или кодирующих их в соответствии с настоящим описанием, подлежащие лечению и/или диагностике заболевания могут быть любым пролиферативным нарушением, предпочтительно характеризующимся экспрессией ТАА или последовательности эпитопа ТАА по изобретению, например любым раковым заболеванием, включая любое из заболеваний: острый лимфоцитарный рак, острый миелолейкоз, альвеолярная рабдомиосаркома, рак кости, рак головного мозга, рак молочной железы, рак анального отверстия, анального канала или аноректальной области, рак глаза, рак внутрипеченочных желчных протоков, рак суставов, рак шеи, желчного пузыря или плевры, рак носа, полости носа или среднего уха, рак полости рта, рак влагалища, рак вульвы, хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелоидный рак, рак толстой кишки, рак пищевода, рак шейки матки, гастроинтестинальная карциноидная опухоль, глиома, ходжкинская лимфома, рак гортаноглотки, рак почки, рак гортани, рак печени, рак легких, злокачественная мезотелиома, меланома, множественная миелома, рак

носоглотки, неходжкинская лимфома, рак ротоглотки, рак яичника, рак пениса, рак поджелудочной железы, брюшины, сальника и рак брыжейки, рак глотки, рак предстательной железы, рак прямой кишки, почечный рак, рак кожи, рак тонкой кишки, рак мягких тканей, рак желудка, рак яичек, рак щитовидной железы, рак матки, рак мочеочника и рак мочевого пузыря. Предпочтительным видом рака является рак шейки матки, ротоглотки, анального отверстия, анального канала, аноректальной области, влагалища, вульвы или пениса. Особенно предпочтительным видом рака является ТАА-положительный рак, включая, предпочтительно, карциному яичника, лейкоз или меланому.

Структуры, белки, антитела к ТКР, полипептиды и нуклеиновые кислоты по изобретению предназначены, в частности, для применения в иммунной терапии, предпочтительно, в адоптивной Т-клеточной терапии. Введение соединений по изобретению может, например, включать инфузию Т-клеток по изобретению указанному пациенту. Предпочтительно, если такие Т-клетки являются аутологичными клетками пациента, трансдуцированными *in vitro* нуклеиновой кислотой или антигенраспознающей структурой согласно настоящему изобретению.

Антигенраспознающие структуры, ТКР, полипептиды, белки (в том числе их функциональные варианты), нуклеиновые кислоты, рекомбинантные векторы экспрессии, клетки-хозяева (в том числе их популяции) и антитела (в том числе их антигенсвязывающие фрагменты) по изобретению, все из которых далее именуется совместно «ТКР-материалы по изобретению», могут быть в составе композиции, такой как фармацевтическая композиция. В этом отношении в изобретении также предложена фармацевтическая композиция, включающая любые из антигенраспознающих структур, ТКР, полипептидов, белков, функциональных фрагментов, функциональных вариантов, нуклеиновых кислот, векторов экспрессии, клеток-хозяев (в том числе их популяции) и антител (в том числе их антигенсвязывающие фрагменты), описанных в настоящем контексте, и фармацевтически приемлемый носитель, вспомогательное вещество и/или стабилизатор. Фармацевтические композиции по изобретению, содержащие любой из ТКР-материалов по изобретению, могут включать более чем один ТКР-материал по изобретению, например, полипептид и нуклеиновую кислоту или два

или более различных ТКР (в том числе их функциональные фрагменты и функциональные варианты). Альтернативно фармацевтические композиции могут включать ТКР-материал по изобретению в комбинации с другим(и) фармацевтически активным(и) веществом(ами) или лекарственным(и) средством(ами), таким как химиотерапевтические средства, например, аспарагиназа, бусульфан, карбоплатин, цисплатин, даунорубицин, доксорубицин, фтороурацил, гемцитабин, гидроксимочевина, метотрексат, паклитаксел, ритуксимаб, винбластин, винкристин, и т. д. Предпочтительно, если носитель является фармацевтически приемлемым носителем. В отношении фармацевтических композиций носитель может быть любым из обычно используемых для конкретного рассматриваемого ТКР-материала по изобретению. Такие фармацевтически приемлемые носители хорошо известны специалистам данной области и являются общедоступными. Предпочтительно, чтобы фармацевтически приемлемый носитель был таким, который в условиях применения не имеет негативных побочных эффектов или токсичности.

Таким образом, также предложена фармацевтическая композиция, включающая любой из описанных в контексте продуктов по изобретению и ТКР-материалов по изобретению, в особенности любые белки, нуклеиновые кислоты или клетки-хозяева. В предпочтительном варианте осуществления фармацевтическая композиция предназначена для иммунной терапии, предпочтительно для адоптивной клеточной терапии.

Предпочтительно, чтобы ТКР-материал по изобретению вводился с помощью инъекции, например, внутривенно. Если ТКР-материал по изобретению является клеткой-хозяином, экспрессирующей ТКР по изобретению (или его функциональный вариант), фармацевтически приемлемый носитель для клеток для инъекции может включать любой изотонный носитель, такой как, например, нормальный физиологический раствор (около 0,90% мас./об. NaCl в воде, около 300 мОсм/л NaCl в воде или около 9,0 г NaCl на литр воды), электролитный раствор NORMOSOL R (Abbott, Чикаго, Иллинойс, США), PLASMA-LYTE A (Baxter, Дирфилд, Иллинойс, США), около 5% декстрозы в воде или Рингера лактат. В одном варианте осуществления в фармацевтически приемлемый носитель добавлен сывороточный альбумин человека.

В целях настоящего изобретения количество или доза (например, количество клеток, когда ТКР-материал по изобретению является одной или несколькими клетками) вводимого ТКР-материала по изобретению может быть достаточным для оказания влияния, например, вызвать терапевтический или профилактический ответ, у субъекта или животного в течение приемлемого промежутка времени. Например, доза ТКР-материала по изобретению должно быть достаточной для связывания с раковым антигеном или для выявления, лечения или предупреждения рака в течение периода времени от около 2 часов или дольше, например, 12–24 или более часов, начиная с момента введения. В определенных вариантах осуществления период времени может быть даже длиннее. Дозу определяют по эффективности конкретного ТКР-материала по изобретению и состоянию животного (например, человека), а также по весу тела животного (например, человека), подлежащего лечению.

Во внимание принимается тот факт, что фармацевтические композиции, антигенраспознающие структуры, ТКР (в том числе их функциональные варианты), полипептиды, белки, нуклеиновые кислоты, рекомбинантные векторы экспрессии, клетки-хозяева или популяции клеток по изобретению могут применяться в способах лечения или предупреждения рака или ТАА-положительного предопухолевого состояния. ТКР по изобретению (и их функциональные варианты), как считается, специфически связываются с ТАА по изобретению, так что ТКР (или родственный полипептид или белок по изобретению и их функциональные варианты), когда он экспрессируется клеткой или на клетке, такой как Т-клетке, способен опосредовать иммунный ответ по отношению к клетке-мишени, экспрессирующей ТАА по изобретению, предпочтительно, презентирова пептиды ТАА с помощью молекулы МНС I или II класса на поверхности указанной клетки-мишени. В этом отношении в изобретении предложен способ лечения или предупреждения патологического состояния, в частности, рака, у млекопитающего, включающий введение млекопитающему любых из фармацевтических композиций, антигенраспознающих структур, в частности, ТКР (и их функциональных вариантов), полипептидов или белков, описанных в настоящем контексте, любой нуклеиновой кислоты или рекомбинантного вектора экспрессии, включающего нуклеотидную последовательность, кодирующую любой из ТКР (и их

функциональных вариантов), полипептидов, белков, описанных в настоящем контексте, или любой клетки-хозяина или популяции клеток, включающей нуклеиновую кислоту или рекомбинантный вектор, который кодирует любую из структур по изобретению (и их функциональные варианты), полипептиды или белки, описанные в настоящем контексте, в количестве, эффективном для лечения или предупреждения патологического состояния у млекопитающего, где состояние, предпочтительно, является раковым заболеванием, таким как рак, экспрессирующий ТАА по изобретению.

Примеры фармацевтически приемлемых носителей или разбавителей, применимых в рамках настоящего изобретения, включают стабилизаторы, такие как СФГА, углеводы (например, сорбит, маннит, крахмал, сахароза, глюкоза, декстран), белки, такие как альбумин или казеин, содержащие белок продукты, такие как бычья сыворотка или обезжиренное молоко, и буферы (например, фосфатный буфер).

Понятия «лечить» и «предупреждать», а также образованные от них слова в контексте настоящего описания не обязательно подразумевают 100%-ное или полное излечение или предупреждение. Скорее, это разные степени излечения или предупреждения, которые средний специалист данной области определяет как имеющие потенциальную пользу или терапевтический эффект. В этом отношении способы по изобретению могут обеспечить любую степень любого уровня излечения или предупреждения патологического состояния у млекопитающего. Кроме того, лечение или предупреждение, обеспечиваемые способом по изобретению, могут включать лечение или предупреждение одного или нескольких патологических состояний или симптомов этих состояний, например, рака, подвергающихся лечению или предупреждению. Например, лечение или предупреждение может включать стимуляцию регрессии опухоли. Также в целях настоящего изобретения «предупреждение» может охватывать замедление развития патологического состояния или его симптома или состояния.

Настоящее изобретение также относится к способу лечения рака, включающему введение ТКР, нуклеиновой кислоты или клетки-хозяина согласно настоящему описанию в комбинации с по меньшей мере одним химиотерапевтическим

препаратом и/или лучевой терапией.

Другой аспект изобретения, кроме того, относится к способу выявления белка ТАА или комплекса молекулы МНС и белка ТАА (белковый эпитоп ТАА), в (биологическом) образце – полученном, например, от субъекта или пациента – включающему контактирование образца с антигенраспознающей структурой, специфически связывающейся с указанным пептидом ТАА, или комплексом пептида ТАА и молекулы МНС, и выявление связывания между указанной антигенраспознающей структурой и указанным пептидом ТАА или комплексом пептида ТАА и молекулы МНС. В некоторых вариантах осуществления антигенраспознающая структура является ТКР или антителом или подобными структурами или, предпочтительно, антигенраспознающей структурой в соответствии с представленным описанием изобретения. В некоторых вариантах осуществления (биологический) образец является образцом опухолевого или ракового заболевания (такого как те, что описаны в другом месте в настоящем документе), например, образцом, включающим опухолевые или раковые клетки.

Также предложен способ лечения рака у субъекта, нуждающемуся в нем, включающий:

- а) выделение клетки из организма указанного субъекта;
- б) трансформацию клетки по меньшей мере одним вектором, кодирующим антигенраспознающую структуру согласно настоящему изобретению, для получения трансформированной клетки;
- в) культивирование трансформированной клетки для получения множества трансформированных клеток; и
- г) введение множества трансформированных клеток указанному субъекту.

Также предложен способ лечения рака у субъекта, нуждающемуся в нем, включающий:

- а) выделение клетки из организма здорового донора;
- б) трансформацию клетки вектором, кодирующим антигенраспознающую структуру согласно настоящему изобретению, для получения трансформированной клетки;
- в) культивирование трансформированной клетки для получения множества

трансформированных клеток; и

г) введение множества трансформированных клеток указанному субъекту.

Также предложен способ выявления рака в биологическом образце, включающий:

а) контактирование биологического образца с антигенраспознающей структурой согласно настоящему описанию;

б) выявление связывания антигенраспознающей структуры с биологическим образцом.

В некоторых вариантах осуществления способ выявления рака осуществляется *in vitro*, *in vivo* или *in situ*.

Также предложен способ выявления патологического состояния у млекопитающего. Способ включает (i) контактирование образца, включающего одну или более клеток из организма млекопитающего, с любыми из ТКР (и их функциональными вариантами), полипептидов, белков, нуклеиновых кислот, рекомбинантных векторов экспрессии, клеток-хозяев, популяций клеток, антител или их антигенсвязывающих фрагментов по изобретению, или фармацевтическими композициями, описываемыми в настоящем контексте, что ведет к образованию комплекса, и выявление этого комплекса, причем выявление этого комплекса является индикатором наличия патологического состояния у млекопитающего, где состояние является раковым заболеванием, таким как ТАА-экспрессирующее злокачественное заболевание.

В отношении способа выявления патологического состояния у млекопитающего, образцом клеток может быть образец, содержащий цельные клетки, их лизаты или фракцию лизата цельных клеток, например, ядерную или цитоплазматическую фракцию, фракцию цельных белков или фракцию нуклеиновых кислот.

В целях способа выявления по изобретению контактирование по отношению к млекопитающему может проходить *in vitro* или *in vivo*. Предпочтительно, если контактирование проходит *in vitro*.

Выявление комплекса может также осуществляться с помощью любого количества

способов, известных из уровня техники. Например, антигенраспознающие структуры (и их функциональные варианты), полипептиды, белки, нуклеиновые кислоты, рекомбинантные векторы экспрессии, клетки-хозяева, популяции клеток или антитела или ТКР или их антигенсвязывающие фрагменты, описываемые в настоящем контексте, могут быть помечены поддающейся обнаружению меткой, такой как, например, радиоизотоп, флуорофор (например, флуоресцеинизотиоцианат (FITC), фикоэритрин (PE)), фермент (например, щелочная фосфатаза, пероксидаза хрена) и частицы элементов (например, частицы золота).

В целях способов по изобретению, когда вводятся клетки-хозяева или популяции клеток, клетки могут быть клетками, которые являются аллогенными или аутологичными по отношению к млекопитающему. Предпочтительно, если клетки являются аутологичными по отношению к млекопитающему.

В отношении упомянутых ранее видов медицинского применения ТКР-материала согласно изобретению, требующее лечения и/или диагностики раковое заболевание может быть любым раковым заболеванием, включая острый лимфоцитарный рак, острый миелолейкоз, альвеолярная рабдомиосаркома, рак кости, рак головного мозга, рак молочной железы, рак анального отверстия, анального канала или аноректальной области, рак глаза, рак внутрипеченочных желчных протоков, рак суставов, рак шеи, желчного пузыря или плевры, рак носа, полости носа или среднего уха, рак полости рта, рак влагалища, рак вульвы, хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелоидный рак, рак толстой кишки, рак пищевода, рак шейки матки, гастроинтестинальная карциноидная опухоль, глиома, ходжкинская лимфома, рак гортаноглотки, рак почки, рак гортани, рак печени, рак легких, злокачественная мезотелиома, меланома, множественная миелома, рак носоглотки, неходжкинская лимфома, рак ротоглотки, рак яичника, рак пениса, рак поджелудочной железы, брюшины, сальника и рак брыжейки, рак глотки, рак предстательной железы, рак прямой кишки, почечный рак, рак кожи, рак тонкой кишки, рак мягких тканей, рак желудка, рак яичек, рак щитовидной железы, рак матки, рак мочеточника и рак мочевого пузыря. Предпочтительным видом рака является рак шейки матки, ротоглотки, анального отверстия, анального канала, аноректальной области, влагалища, вульвы или пениса. Особенно

предпочтительным видом рака является ТАА-положительный рак, такой как виды рака, экспрессирующие PRAME, например, карцинома яичника, меланома или лейкоз.

В целом, в изобретении предложен способ лечения субъекта, страдающего от опухоли или опухолевого заболевания, который включает введение антигенраспознающих структур, нуклеиновых кислот, векторов, фармацевтических композиций и/или клетки-хозяина, как раскрыто в настоящем изобретении. Предпочтительно, если субъект является субъектом, которому необходимо такое лечение. Субъект в предпочтительных вариантах осуществления является млекопитающим субъектом, предпочтительно пациентом человеческого происхождения, страдающим от опухоли или опухолевого заболевания, являющегося ТАА-положительным.

Исходя из раскрытой в настоящем контексте информации следует понимать, что изобретение далее представлено в изложенных ниже пунктах:

Пункт 1: Антигенраспознающая структура, включающая по меньшей мере одну комплементарную детерминантную группу (CDR) 3, последовательность которой по меньшей мере на 50% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO. 3, 9, 15, 21, 27, 33, 39, 45, 51, 57, 63, 69, 75, 81, 129 и 135.

Пункт 2: Антигенраспознающая структура в соответствии с пунктом 1, где указанная антигенраспознающая структура способна специфически и/или селективно связываться с антигенным пептидом ТАА по изобретению.

Пункт 3: Антигенраспознающая структура в соответствии с пунктом 1 или 2, где антигенраспознающая структура является антителом, или его производным или его фрагментом, или Т-клеточным рецептором (ТКР), или его производным или его фрагментом.

Пункт 4: Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пунктов 1–3, где указанная антигенраспознающая структура связывается с антигенным

пептидом TAA, презентруемым человеческим лейкоцитарным антигеном (HLA), где указанный HLA факультативно представлен типом A2.

Пункт 5: Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пунктов 1–4, где эта структура специфически и/или селективно связывается с эпитопом, имеющим аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей с SEQ ID NO: 97 по 115, предпочтительно, с SEQ ID NO: 97.

Пункт 6: Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пунктов 1–5, где эта структура является  $\alpha/\beta$ -ТКР или его фрагментом или его производным, или где эта структура является  $\gamma/\delta$ -ТКР или его фрагментом или его производным.

Пункт 7: Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пунктов 1–6, характеризующаяся тем, что структура имеет человеческое происхождение и специфически и/или селективно распознает антигенный пептид TAA.

Пункт 8: Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пунктов 1–7, где указанная антигенраспознающая структура способна индуцировать иммунный ответ у субъекта, факультативно, где иммунный ответ характеризуется повышением уровней интерферона (IFN)- $\gamma$ .

Пункт 9: Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пунктов 1–8, включающая  $\alpha$ - или  $\gamma$ -цепь ТКР; и/или  $\beta$ - или  $\delta$ -цепь ТКР; где  $\alpha$ - или  $\gamma$ -цепь ТКР включает CDR3, последовательность которого по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID No. 3, 15, 27, 39, 51, 63, 75 и 129, и/или где  $\beta$ -или  $\delta$ -цепь ТКР включает CDR3, последовательность которого по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID No. 9, 21, 33, 45, 57, 69, 81 и 135.

Пункт 10: Антигенраспознающая структура в соответствии с пунктом 9, где  $\alpha$ - или  $\gamma$ -цепь ТКР дополнительно включает CDR1, последовательность которого по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична

аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID NO: 1, 13, 25, 37, 49, 61, 73 и 127, и/или CDR2, последовательность которого по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID NO: 2, 14, 26, 38, 50, 62, 74, 128, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202 и 204..

Пункт 11: Антигенраспознающая структура в соответствии с пунктом 9 или пунктом 10, где  $\beta$ - или  $\delta$ -цепь ТКР дополнительно включает CDR1, последовательность которого по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID NO: 7, 19, 31, 43, 55, 67 и 79 и 133, и/или CDR2, последовательность которого по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID NO: 8, 20, 32, 44, 56, 68 и 80 и 134.

Пункт 12: Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пунктов 1–11, включающая переменную область цепи ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 4, 10, 16, 22, 28, 34, 40, 46, 52, 58, 64, 70, 76, 82, 130 и 136.

Пункт 13: Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пунктов 1–12, где эта структура является гуманизированной, химерной и/или мураинизированной.

Пункт 14: Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пунктов 1–13, включающая связывающий фрагмент ТКР, и где указанный связывающий фрагмент включает CDR1–CDR3, факультативно выбранные из последовательностей CDR1–CDR3, имеющих аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 1, 2, 3, 196; или 7, 8, 9; или 13, 14, 15, 197; или 19, 20, 21; или 25, 26, 27, 198; или 31, 32, 33; или 37, 38, 39, 199; или 43, 44, 45; или 49, 50, 51, 200; или 55, 56, 57; или 61, 62, 63, 201; или 67, 68, 69; или 73, 74, 75, 202; или 79, 80, 81; или 127, 128, 129, 204; или 133, 134, 135.

Пункт 15: Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пунктов 1–14, где эта структура является ТКР или его фрагментом, состоящим по меньшей мере из одной последовательности  $\alpha$ - и одной последовательности  $\beta$ -цепи ТКР, где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 1 по 3 и 196, и указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 7 по 9; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 13 по 15 и 197, и указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 19 по 21; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 25 по 27 и 198, и указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 31 по 33; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 37 по 39 и 199, и указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 43 по 45; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 49 по 51 и 200, и указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 55 по 57; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 61 по 63 и 201, и указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 67 по 69; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 73 по 75 и 202, и указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 79 по 81; или где указанная последовательность

$\alpha$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 127 по 129 и 204, и указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 133 по 135.

Пункт 16: Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пунктов 1–15, где эта структура является ТКР или его фрагментом, включающим по меньшей мере одну последовательность  $\alpha$ - и одну последовательность  $\beta$ -цепи ТКР, где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 4, и где указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 10; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 16, и где указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 22; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 28, и где указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 34; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 40, и где указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 46; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 52, и где указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 58; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 64, и где указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 70; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 76,

и где указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 82; или где указанная последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 130, и где указанная последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 136.

Пункт 17: Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пунктов 1–16, где эта структура является ТКР или его фрагментом, дополнительно включающая константную область ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID NO: 5, 11, 17, 23, 29, 35, 41, 47, 53, 59, 65, 71, 77, 83, 131 и 137; предпочтительно, где ТКР состоит по меньшей мере из одной последовательности  $\alpha$ -цепи ТКР и одной последовательности  $\beta$ -цепи ТКР, где эта последовательность  $\alpha$ -цепи ТКР включает константную область, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID NO: 5, 17, 29, 41, 53, 65, 77 и 131; и где эта последовательность  $\beta$ -цепи ТКР включает константную область, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID NO: 11, 23, 35, 47, 59, 71, 83 и 137.

Пункт 18: Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пунктов 1–17, включающая первую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 6, и вторую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 12.

Пункт 19: Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пунктов 1–17, включающая первую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной

последовательности с SEQ ID NO: 18, и вторую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 24.

Пункт 20а: Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пунктов 1–17, включающая первую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 30, и вторую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 36.

Пункт 20б: Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пунктов 1–17, включающая первую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 42, и вторую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 48.

Пункт 20в: Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пунктов 1–17, включающая первую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 54, и вторую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 60.

Пункт 20г: Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пунктов 1–17, включающая первую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 66, и вторую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 72.

Пункт 20д: Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пунктов 1–17, включающая первую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере

на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 78, и вторую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 84.

Пункт 20е: Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пунктов 1–17, включающая первую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 132, и вторую цепь ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 138.

Пункт 21: Нуклеиновая кислота, кодирующая антигенраспознающую структуру в соответствии с любым из пунктов 1–20е.

Пункт 22: Вектор, включающий нуклеиновую кислоту в соответствии с пунктом 21.

Пункт 23: Клетка-хозяин, включающая антигенраспознающую структуру в соответствии с любым из пунктов 1–20, или нуклеиновую кислоту в соответствии с пунктом 21 или вектор в соответствии с пунктом 22.

Пункт 24: Клетка-хозяин в соответствии с пунктом 23, где эта клетка является лимфоцитом, предпочтительно, Т-лимфоцитом или предшественником Т-лимфоцита, более предпочтительно – CD4 или CD8-положительной Т-клеткой.

Пункт 25: Фармацевтическая композиция, включающая антигенраспознающую структуру в соответствии с любым из пунктов 1–20е, или нуклеиновую кислоту в соответствии с пунктом 21, или вектор в соответствии с пунктом 22, или клетку-хозяина в соответствии с пунктом 23 или пунктом 24 и фармацевтически приемлемый носитель, стабилизатор и/или вспомогательное вещество.

Пункт 26: Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пунктов 1–20е, или нуклеиновая кислота в соответствии с пунктом 21, или вектор в соответствии с пунктом 22, или клетка-хозяин в соответствии с пунктом 23 или

пунктом 24, или фармацевтическая композиция в соответствии с пунктом 25 для применения в медицине.

Пункт 27: Антигенраспознающая структура или нуклеиновая кислота, или вектор, или клетка-хозяин, или фармацевтическая композиция для применения в соответствии с пунктом 26, для применения при постановке диагноза, предупреждении и/или в лечении пролиферативного заболевания, где заболевание включает злокачественное или доброкачественное опухолевое заболевание.

Пункт 28: Антигенраспознающая структура, или нуклеиновая кислота, или вектор, или клетка-хозяин, или фармацевтическая композиция для применения в соответствии с пунктом 27, где опухолевое заболевание характеризуется экспрессией ТАА в опухолевой клетке опухолевого заболевания.

Пункт 29: Антигенраспознающая структура, или нуклеиновая кислота, или вектор, или клетка-хозяин, или фармацевтическая композиция для применения в соответствии с любым из пунктов 26–28, где применение в медицине является применением в иммунной терапии, факультативно включающим адоптивный клеточный перенос, где иммунная терапия включает адоптивную терапию аутологичными или гетерогенными Т-клетками.

Пункт 30: Способ производства линии клеток, экспрессирующей ТАА-специфическую антигенраспознающую структуру, включающий

- а. обеспечение подходящей клетки-хозяина,
- б. обеспечение генетической конструкции, включающей кодирующую последовательность, кодирующую антигенраспознающую структуру в соответствии с любым из пунктов 1–20е,
- в. введение в указанную подходящую клетку-хозяина указанной генетической конструкции,
- г. экспрессию указанной генетической конструкции указанной подходящей клеткой-хозяином.

Пункт 31: Способ в соответствии с пунктом 30, дополнительно включающий

презентацию указанной антигенраспознающей структуры на поверхности клетки.

Пункт 32: Способ в соответствии с пунктом 30 или 31, где генетическая конструкция является экспрессионной конструкцией, включающей промоторную последовательность, функционально связанную с указанной кодирующей последовательностью.

Пункт 33: Способ в соответствии с любым из пунктов 30–32, где указанная антигенраспознающая структура происходит от млекопитающего, предпочтительно происходит от человека.

Пункт 34: Способ в соответствии с любым из пунктов 30–33, где указанная подходящая клетка-хозяин является клеткой млекопитающего, факультативно выбранной из клетки человека или Т-лимфоцита человека.

Пункт 35: Способ в соответствии с любым из пунктов 30–34, где указанная антигенраспознающая структура является модифицированным ТКР, где указанная модификация включает добавление функционального домена, включающего метку, или альтернативного домена, включающего мембранный якорный домен.

Пункт 36: Способ в соответствии с пунктом 35, где указанная антигенраспознающая структура является альфа-/бета-ТКР, гамма-/дельта-ТКР или одноцепочечным ТКР.

Пункт 37: Способ в соответствии с любым из пунктов 30–36, где указанная генетическая конструкция введена в указанную подходящую клетку-хозяина с помощью ретровирусной трансфекции.

Пункт 38: Способ в соответствии с любым из пунктов 30–37, дополнительно включающий выделение и очистку антигенраспознающей структуры из подходящей клетки-хозяина и, факультативно, восстановление антигенраспознающей структуры в Т-клетке.

Настоящее изобретение будет далее описано с помощью последующих примеров

со ссылкой на сопровождающие фигуры и последовательности, тем не менее, не ограничивая ими изобретение. В соответствии с целями настоящего изобретения все цитируемые источники включены в данное описание во всей полноте путем ссылки. На Фигурах и последовательностях представлено:

**Фигура 1:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R11P3D3 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) или различными вариантами PRAME-004 с заменами аланина или треонина в положениях 1–9 (X1-X9) последовательности SEQ ID NO: 97 (SEQ ID NO: 98-115) или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 126). Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров. CD8 $^+$  Т-клетки с введенной с помощью электропорации РНК в отдельности или после совместной инкубации с ненагруженными клетками-мишенями служили в качестве контролей. Для анализа вариантов с заменой аланина (Ala\_TCRA-0017 и Ala\_IFN-041) и треонина (Thr\_TCRA-0036) было использовано несколько различных доноров.

**Фигура 2:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R16P1C10 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) или различными вариантами PRAME-004 с заменами аланина или треонина в положениях 1–9 (X1-X9) последовательности SEQ ID NO: 97 (SEQ ID NO: 98-115) или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 126). Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров. CD8 $^+$  Т-клетки с введенной с помощью электропорации РНК в отдельности или после совместной инкубации с ненагруженными клетками-мишенями служили в качестве контролей. Для анализа вариантов с заменой аланина (Ala\_TCRA-0017 и Ala\_IFN-041) и треонина (Thr\_TCRA-0036) было использовано несколько различных доноров.

**Фигура 3:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R16P1E8 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) или

различными вариантами PRAME-004 с заменами аланина или треонина в положениях 1–9 (X1-X9) последовательности SEQ ID NO: 97 (SEQ ID NO: 98-115) или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 126). Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8+ Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров. CD8+ Т-клетки с введенной с помощью электропорации РНК в отдельности или после совместной инкубации с ненагруженными клетками-мишенями служили в качестве контролей. Для анализа вариантов с заменой аланина (Ala\_TCRA-0017 и Ala\_IFN-041) и треонина (Thr\_TCRA-0036) было использовано несколько различных доноров.

**Фигура 4:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8+ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R17P1A9 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями T2, нагруженными пептидом PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) или различными вариантами PRAME-004 с заменами аланина в положениях 1–9 (X1-X9) последовательности SEQ ID NO: 97 (SEQ ID NO: 98-106) или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 126). Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8+ Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров. CD8+ Т-клетки с введенной с помощью электропорации РНК в отдельности или после совместной инкубации с ненагруженными клетками-мишенями служили в качестве контролей. Для анализа вариантов с заменой аланина (Ala\_IFN-040 и Ala\_IFN-041) были использованы различные доноры.

**Фигура 5:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8+ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R17P1D7 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями T2, нагруженными пептидом PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) или различными вариантами PRAME-004 с заменами аланина или треонина в положениях 1–9 (X1-X9) последовательности SEQ ID NO: 97 (SEQ ID NO: 98-115) или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 126). Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8+ Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров. CD8+ Т-клетки с введенной с помощью электропорации РНК в отдельности или после совместной инкубации с ненагруженными клетками-мишенями служили в качестве контролей. Для анализа вариантов с заменой аланина (Ala\_TCRA-0017 и Ala\_IFN-041) и треонина (Thr\_TCRA-0036) использовали различных доноров.

**Фигура 6:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R17P1G3 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) или различными вариантами PRAME-004 с заменами аланина или треонина в положениях 1–9 (X1-X9) последовательности SEQ ID NO: 97 (SEQ ID NO: 98-115) или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 126). Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров. CD8 $^+$  Т-клетки с введенной с помощью электропорации РНК в отдельности или после совместной инкубации с ненагруженными клетками-мишенями служили в качестве контролей. Для анализа вариантов с заменой аланина (Ala\_TCRA-0017 и Ala\_IFN-041) и треонина (Thr\_TCRA-0036) использовали различных доноров.

**Фигура 7:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R17P2B6 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) или различными вариантами PRAME-004 с заменами аланина или треонина в положениях 1–9 (X1-X9) последовательности SEQ ID NO: 97 (SEQ ID NO: 98-115) или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 126). Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров. CD8 $^+$  Т-клетки с введенной с помощью электропорации РНК в отдельности или после совместной инкубации с ненагруженными клетками-мишенями служили в качестве контролей. Для анализа вариантов с заменой аланина (Ala\_TCRA-0017 и Ala\_IFN-041) и треонина (Thr\_TCRA-0036) использовали различных доноров.

**Фигура 8:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R11P3D3 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) или сходным, но не родственным пептидом TMED9-001 (SEQ ID NO:116), CAT-001 (SEQ ID NO:117), DDX60L-001 (SEQ ID NO:118), LRRC70-001 (SEQ ID NO:119), PTPLB-001 (SEQ ID NO:120), HDAC5-001 (SEQ ID NO:121), VPS13B-002 (SEQ ID NO:122), ZNF318-001 (SEQ ID NO:123), CCDC51-001 (SEQ ID NO:124) или IFIT1-001

(SEQ ID NO:125) или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO:126). Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров. CD8 $^+$  Т-клетки с введенной с помощью электропорации РНК в отдельности или после совместной инкубации с ненагруженными клетками-мишенями служили в качестве контролей. Для анализа на IFN-040 и IFN-041 использовали образцы от различных доноров.

**Фигура 9:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R16P1C10 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями T2, нагруженными пептидом PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) или сходным, но не родственным пептидом TMED9-001 (SEQ ID NO:116), CAT-001 (SEQ ID NO:117), DDX60L-001 (SEQ ID NO:118), LRRC70-001 (SEQ ID NO:119), PTPLB-001 (SEQ ID NO:120), HDAC5-001 (SEQ ID NO:121), VPS13B-002 (SEQ ID NO:122), ZNF318-001 (SEQ ID NO:123), CCDC51-001 (SEQ ID NO:124) или IFIT1-001 (SEQ ID NO:125) или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO:126). Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров. CD8 $^+$  Т-клетки с введенной с помощью электропорации РНК в отдельности или после совместной инкубации с ненагруженными клетками-мишенями служили в качестве контролей. Для анализа на IFN-046 и IFN-041 использовали образцы от различных доноров.

**Фигура 10:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R16P1E8 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями T2, нагруженными пептидом PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) или сходным, но не родственным пептидом TMED9-001 (SEQ ID NO:116), CAT-001 (SEQ ID NO:117), DDX60L-001 (SEQ ID NO:118), LRRC70-001 (SEQ ID NO:119), PTPLB-001 (SEQ ID NO:120), HDAC5-001 (SEQ ID NO:121), VPS13B-002 (SEQ ID NO:122), ZNF318-001 (SEQ ID NO:123), CCDC51-001 (SEQ ID NO:124) или IFIT1-001 (SEQ ID NO:125) или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO:126). Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров. CD8 $^+$  Т-клетки с введенной с помощью электропорации РНК в отдельности или после совместной инкубации с ненагруженными клетками-мишенями служили в качестве контролей. Для анализа на IFN-040 и IFN-041 использовали образцы от различных доноров.

**Фигура 11:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R17P1A9 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) или сходным, но не родственным пептидом TMED9-001 (SEQ ID NO:116), CAT-001 (SEQ ID NO:117), DDX60L-001 (SEQ ID NO:118), LRRC70-001 (SEQ ID NO:119), PTPLB-001 (SEQ ID NO:120), HDAC5-001 (SEQ ID NO:121), VPS13B-002 (SEQ ID NO:122), ZNF318-001 (SEQ ID NO:123), CCDC51-001 (SEQ ID NO:124) или IFIT1-001 (SEQ ID NO:125) или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO:126). Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров. CD8 $^+$  Т-клетки с введенной с помощью электропорации РНК в отдельности или после совместной инкубации с ненагруженными клетками-мишенями служили в качестве контролей. Для анализа на IFN-040 и IFN-041 использовали образцы от различных доноров.

**Фигура 12:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R17P1D7 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) или сходным, но не родственным пептидом TMED9-001 (SEQ ID NO:116), CAT-001 (SEQ ID NO:117), DDX60L-001 (SEQ ID NO:118), LRRC70-001 (SEQ ID NO:119), PTPLB-001 (SEQ ID NO:120), HDAC5-001 (SEQ ID NO:121), VPS13B-002 (SEQ ID NO:122), ZNF318-001 (SEQ ID NO:123), CCDC51-001 (SEQ ID NO:124) или IFIT1-001 (SEQ ID NO:125) или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO:126). Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров. CD8 $^+$  Т-клетки с введенной с помощью электропорации РНК в отдельности или после совместной инкубации с ненагруженными клетками-мишенями служили в качестве контролей. Для анализа на IFN-040 и IFN-041 использовали образцы от различных доноров.

**Фигура 13:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R17P1G3 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) или сходным, но не родственным пептидом TMED9-001 (SEQ ID NO:116), CAT-001 (SEQ ID NO:117), DDX60L-001 (SEQ ID NO:118), LRRC70-001 (SEQ ID NO:119),

PTPLB-001 (SEQ ID NO:120), HDAC5-001 (SEQ ID NO:121), VPS13B-002 (SEQ ID NO:122), ZNF318-001 (SEQ ID NO:123), CCDC51-001 (SEQ ID NO:124) или IFIT1-001 (SEQ ID NO:125) или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO:126). Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров. CD8 $^+$  Т-клетки с введенной с помощью электропорации РНК в отдельности или после совместной инкубации с ненагруженными клетками-мишенями служили в качестве контролей. Для анализа на IFN-046 и IFN-041 использовали образцы от различных доноров.

**Фигура 14:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R17P2B6 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями T2, нагруженными пептидом PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) или сходным, но не родственным пептидом TMED9-001 (SEQ ID NO:116), CAT-001 (SEQ ID NO:117), DDX60L-001 (SEQ ID NO:118), LRRC70-001 (SEQ ID NO:119), PTPLB-001 (SEQ ID NO:120), HDAC5-001 (SEQ ID NO:121), VPS13B-002 (SEQ ID NO:122), ZNF318-001 (SEQ ID NO:123), CCDC51-001 (SEQ ID NO:124) или IFIT1-001 (SEQ ID NO:125) или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO:126). Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров. CD8 $^+$  Т-клетки с введенной с помощью электропорации РНК в отдельности или после совместной инкубации с ненагруженными клетками-мишенями служили в качестве контролей. Для анализа на IFN-040 и IFN-041 использовали образцы от различных доноров.

**Фигура 15:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепи ТКР R11P3D3 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями T2, нагруженными пептидом PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) при различных концентрациях нагружаемого пептида в диапазоне от 10 мкМ до 10 пМ. Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров. Для анализа на TCRA-0003 и TCRA-0017 использовали образцы от различных доноров.

**Фигура 16:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепи ТКР R16P1C10 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями T2, нагруженными пептидом PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) при

различных концентрациях нагружаемого пептида в диапазоне от 10 мкМ до 10 пМ. Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров. Для анализа на TCRA-0003 и TCRA-0017 использовали образцы от различных доноров.

**Фигура 17:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепи ТКР R16P1E8 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) при различных концентрациях нагружаемого пептида в диапазоне от 10 мкМ до 10 пМ. Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров. Для анализа использовали образцы от различных доноров, TCRA-0003 и TCRA-0017.

**Фигура 18:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепи ТКР R17P1D7 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) при различных концентрациях нагружаемого пептида в диапазоне от 10 мкМ до 10 пМ. Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров. Для анализа на TCRA-0003 и TCRA-0017 использовали образцы от различных доноров.

**Фигура 19:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепи ТКР R17P1G3 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) при различных концентрациях нагружаемого пептида в диапазоне от 10 мкМ до 10 пМ. Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров. Для анализа на TCRA-0003 и TCRA-0017 использовали образцы от различных доноров.

**Фигура 20:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепи ТКР R17P2B6 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) при различных концентрациях нагружаемого пептида в диапазоне от 10 мкМ до 10 пМ. Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток,

полученных от двух различных здоровых доноров. Для анализа на TCRA-0003 и TCRA-0017 использовали образцы от различных доноров.

**Фигура 21:** Окрашивание тетрамером HLA-A\*02/PRAME-004 или тетрамером HLA-A\*02/NYESO1-001, соответственно, CD8<sup>+</sup> Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R16P1C10 (Таблица 1). CD8<sup>+</sup> Т-клетки с введенной с помощью электропорации РНК ТКР 1G4 (SEQ ID: 85-96), который специфически связывается с комплексом HLA-A\*02/NYESO1-001, и CD8<sup>+</sup> Т-клетки после имитации электропорации, служили в качестве контролей.

**Фигура 22:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8<sup>+</sup> Т-клеток, трансдуцированных с помощью лентивируса ТКР R11P3D3 (Таблица 1) (D103805 и D191451), или нетрансдуцированных клеток (D103805 HT и D191451 HT) после совместной инкубации с клетками-мишенями T2, нагруженными 100 нМ пептида PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) или сходными (идентичными PRAME-004 в положениях 3, 5, 6 и 7), но не родственными пептидами ACPL-001 (SEQ ID NO:139), HSPB3-001 (SEQ ID NO:140), UNC7-001 (SEQ ID NO:141), SCYL2-001 (SEQ ID NO:142), RPS2P8-001 (SEQ ID NO:143), PCNXL3-003 (SEQ ID NO:144), AQP6-001 (SEQ ID NO:145), PCNX-001 (SEQ ID NO:146), AQP6-002 (SEQ ID NO:147) TRGV10-001 (SEQ ID NO:148), NECAP1-001 (SEQ ID NO:149) или FBXW2-001 (SEQ ID NO:150) или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO:126). Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8<sup>+</sup> Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров, D103805 и D191451.

**Фигура 23:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8<sup>+</sup> Т-клеток, трансдуцированных с помощью лентивируса ТКР R11P3D3 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями T2, нагруженными 100 нМ пептида PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) или сходными (идентичными PRAME-004 в положениях 3, 5, 6 и 7), но не родственными пептидами (SEQ ID NO: 151-195) или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 126). Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8<sup>+</sup> Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров, TCRA-0087 и TCRA-0088.

**Фигура 24:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8<sup>+</sup> Т-клеток, трансдуцированных с

помощью лентивируса ТКР R11P3D3 (Таблица 1) (D103805 и D191451) или нетрансдуцированных клеток (D103805 NT и D191451 NT) после совместной инкубации с различными первичными клетками (HCASMC (клетки гладких мышц коронарной артерии), HTSMC (клетки гладких мышц трахеи), HRCEpC (клетки почечного кортикального эпителия), HCM (кардиомиоциты), HCMES (эндотелиальные клетки микрососудов сердечной мышцы), HSAEpC (эпителиальные клетки малых дыхательных путей), HCF (фибробласты миокарда) и виды клеток, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPSC) (HN (нейроны), iHCM (кардиомиоциты), HH (гепатоциты), HA (астроциты)). В линиях опухолевых клеток UACC-257 (PRAME-004 высокое), Hs695T (PRAME-004 среднее), U266B1 (PRAME-004 очень низкое) и MCF-7 (PRAME-004 отсутствует) представлено различное количество PRAME-004 на клетку. Т-клетки в отдельности служили в качестве контролей. Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров, D103805 и D191451.

**Фигура 25:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, трансдуцированных с помощью лентивируса ТКР R11P3D3 (Таблица 1) после совместной инкубации с различными первичными клетками (NHEK (кератиноциты эпидермиса), HBEpC (эпителиальные клетки бронхов), HDMES (эндотелиальные клетки микрососудов кожи), HCAES (эндотелиальные клетки коронарной артерии), HAoES (эндотелиальные клетки аорты), HPASMC (клетки гладких мышц легочной артерии), HAoSMC (клетки гладких мышц аорты), HPF (фибробласты легкого), SkMC (клетки скелетных мышц), HOB (остеобласты), HCH (хондроциты), HWP (белые преадипоциты), hMSC-BM (мезенхимальные стволовые клетки), NHDF (фибробласты кожи). В линиях опухолевых клеток UACC-257 (PRAME-004 высокое), Hs695T (PRAME-004 среднее), U266B1 (PRAME-004 очень низкое) и MCF-7 (PRAME-004 отсутствует) представлено различное количество копий PRAME-004 на клетки. Т-клетки в отдельности служили в качестве контролей. Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров, TCRA-0084 и TCRA-0085.

**Фигура 26:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, трансдуцированных с помощью лентивируса улучшенным ТКР R11P3D3\_KE (Таблица 1) (D103805 и

D191451), или нетрансдуцированных клеток (D103805 NT и D191451 NT) после совместной инкубации с клетками-мишенями T2, нагруженными 100 нМ пептида PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) или сходными (идентичными PRAME-004 в положениях 3, 5, 6 и 7), но не родственными пептидами ACPL-001 (SEQ ID NO:139), HSPB3-001 (SEQ ID NO:140), UNC7-001 (SEQ ID NO:141), SCYL2-001 (SEQ ID NO:142), RPS2P8-001 (SEQ ID NO:143), PCNXL3-003 (SEQ ID NO:144), AQP6-001 (SEQ ID NO:145), PCNX-001 (SEQ ID NO:146), AQP6-002 (SEQ ID NO:147) TRGV10-001 (SEQ ID NO:148), NECAP1-001 (SEQ ID NO:149) или FBXW2-001 (SEQ ID NO:150) или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO:126). Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров, D103805 и D191451.

**Фигура 27:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, трансдуцированных с помощью лентивируса улучшенным ТКР R11P3D3\_KE (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями T2, нагруженными 100 нМ пептида PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) или сходными (идентичными PRAME-004 в положениях 3, 5, 6 и 7), но не родственными пептидами (SEQ ID NO: 151-195) или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 126). Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров, TCRA-0087 и TCRA-0088.

**Фигура 28:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, трансдуцированных с помощью лентивируса улучшенным ТКР R11P3D3\_KE (Таблица 1) (D103805 и D191451) или нетрансдуцированных клеток (D103805 NT и D191451 NT) после совместной инкубации с различными первичными клетками (HCASMC (клетки гладких мышц коронарной артерии), HTSMC (клетки гладких мышц трахеи), HRCepC (клетки почечного кортикального эпителия), HCM (кардиомиоциты), HCMEC (эндотелиальные клетки микрососудов сердечной мышцы), HSAepC (эпителиальные клетки малых дыхательных путей), HCF (фибробласты миокарда)) и виды клеток, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPSC) (HN (нейроны), iHCM (кардиомиоциты), HH (гепатоциты), HA (астроциты)). В линиях опухолевых клеток UACC-257 (PRAME-004 высокое), Hs695T (PRAME-004 среднее), U266B1 (PRAME-004 очень низкое) и MCF-7 (PRAME-004 отсутствует) представлено различное количество PRAME-004 на клетку. Т-клетки в отдельности

служили в качестве контролей. Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров, D103805 и D191451.

**Фигура 29:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, трансдуцированных с помощью лентивируса улучшенным ТКР R11P3D3\_KE (Таблица 1) после совместной инкубации с различными первичными клетками (NHEK (кератиноциты эпидермиса), HBEpC (эпителиальные клетки бронхов), HDMEC (эндотелиальные клетки микрососудов кожи), HCAEC (эндотелиальные клетки коронарной артерии), HAOEC (эндотелиальные клетки аорты), HPASMC (клетки гладких мышц легочной артерии), HAOsMC (клетки гладких мышц аорты), HPF (фибробласты легкого), SkMC (клетки скелетных мышц), HOB (остеобласты), HCN (хондроциты), HWP (белые преадипоциты), hMSC-BM (мезенхимальные стволовые клетки), NHDF (фибробласты кожи). В линиях опухолевых клеток UACC-257 (PRAME-004 высокое), Hs695T (PRAME-004 среднее), U266B1 (PRAME-004 очень низкое) и MCF-7 (PRAME-004 отсутствует) представлено различное количество копий PRAME-004 на клетку. Т-клетки в отдельности служили в качестве контролей. Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров, TCRA-0084 и TCRA-0085.

**Фигура 30:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, трансдуцированных с помощью лентивируса ТКР R11P3D3 или улучшенным ТКР R11P3D3\_KE (Таблица 1) или нетрансдуцированных клеток после совместной инкубации с линиями опухолевых клеток UACC-257 (PRAME-004 высокое), Hs695T (PRAME-004 среднее), U266B1 (PRAME-004 очень низкое) и MCF-7 (PRAME-004 отсутствует) демонстрируют различные количества PRAME-004 на клетку. Т-клетки в отдельности служили в качестве контролей. Высвобождение IFN $\gamma$  обоим ТCR коррелирует с презентацией PRAME-004 и R11P3D3\_KE вызывает более сильные ответы по сравнению с R11P3D3.

**Фигура 31:** Высвобождение IFN $\gamma$  из CD8 $^+$  Т-клеток, трансдуцированных с помощью лентивируса улучшенным ТКР R11P3D3\_KE (Таблица 1) после совместной инкубации с клетками-мишенями T2, нагруженными различными вариантами PRAME-004 с заменами аланина в положениях 1-9 (A1-A9)

последовательности SEQ ID NO: 97 (SEQ ID NO:98-106). Данные по высвобождению IFN $\gamma$  были получены с помощью CD8 $^+$  Т-клеток, полученных от трех различных здоровых доноров.

**Фигура 32:** Анализ эффективности для оценки цитотоксической активности трансдуцированных лентивирусом Т-клеток, экспрессирующих ТКР R11P3D3 или улучшенный ТКР R11P3D3\_KE, в отношении PRAME-004 $^+$  опухолевых клеток. Цитотоксический ответ трансдуцированных R11P3D3 и R11P3D3\_KE и нетрансдуцированных (NT) Т-клеток, измеренный по отношению к опухолевым клеткам A-375 (PRAME-004 низкий) или U2OS (PRAME-004 средний). Анализы проводили в рамках 72-часового анализа цитотоксичности на основе флуоресцентной микроскопии. Результаты показаны в виде кратности роста опухоли в течение времени.

Таблица 1: Последовательности ТКР по изобретению

SE Q ID NO:	ТКР	Цепь	Участок	Последовательность
1	R11P3D3	альфа	CDR1	SSNFYA
2	R11P3D3	альфа	CDR2	MTL
3	R11P3D3	альфа	CDR3	CALYNNNDMRF
4	R11P3D3	альфа	вариабельный домен	MEKNPLAAPLLILWFHLDCVSSILNVEQSPQSLHVQEGDSTNFTCSFPSSNFYALHWYRWETAKSPEALFVMTLNGDEKKKGRISATLNTKEGYSYLYIKGSQPEDSATYLCALYNNNDMRFGAGTRRLTVKP
5	R11P3D3	альфа	константный домен	NIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDSVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS
6	R11P3D3	альфа	полной длины	MEKNPLAAPLLILWFHLDCVSSILNVEQSPQSLHVQEGDSTNFTCSFPSSNFYALHWYRWETAKSPEALFVMTLNGDEKKKGRISATLNTKEGYSYLYIKGSQPEDSATYLCALYNNNDMRFGAGTRRLTVKPNIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDSVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS
7	R11P3D3	бета	CDR1	SGHNS
8	R11P3D3	бета	CDR2	FNNNVP
9	R11P3D3	бета	CDR3	CASSPGSTDTQYF

10	R11P3D3	бета	вариабельный домен	MDSWTFCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPISGHNSLFWYRQTMMRGLELLIYF NNNVPIDDSGMPEDRFS AKMPNASFSTLKIQPSEPRDSAVYFCASSPGSTDTQYFGPGTRRLTVL
11	R11P3D3	бета	константный домен	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELS WWWNGKEVHSGVSTDPQPLKEQP ALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNP RNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGF TSEYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLV SALVLMAMVKRKDSRG
12	R11P3D3	бета	полной длины	MDSWTFCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPISGHNSLFWYRQTMMRGLELLIYF NNNVPIDDSGMPEDRFS AKMPNASFSTLKIQPSEPRDSAVYFCASSPGSTDTQYFGPGTRRLTVLEDLK NVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELS WWWNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALND SRYCLSSRLRVSATFWQNP RNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSES YQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLV SALVLMAMVKRKDSRG
13	R16P1C10	альфа	CDR1	DRGSQS
14	R16P1C10	альфа	CDR2	IY
15	R16P1C10	альфа	CDR3	CAAVISNFGNEKLTF
16	R16P1C10	альфа	вариабельный домен	MKSLRVLLVILWLQLSWWSQQKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYS DRGSQSFFWYRQYSGK SPEL IMFIYSNGDKEDGRFTAQLNKASQYVSLIRDSQP SDSATYLCAAVISNFGNEKLTFGTGTRLT IIP
17	R16P1C10	альфа	константный домен	NIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSN KSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNL SVIGFRILLK VAGFNLLMTLRL WSS
18	R16P1C10	альфа	полной длины	MKSLRVLLVILWLQLSWWSQQKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYS DRGSQSFFWYRQYSGK SPEL IMFIYSNGDKEDGRFTAQLNKASQYVSLIRDSQP SDSATYLCAAVISNFGNEKLTFGTGTRLT IIPNIQN PDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNK SDF ACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNL SVIGFRILLK VAGFNLLMTLRLWSS

19	R16P1C10	бета	CDR1	SGHRS
20	R16P1C10	бета	CDR2	YFSETQ
21	R16P1C10	бета	CDR3	CASSPWDSPNEQYF
22	R16P1C10	бета	вариабельный домен	MGSRLLCWVLLCLLGAGPVKAGVTQTPRYLIKTRGQQVTLSCSPISGHRVSVWYQQTPGQGLQFLFE YFSETQRNKGNFPGRFSGRQFSNSRSEMNVTLELGDSALYLCASSPWDSPNEQYFGPGTRTLVT
23	R16P1C10	бета	константный домен	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWWWNGKEVHSGVSTDPQPLKEQP ALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGF TSEYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLV SALVLMAMVKRKDSRG
24	R16P1C10	бета	полной длины	MGSRLLCWVLLCLLGAGPVKAGVTQTPRYLIKTRGQQVTLSCSPISGHRVSVWYQQTPGQGLQFLFE YFSETQRNKGNFPGRFSGRQFSNSRSEMNVTLELGDSALYLCASSPWDSPNEQYFGPGTRTLVTE DLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWWWNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPAL NDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTS ESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLV SALVLMAMVKRKDSRG
25	R16P1E8	альфа	CDR1	NSAFQY
26	R16P1E8	альфа	CDR2	TY
27	R16P1E8	альфа	CDR3	CAMSEAAGNKLTF
28	R16P1E8	альфа	вариабельный домен	MMKSLRVLLVILWLQLSWWSQQKEVEQDPGPLSVPEGAIVSLNCTYSNSAFQYFMWYRQYSRKGP ELLMYTYSSGNKEDGRFTAQVDKSSKYISLFRDSQPSDSATYLCAMSEAAGNKLTFGGGTRVLVKP
29	R16P1E8	альфа	константный домен	NIQNPDAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVQSQKSDSVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSN KSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPSSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRL WSS

30	R16P1E8	альфа	полной длины	MMKSLRVLLVILWLQLSWWWWSQQKEVEQDPGPLSVPEGAIVSLNCTYSNSAFQYFMWYRQYSRKGP ELLMYTYSSGNKEDGRFTAQVDKSSKYISLFIKSDSQPSDSATYLCAMSEAAGNKLTFGGGTRVLVKPNI QNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKS DFACANAFNNSIIPEDTFFPSPRESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWS S
31	R16P1E8	бета	CDR1	SGHAT
32	R16P1E8	бета	CDR2	FQNNGV
33	R16P1E8	бета	CDR3	CASSYTNQGEAFF
34	R16P1E8	бета	вариабельный домен	MGTRLLCWAALCLLGAELTEAGVAQSPRYKIIKQRQSVAFWCNPISGHATLYWYQQILGQGPKLLIQFQ NNGVDDSQLPKDRFSAERLKGVDSTLKIQPAKLEDSAVYLCASSYTNQGEAFFGQGTRTLTVV
35	R16P1E8	бета	константный домен	EDLNKVPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWWNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPA LNSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFT SVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVLSALVLMAMVKKDF
36	R16P1E8	бета	полной длины	MGTRLLCWAALCLLGAELTEAGVAQSPRYKIIKQRQSVAFWCNPISGHATLYWYQQILGQGPKLLIQFQ NNGVDDSQLPKDRFSAERLKGVDSTLKIQPAKLEDSAVYLCASSYTNQGEAFFGQGTRTLTVVEDLNK VFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWWNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDS RYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSY QQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVLSALVLMAMVKKDF
37	R17P1A9	альфа	CDR1	DRGSQS
38	R17P1A9	альфа	CDR2	IY
39	R17P1A9	альфа	CDR3	CAVLNQAGTALIF

40	R17P1A9	альфа	вариабельный домен	MKSLRVLLVILWLQLSWWWSQQKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRGSQSFFWYRQYSGKSPEL IMSIYSNGDKEDGRFTAQLNKASQYVSLIRDSQPSSATYLCVNLQAGTALIFGKGTTLSSVSS
41	R17P1A9	альфа	константный домен	NIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSN KSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRL WSS
42	R17P1A9	альфа	полной длины	MKSLRVLLVILWLQLSWWWSQQKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRGSQSFFWYRQYSGKSPEL IMSIYSNGDKEDGRFTAQLNKASQYVSLIRDSQPSSATYLCVNLQAGTALIFGKGTTLSSVSSNIQNP DPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFA CANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS
43	R17P1A9	бета	CDR1	SGDLS
44	R17P1A9	бета	CDR2	YYNGEE
45	R17P1A9	бета	CDR3	CASSAETGPWLGNEQFF
46	R17P1A9	бета	вариабельный домен	MGFRLCCVAFCLLGAGPVD SGVTQTPKHLITATGQRVTLRCS PRSGDLSVYWYQQSLDQGLQFLIQY YNGEERAKGNILERFSAQQFPDLHSELNLSSLELGDSALYFCASSAETGPWLGNEQFFGPGTRLTVL
47	R17P1A9	бета	константный домен	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELS WWWNGKEVHSGVSTDPQPLKEQP ALNDSRYCLSSRLRVSA TFWQNPRNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGF TSEYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLV SALVLMAMVKRKDSRG
48	R17P1A9	бета	полной длины	MGFRLCCVAFCLLGAGPVD SGVTQTPKHLITATGQRVTLRCS PRSGDLSVYWYQQSLDQGLQFLIQY YNGEERAKGNILERFSAQQFPDLHSELNLSSLELGDSALYFCASSAETGPWLGNEQFFGPGTRLT VLE DLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELS WWWNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPAL NDSRYCLSSRLRVSA TFWQNPRNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTS ESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLV SALVLMAMVKRKDSRG

49	R17P1D7	альфа	CDR1	TSESDYY
50	R17P1D7	альфа	CDR2	QEAY
51	R17P1D7	альфа	CDR3	CAYRWAQGGSEKLVF
52	R17P1D7	альфа	вариабельный домен	MACPGFLWALVISTCLEFSMAQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCITYDTSESDYYLFWYKQPPSRQMILV IRQEAYKQQNATENRFSVNFQKAAKSFSCLKISDSQLGDAAMYFCAYRWAQGGSEKLVFGKGTCLTVN P
53	R17P1D7	альфа	константный домен	YIQKPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSN KSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRL WSS
54	R17P1D7	альфа	полной длины	MACPGFLWALVISTCLEFSMAQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCITYDTSESDYYLFWYKQPPSRQMILV IRQEAYKQQNATENRFSVNFQKAAKSFSCLKISDSQLGDAAMYFCAYRWAQGGSEKLVFGKGTCLTVN PYIQKPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWS NKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLR LWSS
55	R17P1D7	бета	CDR1	MGHDK
56	R17P1D7	бета	CDR2	SYGVNS
57	R17P1D7	бета	CDR3	CATELWSSGGTGELFF
58	R17P1D7	бета	вариабельный домен	MTIRLLCYMGFYFLGAGLMEADYQTPRYLVIGTGKKITLECSQTMGHDKMYWYQQDPGMELHLIHYS YGVNSTEKGDLSSESTVSRIRTEHFPLTLESARPSHTSQYLCATELWSSGGTGELFFGEGSRLTVL
59	R17P1D7	бета	константный домен	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWWWNGKEVHSGVSTDPQPLKEQP ALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPVNFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTVQIVSAEAWGRADCGF TSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVLSALVLMAMVKRKRKDSRG

60	R17P1D7	бета	полной длины	MTIRLLCYMGFYFLGAGLMEADYQTPRYLVIGTGKKITLECSQTMGHDKMYWYQQDPGMELHLIHYS YGVNSTEKGDLSSESTVSRIRTEHFPLTLESARPSHTSQYLCATELWSSGGTGELFFGEGSRLTVLED LKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALN DSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSE SYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDSRG
61	R17P1G3	альфа	CDR1	DRGSQS
62	R17P1G3	альфа	CDR2	IY
63	R17P1G3	альфа	CDR3	CAVGPSGTYKYIF
64	R17P1G3	альфа	вариабельный домен	MKSLRVLLVILWLQLSWWWSQQKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRGSQSFFWYRQYSGKSP EL IMSIYSNGDKEDGRFTAQLNKASQYVSLIRDSQPSSATYLCAVGPSGTYKYIFGTGTRLKVL
65	R17P1G3	альфа	константный домен	NIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSN SAVAWSN KSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRL WSS
66	R17P1G3	альфа	полной длины	MKSLRVLLVILWLQLSWWWSQQKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRGSQSFFWYRQYSGKSP EL IMSIYSNGDKEDGRFTAQLNKASQYVSLIRDSQPSSATYLCAVGPSGTYKYIFGTGTRLKVL ANIQNP DPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSN SAVAWSNKSDFA CANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRL WSS
67	R17P1G3	бета	CDR1	MNHEY
68	R17P1G3	бета	CDR2	SMNVEV
69	R17P1G3	бета	CDR3	CASSPGGSGNEQFF

70	R17P1G3	бета	вариабельный домен	MGPQLLGYVVLCLLGAGPLEAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYY SMNVEVTDKGDVPEGYKVSРKEKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSPGGSGNEQFFGPGTRTLVL
71	R17P1G3	бета	константный домен	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELSWWWNGKEVHSGVSTDPQPLKEQP ALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPРNHFRСQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGF TSEYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDSRG
72	R17P1G3	бета	полной длины	MGPQLLGYVVLCLLGAGPLEAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYY SMNVEVTDKGDVPEGYKVSРKEKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSPGGSGNEQFFGPGTRTLVLEDL KNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELSWWWNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALN DSRYCLSSRLRVSATFWQNPРNHFRСQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSE SYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDSRG
73	R17P2B6	альфа	CDR1	DRGSQS
74	R17P2B6	альфа	CDR2	IY
75	R17P2B6	альфа	CDR3	CAVVSГGGADGLTF
76	R17P2B6	альфа	вариабельный домен	MKSLRVLLVILWLQLSWWWQQKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRGSQSFFWYRQYSGKSPEL IMFIYSNGDKEDGRFTAQLNKASQYVSLIRDSQPSDSATYLCAVVSГGGADGLTFGKGTHLIIQP
77	R17P2B6	альфа	константный домен	YIQKPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSN KSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLVIGFRILLLKVAGFNLLMTLRL WSS
78	R17P2B6	альфа	полной длины	MKSLRVLLVILWLQLSWWWQQKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRGSQSFFWYRQYSGKSPEL IMFIYSNGDKEDGRFTAQLNKASQYVSLIRDSQPSDSATYLCAVVSГGGADGLTFGKGTHLIIQPYIQK PDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDF ACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLVIGFRILLLKVAGFNLLMTLRLWSS

79	R17P2B6	бета	CDR1	PRHDT
80	R17P2B6	бета	CDR2	FYEKMQ
81	R17P2B6	бета	CDR3	CASSLGRGGQPQHF
82	R17P2B6	бета	вариабельный домен	MLSPDLPDSAWNTRLLCHVMLCCLLGAVSVAAGVIQSPRHLIKEKRETATLKCYPPIRHDTVYWYQQGP GQDPQFLISFYEKMQSDKGSIPDRFSAQQFSDYHSELNMSSLELGDSALYFCASSLGRGGQPQHF GTRLSIL
83	R17P2B6	бета	константный домен	EDLNKVPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWWNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPA LNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFT SVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLV SALVLMAMV KRKDF
84	R17P2B6	бета	полной длины	MLSPDLPDSAWNTRLLCHVMLCCLLGAVSVAAGVIQSPRHLIKEKRETATLKCYPPIRHDTVYWYQQGP GQDPQFLISFYEKMQSDKGSIPDRFSAQQFSDYHSELNMSSLELGDSALYFCASSLGRGGQPQHF GTRLSILEDLNKVPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWWNGKEVHSGVSTDPQ PLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWG RADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLV SALVLMAMV KRKDF
85	1G4	альфа	CDR1	DSAIYN
86	1G4	альфа	CDR2	IQS
87	1G4	альфа	CDR3	CAVRPTSGGSYIPTF
88	1G4	альфа	вариабельный домен	METLLGILLILWLQLQWSSKQEVQIPAAALSVPEGENLVLNCSFTDSAIYNLQWFRQDPGKGLTSLLLI QSSQREQTSGRNLNASLKDSSGRSTLYIAASQPGDSATYLC AVRPTSGGSYIPTFGRGTS LIVHP
89	1G4	альфа	константный домен	YIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSN SAVAWSN KSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPSSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNL SVIGFRILLK VAGFNLLM TRLR WSS

90	1G4	альфа	полной длины	METLLGLLILWLQLQWVSSKQEVTVQIPAALSVPEGENLVLNCSFTDSAIYNLQWFRQDPGKGLTSLLLI QSSQREQTSGRNLNASLDKSSGRSTLYIAASQPGDSATYLCAVRPTSGGSYIPTFGRGTSLIVHPYIQNP DPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSVDYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFA CANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS
91	1G4	бета	CDR1	MNHEY
92	1G4	бета	CDR2	SVGAGI
93	1G4	бета	CDR3	CASSYVGNTGELFF
94	1G4	бета	вариабельный домен	MSIGLLCCAALSLLWAGPVNAGVTQTPKFQVLKTGQSMTLQCAQDMNHEYMSWYRQDPGMGLRLIH YSVGAGITDQGEVPNGYNVSRSTTEDFPLRLLSAAPSQTSVYFCASSYVGNTGELFFGEGSRLTVL
95	1G4	бета	константный домен	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELSWWWNGKEVHSGVSTDPQPLKEQP ALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPРНHFRСQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGF TSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVСALVLMAMVKRKDSRG
96	1G4	бета	полной длины	MSIGLLCCAALSLLWAGPVNAGVTQTPKFQVLKTGQSMTLQCAQDMNHEYMSWYRQDPGMGLRLIH YSVGAGITDQGEVPNGYNVSRSTTEDFPLRLLSAAPSQTSVYFCASSYVGNTGELFFGEGSRLTVLED LKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELSWWWNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALN DSRYCLSSRLRVSATFWQNPРНHFRСQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSE SYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVСALVLMAMVKRKDSRG
127	R11P3D3_KE	альфа	CDR1	SSNFYA
128	R11P3D3_KE	альфа	CDR2	MTL
129	R11P3D3_KE	альфа	CDR3	CALYNNNDMRF

130	R11P3D3_KE	альфа	вариабельный домен	MEKNPLAAPLLILWFHLDCVSSILNVEQSPQSLHVQEGDSTNFTCSFPSSNFYALHWYRKETAKSPEAL FVMTLNGDEKKGGRISATLNTKEGYSYLYIKGSQPEDSATYLCALYNNNDMRFGAGTRLTVKP
131	R11P3D3_KE	альфа	константный домен	NIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSN KSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRL WSS
132	R11P3D3_KE	альфа	полной длины	MEKNPLAAPLLILWFHLDCVSSILNVEQSPQSLHVQEGDSTNFTCSFPSSNFYALHWYRKETAKSPEAL FVMTLNGDEKKGGRISATLNTKEGYSYLYIKGSQPEDSATYLCALYNNNDMRFGAGTRLTVKPNIQNP DPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFA CANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS
133	R11P3D3_KE	бета	CDR1	SGHNS
134	R11P3D3_KE	бета	CDR2	FNNNVP
135	R11P3D3_KE	бета	CDR3	CASSPGSTDTQYF
136	R11P3D3_KE	бета	вариабельный домен	MDSWTFCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPISGHNSLFWYRETMMRGGLELLIYF NNNVPIDDSGMPEDRFSKMPNASFSTLKIQPSEPRDSAVYFCASSPGSTDTQYFGPGTRLTVL
137	R11P3D3_KE	бета	константный домен	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWWWNGKEVHSGVSTDPQPLKEQP ALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTVQIVSAEAWGRADCGF TSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDSRG

138	R11P3D3_ KE	бета	полной длины	MDSWTFCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPISGHNSLFWYRETMMRGGLELLIYF NNNVPIDDSGMPEDRFS AKMPNASFSTLKIQPSEPRDSAVYFCASSPGSTDTQYFGPGTRRLTVLEDLK NVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELSWWWNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALND SRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTVIVSAEAWGRADCGFTSES YQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLV SALVLMAMVKRKDSRG
196	R11P3D3	альфа	CDR2bis	MTLNGDE
197	R16P1C10	альфа	CDR2bis	IYSNGD
198	R16P1E8	альфа	CDR2bis	TYSSGN
199	R17P1A9	альфа	CDR2bis	IYSNGD
200	R17P1D7	альфа	CDR2bis	QEAYKQQ
201	R17P1G3	альфа	CDR2bis	IYSNGD
202	R17P2B6	альфа	CDR2bis	IYSNGD
203	1G4	альфа	CDR2bis	IQSSQRE
204	R11P3D3_	альфа	CDR2bis	MTLNGDE

**Таблица 2: Последовательности пептида по изобретению**

<b>Код пептида</b>	<b>Последовательность</b>	<b>SEQ ID NO:</b>
PRAME-004	SLLQHLIGL	97
PRAME-004_A1	ALLQHLIGL	98
PRAME-004_A2	SALQHLIGL	99
PRAME-004_A3	SLAQHLIGL	100
PRAME-004_A4	SLLAHLIGL	101
PRAME-004_A5	SLLQALIGL	102
PRAME-004_A6	SLLQHAIGL	103
PRAME-004_A7	SLLQHLAGL	104
PRAME-004_A8	SLLQHIAL	105
PRAME-004_A9	SLLQHLIGA	106
PRAME-004_T1	TLLQHLIGL	107
PRAME-004_T2	STLQHLIGL	108
PRAME-004_T3	SLTQHLIGL	109
PRAME-004_T4	SLLTHLIGL	110
PRAME-004_T5	SLLQTLIGL	111
PRAME-004_T6	SLLQHTIGL	112
PRAME-004_T7	SLLQHLTGL	113
PRAME-004_T8	SLLQHLITL	114
PRAME-004_T9	SLLQHLIGT	115
TMED9-001	SILQTLILV	116
CAT-001	SLIEHLQGL	117
DDX60L-001	SLIQHLEEI	118
LRRC70-001	SLLKNLIYL	119
PTPLB-001	SLLNHLPYL	120
HDAC5-001	SLLQHVLLL	121
VPS13B-002	SLLQKQIML	122
ZNF318-001	SLSQELVGV	123
CCDC51-001	SVLGALIGV	124
IFIT1-001	VLLHHQIGL	125
NYESO1-001	SLLMWITQV	126

ACPL-001	LLLVHLIPV	139
HSPB3-001	IILRHLEI	140
UNC7-001	KILLHLIHI	141
SCYL2-001	KVLPHLIPL	142
RPS2P8-001	SALVHLIPV	143
PCNXL3-003	NALVHLIEV	144
AQP6-001	VALGHLIGI	145
PCNX-001	NALVHLIEI	146
AQP6-002	WALGHLIGI	147
TRGV10-001	QALEHLIYI	148
NECAP1-001	ISLAHLILV	149
FBXW2-001	ETLDHLISL	150
ACCSL-001	ALLSHLICR	151
ACER1-001	KELRHLEIV	152
ADAMTS14-001	IALVHLIMV	153
ARHGAP17-001	CWLCHLIKL	154
ARSE-001	GKLTHLIPV	155
ATP-009	HLLMHLIGS	156
AUNI-001	TQLDHLIPG	157
C16orf96-001	QDLWHLIKL	158
CDC7-002	IALKHLIPT	159
CDC7-003	IALKHLILT	160
CHRNA1-001	LQLIHLINV	161
FASTKD5-001	SQLVHLIYV	162
FRYL-002	CLLPHLIQH	163
FTH1-001	MVLVHLIHS	164
HERC4-002	SDLFHLIGV	165
HPS5-001	KLLFHLIQS	166
HPS5-002	KLLLHLIQS	167
HTR2C-001	SFLVHLIGL	168
IPM-001	YGLKHLISV	169
KIF16-001	SELPHLIGI	170
KLHL33-001	YALSHLIHA	171

LAMA3-001	TLLGHLISK	172
LOC100128170-001	SQLSHLIAM	173
MAP2K7-001	FFLVHLICM	174
MON2-003	VSLHHLINA	175
OR2AK2-001	IMLIHLIRL	176
OR2AK2-002	ITLIHLIRL	177
OR2B6-001	SELFHLIPL	178
OR2B6-002	SVLFHLIPL	179
OTUD7A-001	AQLAHLILS	180
OVOS2-001	FLLGHLIPR	181
PIGC-002	MLLGHLIFF	182
RAD54L2-003	VLLFHLIEE	183
RASEF-001	VFLRHLITL	184
RASGRF1-003	TLLDHLIFK	185
RPS2P20-001	SVLVHLIPA	186
SACS-001	AKLEHLIYL	187
SPATA31D5-001	SLLPHLILS	188
TPST2-001	SILGHLICS	189
TRGV10-002	QSLEHLIYI	190
UGP-001	YILNHLINP	191
USP51-001	YKLLHLIWI	192
ZNF423-002	KLLCHLIEH	193
ZNF584-001	ALLDHLITH	194
ZNF99-001	FMLSHLIQH	195

## ПРИМЕРЫ

Семь PRAME-специфических ТКР, направленных на раскрытый в настоящем документе пептид PRAME-004 (R11P3D3, R16P1C10, R16P1E8, R17P1A9, R17P1D7, R17P1G3 и R17P2B6, см. Таблицу 1), каждый из которых кодирует альфа- и бета-цепи опухолеспецифического ТКР, были выделены и амплифицированы из Т-клеток здоровых доноров. Клетки здоровых доноров стимулировали *in vitro* в соответствии с ранее описанным способом (Walter et al., 2003 J Immunol., Nov 15;171(10):4974-8) и мишень-специфические клетки сортировали по отдельности

при использовании мультимеров HLA-A\*02, а затем использовали для последующего выделения ТКР. Последовательности ТКР были выделены с помощью метода 5' RACE при использовании стандартных методик, как это описано, например, в лабораторном руководстве Molecular Cloning, изд. 4-е, Green and Sambrook. Вариабельные области альфа- и бета-цепей ТКР R11P3D3, R16P1C10, R16P1E8, R17P1A9, R17P1D7, R17P1G3 и R17P2B6 секвенировали и клонировали для дальнейшей характеристики функциональности.

R11P3D3, R16P1C10, R17P1D7 и R17P2B6 получены у HLA-A\*02-отрицательного донора (условия аллореактивности) и R16P1E8, R17P1A9 и R17P1G3 получены у HLA-A\*02-положительного донора.

Кроме того, в настоящем документе раскрыт мутантный ТКР R11P3D3\_KE, улучшенный вариант R11P3D3. улучшенный вариант ТКР R11P3D3\_KE был модифицирован из исходного ТКР согласно описанию заявки PCT/EP2017/081745, специально включенного сюда путем ссылки, и Примера 8, представленному ниже, а кодирующую последовательность получили с помощью генетического синтеза до функциональной оценки этого ТКР.

### **Пример 1: Т-клеточный рецептор R11P3D3**

ТКР R11P3D3 (SEQ ID NO: 1-12 и 196) рестриктирован по HLA-A\*02-презентируемому пептиду PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) (см. Фигуру 8).

R11P3D3 специфично распознает PRAME-004, поскольку первичные CD8+ Т-клетки человека, повторно экспрессирующие данный ТКР, высвобождают IFN $\gamma$  при совместной инкубации с HLA-A\*02+ клетками-мишенями, нагруженными либо пептидом PRAME-004, либо вариантами PRAME-004 с заменами аланина или треонина (Фигура 1), или различными пептидами, обладающими высокой степенью сходства последовательности с PRAME-004 (Фигура 8). Пептид NYESO1-001 используется в качестве отрицательного контроля. ТКР R11P3D3 имеет уровень EC50, составляющий 0,74 нМ (Фигура 15) и аффинность связывания (K<sub>D</sub>) 18 – 26 мкМ по отношению к HLA-A\*02-презентируемому пептиду PRAME-004 (SEQ ID NO: 97).

Повторная экспрессия R11P3D3 в первичных CD8+ Т-клетках человека ведет к селективному распознаванию и уничтожению презентующих HLA-A\*02/PRAME-004 линий опухолевых клеток (Фигуры 24, 25 30 и 32). ТКР R11P3D3 не отвечает ни на один из 25 исследованных здоровых, первичных или полученных из iPSC видов клеток (Фигуры 24 и 25) и был исследован на наличие перекрестных реакций с 67 другими похожими пептидами (57 из которых были идентичны PRAME-004 в положениях 3, 5, 6 и 7), которые однако были не родственными пептидами в контексте HLA-A\*02 (Фигуры 8, 22 и 23).

### **Пример 2: Т-клеточный рецептор R16P1C10**

ТКР R16P1C10 (SEQ ID NO: 13-24 и 197) рестриктирован по HLA-A\*02-презентируемому пептиду PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) (см. Фигуру 9).

R16P1C10 специфично распознает PRAME-004, поскольку первичные CD8+ Т-клетки человека, повторно экспрессирующие данный ТКР, высвобождают IFN $\gamma$  при совместной инкубации с HLA-A\*02+ клетками-мишенями и связываются с тетрамерами HLA-A\*02 (Фигура 21), соответственно, нагруженными либо пептидом PRAME-004, либо вариантами PRAME-004 с заменами аланина или треонина (Фигура 2), или различными пептидами, обладающими высокой степенью сходства последовательности с PRAME-004 (Фигура 9). Пептид NYESO1-001 используется в качестве отрицательного контроля. ТКР R16P1C10 имеет уровень EC50, составляющий 9,6 нМ (Фигура 16).

### **Пример 3: Т-клеточный рецептор R16P1E8**

ТКР R16P1E8 (SEQ ID NO: 25-36 и 198) рестриктирован по HLA-A\*02-презентируемому пептиду PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) (см. Фигуру 10).

R16P1E8 специфично распознает PRAME-004, поскольку первичные CD8+ Т-клетки человека, повторно экспрессирующие данный ТКР, высвобождают IFN $\gamma$  при совместной инкубации с HLA-A\*02+ клетками-мишенями, нагруженными либо пептидом PRAME-004, либо вариантами PRAME-004 с заменами аланина или треонина (Фигура 3), или различными пептидами, обладающими высокой степенью сходства последовательности с PRAME-004 (Фигура 10). Пептид NYESO1-001 используется в качестве отрицательного контроля. ТКР R16P1E8 имеет уровень

EC50, составляющий ~1 мкМ (Фигура 17).

#### **Пример 4: Т-клеточный рецептор R17P1A9**

ТКР R17P1A9 (SEQ ID NO: 37-48 и 199) рестриктирован по HLA-A\*02-презентируемому пептиду PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) (см. Фигуру 11).

R17P1A9 специфично распознает PRAME-004, поскольку первичные CD8+ Т-клетки человека, повторно экспрессирующие данный ТКР, высвобождают IFN $\gamma$  при совместной инкубации с HLA-A\*02+ клетками-мишенями, нагруженными либо пептидом PRAME-004, либо вариантами PRAME-004 с заменами аланина (Фигура 4), или различными пептидами, обладающими высокой степенью сходства последовательности с PRAME-004 (Фигура 11). Пептид NYESO1-001 используется в качестве отрицательного контроля.

#### **Пример 5: Т-клеточный рецептор R17P1D7**

ТКР R17P1D7 (SEQ ID NO: 49-60 и 200) рестриктирован по HLA-A\*02-презентируемому пептиду PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) (см. Фигуру 12).

R17P1D7 специфично распознает PRAME-004, поскольку первичные CD8+ Т-клетки человека, повторно экспрессирующие данный ТКР, высвобождают IFN $\gamma$  при совместной инкубации с HLA-A\*02+ клетками-мишенями, нагруженными либо пептидом PRAME-004, либо вариантами PRAME-004 с заменами аланина или треонина (Фигура 5), или различными пептидами, обладающими высокой степенью сходства последовательности с PRAME-004 (Фигура 12). Пептид NYESO1-001 используется в качестве отрицательного контроля. ТКР R17P1D7 имеет уровень EC50, составляющий ~1,83 нМ (Фигура 18).

#### **Пример 6: Т-клеточный рецептор R17P1G3**

ТКР R17P1G3 (SEQ ID NO: 61-72 и 201) рестриктирован по HLA-A\*02-презентируемому пептиду PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) (см. Фигуру 13).

R17P1G3 специфично распознает PRAME-004, поскольку первичные CD8+ Т-клетки человека, повторно экспрессирующие данный ТКР, высвобождают IFN $\gamma$  при совместной инкубации с HLA-A\*02+ клетками-мишенями, нагруженными либо

пептидом PRAME-004, либо вариантами PRAME-004 с заменами аланина или треонина (Фигура 6), или различными пептидами, обладающими высокой степенью сходства последовательности с PRAME-004 (Фигура 13). Пептид NYESO1-001 используется в качестве отрицательного контроля. ТКР R17P1G3 имеет уровень EC50, составляющий ~8,63 нМ (Фигура 19).

#### **Пример 7: Т-клеточный рецептор R17P2B6**

ТКР R17P2B6 (SEQ ID NO: 73-84 и 202) рестриктирован по HLA-A\*02-презентируемому пептиду PRAME-004 (SEQ ID NO: 97) (см. Фигуру 14).

R17P2B6 специфично распознает PRAME-004, поскольку первичные CD8+ Т-клетки человека, повторно экспрессирующие данный ТКР, высвобождают IFN $\gamma$  при совместной инкубации с HLA-A\*02+ клетками-мишенями, нагруженными либо пептидом PRAME-004, либо вариантами PRAME-004 с заменами аланина или треонина (Фигура 7), или различными пептидами, обладающими высокой степенью сходства последовательности с PRAME-004 (Фигура 14). Пептид NYESO1-001 используется в качестве отрицательного контроля. ТКР R17P2B6 имеет уровень EC50, составляющий 2,11 нМ (Фигура 20) и аффинность связывания ( $K_D$ ) 13 мкМ по отношению к HLA-A\*02-презентируемому пептиду PRAME-004.

#### **Пример 8: улучшенный Т-клеточный рецептор R11P3D3\_KE**

ТКР R11P3D3\_KE с мутацией, приводящей к «улучшенной правильности спаривания» представлен в качестве варианта R11P3D3, где  $\alpha$ - и  $\beta$ -вариабельные домены, в естественном виде несущие  $\alpha$ W44/  $\beta$ Q44, имеют мутацию  $\alpha$ K44/  $\beta$ E44. Двойная мутация выбрана из перечня, представленного в патентной заявке PCT/EP2017/081745, специально включенной сюда путем ссылки. Ее специфическое предназначение – установление оптимального взаимодействия и комплементарности формы относительно каркаса ТКР.

По сравнению с исходным ТКР R11P3D3 улучшенный ТКР R11P3D3\_KE демонстрирует повышенную чувствительность по распознаванию PRAME-004. Ответ на презентующие PRAME-004 линии опухолевых клеток сильнее с улучшенным ТКР R11P3D3\_KE по сравнению с исходным ТКР R11P3D3 (Фигура 30). Кроме того, цитолитическая активность R11P3D3\_KE выше по сравнению с

R11P3D3 (Фигура 32). Наблюдаемое улучшение функционального ответа улучшенного ТКР R11P3D3\_KE хорошо соотносится с аффинностью связывания с PRAME-004, как описано в Примере 1 (R11P3D3,  $K_D = 18-26$  мкМ) и Примере 8 (R11P3D3\_KE,  $K_D = 5,3$  мкМ).

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антигенраспознающая структура, включающая по меньшей мере одну комплементарную детерминантную группу (CDR) 3, последовательность которой по меньшей мере на 80% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO. 3, 9, 15, 21, 27, 33, 39, 45, 51, 57, 63, 69, 75, 81, 129 и 135.
2. Антигенраспознающая структура в соответствии с п. 1, где указанная антигенраспознающая структура способна специфически и/или селективно связываться с антигенным пептидом «антиген PRAME, преимущественно экспрессируемый в меланоме, предпочтительно, таким как пептид, представленный последовательностью с SEQ ID NO: 97-115, предпочтительно, пептид, представленный последовательностью с SEQ ID NO: 97.
3. Антигенраспознающая структура в соответствии с п. 1 или 2, где антигенраспознающая структура является антителом, или его производным или его фрагментом, или Т-клеточным рецептором (ТКР), или его производным или его фрагментом.
4. Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пп. 1–3, включающая  $\alpha$ - или  $\gamma$ -цепь ТКР; и/или  $\beta$ - или  $\delta$ -цепь ТКР; где  $\alpha$ - или  $\gamma$ -цепь ТКР включает CDR3, последовательность которого по меньшей мере на 80% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID NO. 3, 15, 27, 39, 51, 63, 75 и 129, и/или где  $\beta$ -или  $\delta$ -цепь ТКР включает CDR3, последовательность которого по меньшей мере на 80% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID NO. 9, 21, 33, 45, 57, 69, 81 и 135.
5. Антигенраспознающая структура в соответствии с п. 4, где  $\alpha$ - или  $\gamma$ -цепь ТКР дополнительно включает CDR1, последовательность которого по меньшей мере на 80% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID NO: 1, 13, 25, 37, 49, 61, 73 и 127; и/или CDR2, последовательность которого по меньшей мере на 80% идентична

аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID NO: 2, 14, 26, 38, 50, 62, 74, 128, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202 и 204..

6. Антигенраспознающая структура в соответствии с п. 4 или 5, где  $\beta$ - или  $\delta$ -цепь ТКР дополнительно включает CDR1, последовательность которого по меньшей мере на 80% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID NO: 7, 19, 31, 43, 55, 67, 79 и 133; и/или CDR2, последовательность которого по меньшей мере на 80% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из последовательностей с SEQ ID NO: 8, 20, 32, 44, 56, 68, 80 и 134.

7. Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пп. 1–6, включающая переменную область цепи ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 80%, идентична аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 4, 10, 16, 22, 28, 34, 40, 46, 52, 58, 64, 70, 76, 82, 130 и 136.

8. Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пп. 1–7, включающая связывающий фрагмент ТКР, и где указанный связывающий фрагмент включает CDR1–CDR3, факультативно выбранные из последовательностей CDR1–CDR3, имеющих аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 1, 2, 3, 196; или 7, 8, 9; или 13, 14, 15, 197; или 19, 20, 21; или 25, 26, 27, 198; или 31, 32, 33; или 37, 38, 39, 199; или 43, 44, 45; или 49, 50, 51, 200; или 55, 56, 57; или 61, 62, 63, 201; или 67, 68, 69; или 73, 74, 75, 202; или 79, 80, 81; или 127, 128, 129, 204; или 133, 134, 135.

9. Нуклеиновая кислота, кодирующая антигенраспознающую структуру в соответствии с любым из пп. 1–8.

10. Вектор, включающий нуклеиновую кислоту в соответствии с п. 9.

11. Клетка-хозяин, включающая антигенраспознающую структуру в соответствии с любым из пп. 1–8, или нуклеиновую кислоту в соответствии с п. 9, или вектор в соответствии с п. 10, факультативно, клетка-хозяин является

лимфоцитом, предпочтительно, Т-лимфоцитом или предшественником Т-лимфоцита, более предпочтительно – CD4 или CD8-положительной Т-клеткой.

12. Фармацевтическая композиция, включающая антигенраспознающую структуру в соответствии с любым из пп. 1–8, или нуклеиновую кислоту в соответствии с п. 9, или вектор в соответствии с п. 10, или клетку-хозяина в соответствии с п. 11, и фармацевтически приемлемый носитель, стабилизатор и/или вспомогательное вещество.

13. Антигенраспознающая структура в соответствии с любым из пп. 1–8, или нуклеиновая кислота в соответствии с п. 9, или вектор в соответствии с п. 10, или клетка-хозяин в соответствии с п. 11, или фармацевтическая композиция в соответствии с п. 12 для применения в медицине, факультативно, для применения в диагностике, предупреждении и/или лечении пролиферативного заболевания.

14. Способ производства линии клеток, экспрессирующей ТАА-специфическую антигенраспознающую структуру, включающий

а. обеспечение подходящей клетки-хозяина,

б. обеспечение генетической конструкции, включающей кодирующую последовательность, кодирующую антигенраспознающую структуру в соответствии с любым из пп. 1–8,

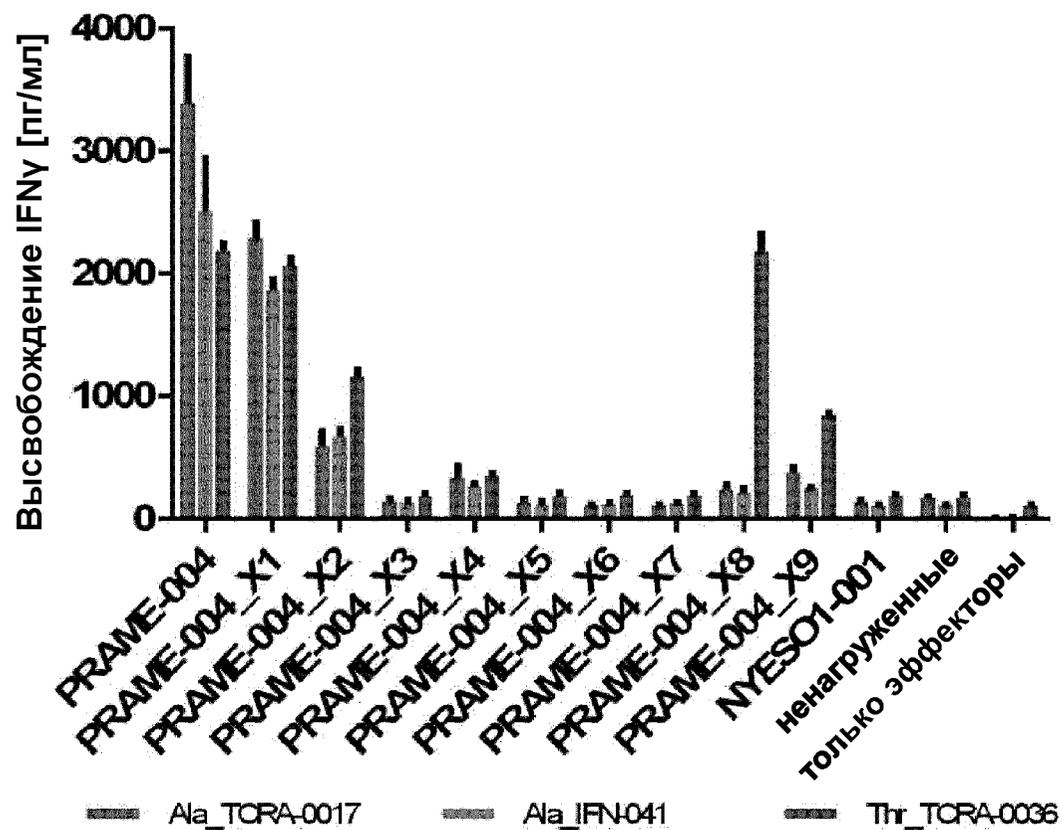
в. введение в указанную подходящую клетку-хозяина указанной генетической конструкции, и

г. экспрессию указанной генетической конструкции указанной подходящей клеткой-хозяином.

15. Способ в соответствии с п. 14, дополнительно включающий выделение и очистку антигенраспознающей структуры из подходящей клетки-хозяина и, факультативно, восстановление антигенраспознающей структуры в Т-клетке.

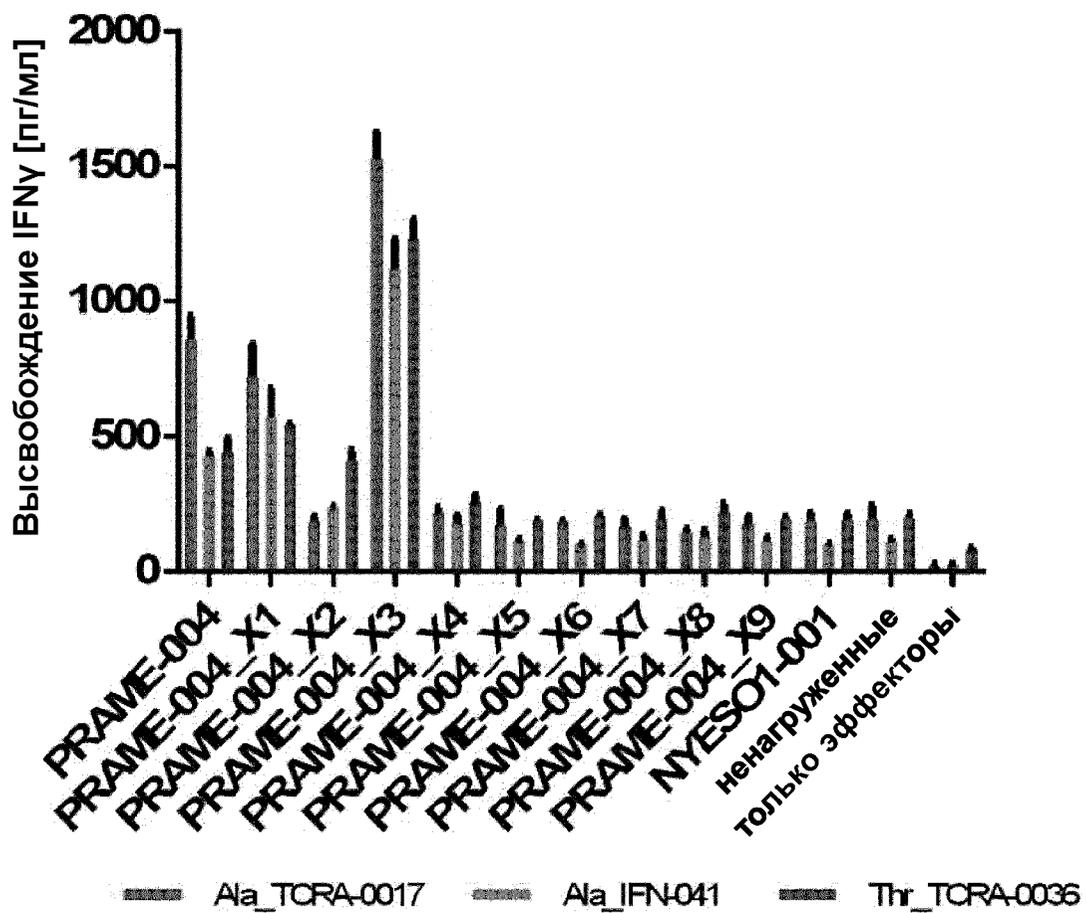
Фигура 1

### R11P3D3



Фигура 2

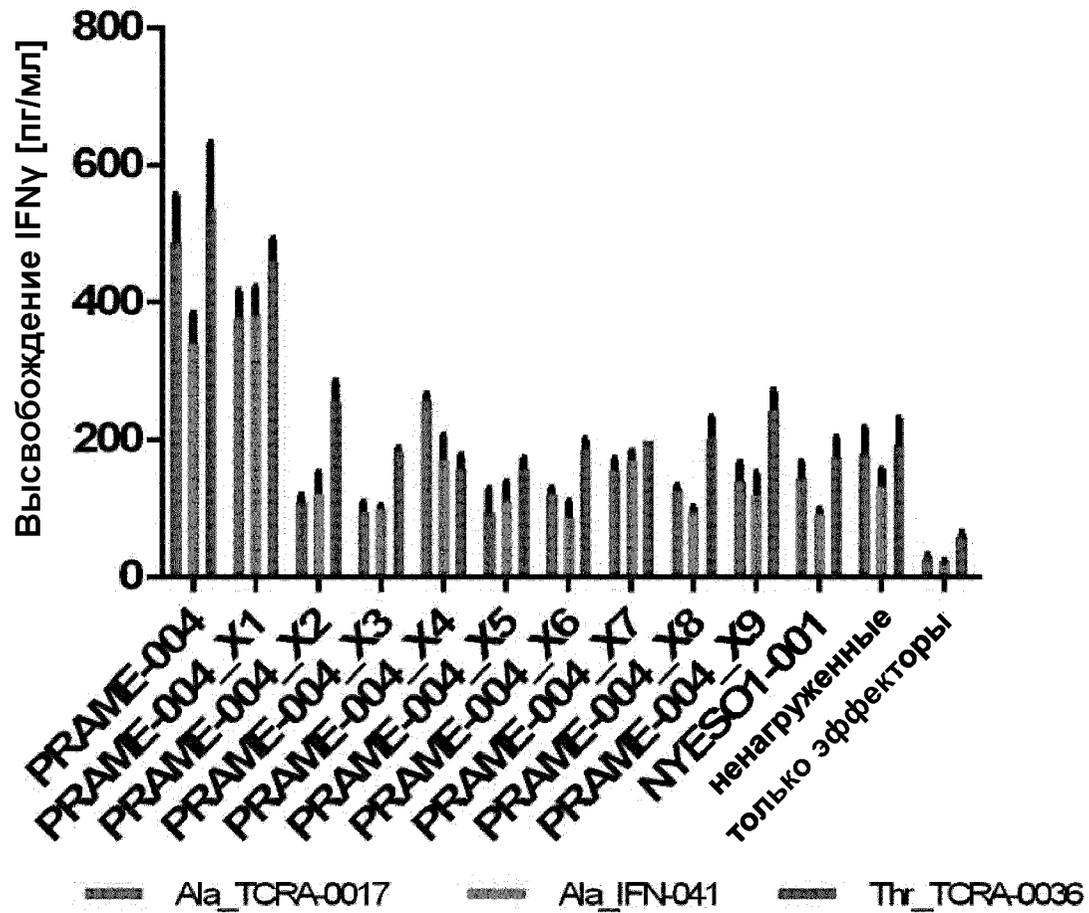
### R16P1C10



Фигура 3

# R16P1E8

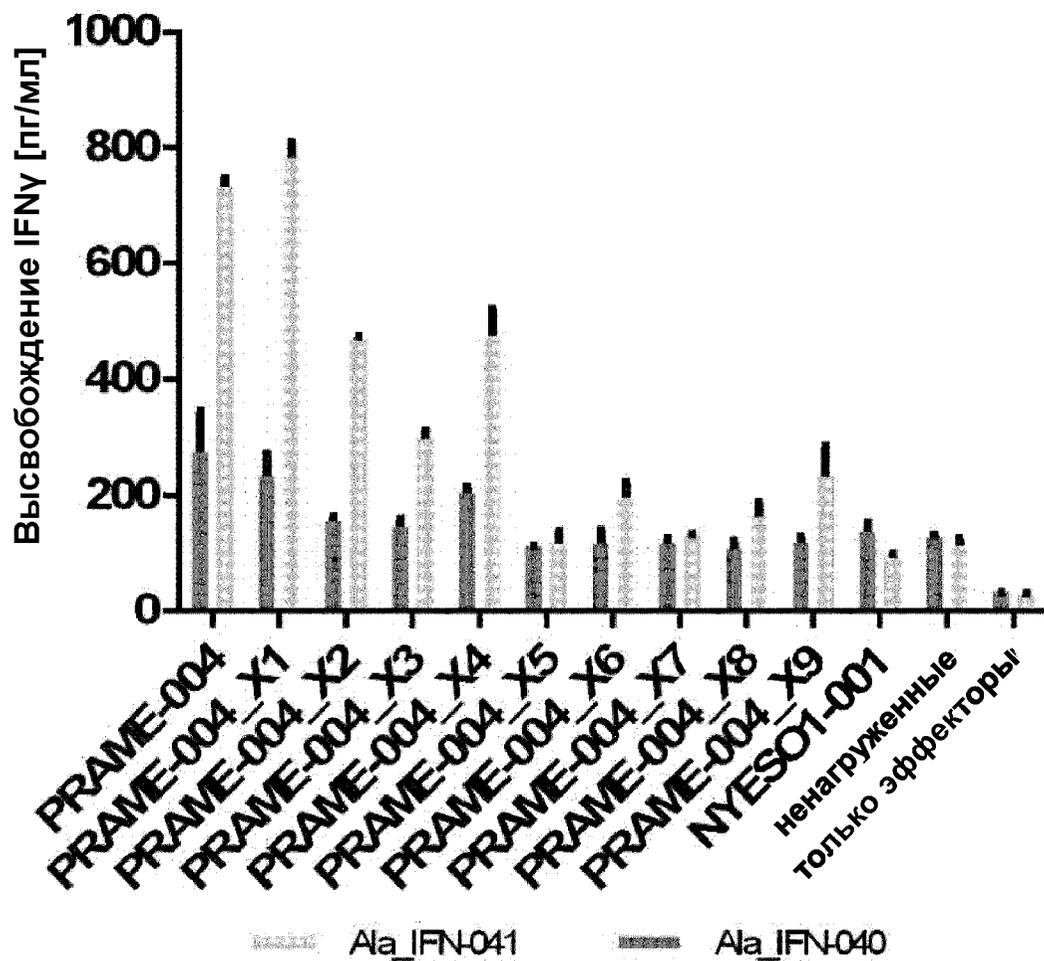
3/32



Фигура 4

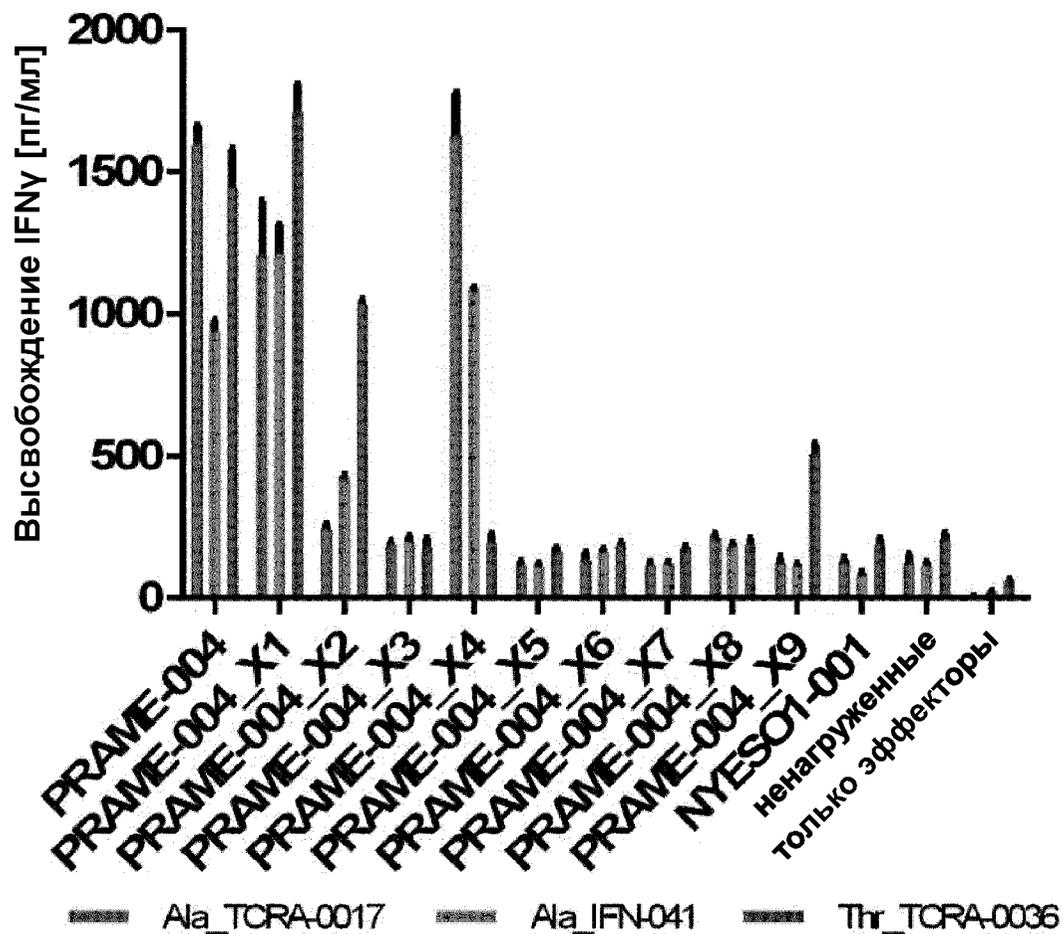
# R17P1A9

4/32



Фигура 5

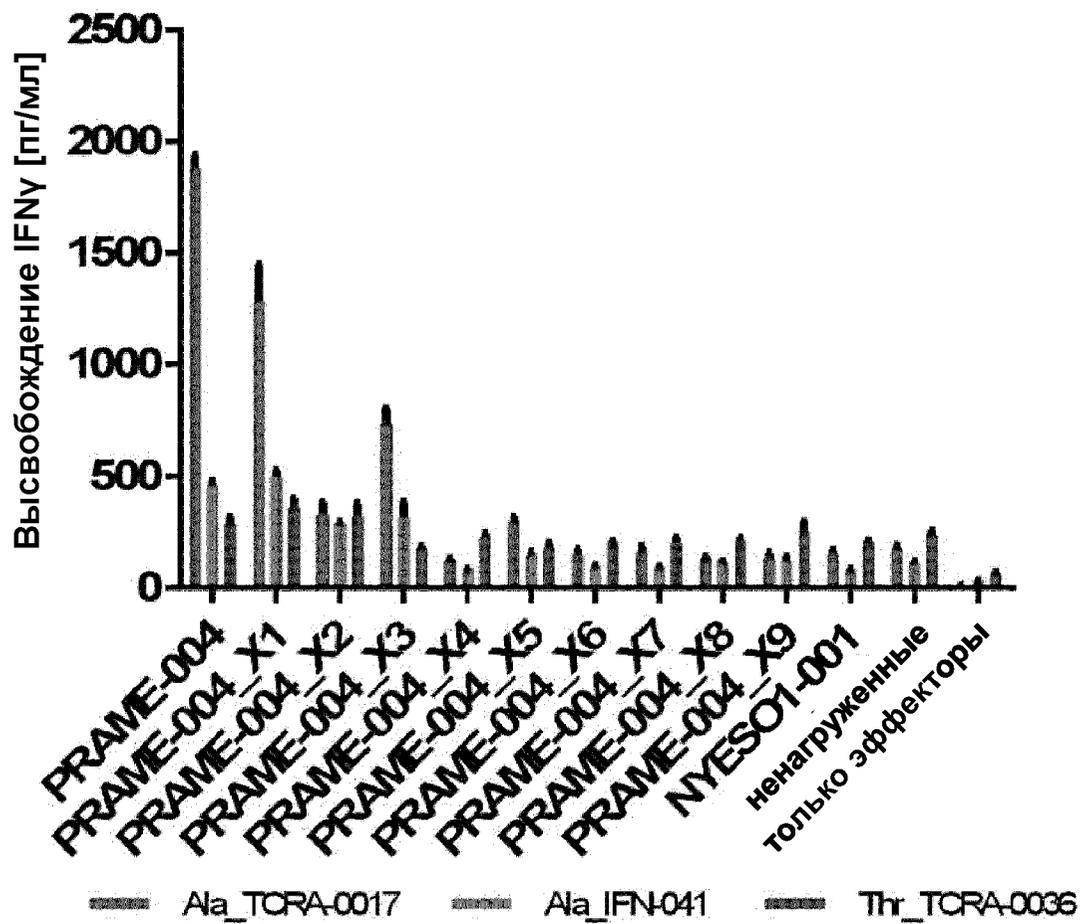
# R17P1D7



Фигура 6

# R17P1G3

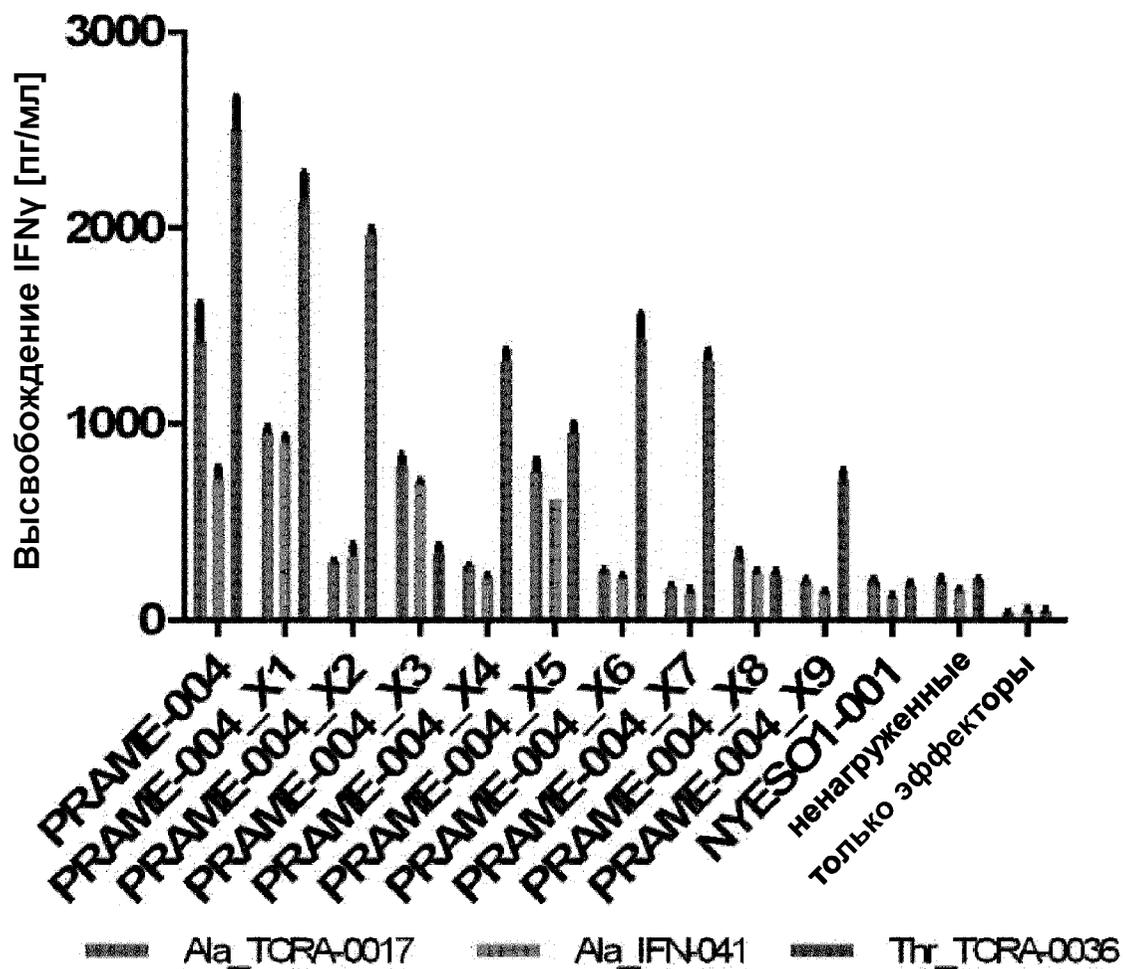
6/32



Фигура 7

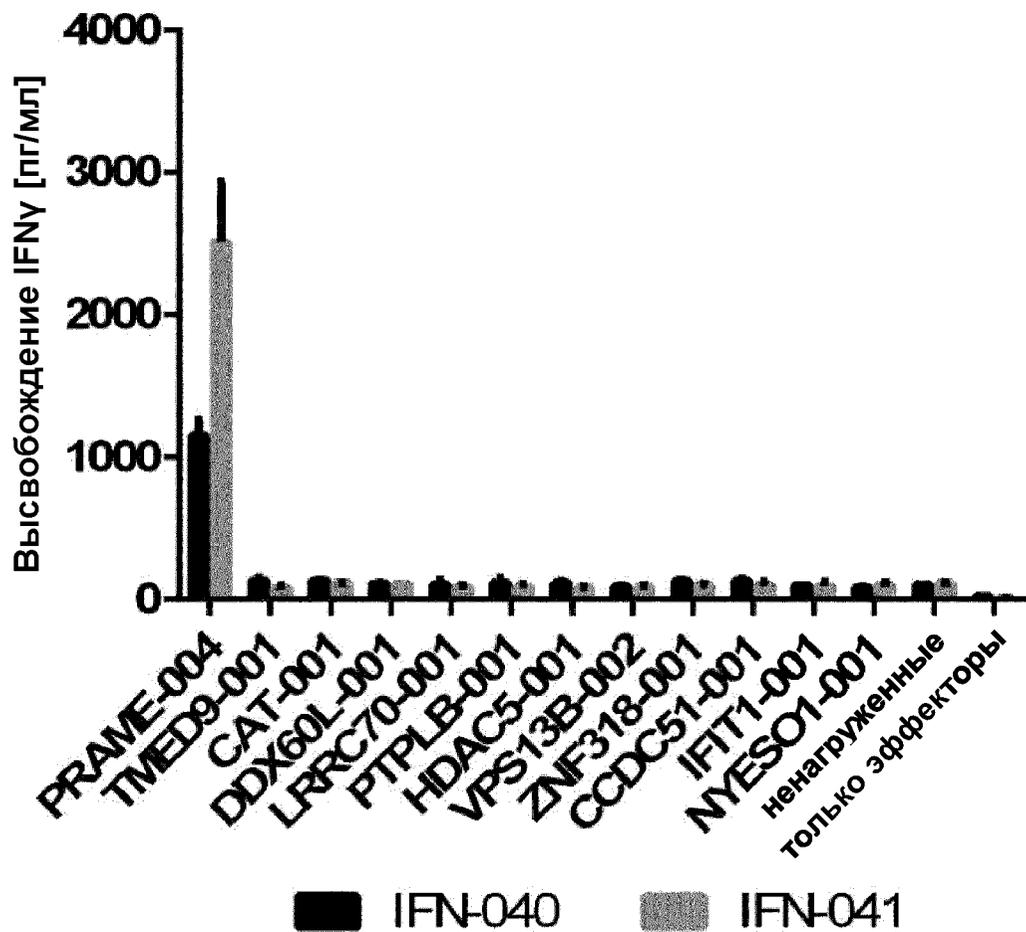
# R17P2B6

7/32



Фигура 8

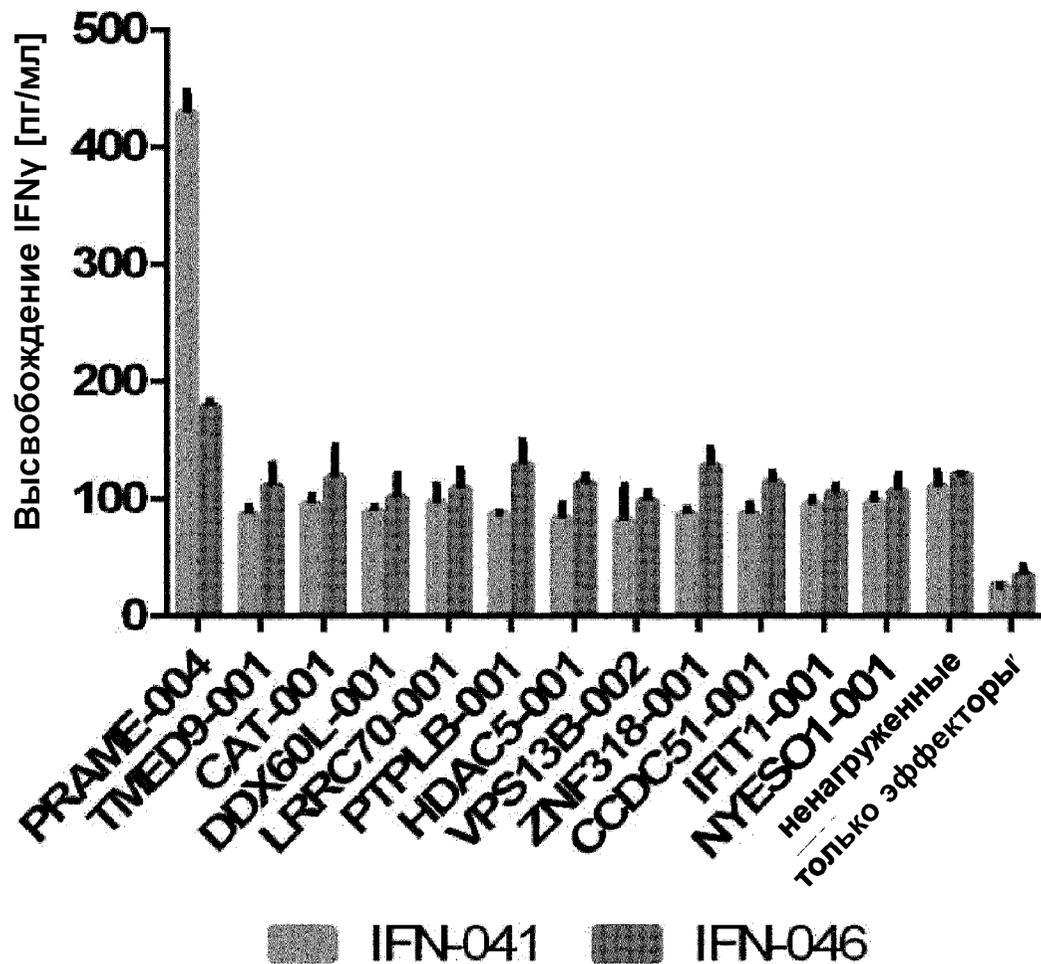
### R11P3D3



Фигура 9

# R16P1C10

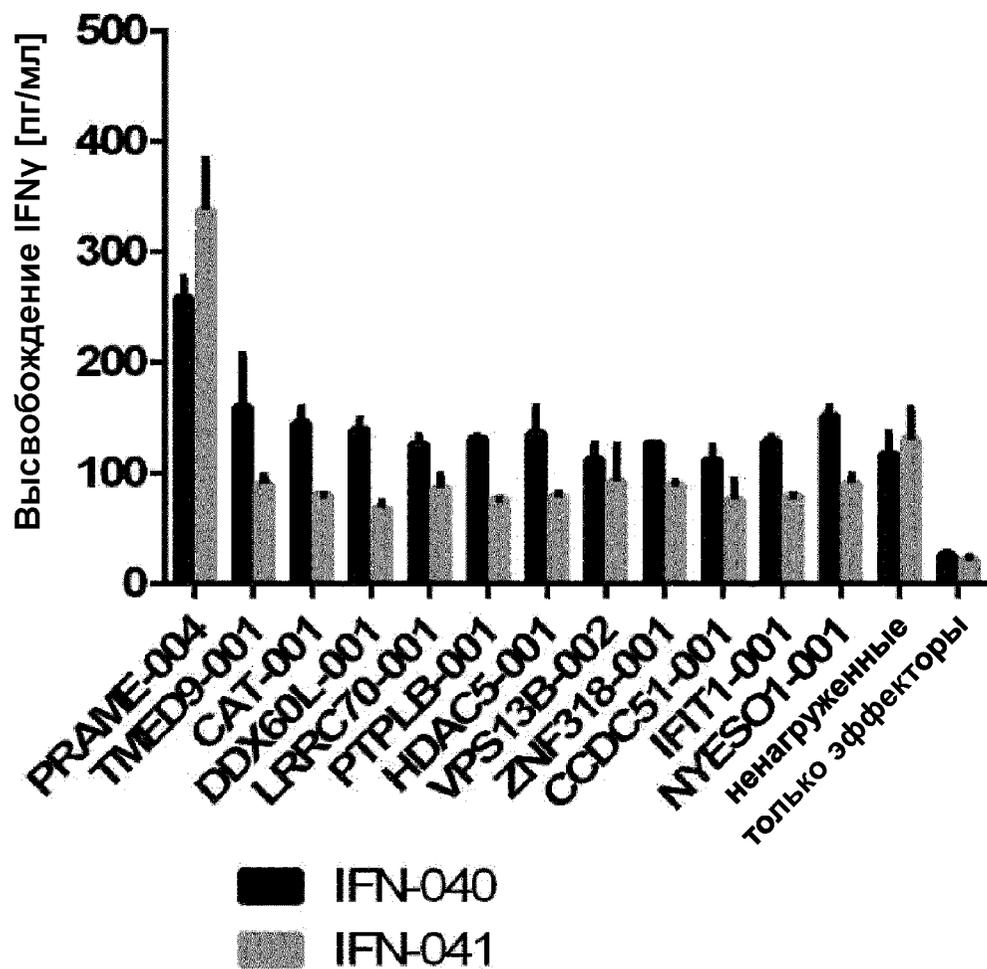
9/32



Фигура 10

# R16P1E8

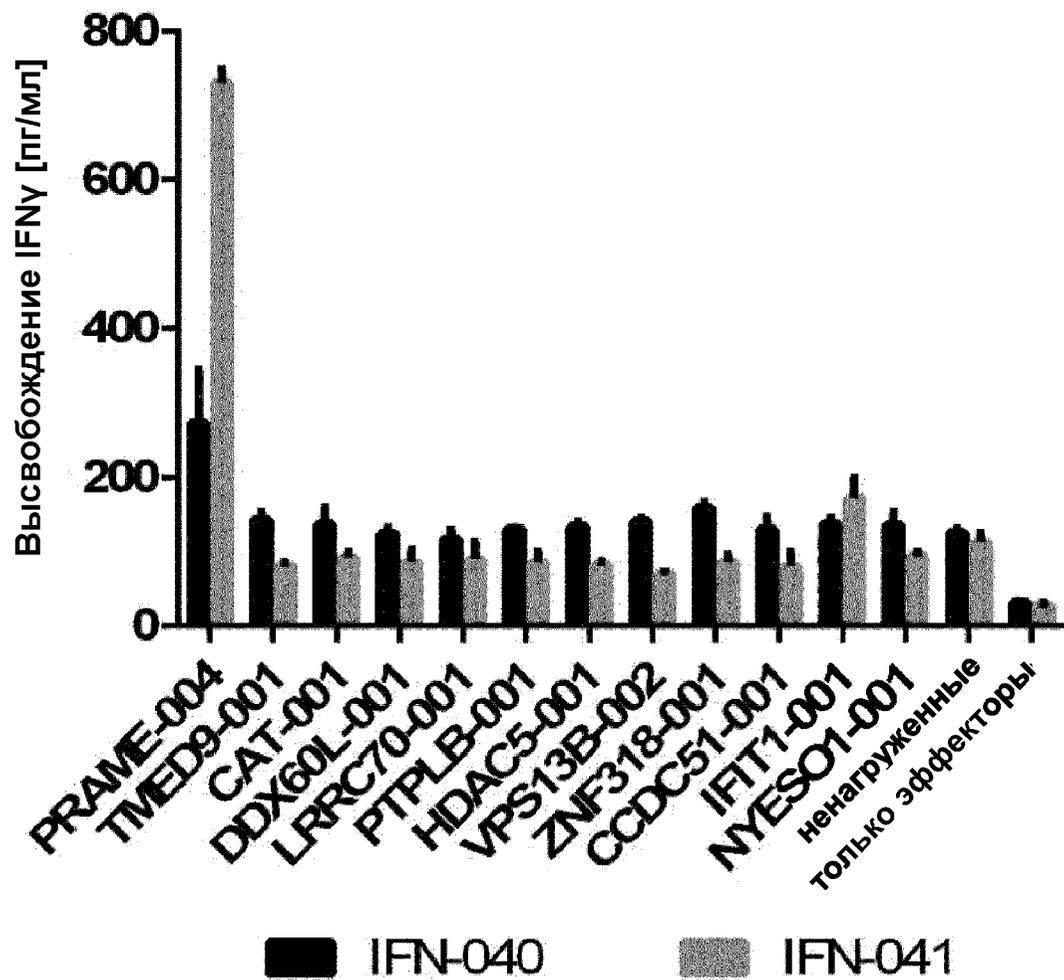
10/32



Фигура 11

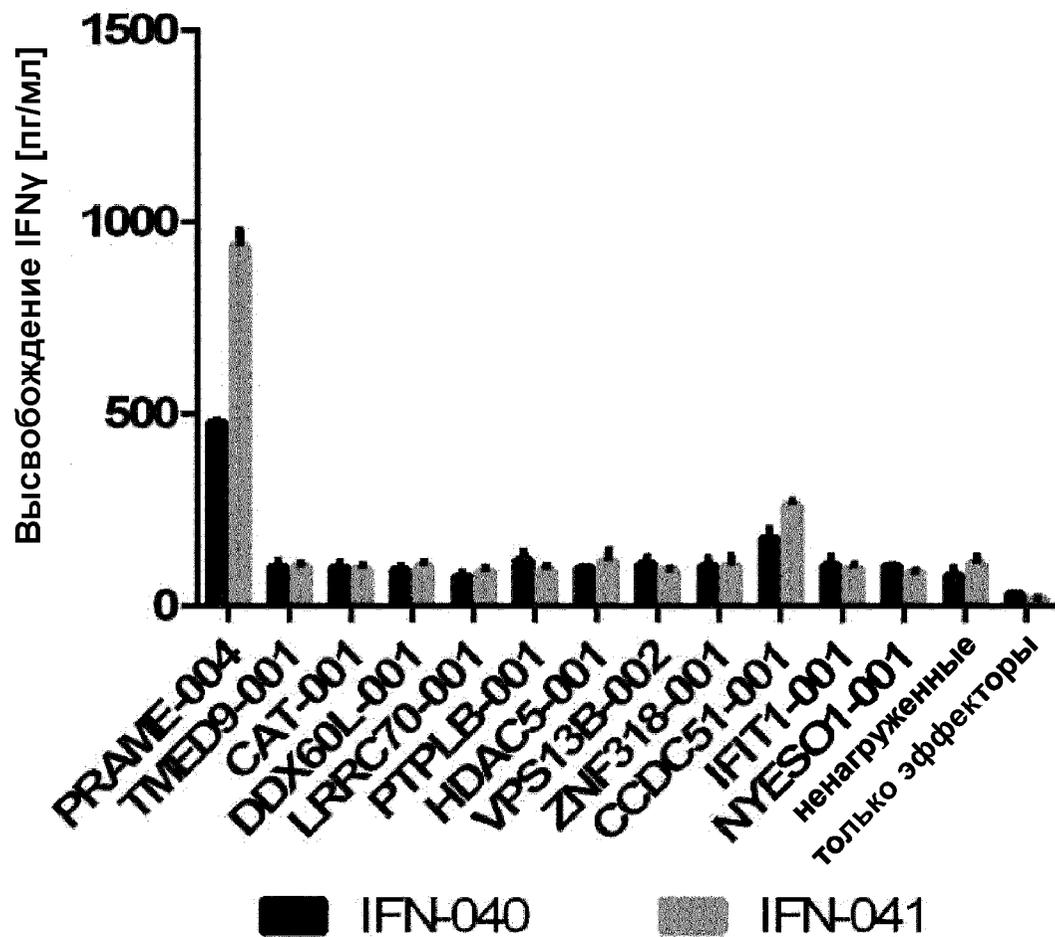
# R17P1A9

11/32



Фигура 12

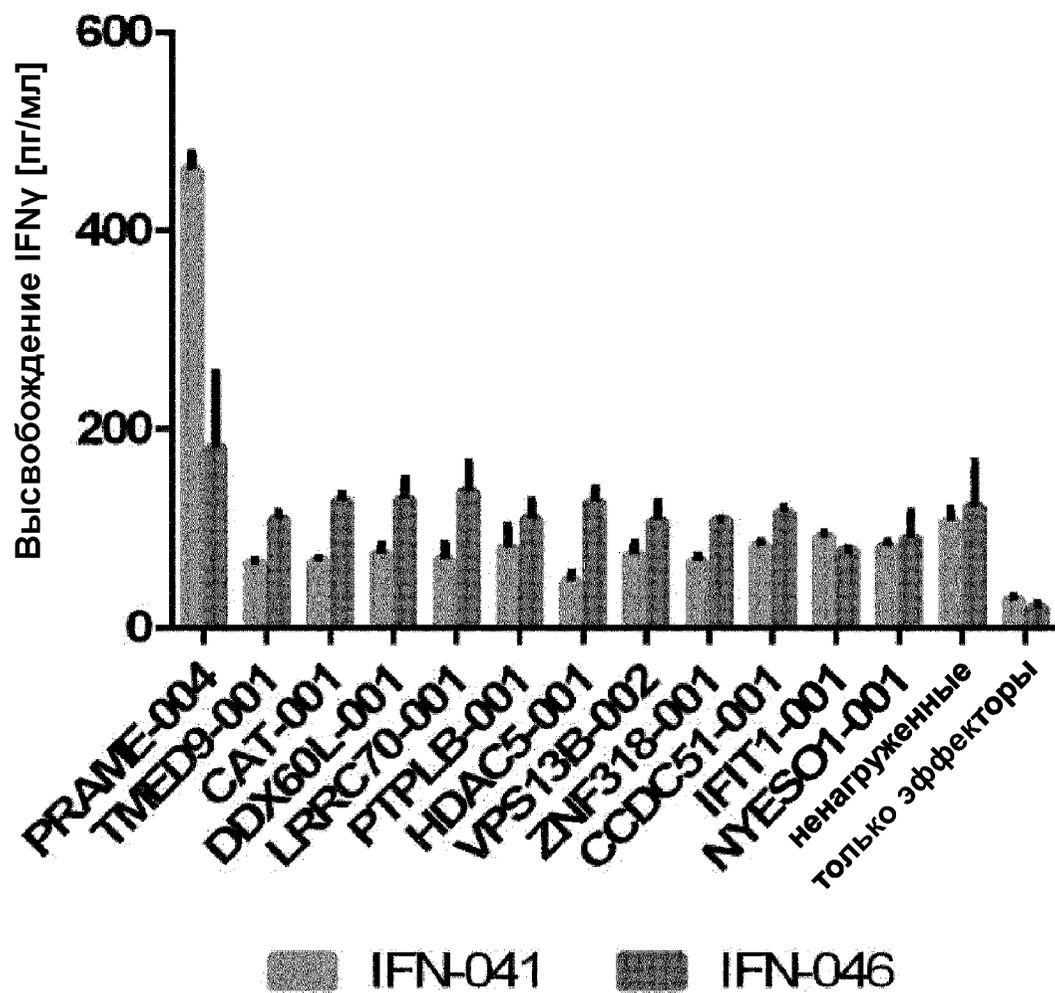
# R17P1D7



Фигура 13

# R17P1G3

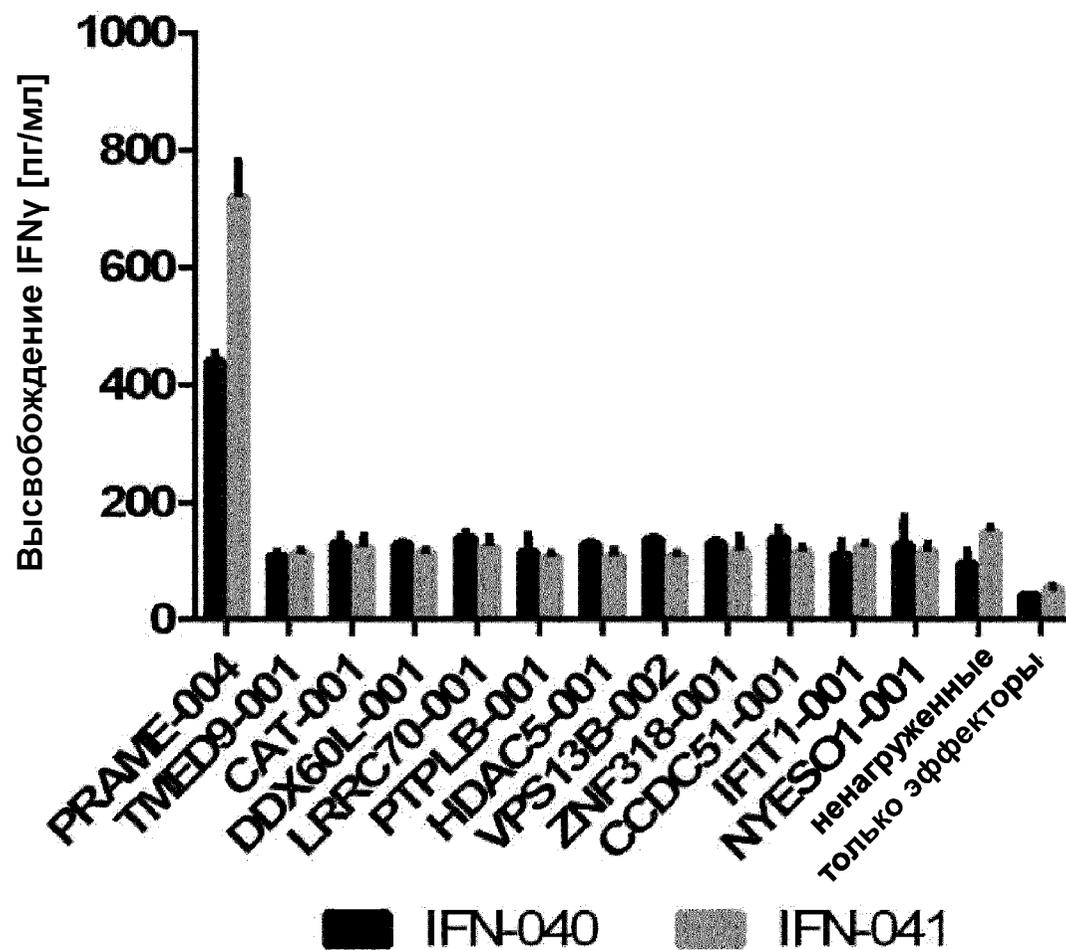
13/32



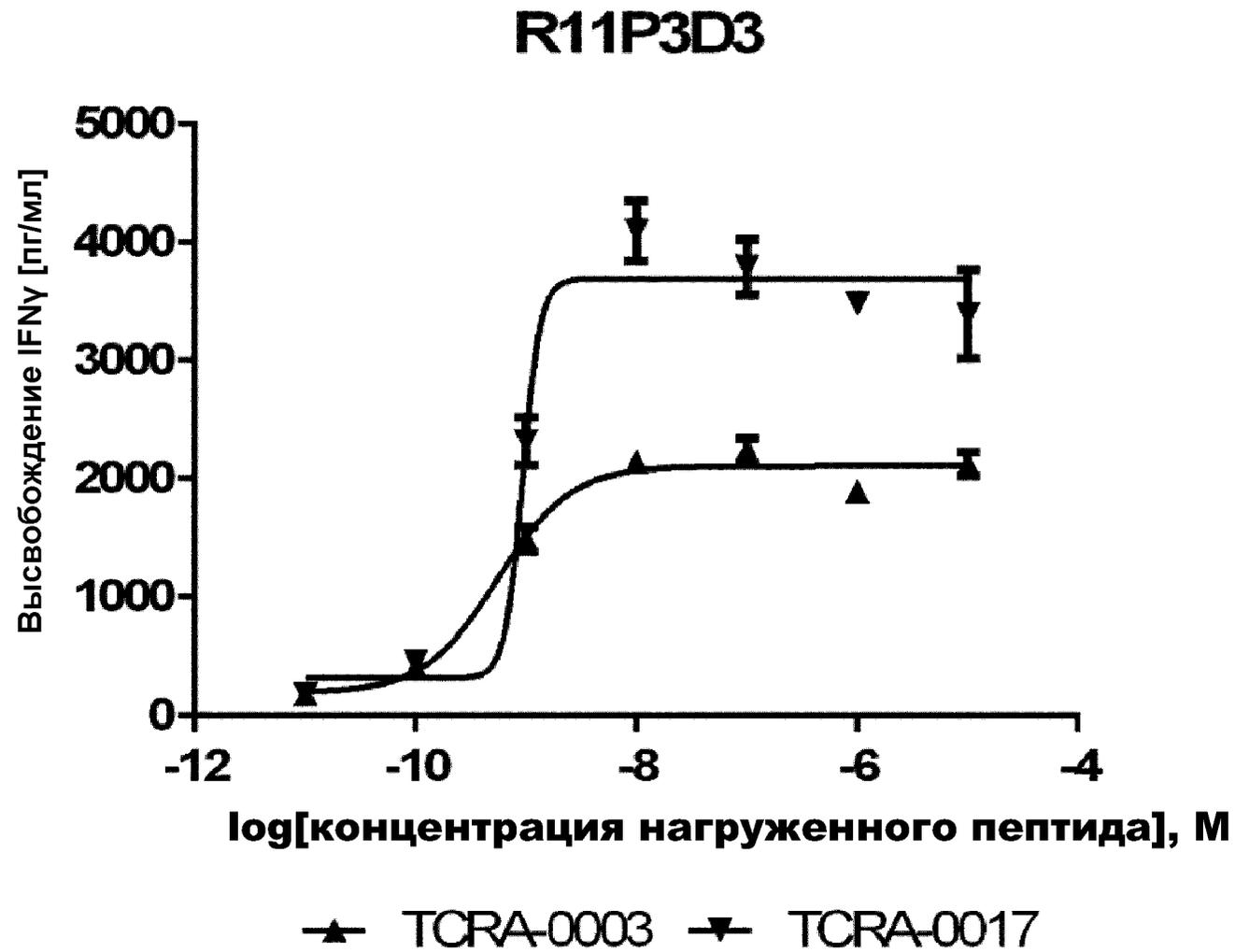
Фигура 14

# R17P2B6

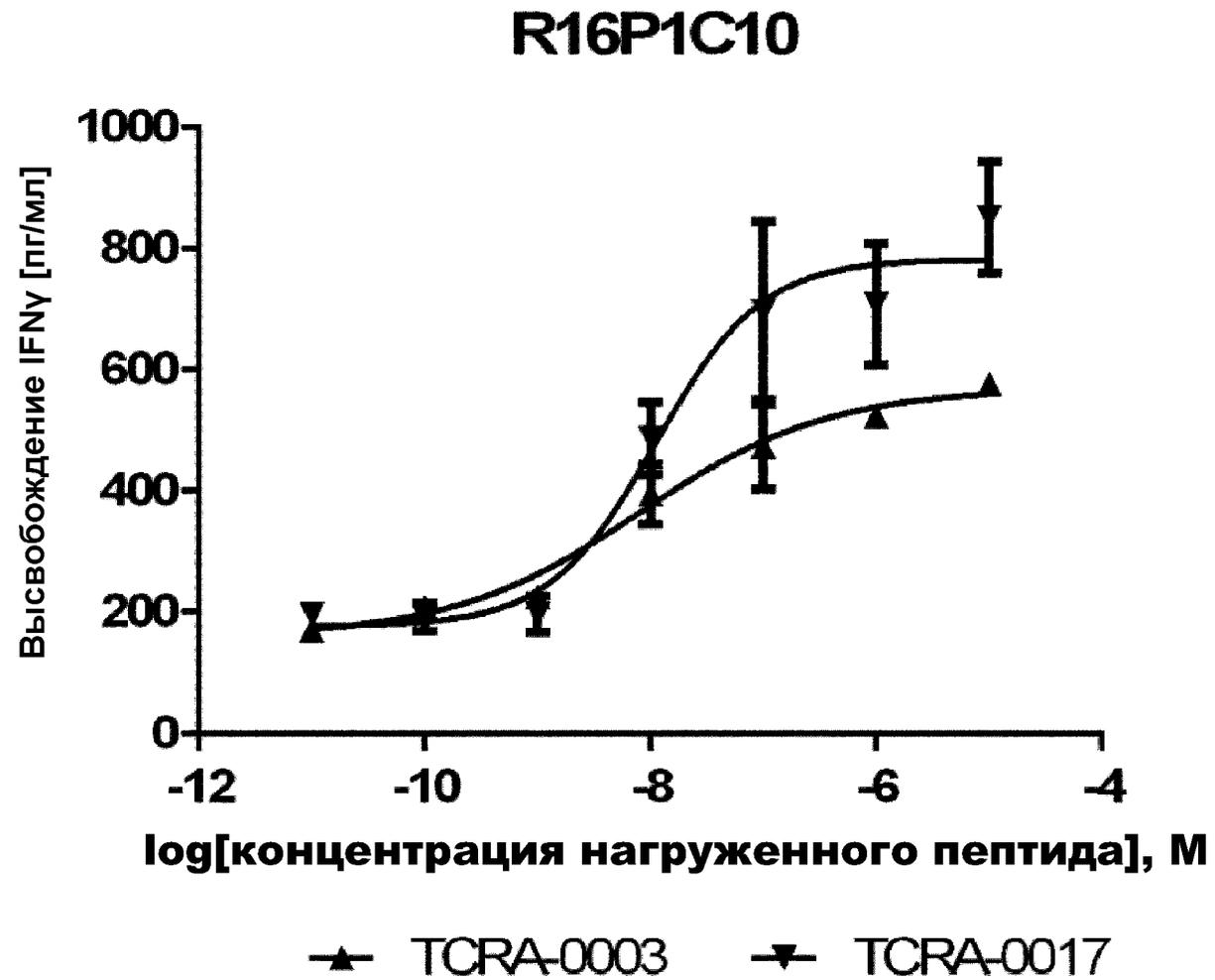
14/32



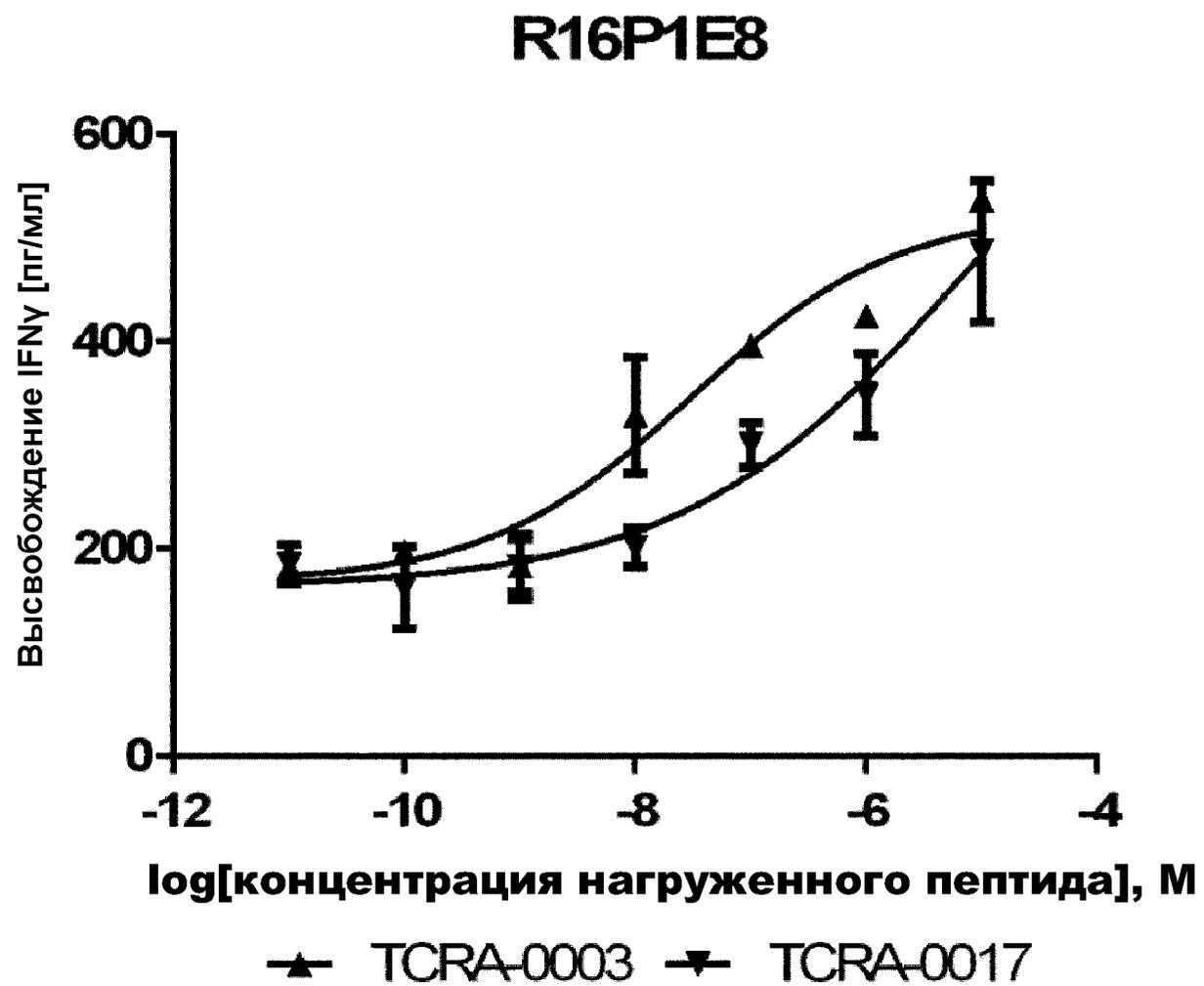
Фигура 15



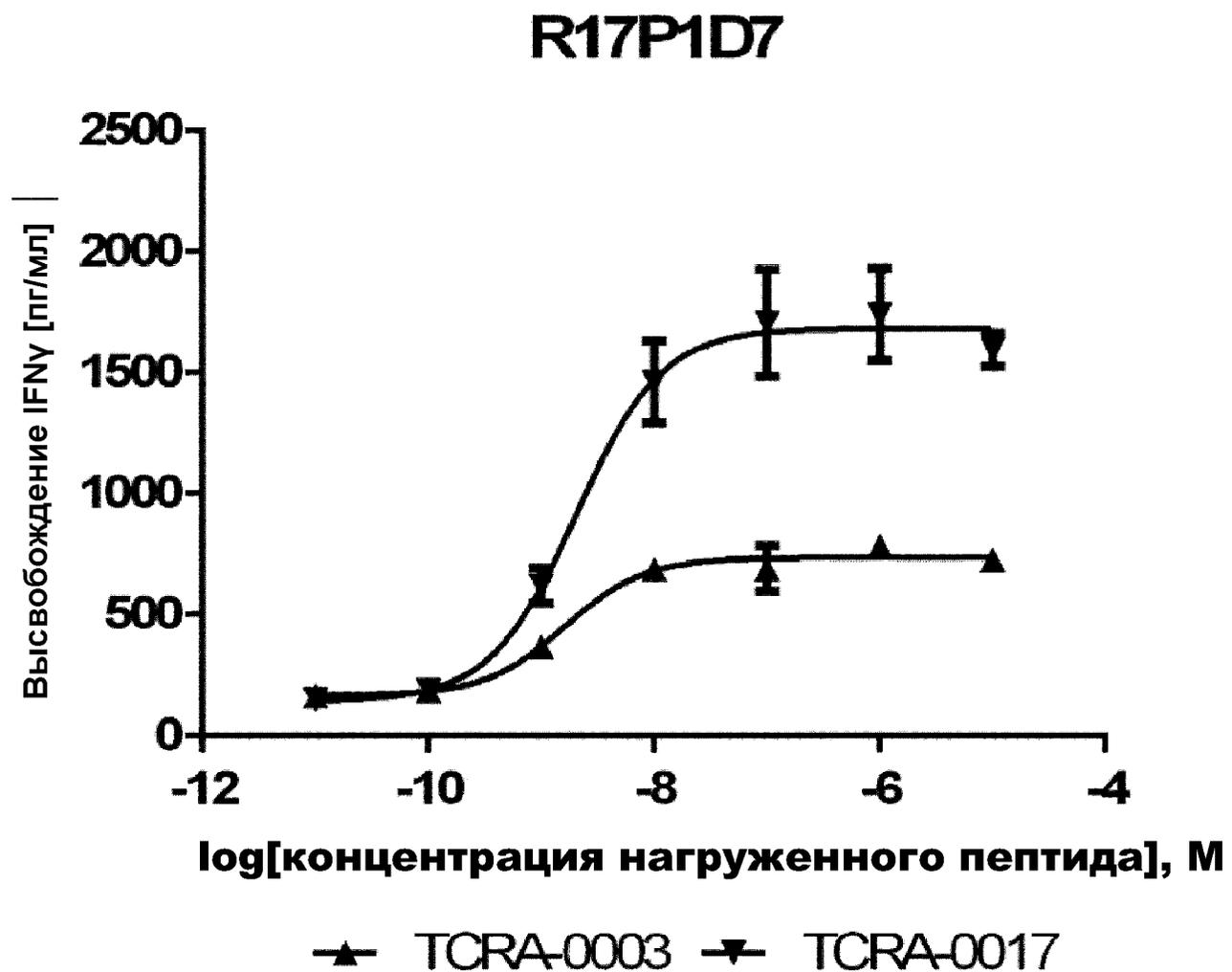
Фигура 16



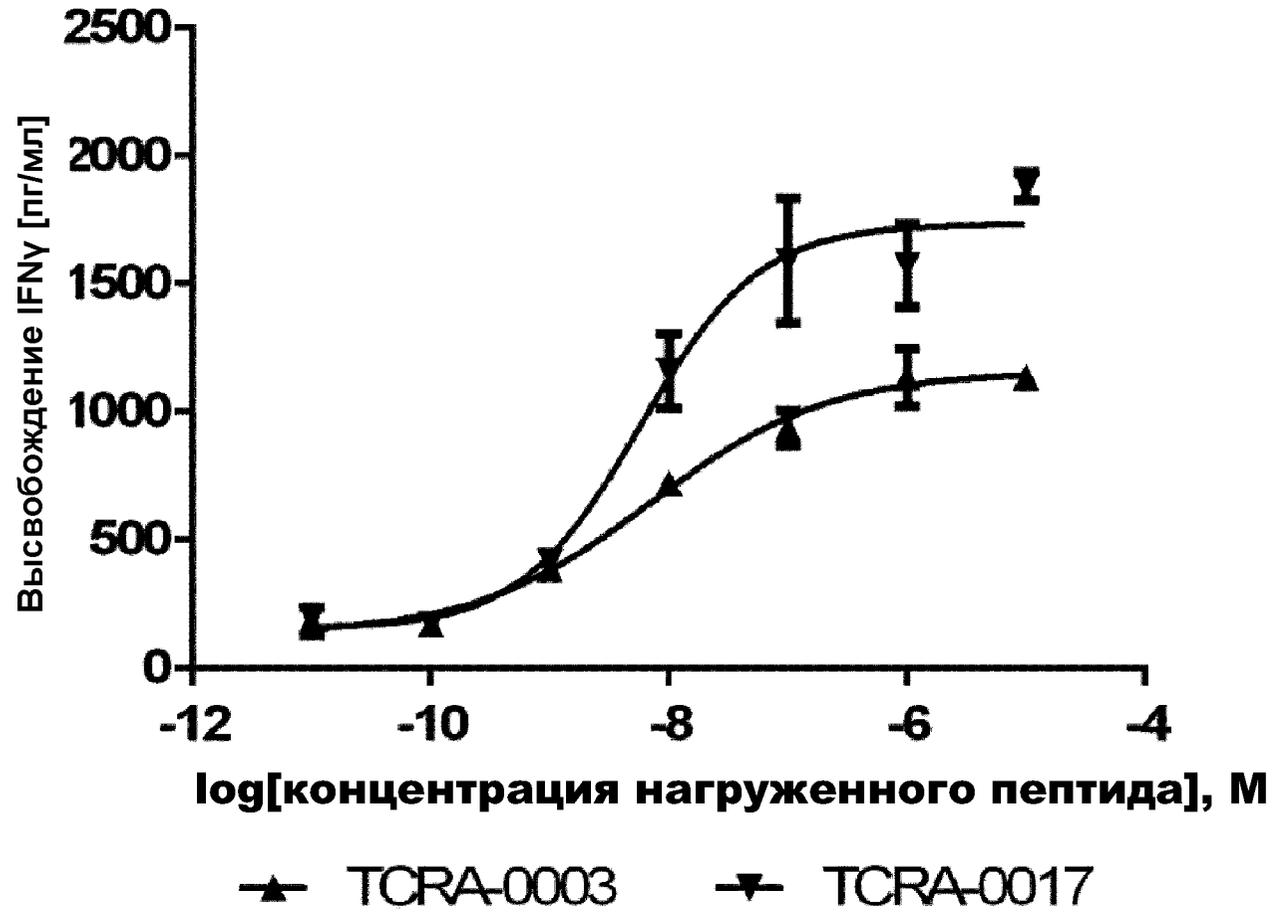
Фигура 17



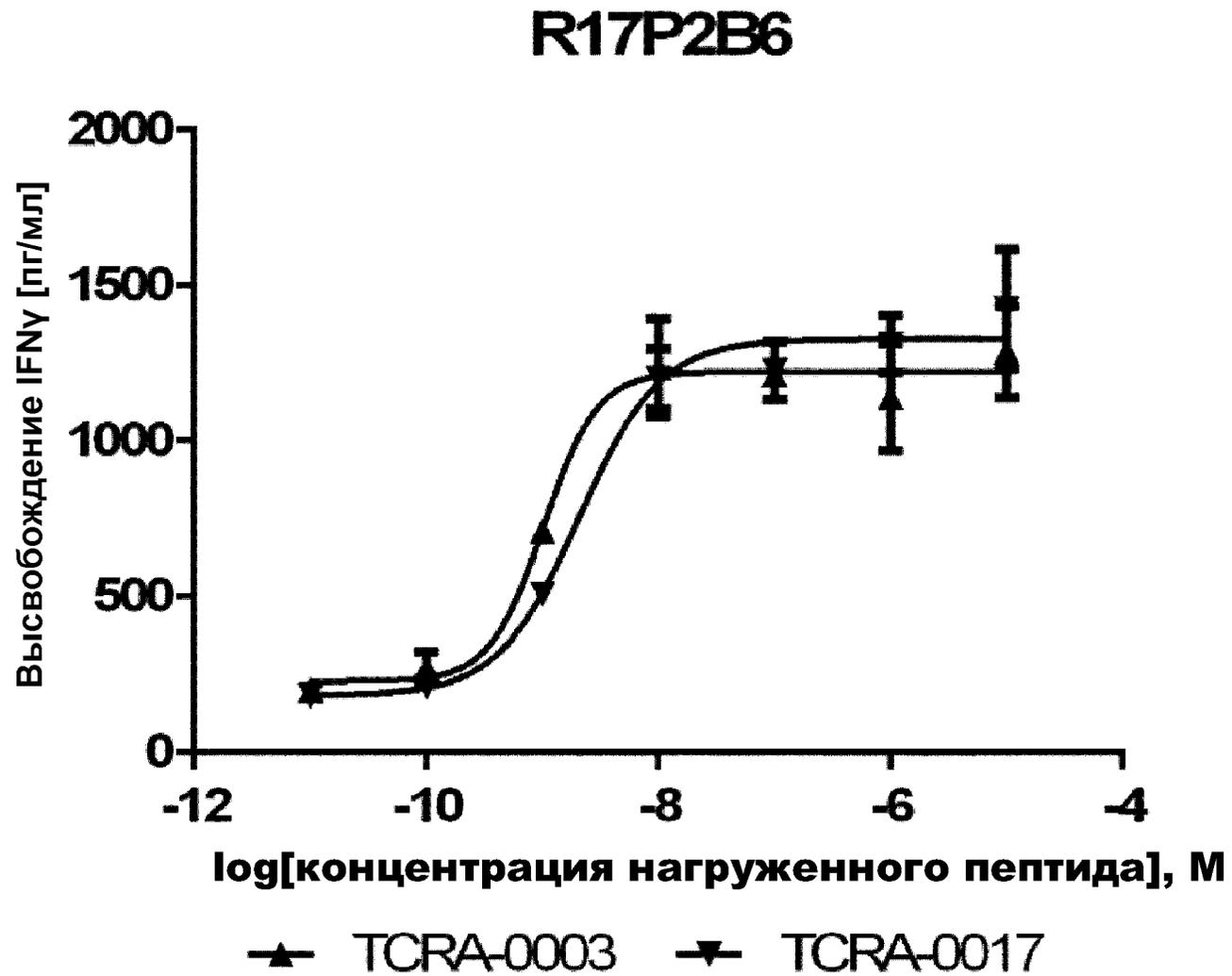
Фигура 18



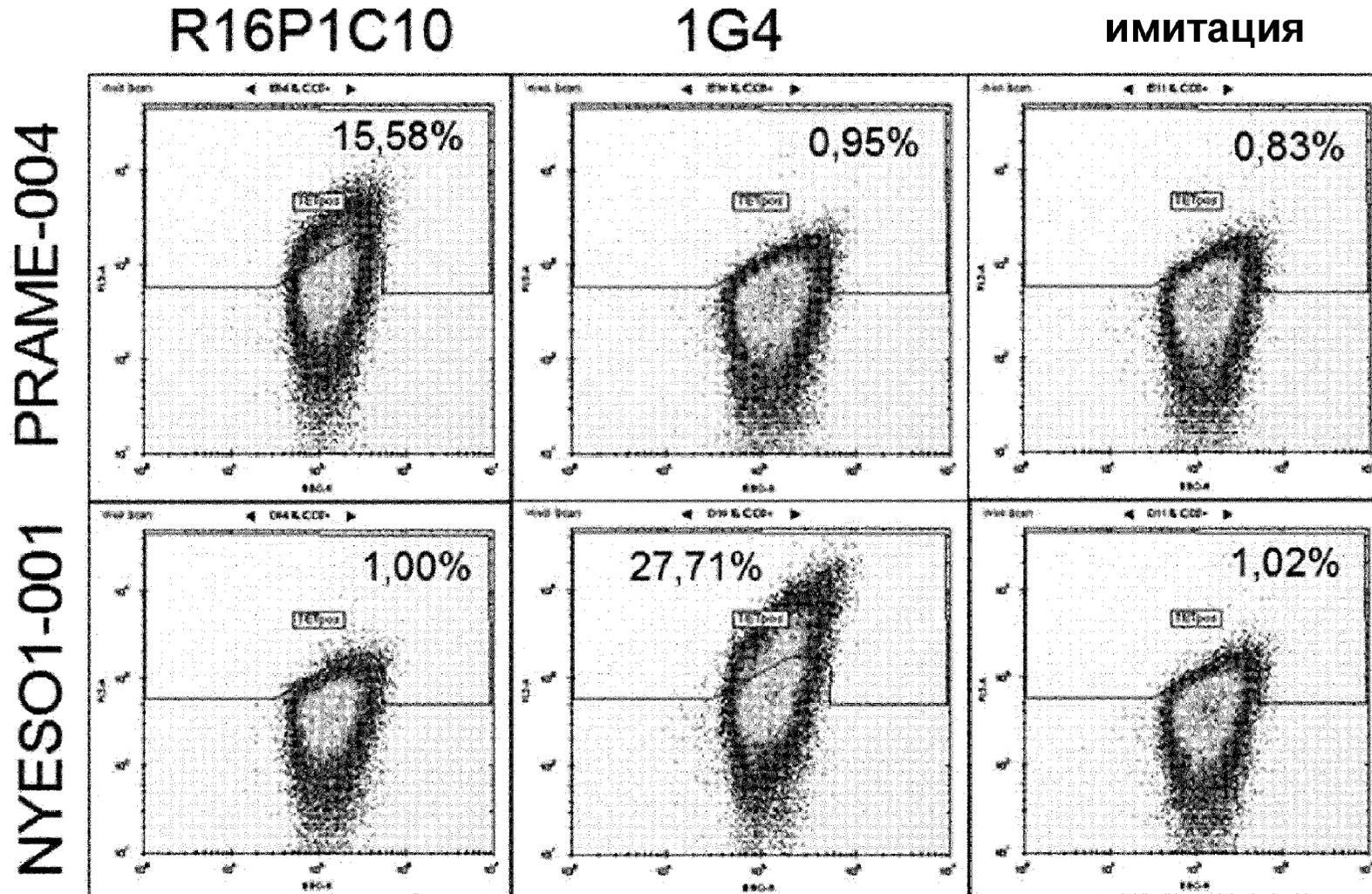
Фигура 19

**R17P1G3**

Фигура 20



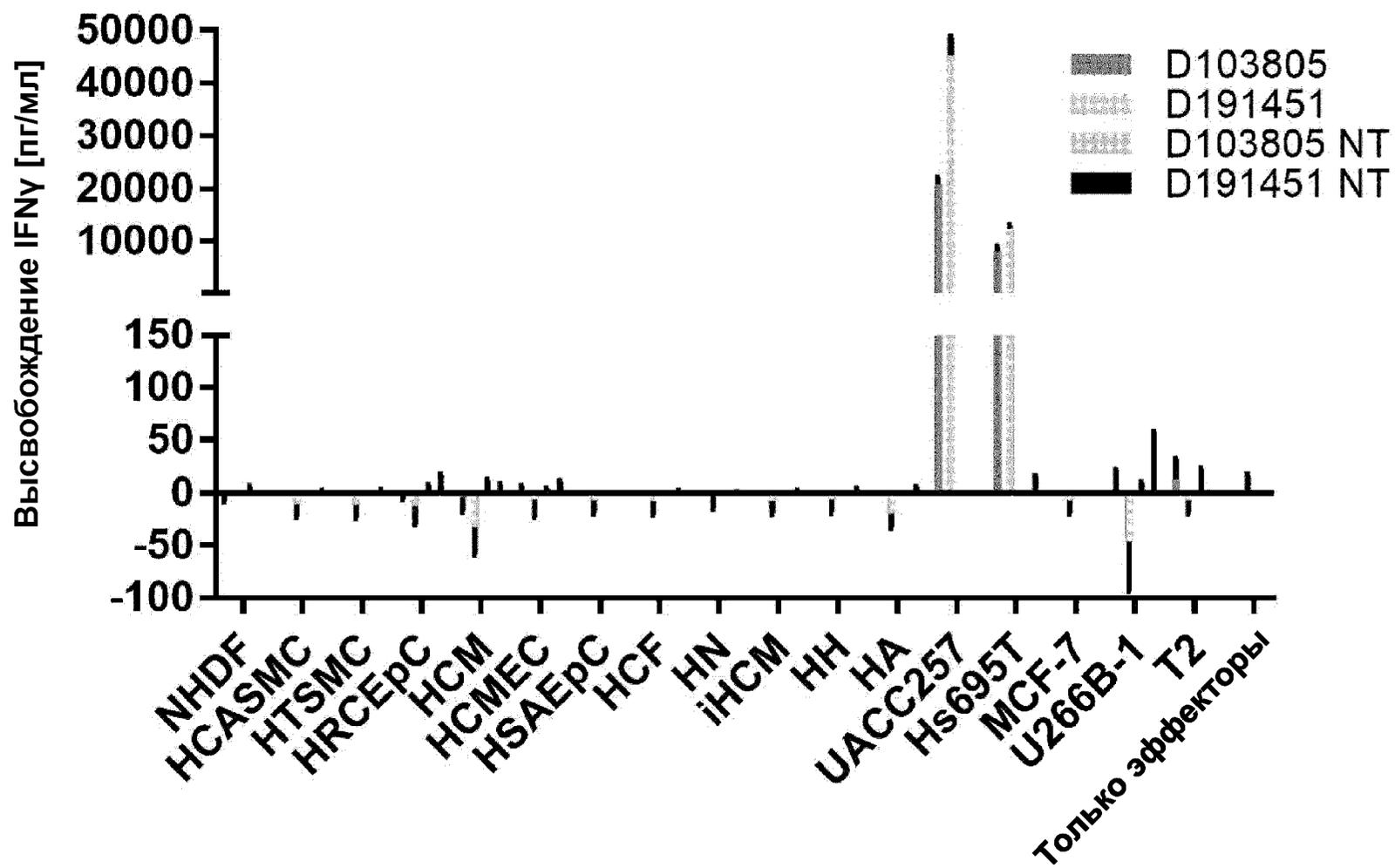
Фигура 21



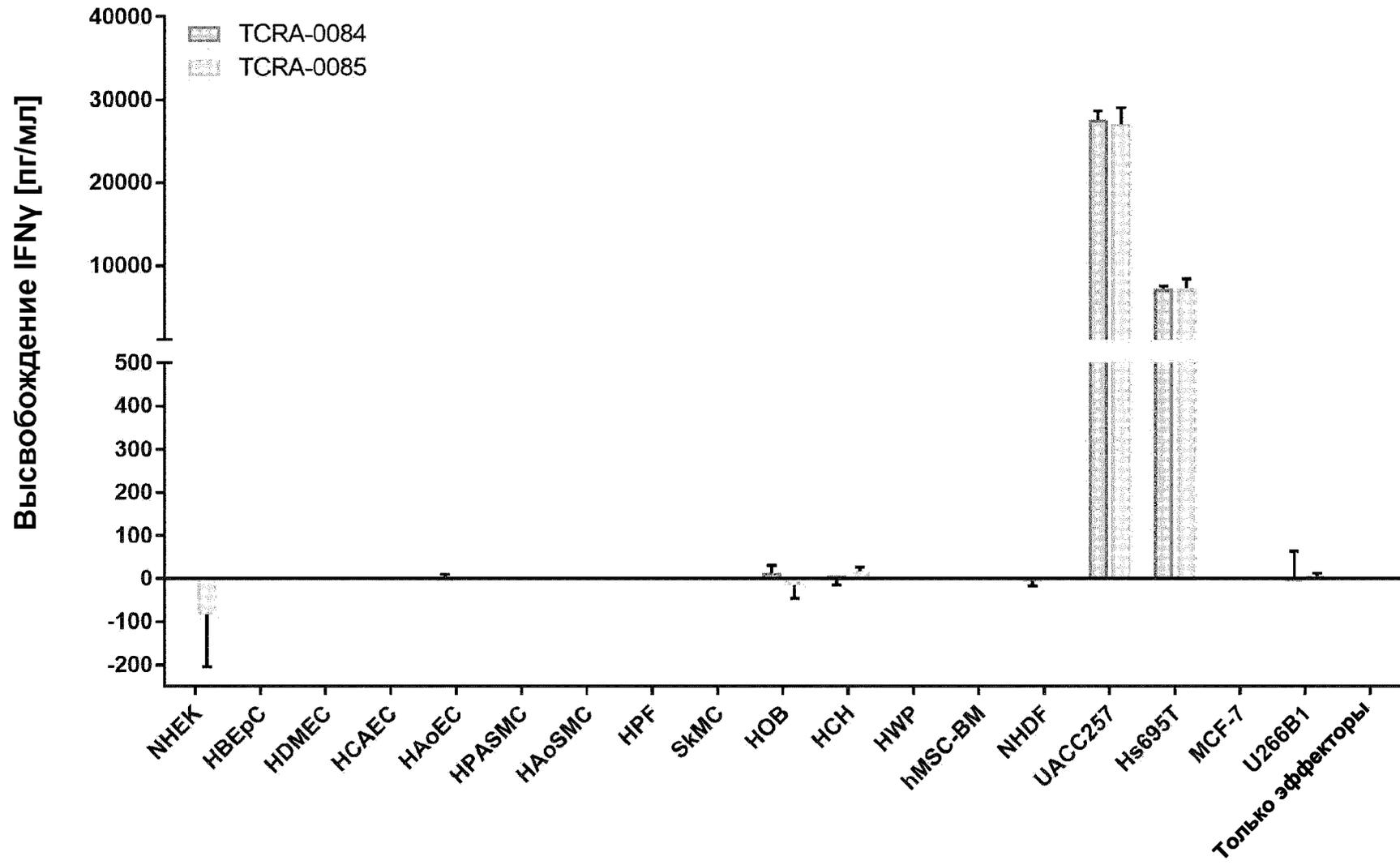




Фигура 24

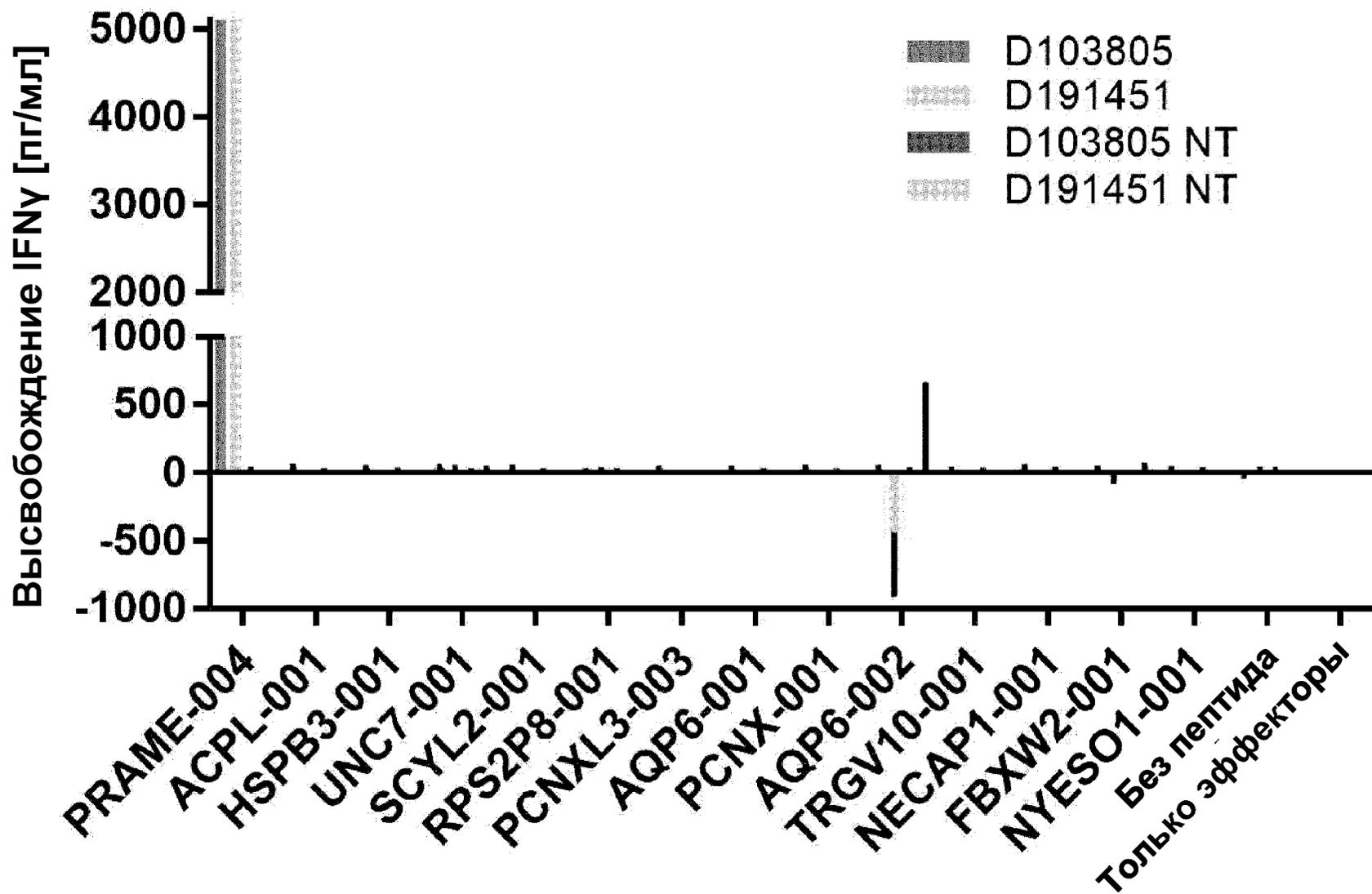


Фигура 25



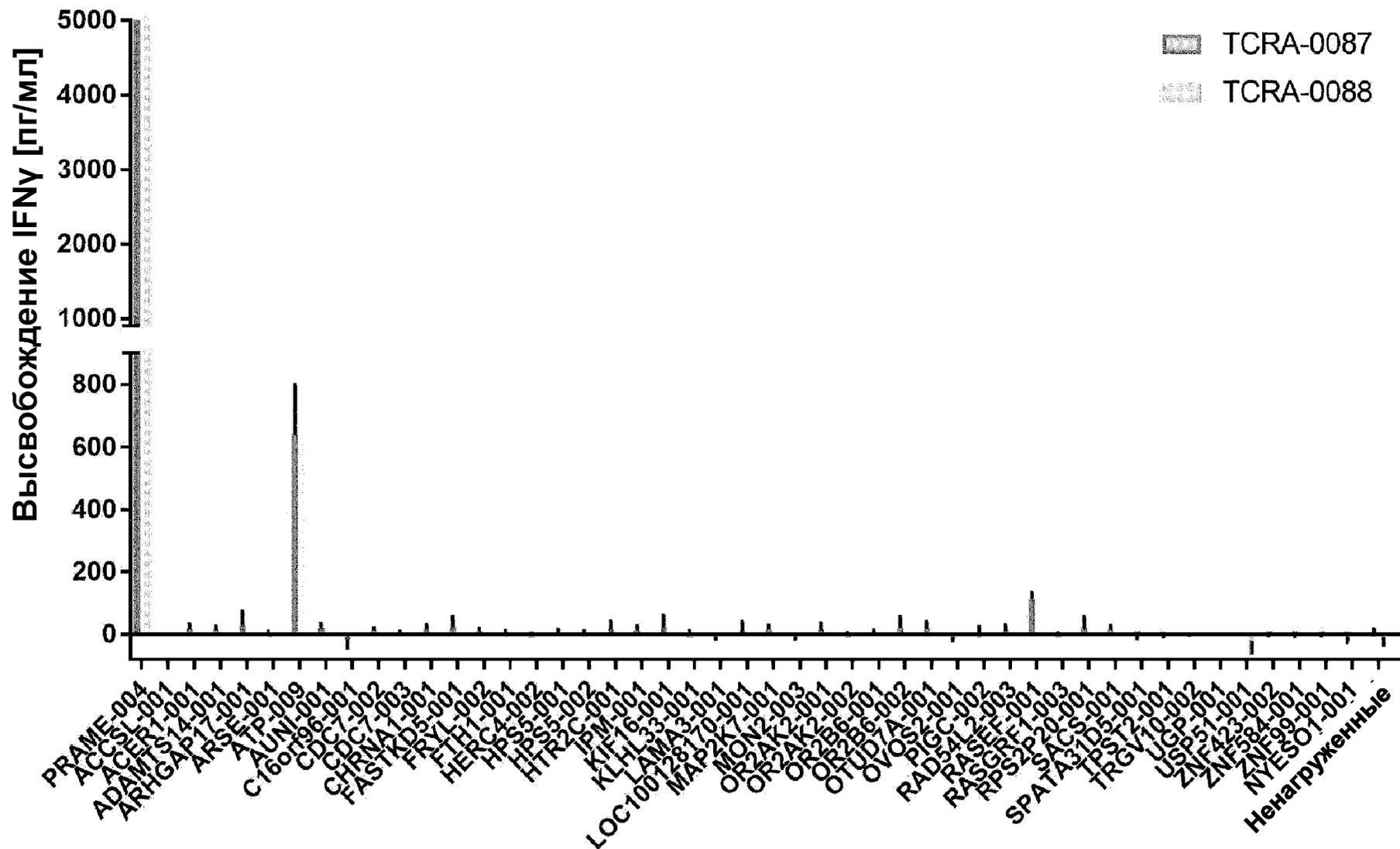
Фигура 26

26/32



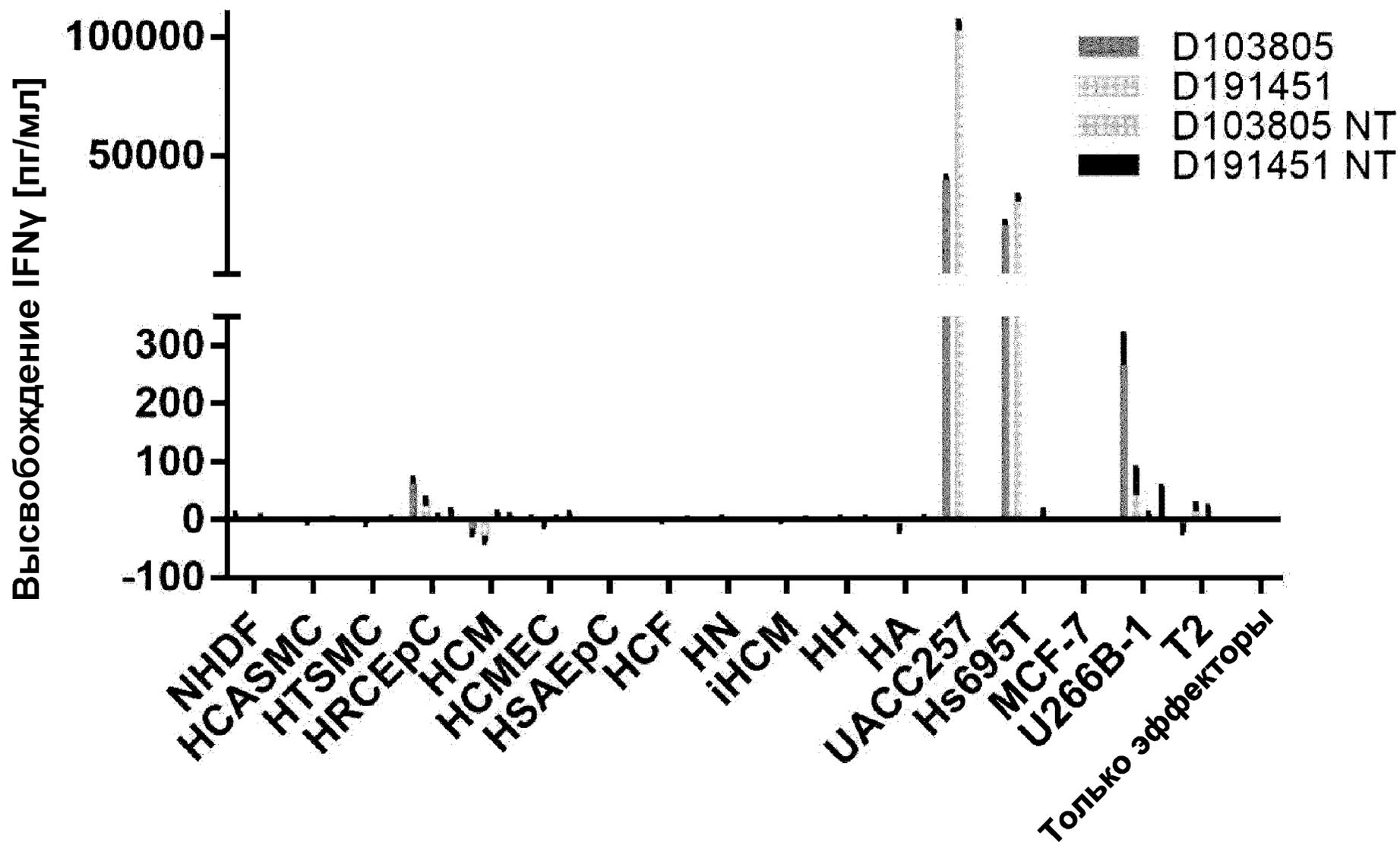
Фигура 27

27/32



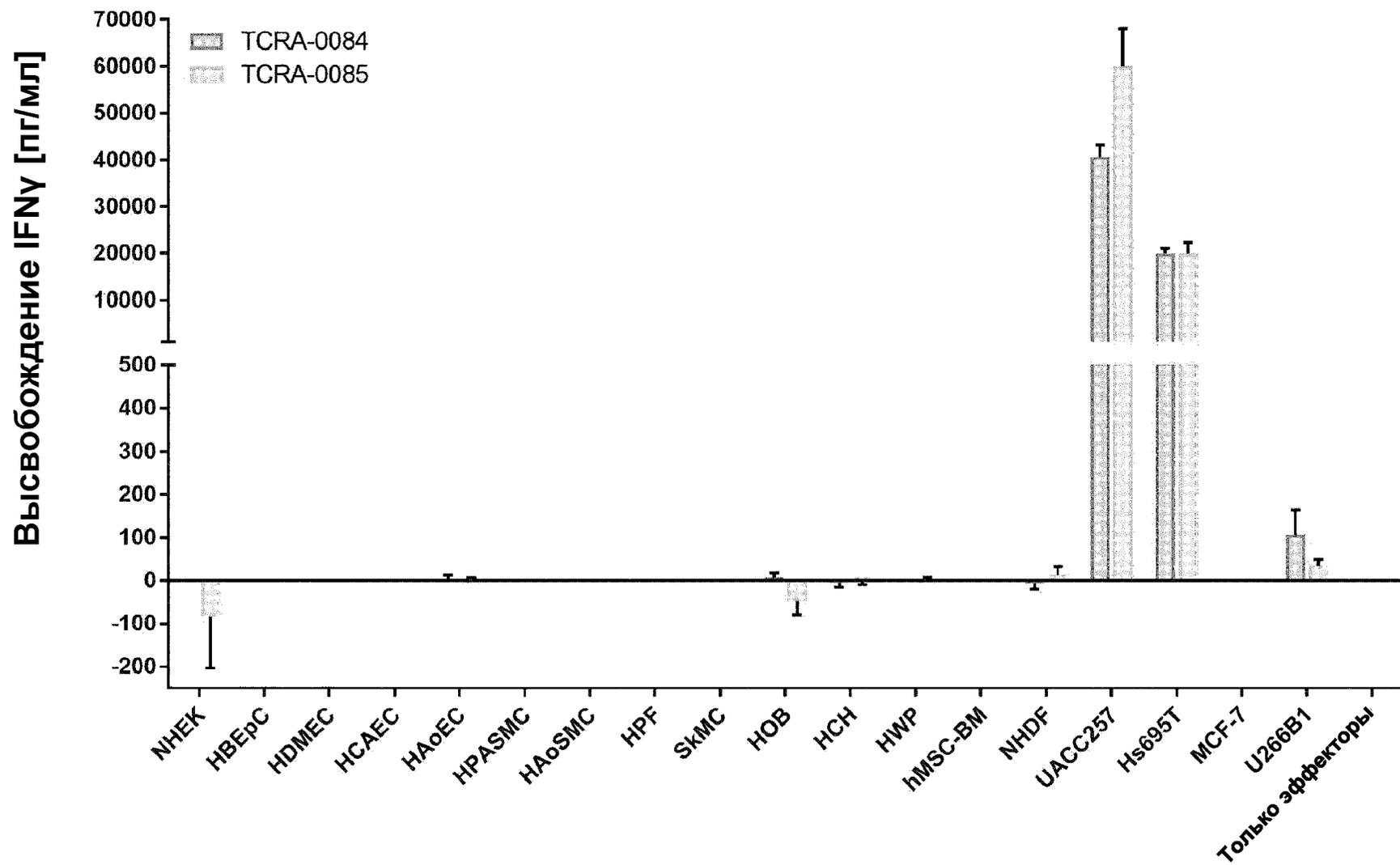
Фигура 28

28/32

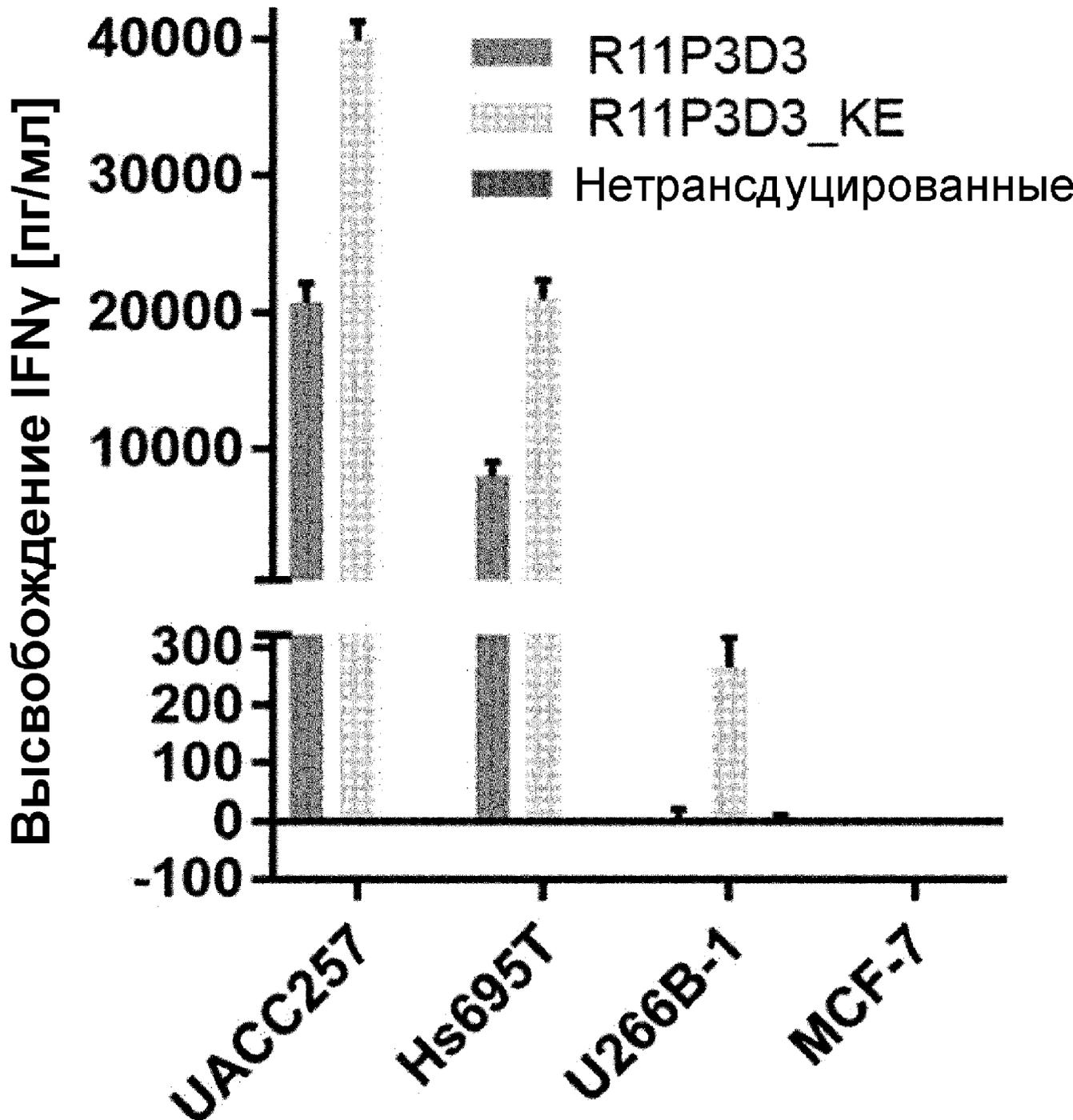


Фигура 29

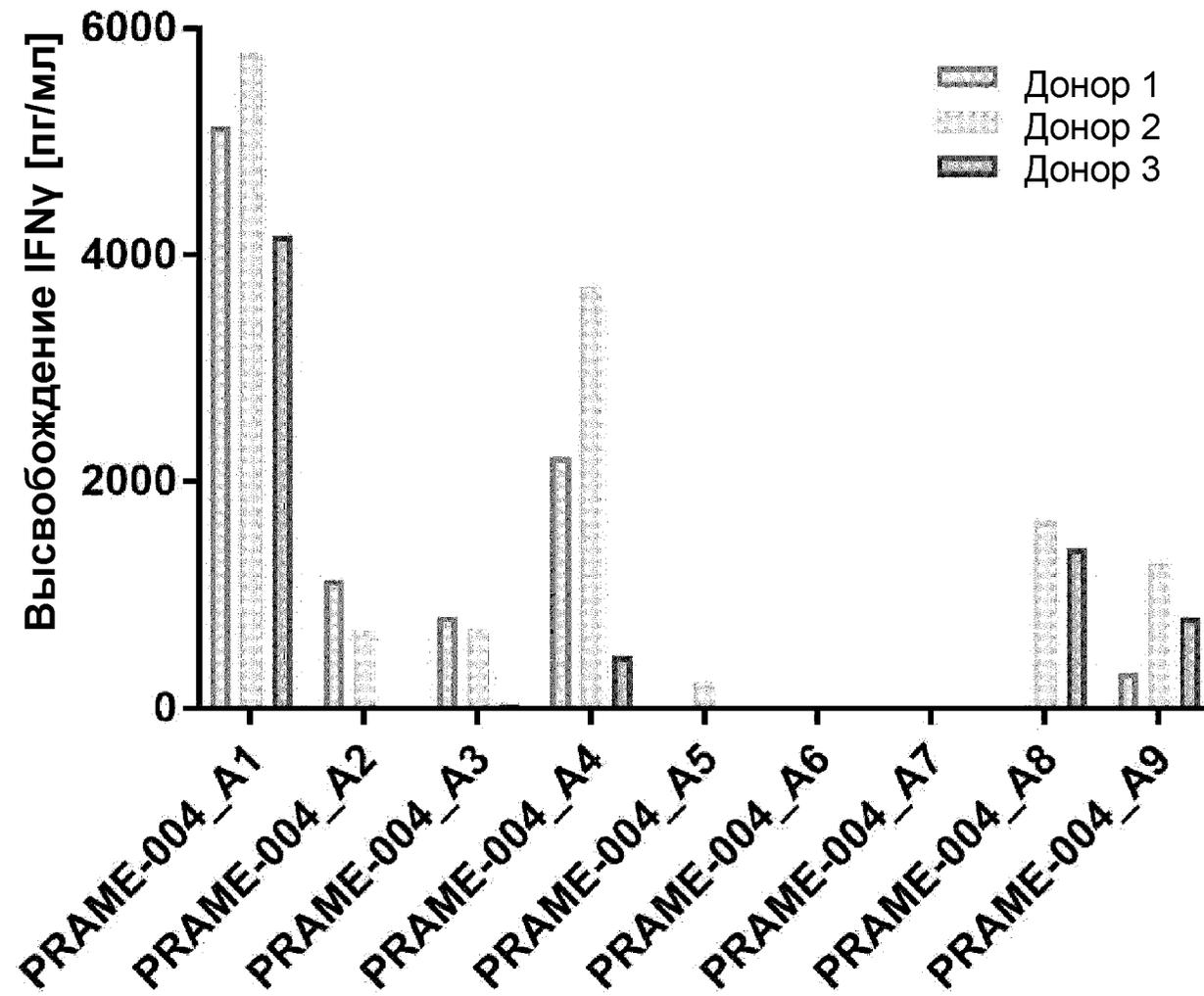
29/32



Фигура 30

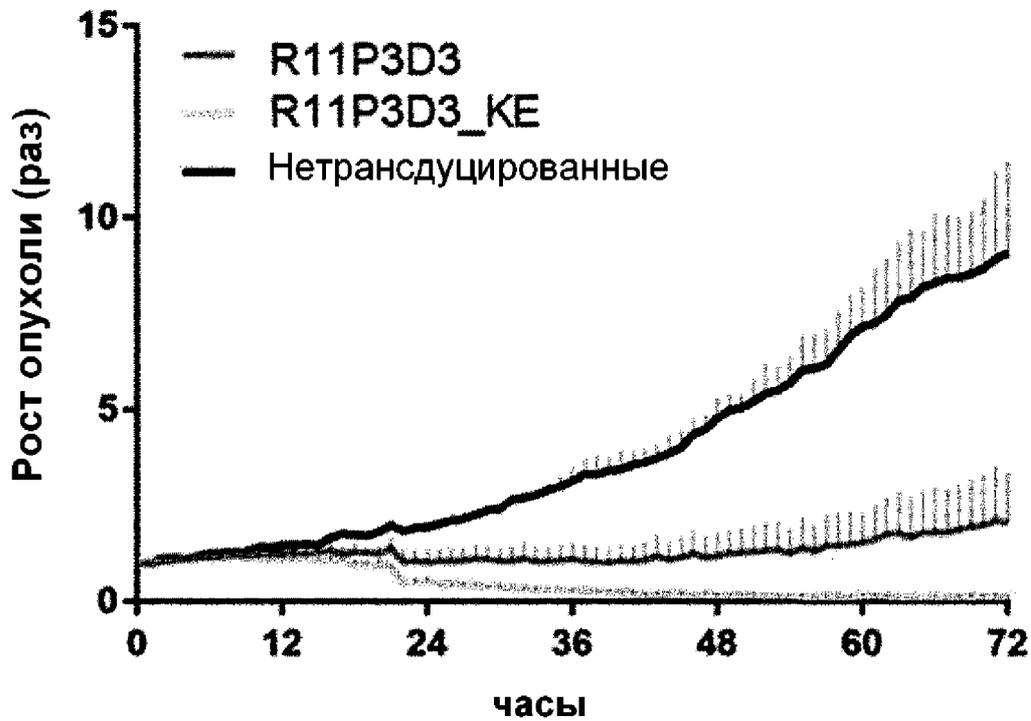


Фигура 31



Фигура 32

## Уничтожение опухолевых клеток линии A375



## Уничтожение опухолевых клеток линии U2OS

