

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201992583** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2020.04.14

(51) Int. Cl. *C07K 16/38* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.06.28

(54) **НОВЫЕ Т-КЛЕТОЧНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ И ИММУНОТЕРАПИЯ С ИХ ПРИМЕНЕНИЕМ**

(31) **10 2017 114 737.3; 62/527,844**

(72) Изобретатель:

(32) **2017.06.30**

**Вагнер Клаудиа, Альтен Леони, Бунк
Себастьян, Маурер Доминик (DE)**

(33) **DE; US**

(86) **PCT/EP2018/067380**

(74) Представитель:

(87) **WO 2019/002444 2019.01.03**

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

(71) Заявитель:

**ИММАТИКС БАЙОТЕКНОЛОДЖИЗ
ГМБХ (DE)**

(57) Настоящее изобретение относится к антигенраспознающим структурам к опухолеассоциированным антигенам (ТАА), в частности к ТАА ингибиторам серинпротеаз типа Kazal-2 (SPINK2). В частности, в изобретении предложены новые молекулы на основе Т-клеточного рецептора (ТКР), являющиеся селективными и специфическими к экспрессируемому опухолями антигену по изобретению. ТКР по изобретению и связывающиеся с SPINK2 фрагменты, полученные из этого ТКР, применимы для диагностики, лечения и профилактики раковых заболеваний, при которых экспрессируется антиген SPINK2. 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.

201992583

A1

A1

201992583

НОВЫЕ Т-КЛЕТОЧНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ И ИММУНОТЕРАПИЯ С ИХ ПРИМЕНЕНИЕМ

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к антигенраспознающим структурам к опухолеассоциированным антигенам (ТАА), в частности к ТАА ингибитору серинпротеаз типа Kazal-2 (SPINK2). В частности, в изобретении предложены новые молекулы на основе Т-клеточного рецептора (ТКР), являющиеся селективными и специфическими к экспрессируемому опухолями антигену по изобретению. ТКР по изобретению и связывающиеся с SPINK2 фрагменты, полученные из этого ТКР, применимы для диагностики, лечения и профилактики раковых заболеваний, при которых экспрессируется SPINK2. 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

Ингибитор серинпротеаз типа Kazal 2 (SPINK2), известный также как ингибитор трипсина и акрозина, является белком, кодируемым у человека геном *SPINK2*. Кодированный белок выступает в роли ингибитора трипсина и акрозина в половых путях и локализован в сперматозоидах. Этот белок ассоциируется с прогрессированием лимфом. Альтернативный сплайсинг приводит к множеству транскрипционных вариантов.

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 неизмененными 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 экспрессирует ТКР, состоящий из α -полипептида и β -полипептида. Небольшая доля Т-клеток (около 5% всех Т-клеток), как было показано, экспрессируют ТКР, состоящий из γ -полипептида и δ -полипептида. $\gamma\delta$ Т-клетки были обнаружены с наиболее высокой копийностью на слизистой оболочке кишечника, в составе популяции лимфоцитов, известных как внутриэпи-

телиальные 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 γ 9/V δ 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 пирофосфата. Согласно расчетам доля Т-клеток, которые могут быть обнаружены в периферической крови здоровых доноров, является следующей: CD3+=70,78%±4,71; CD3+CD4=38,97%±5,66; CD3+CD8=28,955%±7,43; CD3+CD56+=5,22%±1,74; CD3-CD56+=10,305%±4,7; CD3+CD45RA=45,00%±7,19; CD3+CD45RO+=27,21%±7,34.

Каждая из цепей Т-клеточного антигенного рецептора клона Т-клетки состоит из уникальной комбинации доменов, называемых вариабельный (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 вариабельный домен. Каждый из константных и вариабельных доменов включает дисульфидную связь внутри цепи. Вариабельные 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

трандуцируют в 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 ТКР против SPINK2-001, соответствующие структуры на основе рекомбинантных ТКР, 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 данного изобретения относится к в частности к белку SPINK2 и еще более предпочтительно – к эпитопу SPINK2-001, раскрытого в других местах настоящего описания.

Антигенраспознающие структуры

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, 87, 93, 99, 105, 111 и 117.

В некоторых вариантах осуществления антигенраспознающая структура по изобретению специфически связывается с комплексом пептида ТАА и молекулы HLA, где пептид ТАА включает или – альтернативно – состоит из варианта ТАА, 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 ТАА по изобретению, где указанный вариант связывается с молекулой HLA I или II класса и/или инду-

цирует 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. Внутри варибельного домена CDR1 и CDR2 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 и CDR2 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 варибельные, соединительные и константные сегменты, а бета-цепь обычно также включает между варибельными и соединительными сегментами короткий сегмент разнообразия, однако этот сегмент разнообразия часто рассматривается как часть соединительного сегмента. Каждая варибельная область включает три участка CDR (*Complementarity Determining Regions*, участки, определяющие комплементарность), внедренных в каркасную последовательность, один из них является гиперварибельным участком, называемым CDR3. Имеется несколько видов варибельных областей ($V\alpha$) альфа-цепи и несколько видов варибельных 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 о 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 и CDR3 в комбинациях, как далее представлено в таблице 1 настоящего документа, в которой демонстрируется соответствующий аллель варибельного участка цепи вместе с последовательностью CDR3. Таким образом, предпочтительными являются антигенраспознающие структуры согласно изобретению, которые включают по меньшей мере одну, предпочтительно, все три последовательности CDR –

CDR1, CDR2 и CDR3. Предпочтительно, если антигенраспознающая структура согласно изобретению включает соответствующие последовательности с CDR1 по CDR3 одной отдельной раскрытой в данном документе вариабельной 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-A*02. 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 γ (IFN- γ) 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- γ по сравнению с фоновым уровнем IFN- γ 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 белковым эпитопом или пептидом с аминокислотной последовательностью, представленной в таблице 2 ниже, в частности антигенный пептид является пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133), или его 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. Предпочтительные варианты SPINK2-001 представлены в таблице 2 ниже.

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-A*02.

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 локуса человеческого 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 α или β , или γ или δ , молекул или, в качестве альтернативы, в виде двухцепочечной структуры, состоящей из обеих цепей, α - и β -цепи, или γ - и δ -цепи. Кроме того, если в контексте настоящего

изобретения какой-либо один, два или все участки CDR данного ТКР согласно описанию настоящего изобретения, трансплантированы из одного вида цепи ТКР в другой, то в некоторых вариантах осуществления предпочтительно, чтобы такой CDR, полученный первоначально из α -цепи, мог быть трансплантирован в γ - или δ -цепь, и/или такой CDR β -цепи мог быть трансплантирован в каркас γ - или δ -цепи. Так, исходя из последовательностей CDR α/β ТКР, возможно получить γ/δ ТКР, хотя и двумя способами. Во-первых, за счет трансплантации CDR из α - в γ -каркас, а β – в δ -каркас. Во-вторых, как описано выше, за счет трансплантации CDR из α - в δ -каркас, и из β - в γ -каркас. Опытному специалисту известно сходство каркасных участков α/β и γ/δ цепей ТКР и, таким образом, такие варианты осуществления входят в настоящее изобретение (см. также Lefranc M-P et al, *Nucleic Acids Res.* 2015 Jan;43(издание банка данных):D413-22; и <http://www.imgt.org/>)

Антигенраспознающая структура в соответствии с изобретением может включать α - или γ -цепь ТКР; и/или β - или δ -цепь ТКР; где α - или γ -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, 87, 99 и 111, и/или где β -или δ -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, 93, 105 и 117.

Наиболее предпочтительно, в некоторых дополнительных вариантах осуществления, где раскрытие сущности изобретения относится к антигенраспознающим структурам, включающим любые один, два или все участки CDR1 – 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: 87, и во второй полипептидной цепи аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 93; или в первой полипептидной цепи аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 99, и во второй полипептидной цепи аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 105; или в первой полипептидной цепи аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 111, и во второй полипептидной цепи аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 117. 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 мо-

жет 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 α - или γ -цепью ТКР и вторая полипептидная цепь может быть β - или δ -цепью ТКР. Предпочтительной является комбинация $\alpha\beta$ - или $\gamma\delta$ -ТКР.

ТКР или его антиген-связывающий фрагмент в некоторых вариантах осуществления образован из α - и β -цепи ТКР или γ - и δ -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 и одну последовательность CDR3. Эти ТКР включают последовательности CDR1 по CDR3, которые включены в аминокислотную последовательность переменной 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 88 и 94; или 100 и 106; или 112 и 118.

Некоторые варианты осуществления изобретения относятся к ТКР или его фрагменту, образованному α -цепью ТКР и β -цепью ТКР, где указанный ТКР включает последовательности переменной области, последовательность которых по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или предпочтительно на 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из α - и β -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 88 и 94; или 100 и 106; или 112 и 118.

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.

ТКР согласно изобретению могут, кроме того, включать модифицированные α - или β -цепи Т-клеточного рецептора (ТКР) или гетеродимеры, включающие их, где в переменном домене указанной модифицированной α - или β -цепи аминокислота в положении 44 согласно нумерации IMGT (международная иммуногенетическая информационная система) заменена на другую подходящую аминокислоту, чтобы улучшить спаривание желаемых цепей. В соответствии с одним вариантом осуществления в указанном гетеродимере рекомбинантного Т-клеточного рецептора (ТКР), по меньшей мере, в α - или β -цепи аминокислота, находящаяся в положении 44 переменного домена заменена на одну аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из Q, R, D, E, K, L, W и V.

В соответствии с другим вариантом осуществления ТКР по изобретению может, кроме того, включать одну из предпочтительных пар замен, выбранных из следующих списков:

α Q44D/ β Q44R; α Q44R/ β Q44D; α Q44E/ β Q44K; α Q44K/ β Q44E; α Q44D/ β Q44K;
 α Q44K/ β Q44D; α Q44E/ β Q44R; α Q44R/ β Q44E; α Q44L/ β Q44W; α Q44W/ β Q44L;
 α Q44V/ β Q44W; и α Q44W/ β Q44V;
 α W44D/ β Q44R; α W44R/ β Q44D; α W44E/ β Q44K; α W44K/ β Q44E; α W44D/ β Q44K;
 α W44K/ β Q44D; α W44E/ β Q44R; α W44R/ β Q44E; α W44L/ β Q44W; α W44/ β Q44L;
 α W44V/ β Q44W; и α W44/ β Q44V;
 α H44D/ β Q44R; α H44R/ β Q44D; α H44E/ β Q44K; α H44K/ β Q44E; α H44D/ β Q44K;
 α H44K/ β Q44D; α H44E/ β Q44R; α H44R/ β Q44E; α H44L/ β Q44W; α H44W/ β Q44L;
 α H44V/ β Q44W; и α H44W/ β Q44V;
 α K44D/ β Q44R; α K44R/ β Q44D; α K44E/ β Q44K; α K44/ β Q44E; α K44D/ β Q44K;
 α K44/ β Q44D; α K44E/ β Q44R; α K44R/ β Q44E; α K44L/ β Q44W; α K44W/ β Q44L;
 α K44V/ β Q44W; и α K44W/ β Q44V;
 α E44D/ β Q44R; α E44R/ β Q44D; α E44/ β Q44K; α E44K/ β Q44E; α E44D/ β Q44K;
 α E44K/ β Q44D; α E44/ β Q44R; α E44R/ β Q44E; α E44L/ β Q44W; α E44W/ β Q44L;
 α E44V/ β Q44W; и α E44W/ β Q44V;
 α Q44D/ β R44; α Q44R/ β R44D; α Q44E/ β R44K; α Q44K/ β R44E; α Q44D/ β R44K;
 α Q44K/ β R44D; α Q44E/ β R44; α Q44R/ β R44E; α Q44L/ β R44W; α Q44W/ β R44L;
 α Q44V/ β R44W; и α Q44W/ β R44V;
 α W44D/ β R44; α W44R/ β R44D; α W44E/ β R44K; α W44K/ β R44E; α W44D/ β R44K;
 α W44K/ β R44D; α W44E/ β R44; α W44R/ β R44E; α W44L/ β R44W; α W44/ β R44L;
 α W44V/ β R44W; и α W44/ β R44V;

α H44D/ β R44; α H44R/ β R44D; α H44E/ β R44K; α H44K/ β R44E; α H44D/ β R44K;
 α H44K/ β R44D; α H44E/ β R44; α H44R/ β R44E; α H44L/ β R44W; α H44W/ β R44L; α H44V/
 β R44W; и α H44W/ β R44V;

α K44D/ β R44; α K44R/ β R44D; α K44E/ β R44K; α K44/ β R44E; α K44D/ β R44K; α K44/ β R44D;
 α K44E/ β R44; α K44R/ β R44E; α K44L/ β R44W; α K44W/ β R44L; α K44V/ β R44W; и
 α K44W/ β R44V;

α E44D/ β R44; α E44R/ β R44D; α E44/ β R44K; α E44K/ β R44E; α E44D/ β R44K; α E44K/ β R44D;
 α E44R/ β R44E; α E44L/ β R44W; α E44W/ β R44L; α E44V/ β R44W; и α E44W/ β R44V.

В указанном выше, например, « α Q44R / β Q44D» означает, к примеру, что в переменном домене α -цепи Q44 имеет замену на R, тогда как в переменном домене β -цепи Q44 имеет замену на D.

Некоторые варианты осуществления изобретения относятся к ТКР или его фрагменту, образованному α -цепью ТКР и β -цепью ТКР, где указанный ТКР включает константную область, последовательность которой по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или предпочтительно на 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из α - и β -цепи в соответствии с последовательностями с SEQ ID NO: 5 и 11; или 17 и 23; или 29 и 35; или 41 и 47; или 53 и 59; или 65 и 71; или 77 и 83; или 89 и 95; или 101 и 107; или 113 и 119.

α - или γ -цепь ТКР по изобретению 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. 1, 13, 25, 37, 49, 61, 73, 85, 97 и 109, 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, 86, 98 и 110.

В соответствии с изобретением β - или δ -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, 91, 103 и 115, 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, 92, 104 и 116.

Антигенраспознающая структура в другом варианте осуществления может включать связывающий фрагмент ТКР, и где указанный связывающий фрагмент включает CDR1–CDR3 в одной цепи, необязательно выбранный из последовательностей CDR1–CDR3, имеющих аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 1, 2, 3, или 7, 8, 9, или 13, 14, 15, или 19, 20, 21, или 25, 26, 27, или 31, 32, 33 или 37, 38, 39 или 43, 44, 45 или 49, 50, 51 или 55, 56, 57 или 61, 62, 63 или 67, 68, 69 или 73, 74, 75 или 79, 80, 81 или 85, 86, 87 или 91, 92, 93 или 97, 98, 99 или 103, 104, 105 или 109, 110, 111 или 115, 116, 117.

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 α - и одной последовательности β -цепи ТКР, где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 1 по 3, и указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 7 по 9; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 13 по 15, и указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 19 по 21; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 25 по 27, и указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 31 по 33; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 37 по 39, и указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 43 по 45; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 49 по 51, и указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последователь-

ности с SEQ ID NO: 55 по 57; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 61 по 63, и указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 67 по 69; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 73 по 75, и указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 79 по 81; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 85 по 87, и указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 91 по 93; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 97 по 99, и указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 103 по 105; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 109 по 111, и указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 115 по 117.

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 α - и одну последовательность β -цепи ТКР, где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 4, и где указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 10; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 16, и где указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 22; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 28, и где указанная последовательность β -цепи ТКР

включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 34; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 40, и где указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 46; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 52, и где указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 58; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 64, и где указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 70; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 76, и где указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 82; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 88, и где указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 94; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 100, и где указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 106; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 112, и где указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 118.

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, 89, 95, 101, 107, 113 и 119; предпочтительно, где ТКР состоит по меньшей мере из одной последовательности α -цепи ТКР и одной последовательности β -цепи ТКР, где эта последовательность α -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, 89, 101 и 113; и где эта последовательность β -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, 95, 107 и 119.

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

тична аминокислотной последовательности с SEQ ID NO: 114, 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: 120.

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, α -цепь и/или β -цепь), обозначают ТКР (или его компонент), который получен из локуса мышинного 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 α -цепь, включающую человеческую переменную область α -цепи и, например, мышиную константную область α -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, необязательно, 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 мышиными последовательностями в константных доменах. Поэтому осо-

бенно 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 презентруется 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 R39P1C12, R39P1F5, R40P1C2, R41P3E6, R43P3G4, R44P3B3, R44P3E7, R49P2B7, R55P1G7 и R59P2A7, 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 ТАА-антигеном, предпочтительно, как раскрыто в настоящем описании в Таблице 2, и пептидами A2–A9 (SEQ ID NO: 134–140, и пептидами T1–T9 (SEQ ID NO: 141–149). 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 ТАА-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 α - и β -цепей ТКР или его функционального варианта согласно изобретению, такой как, например, функциональный участок, включающий один или более CDR1, CDR2 и (предпочтительно) CDR3 переменной(-ых) области(-ей) α -цепи и/или β -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, 87, 93, 99, 105, 111 и 117 (CDR3 переменных областей ТКР по изобретению) или их комбинацию. В одном варианте осуществления изобретения полипептид по изобретению может включать, например, переменную 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, 88, 94, 100, 106, 112 и 118 (переменные области α - или β -цепей ТКР по изобретению).

В некоторых случаях структура по изобретению может включать одну или две полипептидные цепи, включающие последовательности в соответствии с любой из последовательностей с SEQ ID NO: 1 по 120 (последовательности CDR, константные и переменные области и последовательности полной длины), или их функциональные фрагменты, и далее 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 α -цепь и β -цепь и связывающий γ -цепь и δ -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 по-

следовательности константного домена. При экспрессии структуры, включающей линкерный пептид, в клетке-хозяине линкерный пептид также может быть расщеплен, приводя к образованию отдельных α - и β -цепей и отдельных γ - и δ -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 встречающимся 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 (связанную посредством дисульфидной связи). Структура и изоформы 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 каппа-, лямбда-, альфа-, гамма-, дельта-, эpsilon- и мю-цепей 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(Database issue):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 эpsilon, 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')₂) 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 варибельный домен или ее антиген-связывающий фрагмент, и/или легкую цепь антитела, предпочтительно ее варибельный домен или ее антиген-связывающий

фрагмент. Подобным образом стабилизированные дисульфидной связью фрагменты вариабельной 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. области CDR3 в таблице 1. Предпочтительно, если антитела включают CDR3, предпочтительно, все области с CDR1 по CDR3 в комбинации, как указано для ТКР по изобретению в таблице 1, в каждом случае независимо, необязательно – 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, 511-519 (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 (2011)). 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» отно-

сится к гетеродимерным усеченным вариантам природных ТКР, которые включают внеклеточные участки α -цепи и β -цепи ТКР, например, связанные дисульфидной связью, но не имеющих трансмембранный и цитозольный домены природного белка. Понятия «последовательность α -цепи растворимого Т-клеточного рецептора» и «последовательность β -цепи растворимого Т-клеточного рецептора» относятся к последовательностям α -цепи и β -цепи ТКР, в которых отсутствуют трансмембранный и цитозольный домены. Последовательность (аминокислот или нуклеиновых кислот) α -цепи и β -цепи растворимого ТКР может быть идентичной соответствующим последовательностям природного ТКР или могут включать варианты последовательностей α -цепи и β -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 α -цепи и β -цепи растворимого ТКР. Вариации могут быть в переменных или константных областях последовательностей α -цепи и β -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 необязательно 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 фосфоамидадную 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 нуклеиновой кислотной 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-C1, 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 опухолереактивной 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.

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, необязательно, 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.

Способы лечения и заболевания

В еще одном другом 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 внутривенных 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, лимфому.

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) сред-

ством(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, нуждающегося 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, нуждающегося 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), по-

липептидов, 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 Spink2-положительная лимфома.

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, 87, 93, 99, 105, 111 и 117.

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 по любому из пунктов 1–3, где указанная антигенраспознающая структура связывается с антигенным пептидом ТАА, презентруемым человеческим лейкоцитарным антигеном (HLA), где указанный HLA необязательно представлен типом А2.

Пункт 5: Антигенраспознающая структура по любому из пунктов 1–4, где эта структура специфически и/или селективно связывается с эпитопом, имеющим аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей с SEQ ID NO: 133 по 158.

Пункт 6: Антигенраспознающая структура по любому из пунктов 1–5, где эта структура является α/β -ТКР или его фрагментом или его производным, или где эта структура является γ/δ -ТКР или его фрагментом или его производным.

Пункт 7: Антигенраспознающая структура по любому из пунктов 1–6, характеризующаяся тем, что структура имеет человеческое происхождение и специфически и/или селективно распознает антигенный пептид ТАА.

Пункт 8: Антигенраспознающая структура по любому из пунктов 1–7, где указанная антигенраспознающая структура способна индуцировать иммунный ответ у субъекта, необязательно, где иммунный ответ характеризуется повышением уровней интерферона (IFN)- γ .

Пункт 9: Антигенраспознающая структура по любому из пунктов 1–8, включающая α - или γ -цепь ТКР; и/или β - или δ -цепь ТКР; где α - или γ -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, 87, 99 и 111, и/или где β -или δ -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, 93, 105 и 117.

Пункт 10: Антигенраспознающая структура в соответствии с пунктом 9, где α - или γ -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, 85, 97 и 109, 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, 86, 98 и 110.

Пункт 11: Антигенраспознающая структура в соответствии с пунктом 9 или пунктом 10, где β - или δ -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, 79, 91, 103 и 115, 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, 92, 104 и 116.

Пункт 12: Антигенраспознающая структура по любому 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, 88, 94, 100, 106, 112 и 118.

Пункт 13: Антигенраспознающая структура по любому из пунктов 1–12, где эта структура является гуманизированной, химерной и/или муринизированной.

Пункт 14: Антигенраспознающая структура по любому из пунктов 1–13, включающая связывающий фрагмент ТКР, и где указанный связывающий фрагмент включает CDR1–CDR3, необязательно выбранные из последовательностей CDR1–CDR3, имеющих аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 1, 2, 3; или 7, 8, 9; или 13, 14, 15; или 19, 20, 21; или 25, 26, 27; или 31, 32, 33; или 37, 38, 39; или 43, 44, 45; или 49, 50, 51; или 55, 56, 57; или 61, 62, 63; или 67, 68, 69; или 73, 74, 75; или 79, 80, 81; или 85, 86, 87; или 91, 92, 93; или 97, 98, 99; или 103, 104, 105; или 109, 110, 111; или 115, 116, 117.

Пункт 15: Антигенраспознающая структура по любому из пунктов 1–14, где эта структура является ТКР или его фрагментом, состоящим по меньшей мере из одной последовательности α - и одной последовательности β -цепи ТКР, где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 1 по 3, и указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 7 по 9; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 13 по 15, и указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 19 по 21; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 25 по 27, и указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 31 по 33; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 37 по 39, и указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 43 по 45; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 49 по 51, и указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 55 по 57; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 61 по 63, и указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последователь-

ности с SEQ ID NO: 67 по 69; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 73 по 75, и указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 79 по 81; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 85 по 87, и указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 91 по 93; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 97 по 99, и указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 103 по 105; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 109 по 111, и указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательности CDR1–CDR3, имеющие аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 115 по 117.

Пункт 16: Антигенраспознающая структура согласно любому из пп. 1–15, где эта структура является ТКР или его фрагментом, включающим по меньшей мере одну последовательность α - и одну последовательность β -цепи ТКР, где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 4, и где указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 10; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 16, и где указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 22; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 28, и где указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 34; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 40, и где указанная последовательность β -

цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 46; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 52, и где указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 58; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 64, и где указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 70; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 76, и где указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 82; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 88, и где указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 94; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 100, и где указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 106; или где указанная последовательность α -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 112, и где указанная последовательность β -цепи ТКР включает последовательность вариабельной области с аминокислотной последовательностью с SEQ ID No. 118.

Пункт 17: Антигенраспознающая структура по любому 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, 89, 95, 101, 107, 113 и 119; предпочтительно, где ТКР состоит по меньшей мере из одной последовательности α -цепи ТКР и одной последовательности β -цепи ТКР, где эта последовательность α -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, 89, 101 и 113; и где эта последовательность β -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, 95, 107 и 119.

Пункт 18: Антигенраспознающая структура по любому 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 по любому 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 20: Антигенраспознающая структура по любому 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 по любому 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 по любому 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 по любому 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 по любому 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 по любому 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: 90, 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: 96.

Пункт 20ж: Антигенраспознающая структура по любому 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: 102, 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: 108.

Пункт 20з: Антигенраспознающая структура по любому 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: 114, 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: 120.

Пункт 21: Нуклеиновая кислота, кодирующая антигенраспознающую структуру по любому из пунктов 1–20.

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

Пункт 23: Клетка-хозяин, включающая антигенраспознающую структуру по любому 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 по любому из пунктов 1–20, 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 по любому из пунктов 1–20, 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 по любому из пунктов 26–28, где применение в медицине является применением в иммунной терапии, необязательно 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 по любому из пунктов 1–20,
- 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, выключающей промоторную последовательность, функционально связанную с указанной кодирующей последовательностью.

Пункт 33: Способ по любому из пунктов 30–32, где указанная антигенраспознающая структура происходит от млекопитающего, предпочтительно происходит от человека.

Пункт 34: Способ по любому из пунктов 30–33, где указанная подходящая клетка-хозяин является клеткой млекопитающего, необязательно выбранной из клетки человека или Т-лимфоцита человека.

Пункт 35: Способ по любому 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 по любому из пунктов 30–36, где указанная генетическая конструкция введена в указанную подходящую клетку-хозяина с помощью ретровирусной трансфекции.

Пункт 38: Способ по любому из пунктов 30–37, дополнительно включающий выделение и очистку антигенраспознающей структуры из подходящей клетки-хозяина и, необязательно, 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 в последовательностях:

Фигура 1: Высвобождение $IFN\gamma$ из $CD8^+$ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R39P1C12 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) или различными вариантами SPINK2-001 с заменами аланина или треонина в положениях 1–9 последовательности SEQ ID NO: 133 (SEQ ID NO: 134-149), или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 159). 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.

Фигура 2: Высвобождение IFN γ из CD8⁺ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R39P1F5 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями T2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) или различными вариантами SPINK2-001 с заменами аланина или треонина в положениях 1–9 последовательности SEQ ID NO: 133 (SEQ ID NO: 134-149), или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 159). Данные по высвобождению IFN γ 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.

Фигура 3: Высвобождение IFN γ из CD8⁺ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R40P1C2 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями T2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) или различными вариантами SPINK2-001 с заменами аланина или треонина в положениях 1–9 последовательности SEQ ID NO: 133 (SEQ ID NO: 134-149), или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 159). Данные по высвобождению IFN γ 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.

Фигура 4: Высвобождение IFN γ из CD8⁺ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R41P3E6 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями T2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) или различными вариантами SPINK2-001 с заменами аланина или треонина в положениях 1–9 последовательности SEQ ID NO: 133 (SEQ

ID NO: 134-149), или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 159). Данные по высвобождению IFN γ 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.

Фигура 5: Высвобождение IFN γ из CD8 $^+$ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R43P3G4 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) или различными вариантами SPINK2-001 с заменами аланина или треонина в положениях 1–9 последовательности SEQ ID NO: 133 (SEQ ID NO: 134-149), или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 159). Данные по высвобождению IFN γ 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.

Фигура 6: Высвобождение IFN γ из CD8 $^+$ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R44P3B3 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) или различными вариантами SPINK2-001 с заменами аланина или треонина в положениях 1–9 последовательности SEQ ID NO: 133 (SEQ ID NO: 134-149), или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 159). Данные по высвобождению IFN γ 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.

Фигура 7: Высвобождение IFN γ из CD8 $^+$ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R44P3E7 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ

ID NO: 133) или различными вариантами SPINK2-001 с заменами аланина или треонина в положениях 1–9 последовательности SEQ ID NO: 133 (SEQ ID NO: 134-149), или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 159). Данные по высвобождению IFN γ 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.

Фигура 8: Высвобождение IFN γ из CD8 $^{+}$ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R49P2B7 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) или различными вариантами SPINK2-001 с заменами аланина или треонина в положениях 1–9 последовательности SEQ ID NO: 133 (SEQ ID NO: 134-149), или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 159). Данные по высвобождению IFN γ 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.

Фигура 9: Высвобождение IFN γ из CD8 $^{+}$ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R55P1G7 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) или различными вариантами SPINK2-001 с заменами аланина или треонина в положениях 1–9 последовательности SEQ ID NO: 133 (SEQ ID NO: 134-149), или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 159). Данные по высвобождению IFN γ 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.

Фигура 10: Высвобождение IFN γ из CD8⁺ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R59P2A7 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) или различными вариантами SPINK2-001 с заменами аланина или треонина в положениях 1–9 последовательности SEQ ID NO: 133 (SEQ ID NO: 134-149), или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 159). Данные по высвобождению IFN γ 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.

Фигура 11: Высвобождение IFN γ из CD8⁺ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R39P1C12 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) или гомологичным, но не родственным пептидом CYP-003 (SEQ ID NO:150), BAG6-001 (SEQ ID NO:151), XRCC5-001 (SEQ ID NO:152), TMMEM147-001 (SEQ ID NO:153), SEC-001 (SEQ ID NO:154), GMPPA-001 (SEQ ID NO:155), EXOC4-002 (SEQ ID NO:156), ARFGAP3-001 (SEQ ID NO:157) или ANKRD29-002 (SEQ ID NO:158), или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 159). Данные по высвобождению IFN γ 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.

Фигура 12: Высвобождение IFN γ из CD8⁺ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R39P1F5 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) или гомологичным, но не родственным пептидом CYP-003 (SEQ ID NO:150), BAG6-001 (SEQ ID NO:151), XRCC5-001 (SEQ ID NO:152), TMMEM147-001 (SEQ ID NO:153), SEC-001 (SEQ ID NO:154), GMPPA-001 (SEQ ID NO:155), EXOC4-002 (SEQ ID NO:156), ARFGAP3-

001 (SEQ ID NO:157) или ANKRD29-002 (SEQ ID NO:158), или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 159). Данные по высвобождению IFN γ 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.

Фигура 13: Высвобождение IFN γ из CD8 $^+$ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R40P1C2 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) или гомологичным, но не родственным пептидом CYP-003 (SEQ ID NO:150), BAG6-001 (SEQ ID NO:151), XRCC5-001 (SEQ ID NO:152), TMMEM147-001 (SEQ ID NO:153), SEC-001 (SEQ ID NO:154), GMPPA-001 (SEQ ID NO:155), EXOC4-002 (SEQ ID NO:156), ARFGAP3-001 (SEQ ID NO:157) или ANKRD29-002 (SEQ ID NO:158), или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 159). Данные по высвобождению IFN γ 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.

Фигура 14: Высвобождение IFN γ из CD8 $^+$ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепи ТКР R41P3E6 (Таблица 1) после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO:133) или гомологичным, но не родственным пептидом CYP-003 (SEQ ID NO:150), BAG6-001 (SEQ ID NO:151), XRCC5-001 (SEQ ID NO:152), TMMEM147-001 (SEQ ID NO:153), SEC-001 (SEQ ID NO:154), GMPPA-001 (SEQ ID NO:155), EXOC4-002 (SEQ ID NO:156), ARFGAP3-001 (SEQ ID NO:157) или ANKRD29-002 (SEQ ID NO: 158), или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO:159). Данные по высвобождению IFN γ 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.

Фигура 15: Высвобождение IFN γ из CD8 $^+$ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R43P3G4 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) или гомологичным, но не родственным пептидом CYP-003 (SEQ ID NO:150), BAG6-001 (SEQ ID NO:151), XRCC5-001 (SEQ ID NO:152), TMEM147-001 (SEQ ID NO:153), SEC-001 (SEQ ID NO:154), GMPPA-001 (SEQ ID NO:155), EXOC4-002 (SEQ ID NO:156), ARFGAP3-001 (SEQ ID NO:157) или ANKRD29-002 (SEQ ID NO:158), или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 159). Данные по высвобождению IFN γ 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.

Фигура 16: Высвобождение IFN γ из CD8 $^+$ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R44P3B3 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) или гомологичным, но не родственным пептидом CYP-003 (SEQ ID NO:150) BAG6-001 (SEQ ID NO:151), XRCC5-001 (SEQ ID NO:152), TMEM147-001 (SEQ ID NO:153), SEC-001 (SEQ ID NO:154), GMPPA-001 (SEQ ID NO:155), EXOC4-002 (SEQ ID NO:156), ARFGAP3-001 (SEQ ID NO:157) или ANKRD29-002 (SEQ ID NO:158), или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 159). Данные по высвобождению IFN γ 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.

Фигура 17: Высвобождение IFN γ из CD8 $^+$ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R44P3E7 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) или гомологичным, но не родственным пептидом CYP-003 (SEQ ID NO:150) BAG6-001 (SEQ ID NO:151), XRCC5-001 (SEQ ID

NO:152), TМЕМ147-001 (SEQ ID NO:153), SEC-001 (SEQ ID NO:154), GMPPA-001 (SEQ ID NO:155), EXOC4-002 (SEQ ID NO:156), ARFGAP3-001 (SEQ ID NO:157) или ANKRD29-002 (SEQ ID NO:158), или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 159). Данные по высвобождению IFN γ 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.

Фигура 18: Высвобождение IFN γ из CD8 $^{+}$ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R49P2B7 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) или гомологичным, но не родственным пептидом CYP-003 (SEQ ID NO:150) BAG6-001 (SEQ ID NO:151), XRCC5-001 (SEQ ID NO:152), TМЕМ147-001 (SEQ ID NO:153), SEC-001 (SEQ ID NO:154), GMPPA-001 (SEQ ID NO:155), EXOC4-002 (SEQ ID NO:156), ARFGAP3-001 (SEQ ID NO:157)или ANKRD29-002 (SEQ ID NO:158), или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 159). Данные по высвобождению IFN γ 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.

Фигура 19: Высвобождение IFN γ из CD8 $^{+}$ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R55P1G7 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) или гомологичным, но не родственным пептидом CYP-003 (SEQ ID NO:150), или ANKRD29-002 (SEQ ID NO:158), или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 159). Данные по высвобождению IFN γ 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.

Фигура 20: Высвобождение IFN γ из CD8 $^{+}$ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R59P2A7 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) или гомологичным, но не родственным пептидом CYP-003 (SEQ ID NO:150) BAG6-001 (SEQ ID NO:151), XRCC5-001 (SEQ ID NO:152), TMEM147-001 (SEQ ID NO:153), SEC-001 (SEQ ID NO:154), GMPPA-001 (SEQ ID NO:155), EXOC4-002 (SEQ ID NO:156), ARFGAP3-001 (SEQ ID NO:157) или ANKRD29-002 (SEQ ID NO:158), или контрольным пептидом NYESO1-001 (SEQ ID NO: 159). Данные по высвобождению IFN γ 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.

Фигура 21: Высвобождение IFN γ из CD8 $^{+}$ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R39P1C12 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) при различных концентрациях нагружаемого пептида в диапазоне от 10 мкМ до 10 пМ. Данные по высвобождению IFN γ были получены с помощью CD8 $^{+}$ Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров.

Фигура 22: Высвобождение IFN γ из CD8 $^{+}$ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R39P1F5 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) при различных концентрациях нагружаемого пептида в диапазоне от 10 мкМ до 10 пМ. Данные по высвобождению IFN γ были получены с помощью CD8 $^{+}$ Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров.

Фигура 23: Высвобождение IFN γ из CD8 $^{+}$ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R40P1C2 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ

ID NO: 133) при различных концентрациях нагружаемого пептида в диапазоне от 10 мкМ до 10 пМ. Данные по высвобождению IFN γ были получены с помощью CD8 $^+$ Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров.

Фигура 24: Высвобождение IFN γ из CD8 $^+$ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R41P3E6 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) при различных концентрациях нагружаемого пептида в диапазоне от 10 мкМ до 10 пМ. Данные по высвобождению IFN γ были получены с помощью CD8 $^+$ Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров.

Фигура 25: Высвобождение IFN γ из CD8 $^+$ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R43P3G4 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) при различных концентрациях нагружаемого пептида в диапазоне от 10 мкМ до 10 пМ. Данные по высвобождению IFN γ были получены с помощью CD8 $^+$ Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров.

Фигура 26: Высвобождение IFN γ из CD8 $^+$ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R44P3B3 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) при различных концентрациях нагружаемого пептида в диапазоне от 10 мкМ до 10 пМ. Данные по высвобождению IFN γ были получены с помощью CD8 $^+$ Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров.

Фигура 27: Высвобождение IFN γ из CD8 $^+$ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R44P3E7 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) при различных концентрациях нагружаемого пептида в диапазоне от 10 мкМ до 10 пМ. Данные по высвобождению IFN γ были получены

с помощью CD8⁺ Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров.

Фигура 28: Высвобождение IFN γ из CD8⁺ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R49P2B7 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) при различных концентрациях нагружаемого пептида в диапазоне от 10 мкМ до 10 пМ. Данные по высвобождению IFN γ были получены с помощью CD8⁺ Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров.

Фигура 29: Высвобождение IFN γ из CD8⁺ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R55P1G7 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) при различных концентрациях нагружаемого пептида в диапазоне от 10 мкМ до 10 пМ. Данные по высвобождению IFN γ были получены с помощью CD8⁺ Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров.

Фигура 30: Высвобождение IFN γ из CD8⁺ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R59P2A7 (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями Т2, нагруженными пептидом SPINK2-001 (SEQ ID NO: 133) при различных концентрациях нагружаемого пептида в диапазоне от 10 мкМ до 10 пМ. Данные по высвобождению IFN γ были получены с помощью CD8⁺ Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров.

Фигура 31: Окрашивание тетрамером HLA-A*02/SPINK2-001 или тетрамером HLA-A*02/NYESO1-001, соответственно, CD8⁺ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R41P3E6, R44P3B3, R49P2B7 и R55P1G7, соответственно. CD8⁺ Т-клетки с введенной с помощью электропорации РНК ТКР 1G4 (SEQ ID: 121-132), который специфически связывается с комплексом HLA-A*02/NYESO1-001, и CD8⁺ Т-клетки после имитации электропорации, служили в качестве контролей.

Фигура 32: Высвобождение IFN γ из CD8⁺ Т-клеток, электропорированных РНК альфа- и бета-цепей ТКР R55P1G7 (А) или R44P3B3 (В) (Таблица 1), после совместной инкубации с клетками-мишенями А375, избыточно экспрессирующими клетки SPINK2 или клетками А375 дикого типа. Данные по высвобождению IFN γ были получены с помощью CD8⁺ Т-клеток, полученных от двух различных здоровых доноров, TCRA-61 и TCRA-62. Представлены данные после вычитания фона (т. е. из сигналов образцов, представляющих интерес, были вычтены контрольные значения только для эффекторов до активации и сигнал нетрансдуцированных эффекторов, культивированных совместно с линией клеток-мишеней).

Фигура 33: Анализ связывания, на основе биослойной интерферометрии, HLA-A*02:01:SPINK2-001 (иммобилизованных на сенсоре) и растворимых вариантов ТКР R39P1F5, R39P1C12, R41P3E6, R44P3B3 и R55P1G7. В левых секциях показан сигнал (ось у) в виде кривых связывания и аппроксимация для различных концентраций ТКР с течением времени (ось х), в правой секции показан ответ в состоянии равновесия (ось у) при различных концентрациях ТКР (ось х) и кривые аппроксимации, соответственно.

Таблица 1: Последовательности ТКР по изобретению

SEQ ID NO:	ТКР	Цепь	Участок	Последовательность
1	R39P1C12	альфа	CDR1	DSSSTY
2	R39P1C12	альфа	CDR2	IFS
3	R39P1C12	альфа	CDR3	CAEIDNQQGKLIF
4	R39P1C12	альфа	вариабельный домен	MKTFAGFSFLFLWLQLDCMSRGED VEQSLFLSVREGDSSVINCTYTDSSS TYLYWYKQEPGAGLQLLYIFSNMD MKQDQRLTVLLNKKDKHLSLRIADT QTGDSAIYFCAEIDNQQGKLIFGQGT ELSVKP
5	R39P1C12	альфа	константный домен	NIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFT DFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLD MRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACAN AFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEK SFETDTNLFQNLVIGFRILLKVA GFNLLMTLRLWSS

6	R39P1C12	альфа	полной длины	MKTFAGFSFLFLWLQLDCMSRGED VEQSLFHSVREGDSSVINCTYTDSSS TYLYWYKQEPGAGLQLLYIFSNMD MKQDQRLTVLLNKKDKHLSLRIADT QTGDSAIYFCAEIDNQQGKLIFFGGT ELSVKPNIQNPDPVYQLRDSKSSD KSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYIT DKTVLDMRSMDFKSN SAVAWSNKS DFACANAFNNSIIPEDTFFPSPRESSCD VKLVEKSFETDTNLNFQNLVIGFRI LLKVAGFNLLMTLRLWSS
7	R39P1C12	бета	CDR1	SGHDT
8	R39P1C12	бета	CDR2	YYEEEE
9	R39P1C12	бета	CDR3	CASSQLNTEAFF
10	R39P1C12	бета	вариабельный домен	MGPGLLCWALLCLLGAGLVDAGVT QSPHLLIKTRGQQVTLRCSPKSGHDT VSWYQQALGQGPQFIFQYEEEEERQ RGNFPDRFSGHQFPNYSSELNVNALLGDSALYLCASSQLNTEAFFGQGT RLTVV
11	R39P1C12	бета	константный домен	EDLNKVFPEVAVFEPSEAEISHTQK ATLVCLATGFFPDHVELSWWVNGK EVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTVQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDF
12	R39P1C12	бета	полной длины	MGPGLLCWALLCLLGAGLVDAGVT QSPHLLIKTRGQQVTLRCSPKSGHDT VSWYQQALGQGPQFIFQYEEEEERQ RGNFPDRFSGHQFPNYSSELNVNALLGDSALYLCASSQLNTEAFFGQGT RLTVVEDLNKVFPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTVQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDF
13	R39P1F5	альфа	CDR1	DRGSQS
14	R39P1F5	альфа	CDR2	IY
15	R39P1F5	альфа	CDR3	CAVNNARLMF
16	R39P1F5	альфа	вариабельный домен	MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKE VEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRG SQSFFWYRQYSGKSPELIMFIYSNGD KEDGRFTAQLNKASQYVSLLRDSQ

				PSDSATYLCVNNARLMFGDGTQL VVKP
17	R39P1F5	альфа	константный до- мен	NIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFT DFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLD MRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACAN AFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEK SFETDTNLFQNLSVIGFRILLKVA GFNLLMTLRLWSS
18	R39P1F5	альфа	полной длины	MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKE VEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRG SQSFFWYRQYSGKSPELIMFIYSNGD KEDGRFTAQLNKASQYVSLLRDSQ PSDSATYLCVNNARLMFGDGTQL VVKPNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKS VCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITD KTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSD FACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDV KLVEKSFETDTNLFQNLSVIGFRIL LLKVAGFNLLMTLRLWSS
19	R39P1F5	бета	CDR1	SNHLY
20	R39P1F5	бета	CDR2	FYNNEI
21	R39P1F5	бета	CDR3	CASSGQGANEQYF
22	R39P1F5	бета	вариабельный домен	MDTWLVCWAIFSLKAGLTEPEVTQ TPSHQVTQMGQEVILRCVPISNHL YF YWYRQILGQKVEFLVSFYNNEISEKS EIFDDQFSVERPDGSNFTLKIRSTKLE DSAMYFCASSGQGANEQYFGPGTRL TVT
23	R39P1F5	бета	константный до- мен	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQK ATLVCLATGFYPDHVELSWVWNGK EVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYC LSSRLRVSATFWQNPRNHFRQVQF YGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEA WGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEI LLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRK DSRG
24	R39P1F5	бета	полной длины	MDTWLVCWAIFSLKAGLTEPEVTQ TPSHQVTQMGQEVILRCVPISNHL YF YWYRQILGQKVEFLVSFYNNEISEKS EIFDDQFSVERPDGSNFTLKIRSTKLE DSAMYFCASSGQGANEQYFGPGTRL TVTEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISH TQKATLVCLATGFYPDHVELSWVW NGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDS RYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQ VQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVS AEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATI LYEILLGKATLYAVLVSALVLMAM VKRKDSRG
25	R40P1C2	альфа	CDR1	TSESDYY

26	R40P1C2	альфа	CDR2	QEAY
27	R40P1C2	альфа	CDR3	CAYLNYQLIW
28	R40P1C2	альфа	вариабельный домен	MACPGFLWALVISTCLEFSMAQTVT QSQPEMSVQEAETVTLSCITYDTSES DYFLFWYKQPPSRQMILVIRQEAYK QQNATENRFSVNFQKAAKSFSLKIS DSQLGDAAMYFCAYLNYQLIWGAG TKLIKP
29	R40P1C2	альфа	константный домен	DIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFT DFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLD MRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACAN AFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEK SFETDTNLFQNLVIGFRILLKVA GFNLLMTLRLWSS
30	R40P1C2	альфа	полной длины	MACPGFLWALVISTCLEFSMAQTVT QSQPEMSVQEAETVTLSCITYDTSES DYFLFWYKQPPSRQMILVIRQEAYK QQNATENRFSVNFQKAAKSFSLKIS DSQLGDAAMYFCAYLNYQLIWGAG TKLIKPDIQNPDPVYQLRDSKSSD KSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYIT DKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKS DFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCD VKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRI LLKVAGFNLLMTLRLWSS
31	R40P1C2	бета	CDR1	SNHLY
32	R40P1C2	бета	CDR2	FYNNEI
33	R40P1C2	бета	CDR3	CASSEMTAVGQYF
34	R40P1C2	бета	вариабельный домен	MDTWLVCWAIFSLKAGLTEPEVTQ TPSHQVTQMGQEVILRCVPISNHLF YWYRQILGQKVEFLVSFYNNEISEKS EIFDDQFSVERPDGSNFTLKIRSTKLE DSAMYFCASSEMTAVGQYFGPGTR LTVT
35	R40P1C2	бета	константный домен	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQK ATLVCLATGFYPDHVELSWVNGK EVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYC LSSRLRVSATFWQNPRNHFRQVQF YGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEA WGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEI LLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRK DSRG
36	R40P1C2	бета	полной длины	MDTWLVCWAIFSLKAGLTEPEVTQ TPSHQVTQMGQEVILRCVPISNHLF YWYRQILGQKVEFLVSFYNNEISEKS EIFDDQFSVERPDGSNFTLKIRSTKLE DSAMYFCASSEMTAVGQYFGPGTR LTVTEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEIS HTQKATLVCLATGFYPDHVELSWW

				VNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALND SRYCLSSRLRVSAATFWQNPRNHFRC QVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIV SAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSAT ILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAM VKRKDSRG
37	R41P3E6	альфа	CDR1	DRGSQS
38	R41P3E6	альфа	CDR2	IY
39	R41P3E6	альфа	CDR3	CAAFSGYALNF
40	R41P3E6	альфа	вариабельный домен	MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKE VEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRG SQSFFWYRQYSGKSPELIMFIYSNGD KEDGRFTAQLNKASQYVLLIRDSQ PSDSATYLCAAFSGYALNFGKGTSL LVTP
41	R41P3E6	альфа	константный домен	HIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFT DFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLD MRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACAN AFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEK SFETDTNLNFQNLVIGFRILLKVA GFNLLMTLRLWSS
42	R41P3E6	альфа	полной длины	MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKE VEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRG SQSFFWYRQYSGKSPELIMFIYSNGD KEDGRFTAQLNKASQYVLLIRDSQ PSDSATYLCAAFSGYALNFGKGTSL LVTPHIQNPDPAVYQLRDSKSSDKS VCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITD KTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSD FACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDV KLVEKSFETDTNLNFQNLVIGFRIL LLKVAGFNLLMTLRLWSS
43	R41P3E6	бета	CDR1	SNHLY
44	R41P3E6	бета	CDR2	FYNNEI
45	R41P3E6	бета	CDR3	CASSQYTGELFF
46	R41P3E6	бета	вариабельный домен	MDTWLVCWAIFSLLKAGLTEPEVTQ TPSHQVTQMGQEVILRCVPISNHL YF YWYRQILGQKVEFLVSFYNNEISEKS EIFDDQFSVERPDGSNFTLKIRSTKLE DSAMYFCASSQYTGELFFGEGSRLT VL
47	R41P3E6	бета	константный домен	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQK ATLVCLATGFYPDHVELSWVWVNGK EVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYC LSSRLRVSAATFWQNPRNHFRCQVQF YGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEA WGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEI LLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRK DSRG

48	R41P3E6	бета	полной длины	MDTWLVCWAIFSLKAGLTEPEVTQ TPSHQVTQMGQEVILRCVPISNHL YF YWYRQILGQKVEFLVSFYNN EISEKS EIFDDQFSVERPDGSNFTLKIRSTKLE DSAMYFCASSQYTGELFFGEGSRLT VLEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHT QKATLVCLATGFYPDHVELSWWVN GKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSR YCLSSRLRVSATFWQNPRNHFR CQV QFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSA EAWGRADCGFTSESYQQGVLSATIL YEILLGKATLYAVLVSALVLMAMV KRKDSRG
49	R43P3G4	альфа	CDR1	DRGSQS
50	R43P3G4	альфа	CDR2	IY
51	R43P3G4	альфа	CDR3	CAVNGGDMRF
52	R43P3G4	альфа	вариабельный домен	MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKE VEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYS DRG SQSFFWYRQYSGKSP ELIMFIYSNGD KEDGRFTAQLNKASQYV SLLIRDSQ PSDSATYLCAVNGGDMRFGAGTRL TVKP
53	R43P3G4	альфа	константный до-мен	NIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFT DFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLD MRSMDFKSNSAVAWSNKSD FACAN AFNNSIIPEDTFFPSP ESSCDVKLVEK SFETDTNLFQNL SVIGFRILLKVA GFNLLMTLRLWSS
54	R43P3G4	альфа	полной длины	MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKE VEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYS DRG SQSFFWYRQYSGKSP ELIMFIYSNGD KEDGRFTAQLNKASQYV SLLIRDSQ PSDSATYLCAVNGGDMRFGAGTRL TVKPNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKS VCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITD KTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSD FACANAFNNSIIPEDTFFPSP ESSCDV KLVEKSFETDTNLFQNL SVIGFRIL LLKVAGFNLLMTLRLWSS
55	R43P3G4	бета	CDR1	SNHLY
56	R43P3G4	бета	CDR2	FYNNEI
57	R43P3G4	бета	CDR3	CASSGQGALEQYF
58	R43P3G4	бета	вариабельный домен	MDTWLVCWAIFSLKAGLTEPEVTQ TPSHQVTQMGQEVILRCVPISNHL YF YWYRQILGQKVEFLVSFYNN EISEKS EIFDDQFSVERPDGSNFTLKIRSTKLE DSAMYFCASSGQGALEQYFGPGTRL TVT

59	R43P3G4	бета	константный до- мен	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQK ATLVCLATGFYPDHVLSWWVNGK EVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYC LSSRLRVSATFWQNPRNHFRQVQF YGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEA WGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEI LLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRK DSRG
60	R43P3G4	бета	полной длины	MDTWLVCWAIFSLKAGLTEPEVTQ TPSHQVTQMGQEVILRCVPISNHL YF YWYRQILGQKVEFLVSFYNN EISEKS EIFDDQFSVERPDGSNFTLKIRSTKLE DSAMYFCASSGQGALEQYFGPGTRL TVTEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISH TQKATLVCLATGFYPDHVLSWWV NGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDS RYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQ VQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVS AEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATI LYEILLGKATLYAVLVSALVLMAM VKRKDSRG
61	R44P3B3	альфа	CDR1	NSMFDY
62	R44P3B3	альфа	CDR2	ISS
63	R44P3B3	альфа	CDR3	CAASGLYNQGGKLIF
64	R44P3B3	альфа	вариабельный домен	MAMLLGASVLILWLQPDWVNSQQK NDDQQVKQNSP SLSVQEGRISILNCD YTNSMFDYFLWYKKYPAEGPTFLISI SSIKDKNEDGRFTVFLNKS AKHLSLH IVPSQPGDSAVYFCAASGLYNQGGK LIFGQGT ELSVKP
65	R44P3B3	альфа	константный до- мен	NIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFT DFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLD MRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACAN AFNNSIIPEDTFFPSP ESSCDVKLVEK SFETDTNLNFQNL SVIGFRILLKVA GFNLLMTLRLWSS
66	R44P3B3	альфа	полной длины	MAMLLGASVLILWLQPDWVNSQQK NDDQQVKQNSP SLSVQEGRISILNCD YTNSMFDYFLWYKKYPAEGPTFLISI SSIKDKNEDGRFTVFLNKS AKHLSLH IVPSQPGDSAVYFCAASGLYNQGGK LIFGQGT ELSVKPNIQNPDPAVYQLR DSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSK DSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAV AWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFP SP ESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNL SVIGFRILLK VAGFNLLMTLRLWSS
67	R44P3B3	бета	CDR1	LGHDT
68	R44P3B3	бета	CDR2	YNNKEL

69	R44P3B3	бета	CDR3	CASSLGDRGYEQYF
70	R44P3B3	бета	вариабельный домен	MGCRLLCCVVFCLLQAGPLDTAVSQ TPKYLVTQMGNDKSIKCEQNLGHDT MYWYKQDSKKFLKIMFSYNNKELII NETVPNRFSPKSPDKAHLNLHINSLE LGDSAVYFCASSLGDRGYEQYFGPG TRLTVT
71	R44P3B3	бета	константный домен	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQK ATLVCLATGFYPDHVELSWWVNGK EVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYC LSSRLRVSATFWQNPRNHFRCQVQF YGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEA WGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEI LLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRK DSRG
72	R44P3B3	бета	полной длины	MGCRLLCCVVFCLLQAGPLDTAVSQ TPKYLVTQMGNDKSIKCEQNLGHDT MYWYKQDSKKFLKIMFSYNNKELII NETVPNRFSPKSPDKAHLNLHINSLE LGDSAVYFCASSLGDRGYEQYFGPG TRLTVTEDLKNVFPPEVAVFEPSEAE ISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSW WVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPAL NDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHF RCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVT QIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVL SATILYEILLGKATLYAVLVSALVLM AMVKRKDSRG
73	R44P3E7	альфа	CDR1	DSSSTY
74	R44P3E7	альфа	CDR2	IFS
75	R44P3E7	альфа	CDR3	CAEINNNARLMF
76	R44P3E7	альфа	вариабельный домен	MKTFAGFSFLFLWLQLDCMSRGED VEQSLFLSVREGDSSVINCTYTDSSS TYLYWYKQEPGAGLQLLTYIFSNMD MKQDQRLTVLLNKKDKHLSLRIADT QTGDSAIYFCAEINNNARLMFGDGT QLVVKP
77	R44P3E7	альфа	константный домен	NIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFT DFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLD MRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACAN AFNNSIIPEDTFFPSPESCDVKLVEK SFETDTNLFQNLVIGFRILLKVA GFNLLMTLRLWSS
78	R44P3E7	альфа	полной длины	MKTFAGFSFLFLWLQLDCMSRGED VEQSLFLSVREGDSSVINCTYTDSSS TYLYWYKQEPGAGLQLLTYIFSNMD MKQDQRLTVLLNKKDKHLSLRIADT QTGDSAIYFCAEINNNARLMFGDGT QLVVKPNIQNPDPAVYQLRDSKSSD KSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYIT

				DKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKS DFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCD VKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRI LLKLVAGFNLLMTLRLWSS
79	R44P3E7	бета	CDR1	PRHDT
80	R44P3E7	бета	CDR2	FYEKMQ
81	R44P3E7	бета	CDR3	CASSPPDQNTQYF
82	R44P3E7	бета	вариабельный домен	MLSPDLPDSAWNTRLLCHVMLCLL GAVSVAAGVIQSPRHLIKEKRETATL KCYPIPRHDTVYWYQQGPGQDPQFL ISFYEKMQSDKGSIPDRFSAQQFSDY HSELNMSSELELGDALYFCASSPPDQ NTQYFGPGTRTLVL
83	R44P3E7	бета	константный домен	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQK ATLVCLATGFYPDHVELSWWVNGK EVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYC LSSRLRVSATFWQNPRNHFRQVQF YGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEA WGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEI LLGKATLYAVLVLSALVLMAMVKRK DSRG
84	R44P3E7	бета	полной длины	MLSPDLPDSAWNTRLLCHVMLCLL GAVSVAAGVIQSPRHLIKEKRETATL KCYPIPRHDTVYWYQQGPGQDPQFL ISFYEKMQSDKGSIPDRFSAQQFSDY HSELNMSSELELGDALYFCASSPPDQ NTQYFGPGTRTLVLEDLKNVFPPEV AVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFY PDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQ PLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATF WQNPRNHFRQVQFYGLSENDEWT QDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTS ESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAV LVLSALVLMAMVKRKDSRG
85	R49P2B7	альфа	CDR1	SSVPPY
86	R49P2B7	альфа	CDR2	YTTG
87	R49P2B7	альфа	CDR3	CAVRIFGNEKLT
88	R49P2B7	альфа	вариабельный домен	MLLLVPVLEVIFTLGGTRAQSVTQL GSHVSVSEGALVLLRCNYSSVPPYL FWYVQYPNQLQLLLKYTTGATLV KGINGFEAEFKKSETSFHLTKPSAHM SDAAEYFCAVRIFGNEKLTFTGTGTRL TIIP
89	R49P2B7	альфа	константный домен	NIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFT DFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLD MRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACAN AFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEK SFETDTNLFQNLVIGFRILLKVA GFNLLMTLRLWSS

90	R49P2B7	альфа	полной длины	MLLLLVPVLEVIFTLGGTRAQSVTQL GSHVSVSEGALVLLRCNYSSSVPPYL FWYVQYPNQGLQLLLKYTTGATLV KINGFEAEFKKSETSFHLTKPSAHM SDAAEYFC AVRIFGNEKLTFGTGTRL TIIPNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSV CLFTDFDSQTNVSQSKSDVYITDKT VLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFA CANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKL VEKSFETDTNLFQNL SVIGFRILL KVAGFNLLMTLRLWSS
91	R49P2B7	бета	CDR1	MDHEN
92	R49P2B7	бета	CDR2	SYDVKM
93	R49P2B7	бета	CDR3	CASSLMGELTGELFF
94	R49P2B7	бета	вариабельный домен	MGIRLLCRVAFCF LAVGLVDVKVTQ SSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHE NMFWYRQDPGLGLRLIYFSYDVKM KEKGDIP EGYSVSREKKERFSLILES ASTNQTSMYLCASSLMGELTGELFF GEGSRLTVL
95	R49P2B7	бета	константный домен	EDLKNVFPPEVA VFEPSEAEISHTQK ATLVCLATGFYPDHVELSWVNGK EVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYC LSSRLRV SATFWQNPRNHFR CQVQF YGLSENDEWTQDRAK PVTQIVSAEA WGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEI LLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRK DSRG
96	R49P2B7	бета	полной длины	MGIRLLCRVAFCF LAVGLVDVKVTQ SSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHE NMFWYRQDPGLGLRLIYFSYDVKM KEKGDIP EGYSVSREKKERFSLILES ASTNQTSMYLCASSLMGELTGELFF GEGSRLTVLEDLKNVFPPEVA VFEP EAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVE LSWVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQ PALNDSRYCLSSRLRV SATFWQNPR NHFR CQVQFYGLSENDEWTQDRAK PVTQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQ GVLSATILYEILLGKATLYAVLVSAL VLMAMVKRKDSRG
97	R55P1G7	альфа	CDR1	NSAFQY
98	R55P1G7	альфа	CDR2	TY
99	R55P1G7	альфа	CDR3	CAMMGDTGTASKLTF
100	R55P1G7	альфа	вариабельный домен	MMKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQK EVEQDPGPLSVPEGAI VSLNCTYSNS AFQYFMWYRQYSRKGPELLMYTYS SGNKEDGRFTAQVDKSSKYISL FIRD

				SQPSDSATYLCAMMGDTGTASKLTF GTGTRLQVTL
101	R55P1G7	альфа	константный до- мен	DIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFT DFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLD MRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACAN AFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEK SFETDTNLNFQNLSVIGFRILLKVA GFNLLMTLRLWSS
102	R55P1G7	альфа	полной длины	MMKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQK EVEQDPGLSVPEGAIVSLNCTYSNS AFQYFMWYRQYSRKGPPELLMYTYS SGNKEDGRFTAQVDKSSKYISLFIRD SQPSDSATYLCAMMGDTGTASKLTF GTGTRLQVTLDIQNPDPAVYQLRDS KSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDS DVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVA WSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPS PESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLS VIGFRILLK VAGFNLLMTLRLWSS
103	R55P1G7	бета	CDR1	MDHEN
104	R55P1G7	бета	CDR2	SYDVKM
105	R55P1G7	бета	CDR3	CASSFGGYEQYF
106	R55P1G7	бета	вариабельный домен	MGIRLLCRVAFCF LAVGLVDVKVTQ SSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHE NMFWYRQDPGLGLRLIYFSYDVKM KEKGDIPGYSVSREKKERFSLILES ASTNQTSMYLCASSFGGYEQYFGPG TRLTVT
107	R55P1G7	бета	константный до- мен	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQK ATLVCLATGFYPDHVELSWVWNGK EVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYC LSSRLRVSATFWQNPRNHFRCQVQF YGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEA WGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEI LLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRK DSRG
108	R55P1G7	бета	полной длины	MGIRLLCRVAFCF LAVGLVDVKVTQ SSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHE NMFWYRQDPGLGLRLIYFSYDVKM KEKGDIPGYSVSREKKERFSLILES ASTNQTSMYLCASSFGGYEQYFGPG TRLTVTEDLKNVFPPEVAVFEPSEAE ISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSW WVWNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPAL NDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHF RCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVT QIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLS SATILYEILLGKATLYAVLVSALVLM AMVKRKDSRG
109	R59P2A7	альфа	CDR1	DRGSQS

110	R59P2A7	альфа	CDR2	IY
111	R59P2A7	альфа	CDR3	CAVQPHDMRF
112	R59P2A7	альфа	вариабельный домен	MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKE VEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRG SQSFFWYRQYSGKSPELIMSIYSNGD KEDGRFTAQLNKASQYVSLLRDSQ PSDSATYLCVQPHDMRFGAGTRLT VKP
113	R59P2A7	альфа	константный домен	NIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFT DFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLD MRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACAN AFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEK SFETDTNLFQNLVIGFRILLKVA GFNLLMTLRLWSS
114	R59P2A7	альфа	полной длины	MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKE VEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRG SQSFFWYRQYSGKSPELIMSIYSNGD KEDGRFTAQLNKASQYVSLLRDSQ PSDSATYLCVQPHDMRFGAGTRLT VKPNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSV CLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKT VLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACAN AFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKL VEKSFETDTNLFQNLVIGFRILL KVAGFNLLMTLRLWSS
115	R59P2A7	бета	CDR1	GTSNPN
116	R59P2A7	бета	CDR2	SVGIG
117	R59P2A7	бета	CDR3	CAWSGLVAEQFF
118	R59P2A7	бета	вариабельный домен	MLCSSLALLLGTFFGVRSQTIHQWP ATLVQPVGSPLSLECTVEGTSNPPLY WYRQAAGRGLQLLFYSVGIGQISSE VPQNLSASRPQDRQFILSSKKLLSD SGFYLCAWSGLVAEQFFGPGTRLT V L
119	R59P2A7	бета	константный домен	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQK ATLVCLATGFYPDHVELSWVWVNGK EVHSGVSTDPQLKEQPALNDSRYC LSSRLRVSATFWQNPRNHFRQVQF YGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEA WGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEI LLGKATLYAVLVSAVLMMAMVKRK DSRG
120	R59P2A7	бета	полной длины	MLCSSLALLLGTFFGVRSQTIHQWP ATLVQPVGSPLSLECTVEGTSNPPLY WYRQAAGRGLQLLFYSVGIGQISSE VPQNLSASRPQDRQFILSSKKLLSD SGFYLCAWSGLVAEQFFGPGTRLT V LEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQ KATLVCLATGFYPDHVELSWVWVNGK

				KEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRY CLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQCQVQ FYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAE AWGRADCGFTSESYQQGVLSATILY EILLGKATLYAVLVSALVLMAMVK RKDSRG
121	1G4	альфа	CDR1	DSAIYN
122	1G4	альфа	CDR2	IQS
123	1G4	альфа	CDR3	CAVRPTSGGSYIPTF
124	1G4	альфа	вариабельный домен	METLLGLLILWLQLQWVSSKQEVTO IPAALSVPEGENLVNCSFTDSAIYN LQWFRQDPGKGLTSLLLIQSSQREQT SGRLNASLDKSSGRSTLYIAASQPGD SATYLC AVRPTSGGSYIPTFGRGTSLI VHP
125	1G4	альфа	константный домен	YIQNPDP AVYQLRDSKSSDKSVCLFT DFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLD MRSMDFKSNS AVAWSNKSDFA CAN AFNNIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEK SFETDTNLFQNL SVIGFRILLKVA GFNLLMTLRLWSS
126	1G4	альфа	полной длины	METLLGLLILWLQLQWVSSKQEVTO IPAALSVPEGENLVNCSFTDSAIYN LQWFRQDPGKGLTSLLLIQSSQREQT SGRLNASLDKSSGRSTLYIAASQPGD SATYLC AVRPTSGGSYIPTFGRGTSLI VHPYIQNPDP AVYQLRDSKSSDKSV CLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKT VLDMRSMDFKSNS AVAWSNKSDFA CANAFNNIIPEDTFFPSPESSCDVKL VEKSFETDTNLFQNL SVIGFRILL KVAGFNLLMTLRLWSS
127	1G4	бета	CDR1	MNHEY
128	1G4	бета	CDR2	SVGAGI
129	1G4	бета	CDR3	CASSYVGNTGELFF
130	1G4	бета	вариабельный домен	MSIGLLCCAALSLWAGPVNAGVTO TPKFQVLKTGQSMTLQCAQDMNHE YMSWYRQDPGMGLRLIHYSVGAGI TDQGEVPNGYNVSRSTTEDFPLRLLS AAPSQTSVYFCASSYVGNTGELFFG EGSRLTVL
131	1G4	бета	константный домен	EDLKNVFPPEVA VFEPSEAEISHTQK ATLVCLATGFYPDHVELSWVWNGK EVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYC LSSRLRVSATFWQNPRNHFRQCQVQF YGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEA WGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEI LLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRK DSRG

132	1G4	бета	полной длины	MSIGLLCCAALSLLWAGPVNAGVTQ TPKFQVLKTGQSMTLQCAQDMNHE YMSWYRQDPGMGLRLIHYSVGAGI TDQGEVPNGYNVSRSTTEDFPLRLLS AAPSQTSVYFCASSYVGNTGELFFG EGSRLTVLEDLKNVFPPEVAVFEPSE AEISHTQKATLVCLATGFYPDHVLS WWVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPA LNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNH FRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPV TQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGV LSATILYEILLGKATLYAVLVSAVLV MAMVKRKDSRG
-----	-----	------	--------------	--

Таблица 2: Последовательности пептида по изобретению

Код пептида	Последовательность	SEQ ID NO:
SPINK2-001	ALSVLRLAL	133
SPINK2-001_A2	AASVLRLAL	134
SPINK2-001_A3	ALAVLRLAL	135
SPINK2-001_A4	ALSALRLAL	136
SPINK2-001_A5	ALSVARLAL	137
SPINK2-001_A6	ALSVLALAL	138
SPINK2-001_A7	ALSVLRAAL	139
SPINK2-001_A9	ALSVLRLAA	140
SPINK2-001_T1	TLSVLRLAL	141
SPINK2-001_T2	ATSVLRLAL	142
SPINK2-001_T3	ALTVLRLAL	143
SPINK2-001_T4	ALSTLRLAL	144
SPINK2-001_T5	ALSVTRLAL	145
SPINK2-001_T6	ALSVLTLAL	146
SPINK2-001_T7	ALSVLRTAL	147
SPINK2-001_T8	ALSVLRLTL	148
SPINK2-001_T9	ALSVLRLAT	149
CYP-003	ALMNMKLAL	150
BAG6-001	ALSDLRCNL	151
XRCC5-001	ALSSLIHAL	152

TMEM147-001	ALSTLALYV	153
SEC-001	ALSVLADFL	154
GMPPA-001	ALYASRLYL	155
EXOC4-002	GLSDLRLEL	156
ARFGAP3-001	IVSSLRLAY	157
ANKRD29-002	YLDVIRLLL	158
NYESO1-001	SLLMWITQV	159

ПРИМЕРЫ

Десять SPINK2-001-специфичных ТКР (R39P1C12, R39P1F5, R40P1C2, R41P3E6, R43P3G4, R44P3B3, R44P3E7, R49P2B7, R55P1G7 и R59P2A7, см. Таблицу 1), каждый из которых кодирует опухолеспецифические альфа- и бета-цепи 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. Альфа- и бета-вариабельные области ТКР R39P1C12, R39P1F5, R40P1C2, R41P3E6, R43P3G4, R44P3B3, R44P3E7, R49P2B7, R55P1G7 и R59P2A7 секвенировали и с помощью генетического синтеза получали экспрессионные конструкции для дальнейшей функциональной оценки.

R41P3E6, R43P3G4, R55P1G7 и R59P2A7 получены у HLA-A*02-отрицательного донора (условия аллореактивности) и R39P1C12, R39P1F5, R40P1C2, R44P3B3, R44P3E7 и R49P2B7 получены у HLA-A*02-положительного донора.

Исследуемые ТКР экспрессировались в Т-клетках человека, например, посредством электропорации мРНК. Т-клетки оценивали на высвобождение IFN- γ после совместной инкубации с различными клетками-мишенями, такими как Т2-клетки, нагруженные различными пептидами, а также с линиями опухолевых клеток. Данные по активации Т-клеток представлены либо в виде абсолютных уровней высвобождения IFN γ , либо после

вычитания фона, как показано ниже. Эффективность CD8⁺ Т-клеток, экспрессирующих ТКР R55P1G7 и R44P3B3 определяли с помощью изучения активации Т-клеток (высвобождение IFN γ) при использовании различных линий опухолевых клеток в качестве клеточных мишеней.

Метод вычитания фона для определения уровня высвобождения IFN γ :

Средн. фон (иссл.ТКР; совм) = [средн.(иссл.ТКР; совм)-средн.(иссл.ТКР; только эффектор)]-[средн.(имитатор; совм)-средн.(имитатор; только эффектор)]

Соответствующее $CO_{фон}$ рассчитывали так:

$$CO_{фон} (иссл.ТКР; совм) = [CO^{(иссл.ТКР; совм)2} + CO^{(иссл.ТКР; только эффектор)2} + CO^{(имитатор;совм)2} + CO^{(имитатор; только эффектор)2}]^{1/2}$$

иссл.ТКР = эффекторные клетки, экспрессирующие исследуемый ТКР

Имитатор = эффекторные клетки без экспрессии экзогенного ТКР

Совм. = эффекторные клетки после совместной инкубации с клетками-мишенями

Только эффектор = эффекторные клетки без совместной культивации

Средн.(фон) = средний уровень высвобождения IFN γ (с вычитанием фона)

$CO(фон)$ = стандартное отклонение (с вычитанием фона)

Анализ связывания с помощью метода BLI (биослойная интерферометрия) ТКР к SPINK2-001, экспрессируемых в качестве растворимых ТКР, согласно ранее описанному способу (Willcox BE et al., 1999 Protein Sci., Nov;8(11):2418-23), и комплекса HLA-A*02/SPINK2-001 использовали для определения аффинности. Данные по связыванию для ТКР 1G4 и комплекса HLA-A*02/NYESO1-001, полученные методом BLI, используются в качестве контролей.

Пример 1: Т-клеточный рецептор R39P1C12

ТКР R39P1C12 (SEQ ID NO:1-12) рестриктирован по HLA-A*02-презентируемому пептиду SPINK2-001 (SEQ ID NO:133) (см. Фигуру 11).

R39P1C12 специфично распознает SPINK2-001, поскольку первичные CD8⁺ Т-клетки человека, повторно экспрессирующие данный ТКР, высвобождают IFN γ при совместной инкубации с HLA-A*02+ клетками-мишенями, нагруженными либо пептидом SPINK2-

001, либо вариантами SPINK2-001 с заменами аланина или треонина (Фигура 1), или различными пептидами, обладающими высокой степенью сходства последовательности с SPINK2-001 (Фигура 11). Пептид NYESO1-001 используется в качестве отрицательного контроля. ТКР R39P1C12 имеет уровень EC_{50} , составляющий 0,81 нМ (Фигура 21), и аффинность 18 мкМ ($R^2=0,9956$) (Фигура 33).

Пример 2: Т-клеточный рецептор R39P1F5

ТКР R39P1F5 (SEQ ID NO:13-24) рестриктирован по HLA-A*02-презентируемому пептиду SPINK2-001 (SEQ ID NO:133) (см. Фигуру 12).

R39P1F5 специфично распознает SPINK2-001, поскольку первичные CD8+ Т-клетки человека, повторно экспрессирующие данный ТКР, высвобождают IFN γ при совместной инкубации с HLA-A*02+ клетками-мишенями, нагруженными либо пептидом SPINK2-001, либо вариантами SPINK2-001 с заменами аланина или треонина (Фигура 2), или различными пептидами, обладающими высокой степенью сходства последовательности с SPINK2-001 (Фигура 12). Пептид NYESO1-001 используется в качестве отрицательного контроля. ТКР R39P1F5 имеет уровень EC_{50} , составляющий 1,52 нМ (Фигура 22), и аффинность 34 мкМ ($R^2=0,9962$) (Фигура 33).

Пример 3: Т-клеточный рецептор R40P1C2

ТКР R40P1C2 (SEQ ID NO:25-36) рестриктирован по HLA-A*02-презентируемому пептиду SPINK2-001 (SEQ ID NO:133) (см. Фигуру 13).

R40P1C2 специфично распознает SPINK2-001, поскольку первичные CD8+ Т-клетки человека, повторно экспрессирующие данный ТКР, высвобождают IFN γ при совместной инкубации с HLA-A*02+ клетками-мишенями, нагруженными либо пептидом SPINK2-001, либо вариантами SPINK2-001 с заменами аланина или треонина (Фигура 3), или различными пептидами, обладающими высокой степенью сходства последовательности с SPINK2-001 (Фигура 13). Пептид NYESO1-001 используется в качестве отрицательного контроля. ТКР R40P1C2 имеет уровень EC_{50} , составляющий 1,94 нМ (Фигура 23).

Пример 4: Т-клеточный рецептор R41P3E6

ТКР R41P3E6 (SEQ ID NO:37-48) рестриктирован по HLA-A*02-презентируемому пептиду SPINK2-001 (SEQ ID NO:133) (см. Фигуру 14).

R41P3E6 специфично распознает SPINK2-001, поскольку первичные CD8⁺ Т-клетки человека, повторно экспрессирующие данный ТКР, высвобождают IFN γ при совместной инкубации с HLA-A*02+ клетками-мишенями и связываются с тетрамерами HLA-A*02 (Фигура 31), соответственно, нагруженными либо пептидом SPINK2-001, либо вариантами SPINK2-001 с заменами аланина или треонина (Фигура 4), или различными пептидами, обладающими высокой степенью сходства последовательности с SPINK2-001 (Фигура 14). Пептид NYESO1-001 используется в качестве отрицательного контроля. ТКР R41P3E6 имеет уровень EC₅₀, составляющий 1,03 нМ (Фигура 24), и аффинность 13 мкМ ($R^2=0,9892$) (Фигура 33).

Пример 5: Т-клеточный рецептор R43P3G4

ТКР R43P3G4 (SEQ ID NO:49-60) рестриктирован по HLA-A*02-презентируемому пептиду SPINK2-001 (SEQ ID NO:133) (см. Фигуру 15).

R43P3G4 специфично распознает SPINK2-001, поскольку первичные CD8⁺ Т-клетки человека, повторно экспрессирующие данный ТКР, высвобождают IFN γ при совместной инкубации с HLA-A*02+ клетками-мишенями, нагруженными либо пептидом SPINK2-001, либо вариантами SPINK2-001 с заменами аланина или треонина (Фигура 5), или различными пептидами, обладающими высокой степенью сходства последовательности с SPINK2-001 (Фигура 15). Пептид NYESO1-001 используется в качестве отрицательного контроля. ТКР R43P3G4 имеет уровень EC₅₀, составляющий 1,34 нМ (Фигура 25).

Пример 6: Т-клеточный рецептор R44P3B3

ТКР R44P3B3 (SEQ ID NO:61-72) рестриктирован по HLA-A*02-презентируемому пептиду SPINK2-001 (SEQ ID NO:133) (см. Фигуру 16).

R44P3B3 специфично распознает SPINK2-001, поскольку первичные CD8⁺ Т-клетки человека, повторно экспрессирующие данный ТКР, высвобождают IFN γ при совместной инкубации с HLA-A*02+ клетками-мишенями и связываются с тетрамерами HLA-A*02 (Фигура 31), соответственно, нагруженными либо пептидом SPINK2-001, либо вариантами SPINK2-001 с заменами аланина или треонина (Фигура 6), или различными пептидами, обладающими высокой степенью сходства последовательности с SPINK2-001 (Фигура 16). Пептид NYESO1-001 используется в качестве отрицательного контроля. ТКР R44P3B3 имеет уровень EC₅₀, составляющий 1,06 нМ (Фигура 26), и аффинность 37 мкМ ($R^2=0,9947$) (Фигура 33).

Для CD8⁺ Т-клеток, экспрессирующих ТКР R44P3B3, наблюдалась активность в отношении опухолевых клеток A375, экспрессирующих в избытке SPINK2-00 (Фигура 32), но не в отношении линий опухолевых клеток A375 дикого типа. Клетки A375 экспрессируют эндогенно HLA-A2.

Активация Т-клеток после совместной культивации с линиями клеток, экспрессирующими HLA-A*02 и SPINK2-001, отражает распознавание презентруемых эндогенно комплексов рHLA (пептид, презентруемый человеческим лейкоцитарным антигеном) как мишеней рецепторами ТКР R44P3B3.

Пример 7: Т-клеточный рецептор R44P3E7

ТКР R44P3E7 (SEQ ID NO:73-84) рестриктирован по HLA-A*02-презентруемому пептиду SPINK2-001 (SEQ ID NO:133) (см. Фигуру 17).

R44P3E7 специфично распознает SPINK2-001, поскольку первичные CD8⁺ Т-клетки человека, повторно экспрессирующие данный ТКР, высвобождают IFN γ при совместной инкубации с HLA-A*02+ клетками-мишенями, нагруженными либо пептидом SPINK2-001, либо вариантами SPINK2-001 с заменами аланина или треонина (Фигура 7), или различными пептидами, обладающими высокой степенью сходства последовательности с SPINK2-001 (Фигура 17). Пептид NYESO1-001 используется в качестве отрицательного контроля. ТКР R44P3E7 имеет уровень EC₅₀, составляющий 0,86 нМ (Фигура 27).

Пример 8: Т-клеточный рецептор R49P2A7

ТКР R49P2A7 (SEQ ID NO:85-96) рестриктирован по HLA-A*02-презентруемому пептиду SPINK2-001 (SEQ ID NO:133) (см. Фигуру 18).

R49P2A7 специфично распознает SPINK2-001, поскольку первичные CD8⁺ Т-клетки человека, повторно экспрессирующие данный ТКР, высвобождают IFN γ при совместной инкубации с HLA-A*02+ клетками-мишенями и связываются с тетрамерами HLA-A*02 (Фигура 31), соответственно, нагруженными либо пептидом SPINK2-001, либо вариантами SPINK2-001 с заменами аланина или треонина (Фигура 8), или различными пептидами, обладающими высокой степенью сходства последовательности с SPINK2-001 (Фигура 18). Пептид NYESO1-001 используется в качестве отрицательного контроля. ТКР R49P2A7 имеет уровень EC₅₀, составляющий >83,24 нМ (Фигура 28).

Пример 9: Т-клеточный рецептор R55P1G7

ТКР R55P1G7 (SEQ ID NO:97-108) рестриктирован по HLA-A*02-презентируемому пептиду SPINK2-001 (SEQ ID NO:133) (см. Фигуру 19).

R55P1G7 специфично распознает SPINK2-001, поскольку первичные CD8⁺ Т-клетки человека, повторно экспрессирующие данный ТКР, высвобождают IFN γ при совместной инкубации с HLA-A*02+ клетками-мишенями и связываются с тетрамерами HLA-A*02 (Фигура 31), соответственно, нагруженными либо пептидом SPINK2-001, либо вариантами SPINK2-001 с заменами аланина или треонина (Фигура 9), или различными пептидами, обладающими высокой степенью сходства последовательности с SPINK2-001 (Фигура 19). Пептид NYESO1-001 используется в качестве отрицательного контроля. ТКР R55P1G7 имеет уровень EC₅₀, составляющий 91,5 нМ (Фигура 29), и аффинность 4,3 мкМ (R²=0,9765) (Фигура 33).

Для CD8⁺ Т-клеток, экспрессирующих ТКР R55P1G7, наблюдалась активность в отношении опухолевых клеток A375, экспрессирующих в избытке SPINK2-00 (Фигура 32), но не в отношении линии опухолевых клеток A375 дикого типа. Клетки линии A375 экспрессируют эндогенно HLA-A2.

Активация Т-клеток после совместной культивации с линиями клеток, экспрессирующими HLA-A*02 и SPINK2-001, отражает, распознавание презентируемых эндогенно комплексов pHLA (пептид, презентируемый человеческим лейкоцитарным антигеном) как мишеней рецепторами ТКР R55P1G7.

Пример 10: Т-клеточный рецептор R59P2A7

ТКР R59P2A7 (SEQ ID NO:109-120) рестриктирован по HLA-A*02-презентируемому пептиду SPINK2-001 (SEQ ID NO:133) (см. Фигуру 20).

R59P2A7 специфично распознает SPINK2-001, поскольку первичные CD8⁺ Т-клетки человека, повторно экспрессирующие данный ТКР, высвобождают IFN γ при совместной инкубации с HLA-A*02+ клетками-мишенями, нагруженными либо пептидом SPINK2-001, либо вариантами SPINK2-001 с заменами аланина или треонина (Фигура 10), или различными пептидами, обладающими высокой степенью сходства последовательности

с SPINK2-001 (Фигура 20). Пептид NYESO1-001 используется в качестве отрицательного контроля. ТКР R59P2A7 имеет уровень EC_{50} , составляющий 0,86 нМ (Фигура 30).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

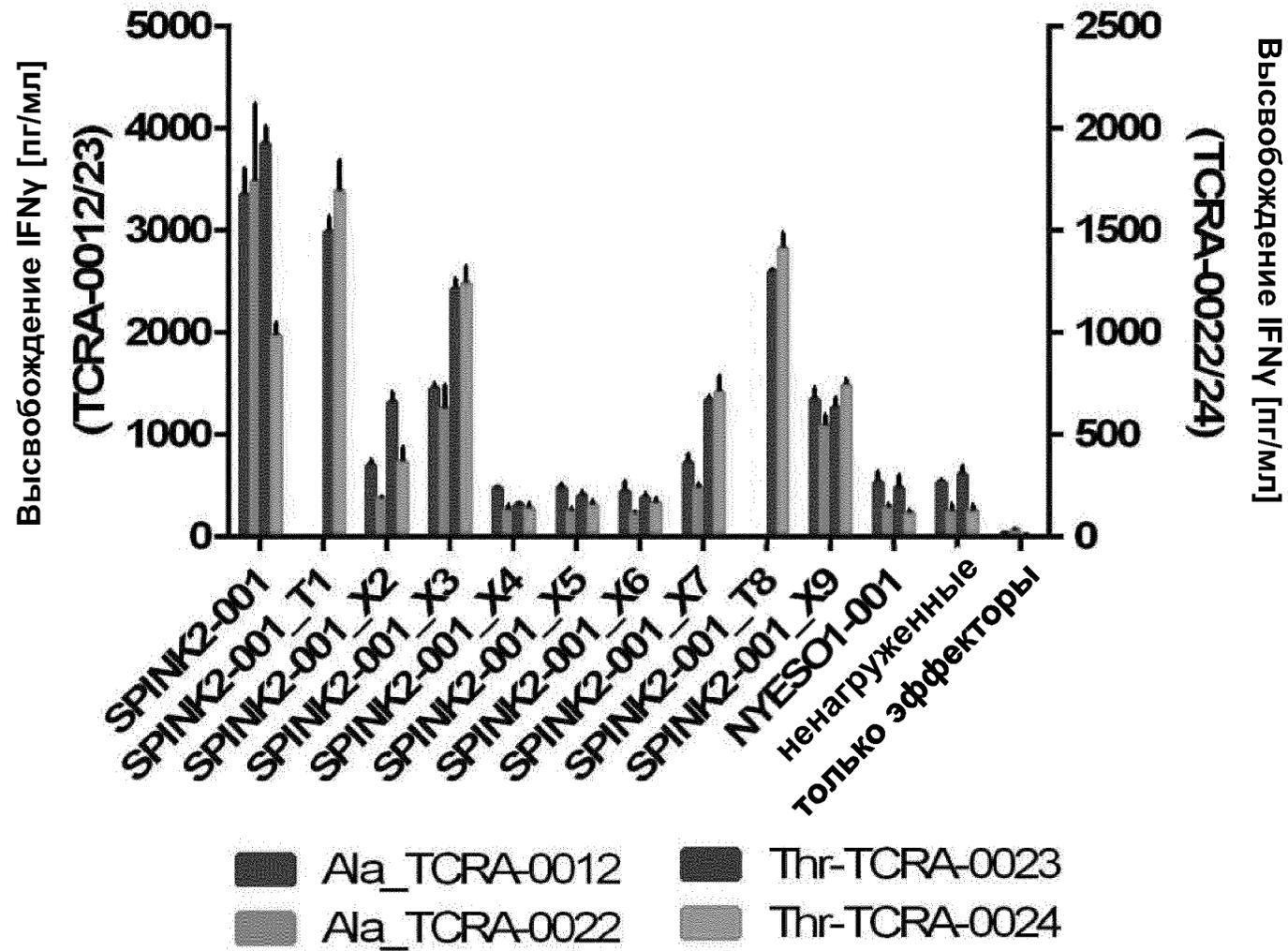
1. Антигенраспознающая структура, включающая по меньшей мере одну комплементарную детерминантную группу (CDR) 3, последовательность которой по меньшей мере на 80% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO. 3, 9, 15, 21, 27, 33, 39, 45, 51, 57, 63, 69, 75, 81, 87, 93, 99, 105, 111 и 117.
2. Антигенраспознающая структура по п. 1, где указанная антигенраспознающая структура способна специфически и/или селективно связываться с антигенным пептидом SPINK2-001.
3. Антигенраспознающая структура по 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 по любым из пп. 1– 3, включающая α - или γ -цепь ТКР; и/или β - или δ -цепь ТКР; где α - или γ -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, 87, 99 и 111, и/или где β -или δ -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, 93, 105 и 117.
5. Антигенраспознающая структура по п. 4, где α - или γ -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, 85, 97 и 109; 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, 86, 98 и 110.
6. Антигенраспознающая структура по п. 4 или 5, где β - или δ -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, 91, 103 и 115; 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, 92, 104 и 116.

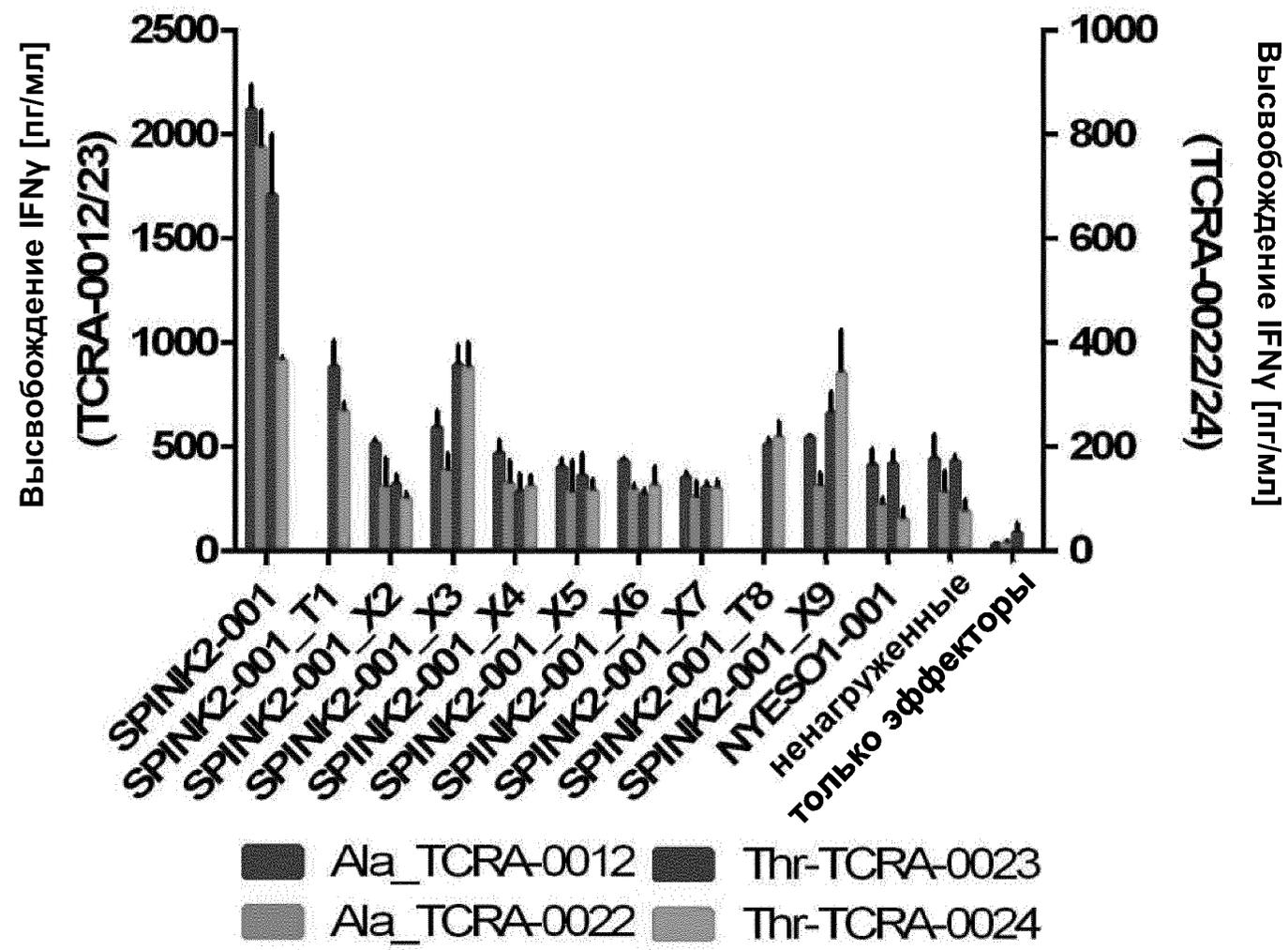
7. Антигенраспознающая структура по любому из пп. 1–6, включающая вариабельную область цепи ТКР, последовательность которой по меньшей мере на 80%, идентична аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 4, 10, 16, 22, 28, 34, 40, 46, 52, 58, 64, 70, 76, 82, 88, 94, 100, 106, 112 и 118.
8. Антигенраспознающая структура по любому из пп. 1–7, включающая связывающий фрагмент ТКР, и где указанный связывающий фрагмент включает CDR1–CDR3, необязательно выбранные из последовательностей CDR1–CDR3, имеющих аминокислотные последовательности с SEQ ID NO: 1, 2, 3; или 7, 8, 9; или 13, 14, 15; или 19, 20, 21; или 25, 26, 27; или 31, 32, 33; или 37, 38, 39; или 43, 44, 45; или 49, 50, 51; или 55, 56, 57; или 61, 62, 63; или 67, 68, 69; или 73, 74, 75; или 79, 80, 81; или 85, 86, 87; или 91, 92, 93; или 97, 98, 99; или 103, 104, 105; или 109, 110, 111; или 115, 116, 117.
9. Антигенраспознающая структура по любому из пп. 1–8, в которой в вариабельном домене α - или β -цепи, аминокислота в положении 44 согласно нумерации IMGT заменена на другую подходящую аминокислоту, чтобы улучшить стабильность и/или спаривание указанных цепей.
10. Нуклеиновая кислота, кодирующая антигенраспознающую структуру по любому из пп. 1–9.
11. Вектор, включающий нуклеиновую кислоту в соответствии с п. 10.
12. Клетка-хозяин, включающая антигенраспознающую структуру по любому из пп. 1–9 или нуклеиновую кислоту в соответствии с п. 10, или вектор в соответствии с п. 10, необязательно, клетка-хозяин является лимфоцитом, предпочтительно, Т-лимфоцитом или предшественником Т-лимфоцита, более предпочтительно – CD4 или CD8-положительной Т-клеткой.

13. Фармацевтическая композиция, содержащая антигенраспознающую структуру по любому из пп. 1–9 или нуклеиновую кислоту в соответствии с п. 10, или вектор в соответствии с п. 11, или клетку-хозяина в соответствии с п. 12, и фармацевтически приемлемый носитель, стабилизатор и/или вспомогательное вещество.
14. Антигенраспознающая структура по любому из пп. 1–9 или нуклеиновая кислота в соответствии с п. 10, или вектор в соответствии с п. 11, или клетка-хозяин в соответствии с п. 12, или фармацевтическая композиция в соответствии с п. 13 для применения в медицине, необязательно, для применения в диагностике, предупреждении и/или лечении пролиферативного заболевания.
15. 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 по любому из пп. 1–9,
 - в. введение в указанную подходящую клетку-хозяина указанной генетической конструкции,
 - г. экспрессию указанной генетической конструкции указанной подходящей клеткой-хозяином.
16. Способ в соответствии с п. 15, дополнительно включающий выделение и очистку антигенраспознающей структуры из подходящей клетки-хозяина и, необязательно, восстановление антигенраспознающей структуры в Т-клетке.

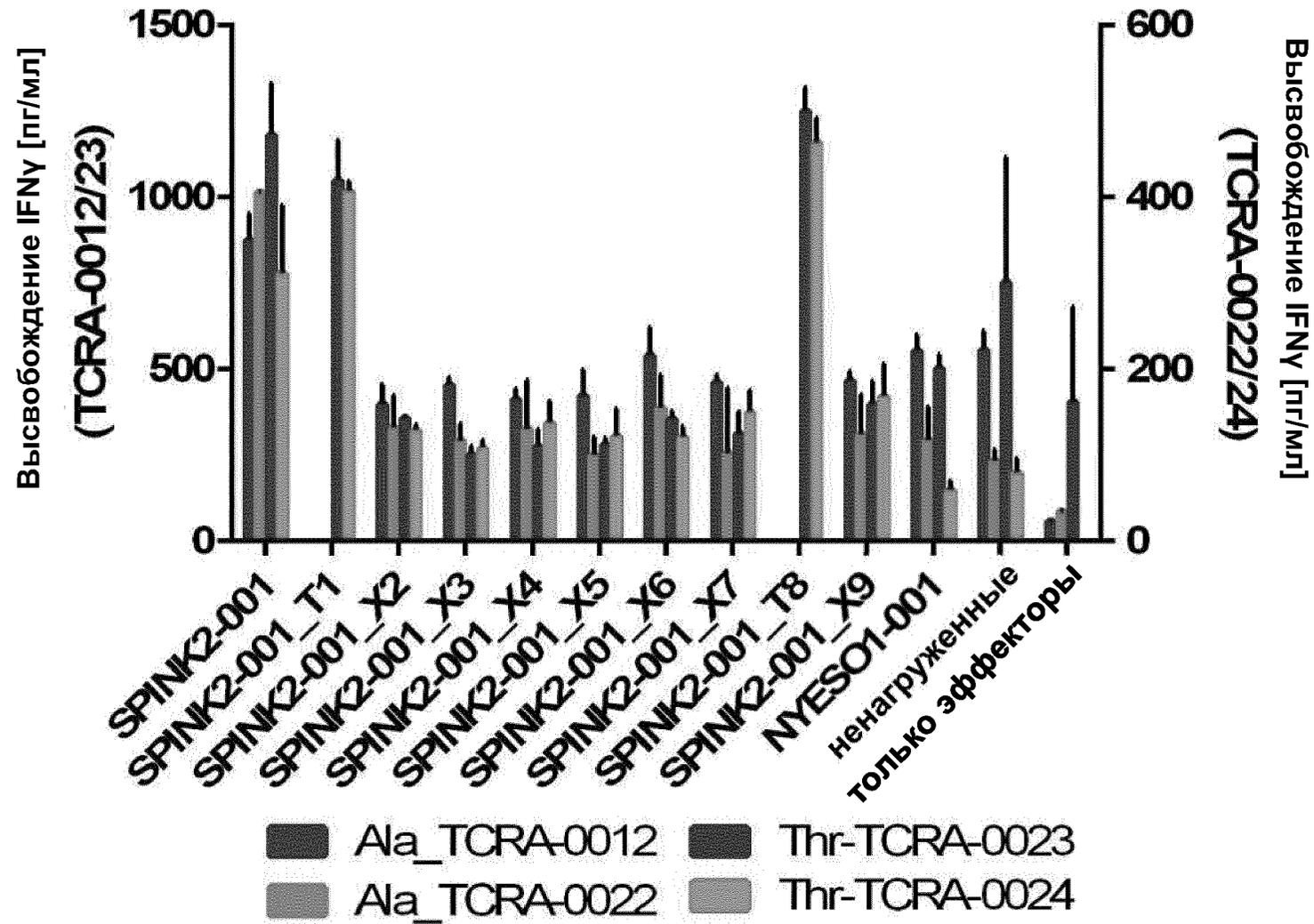
Фигура 1:



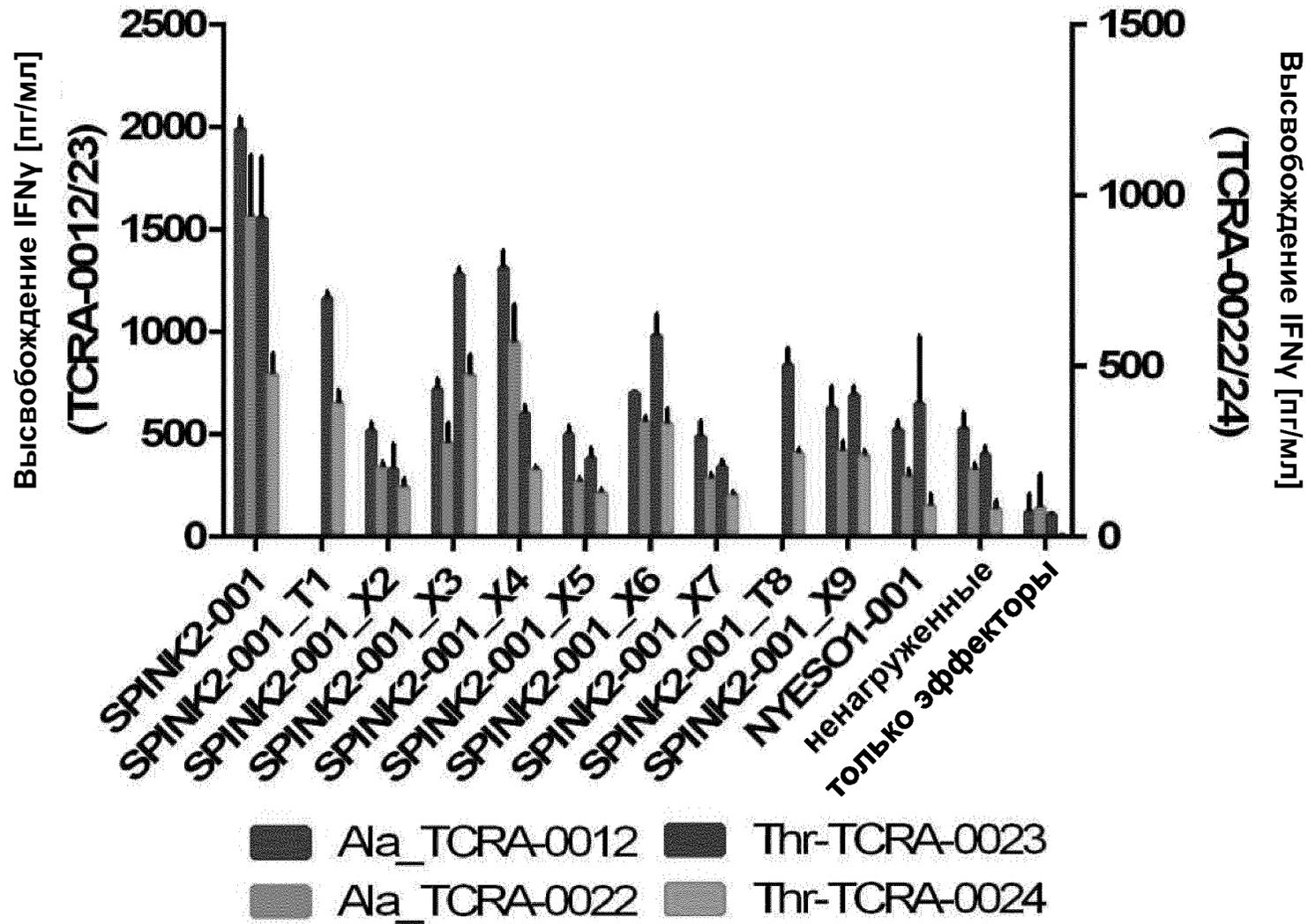
Фигура 2:



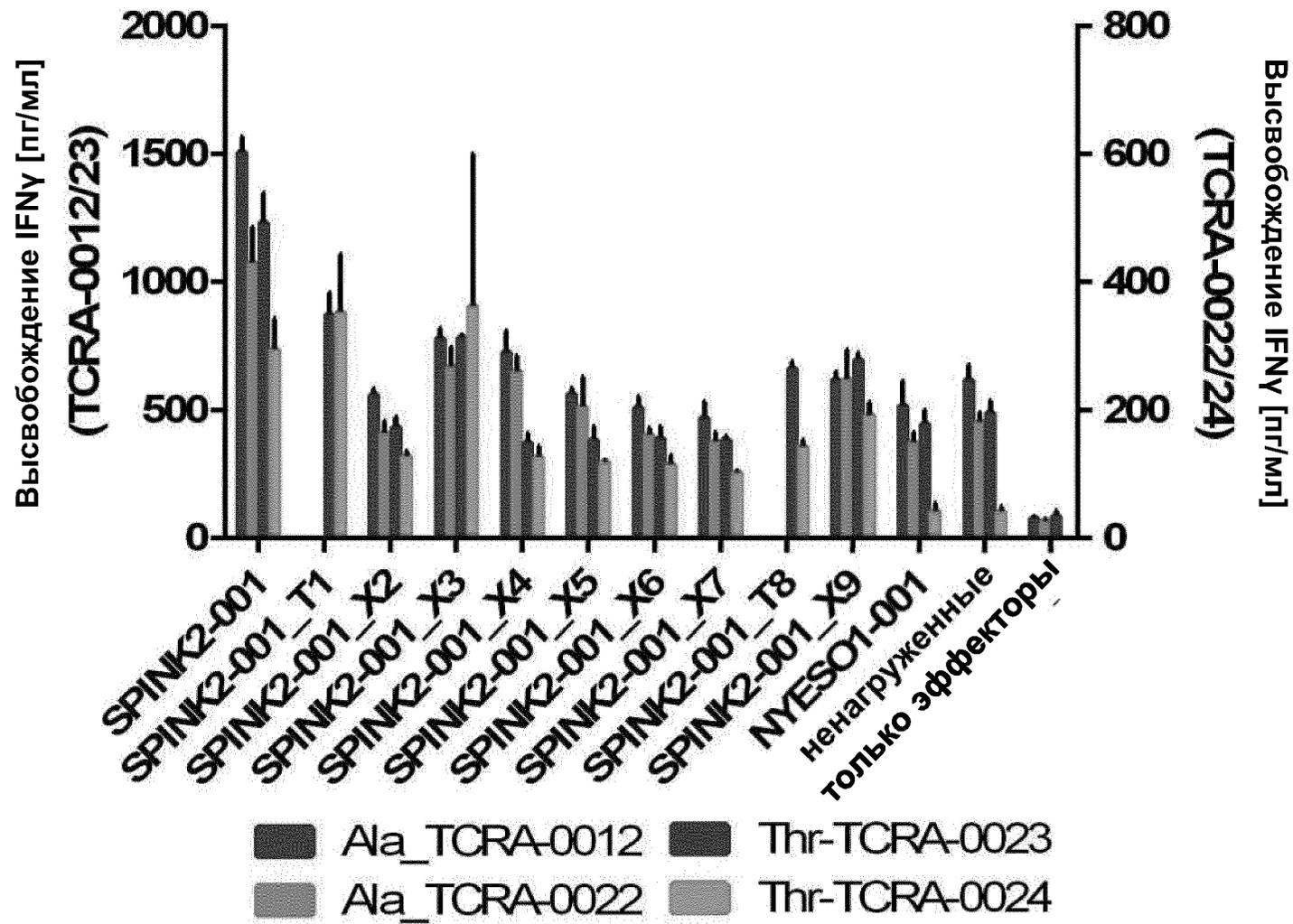
Фигура 3:



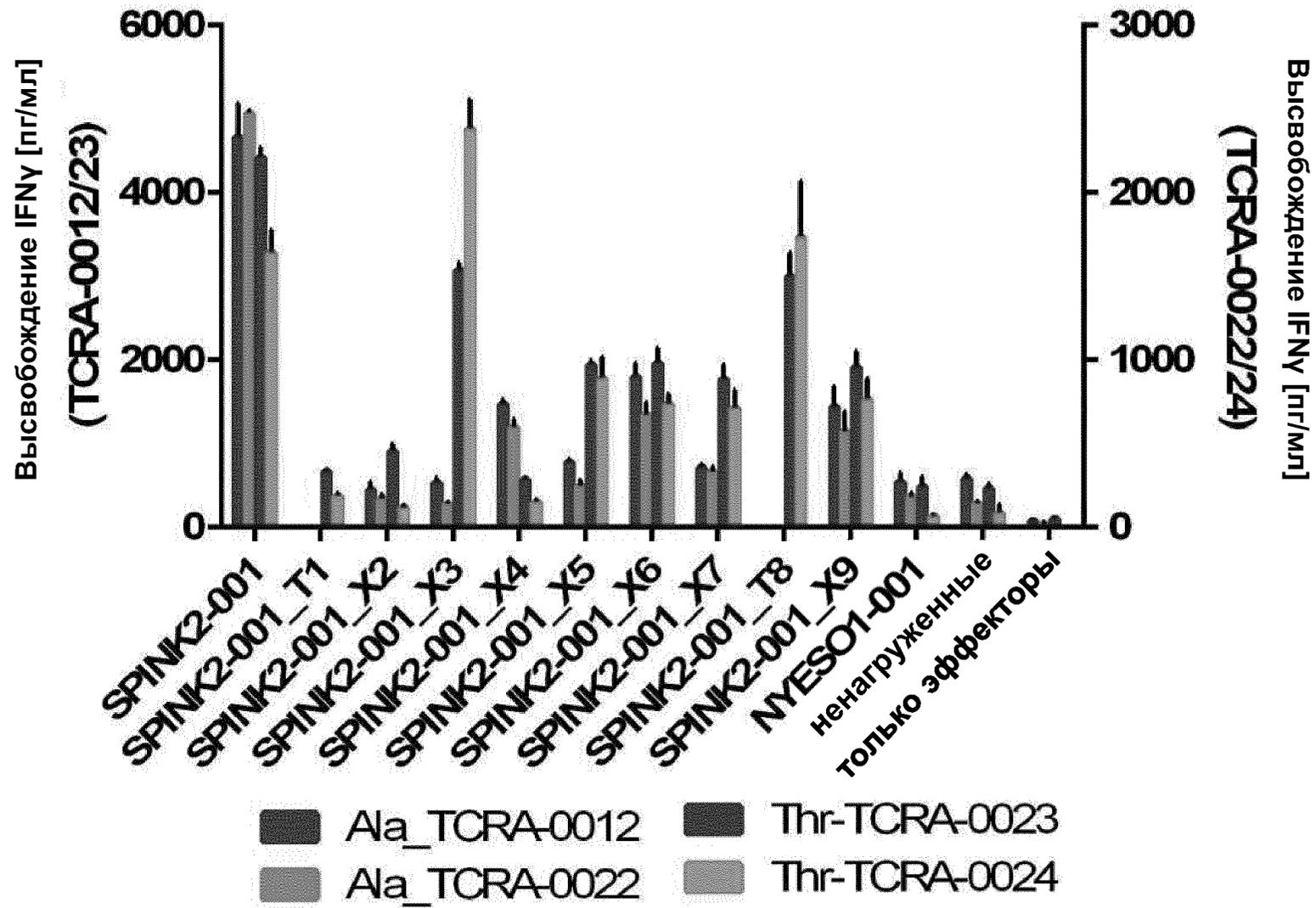
Фигура 4:



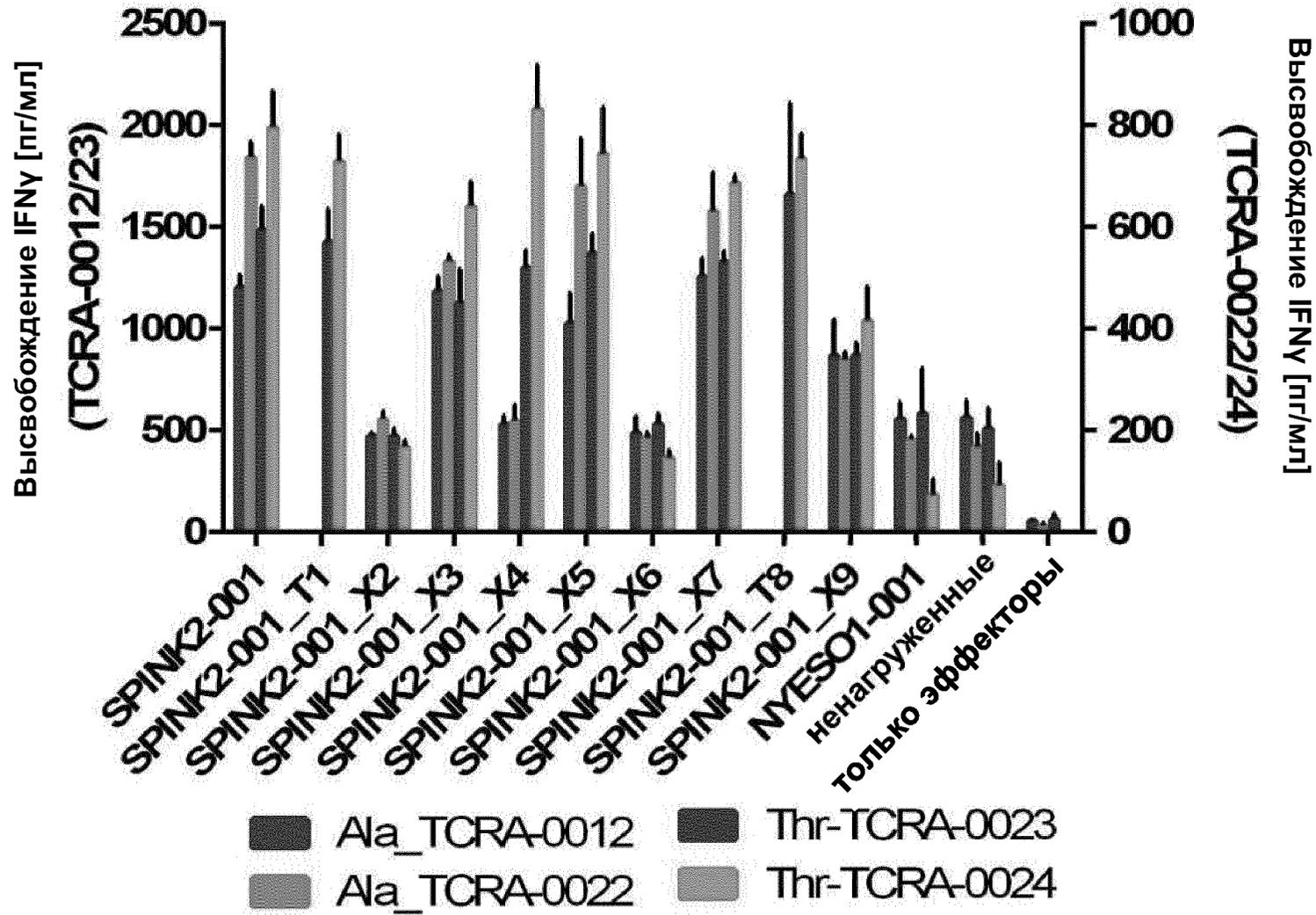
Фигура 5:



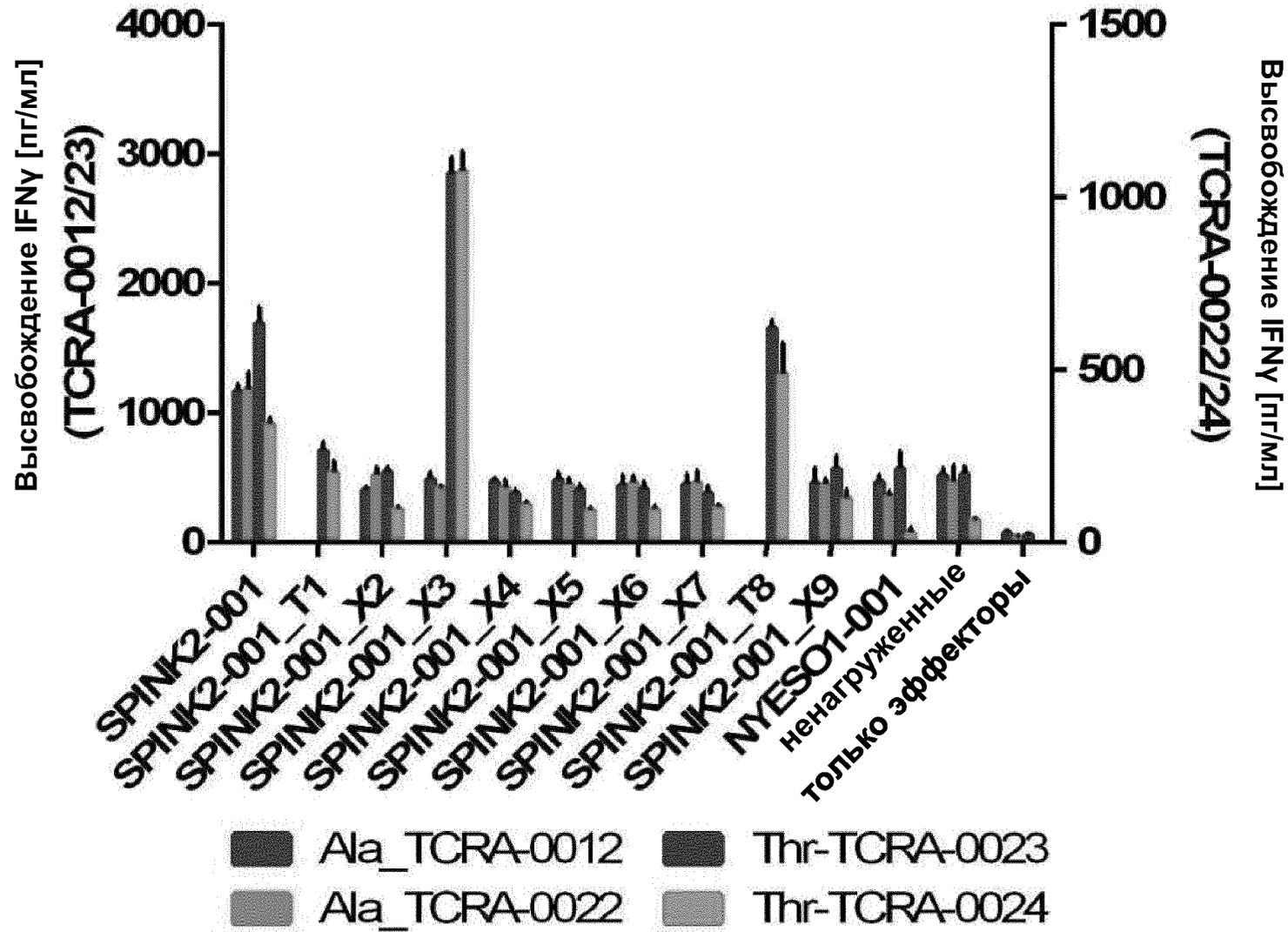
Фигура 6:



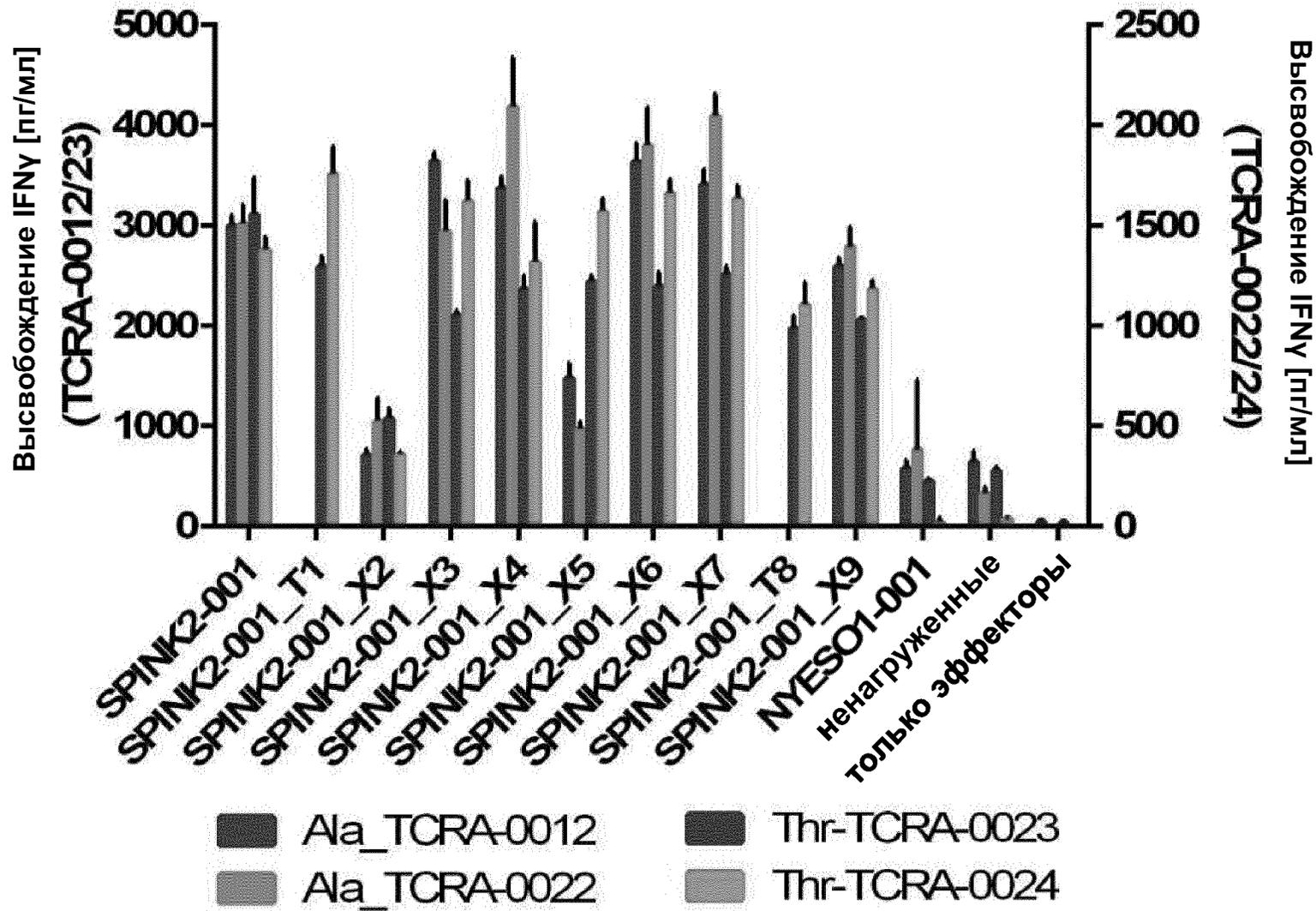
Фигура 7:



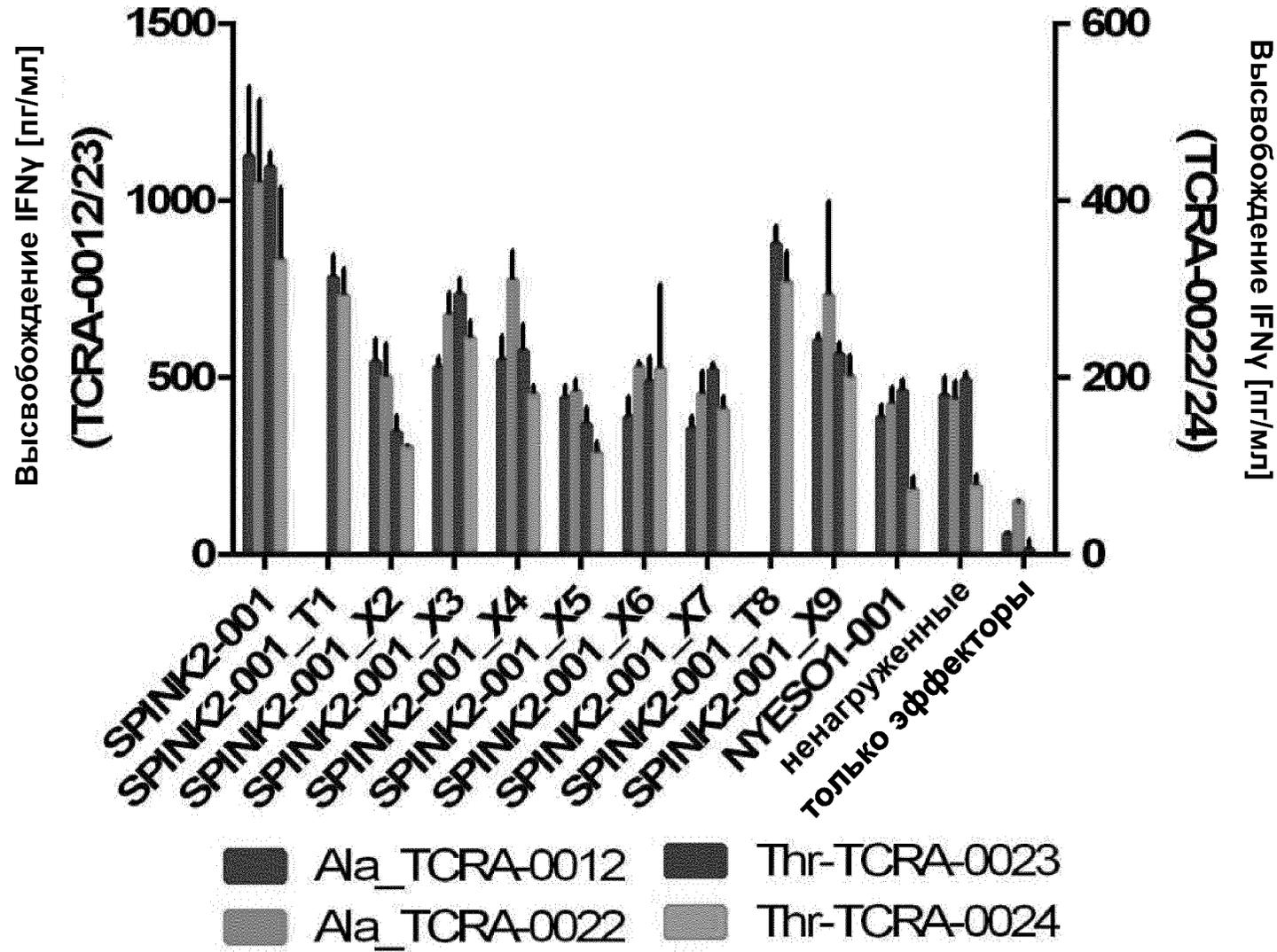
Фигура 8:



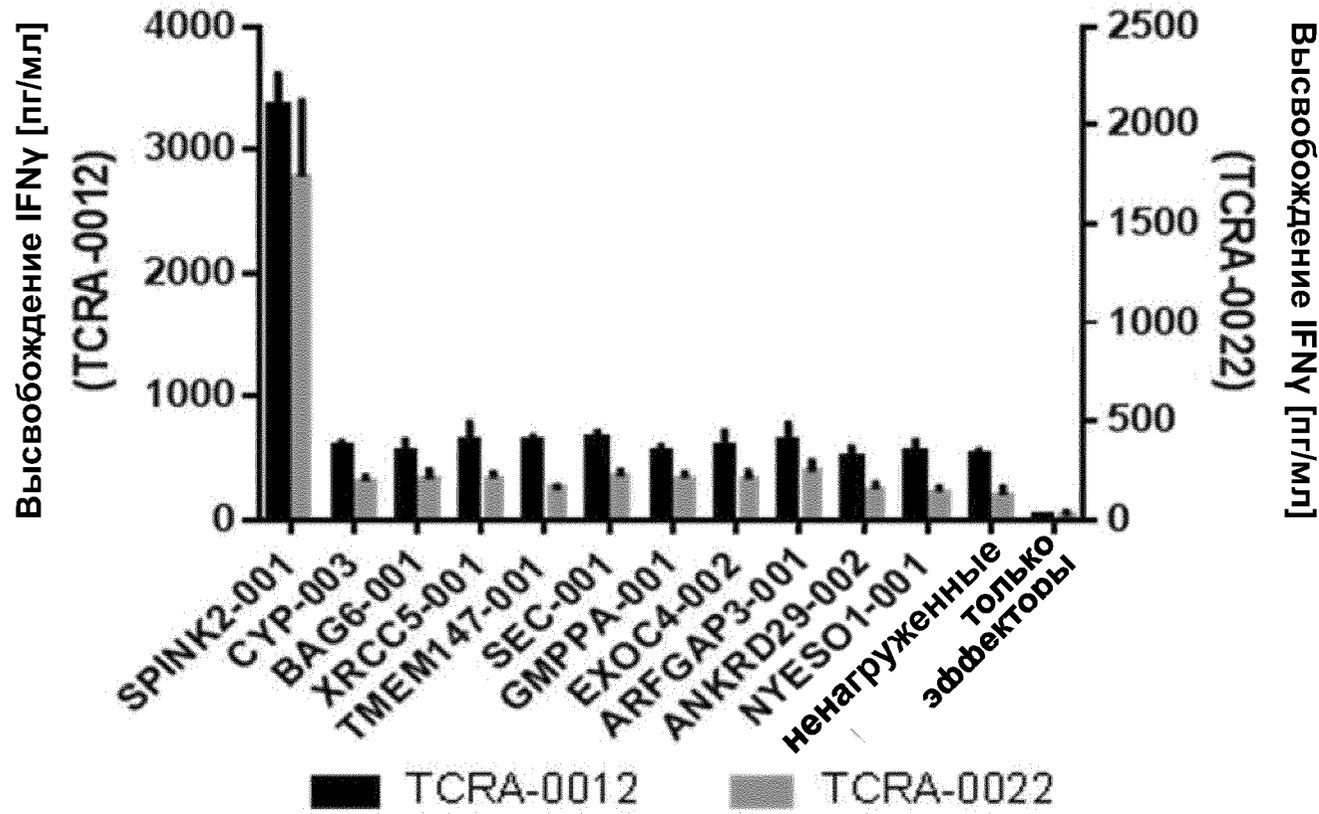
Фигура 9:



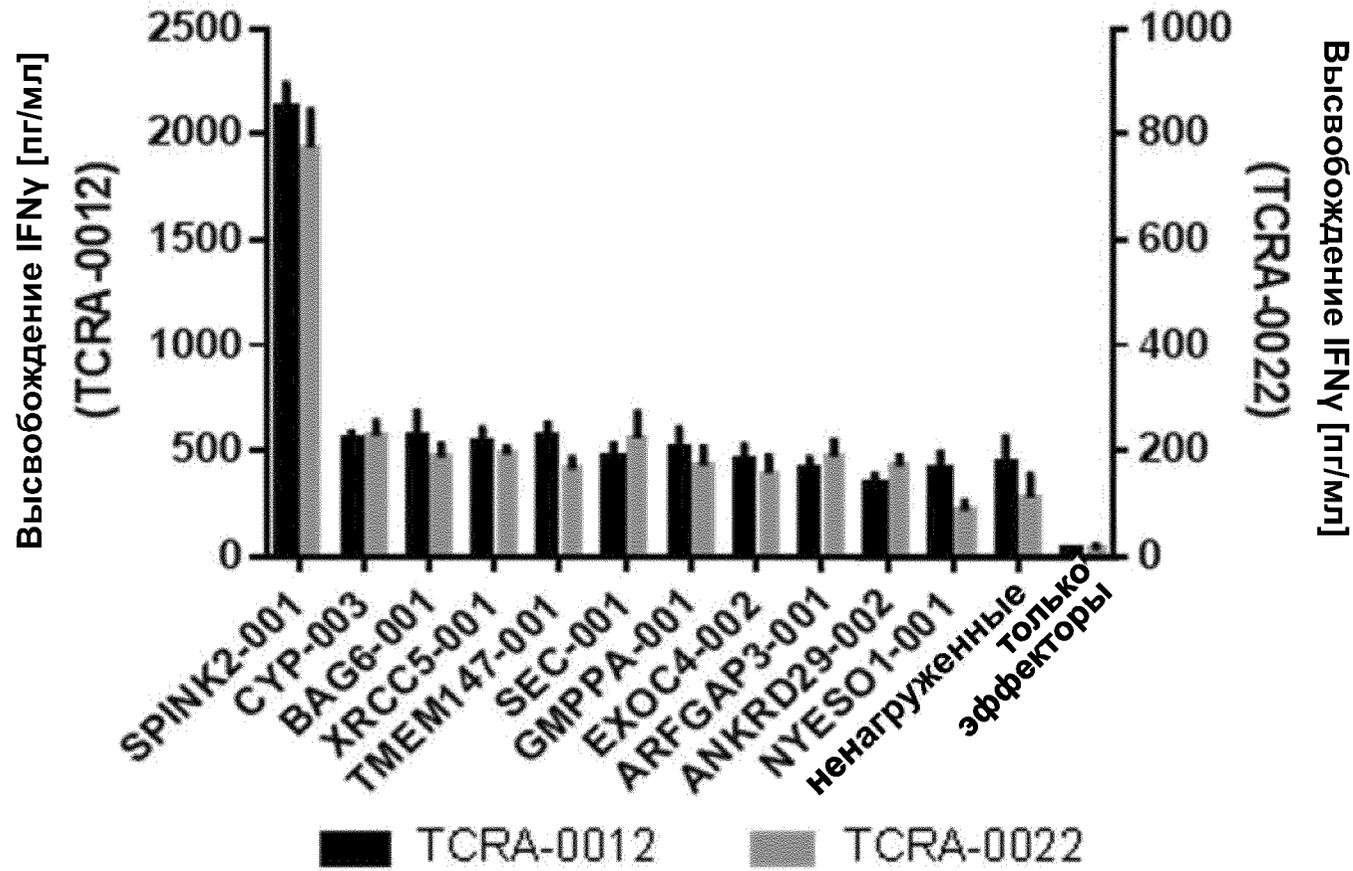
Фигура 10:



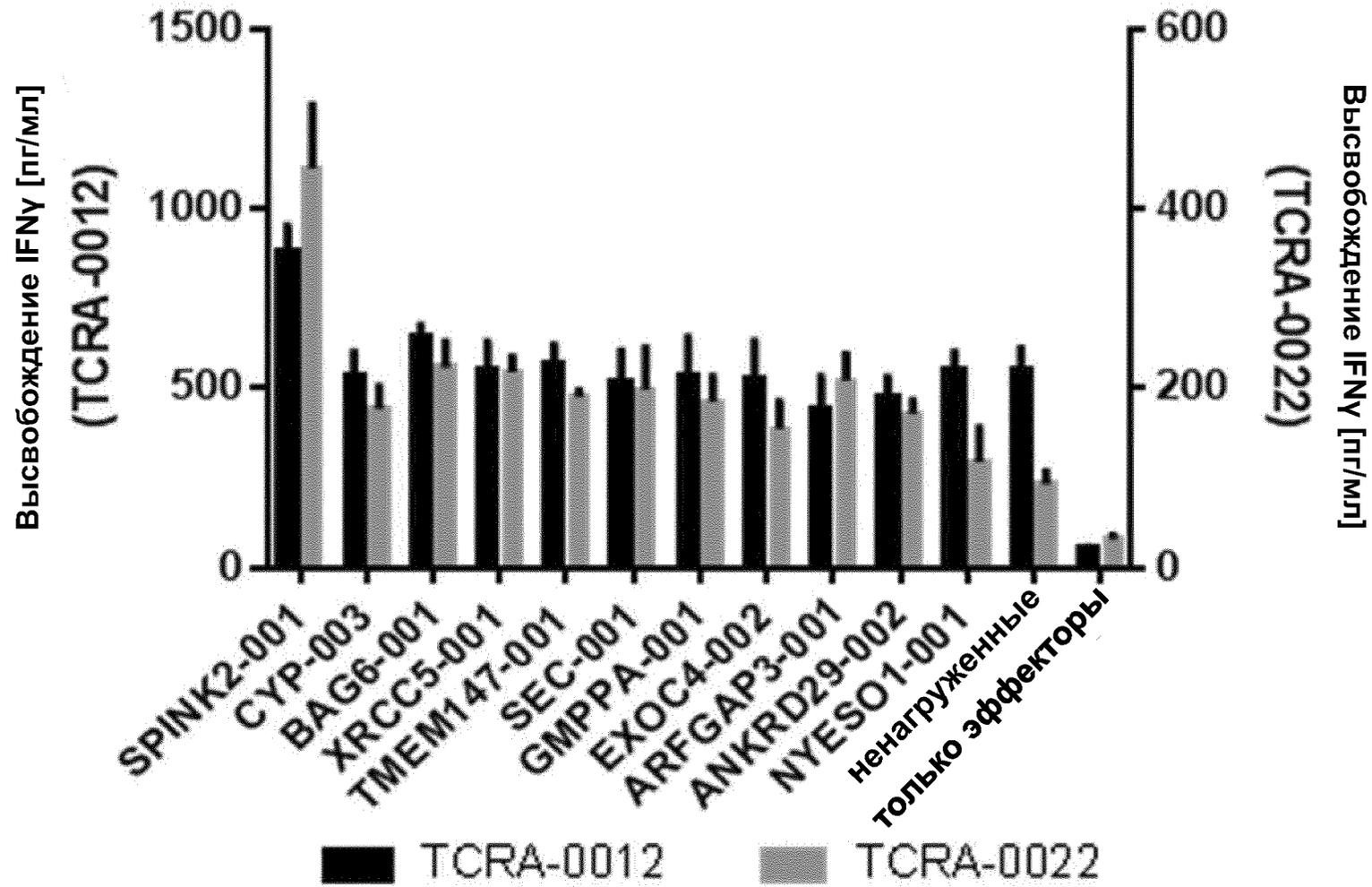
Фигура 11:



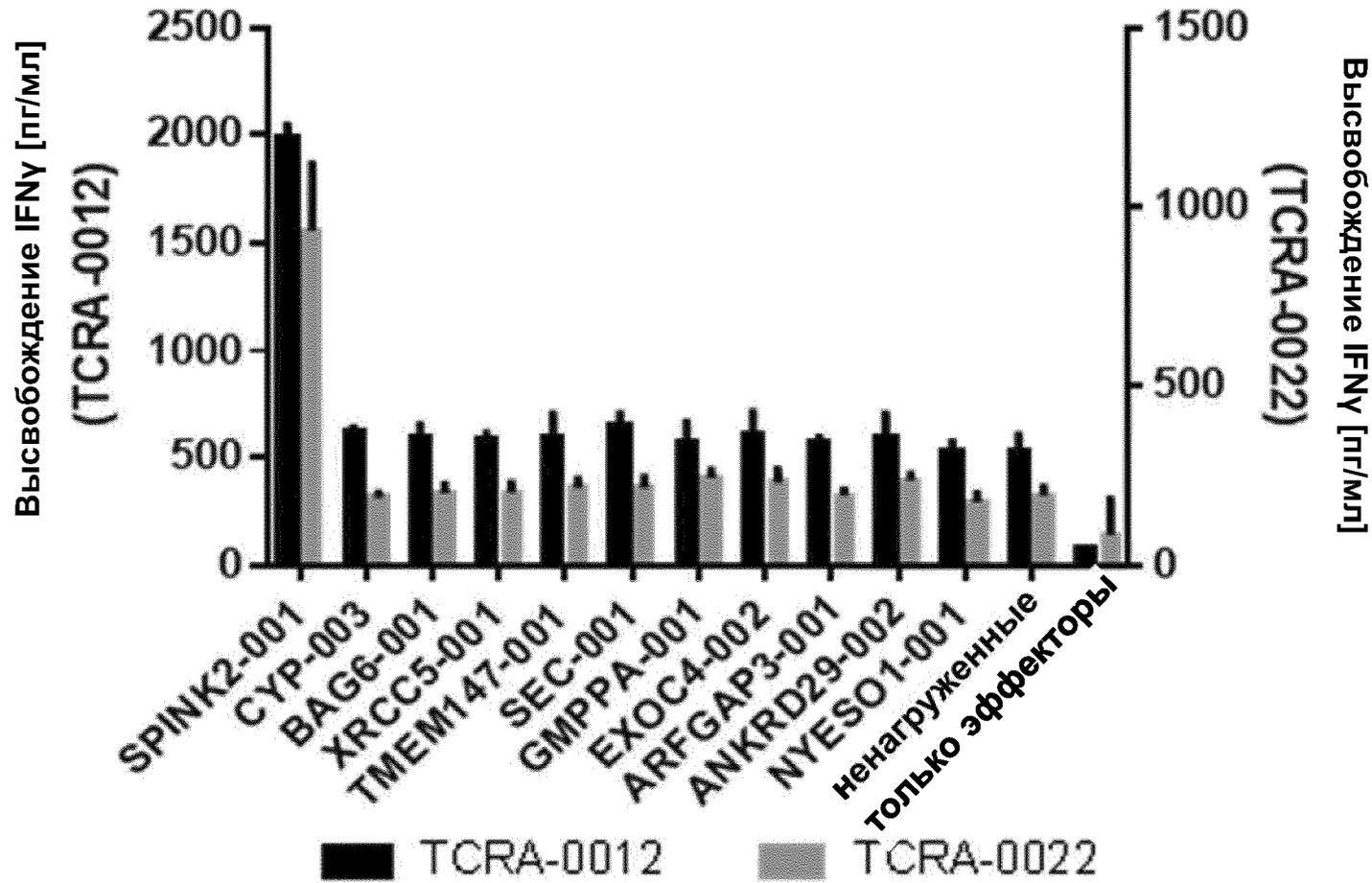
Фигура 12:



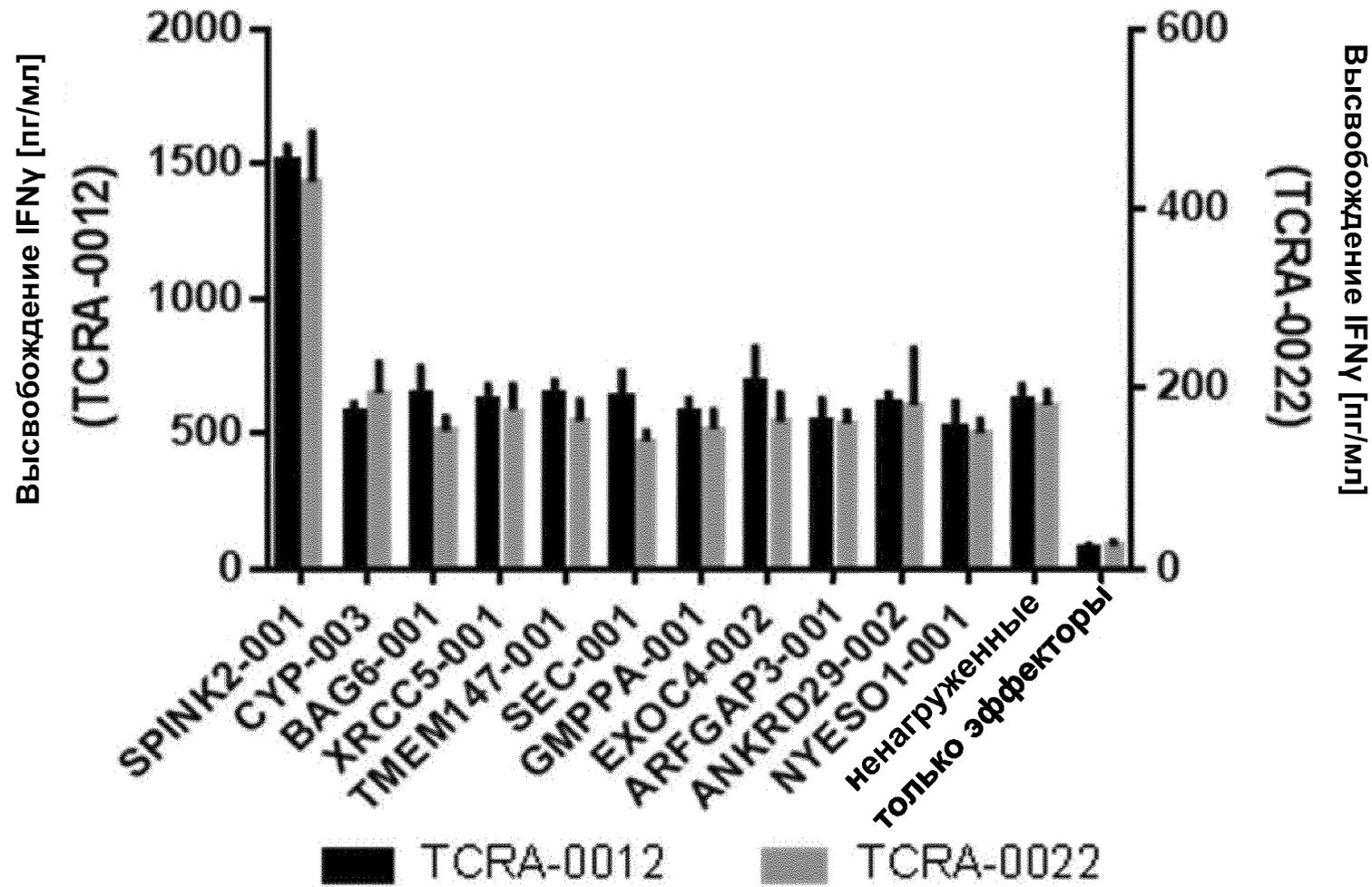
Фигура:13:



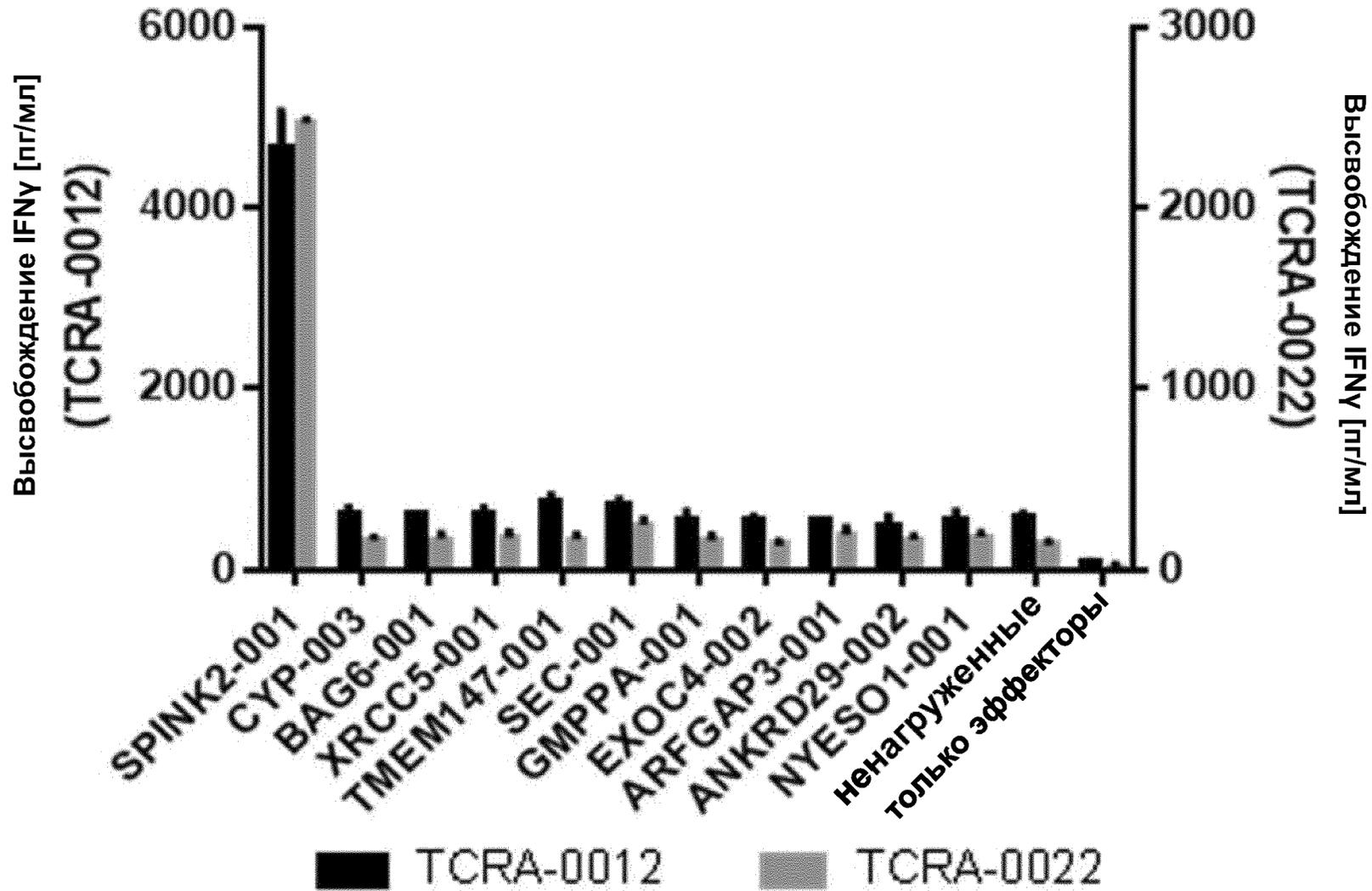
Фигура 14:



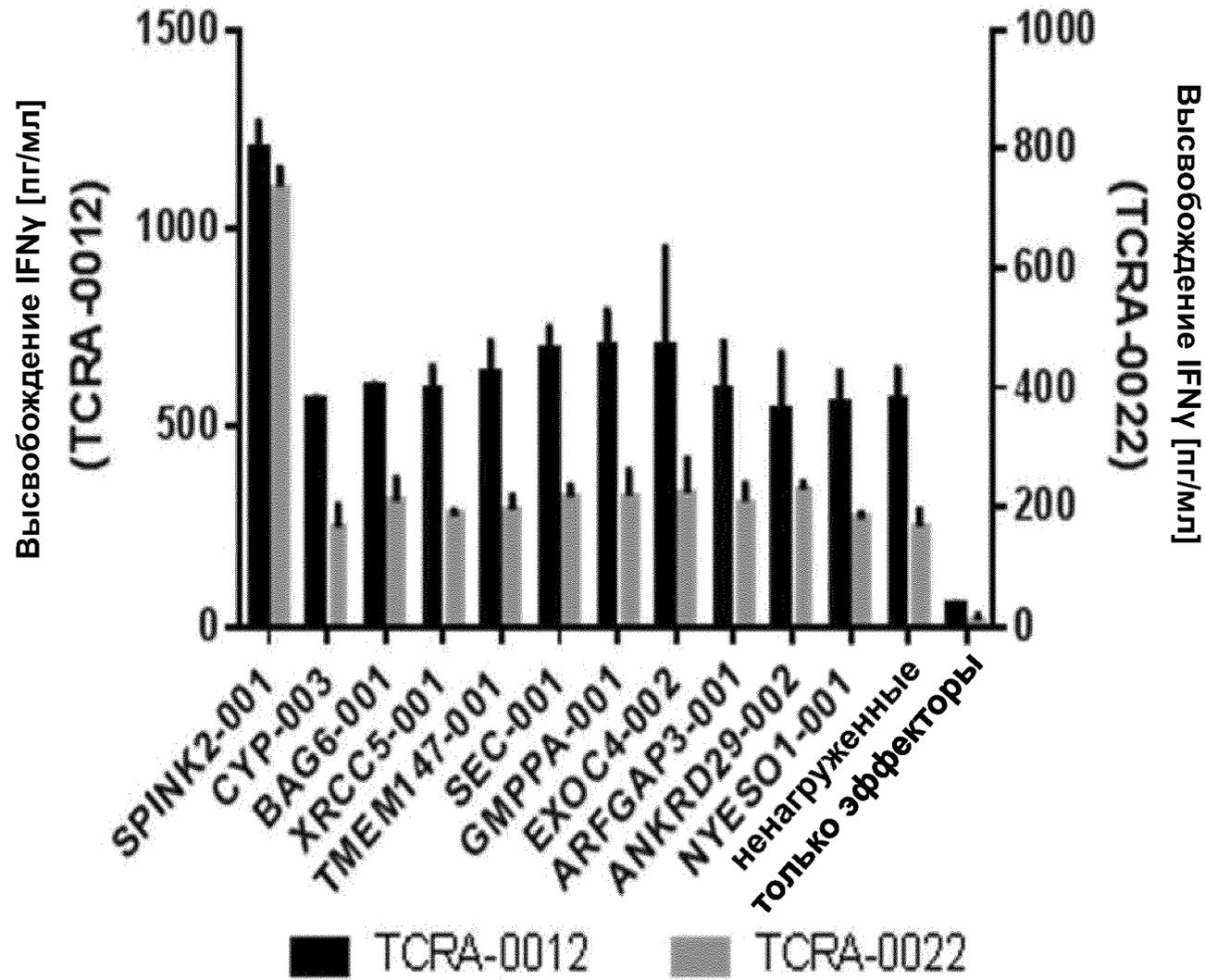
Фигура 15:



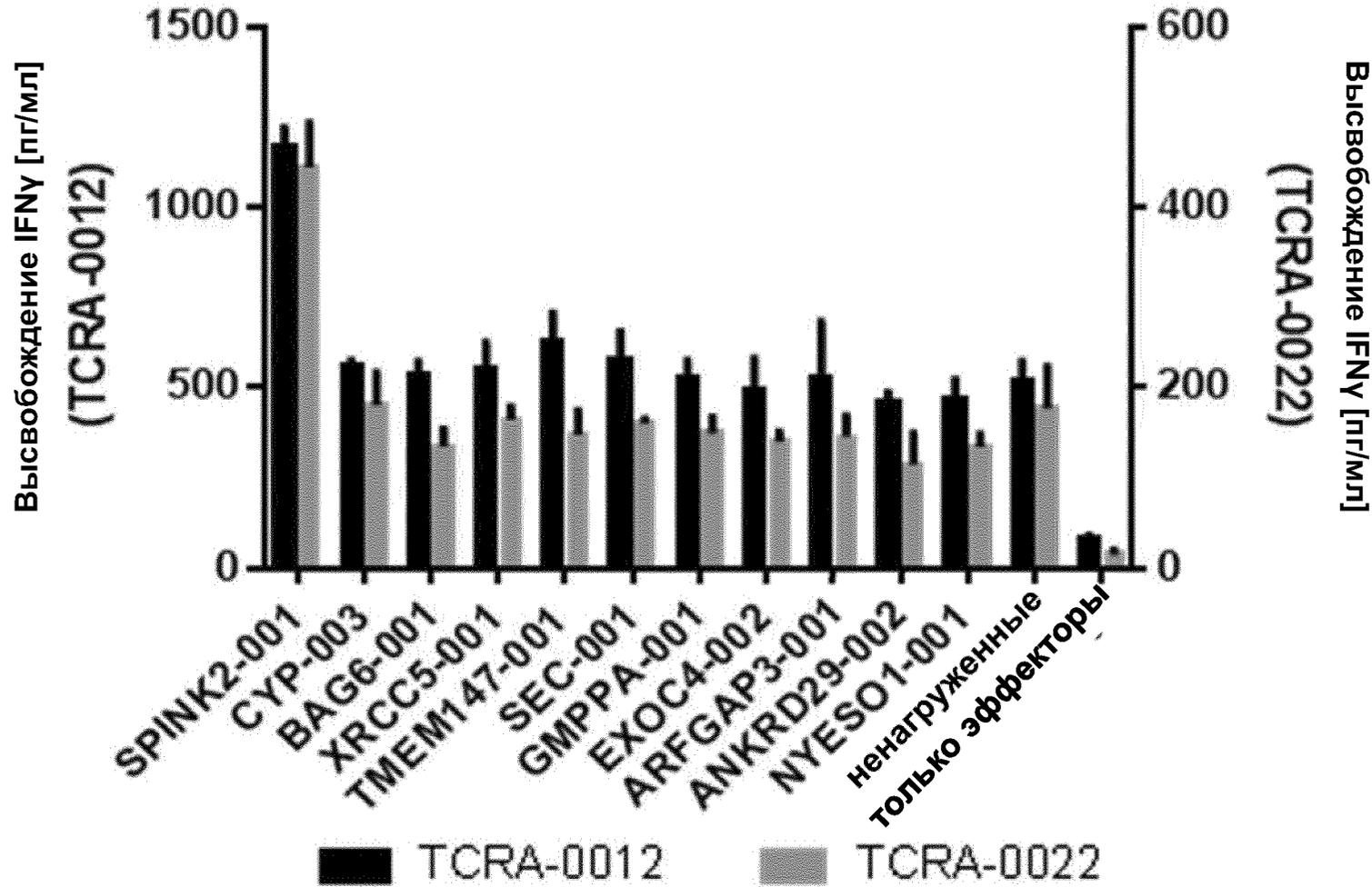
Фигура 16:



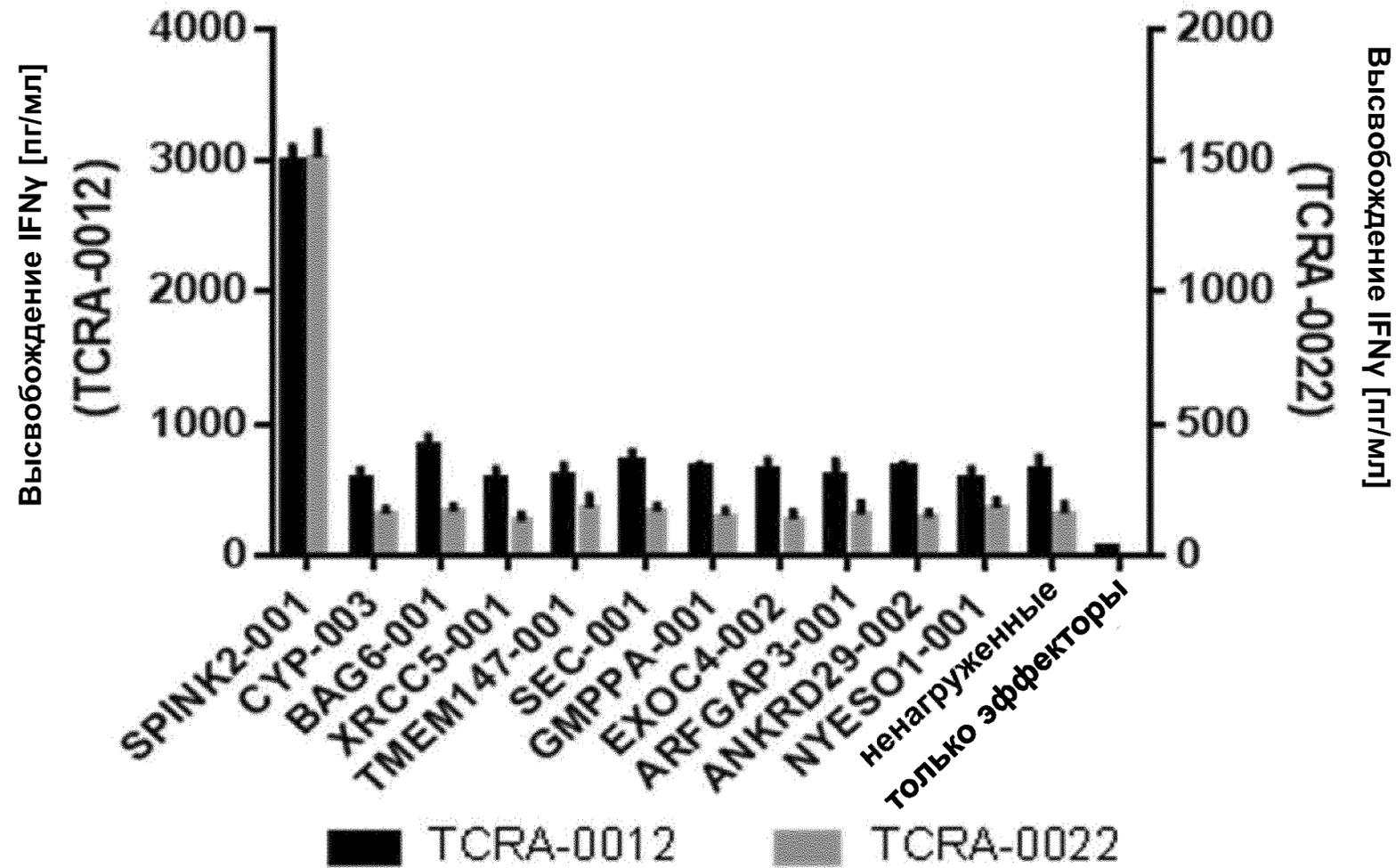
Фигура 17:



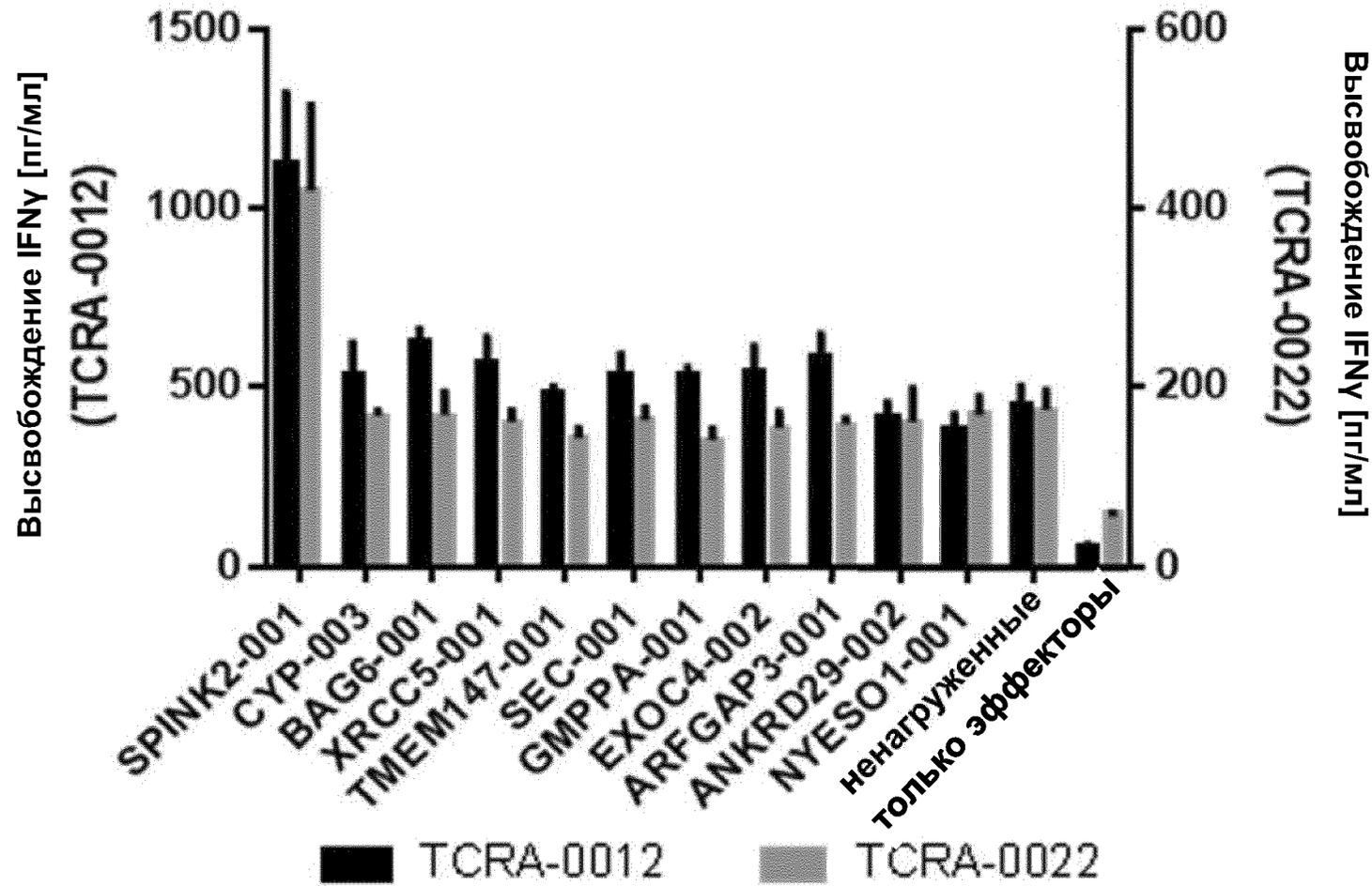
Фигура 18:



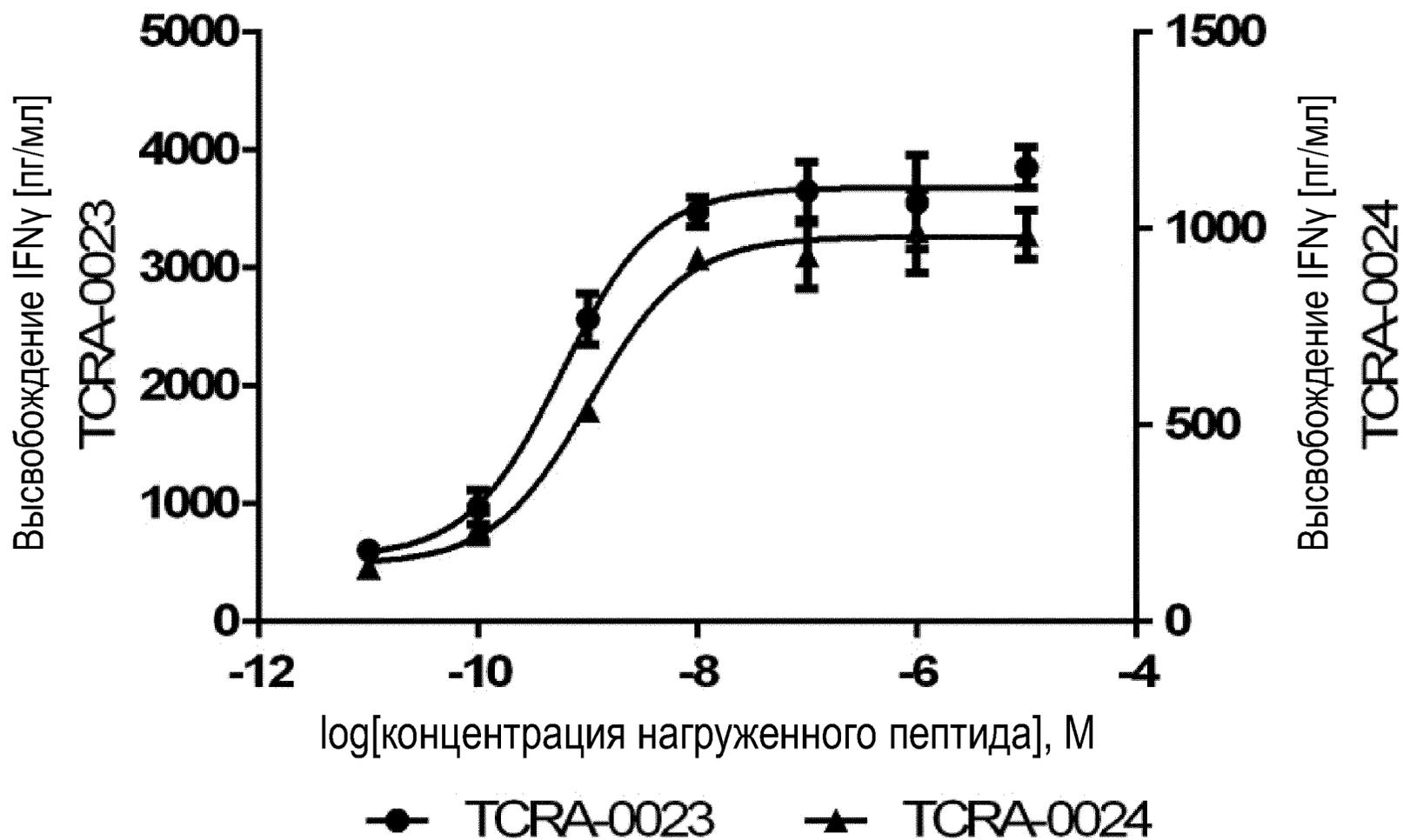
Фигура 19:



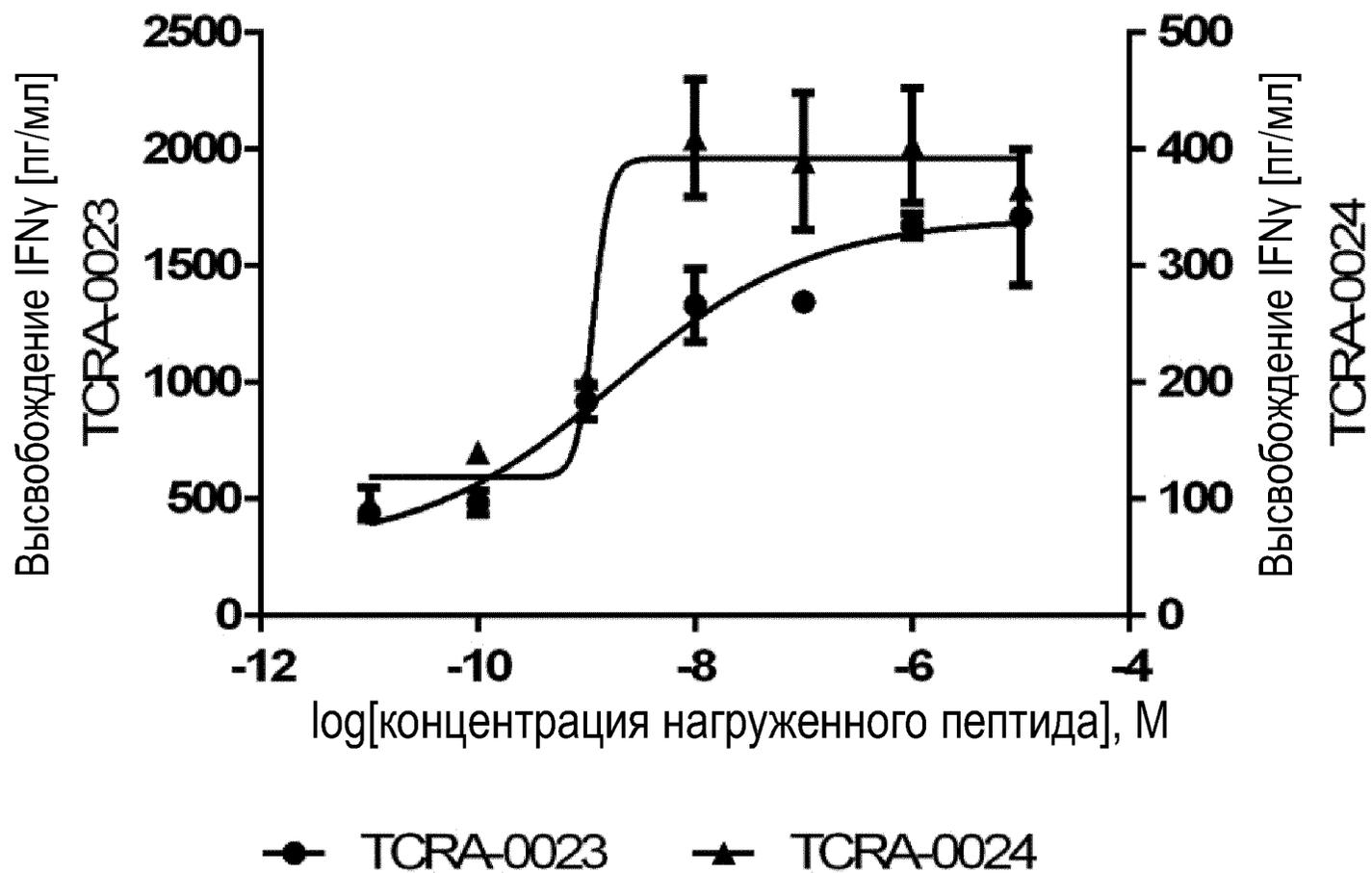
Фигура 20:



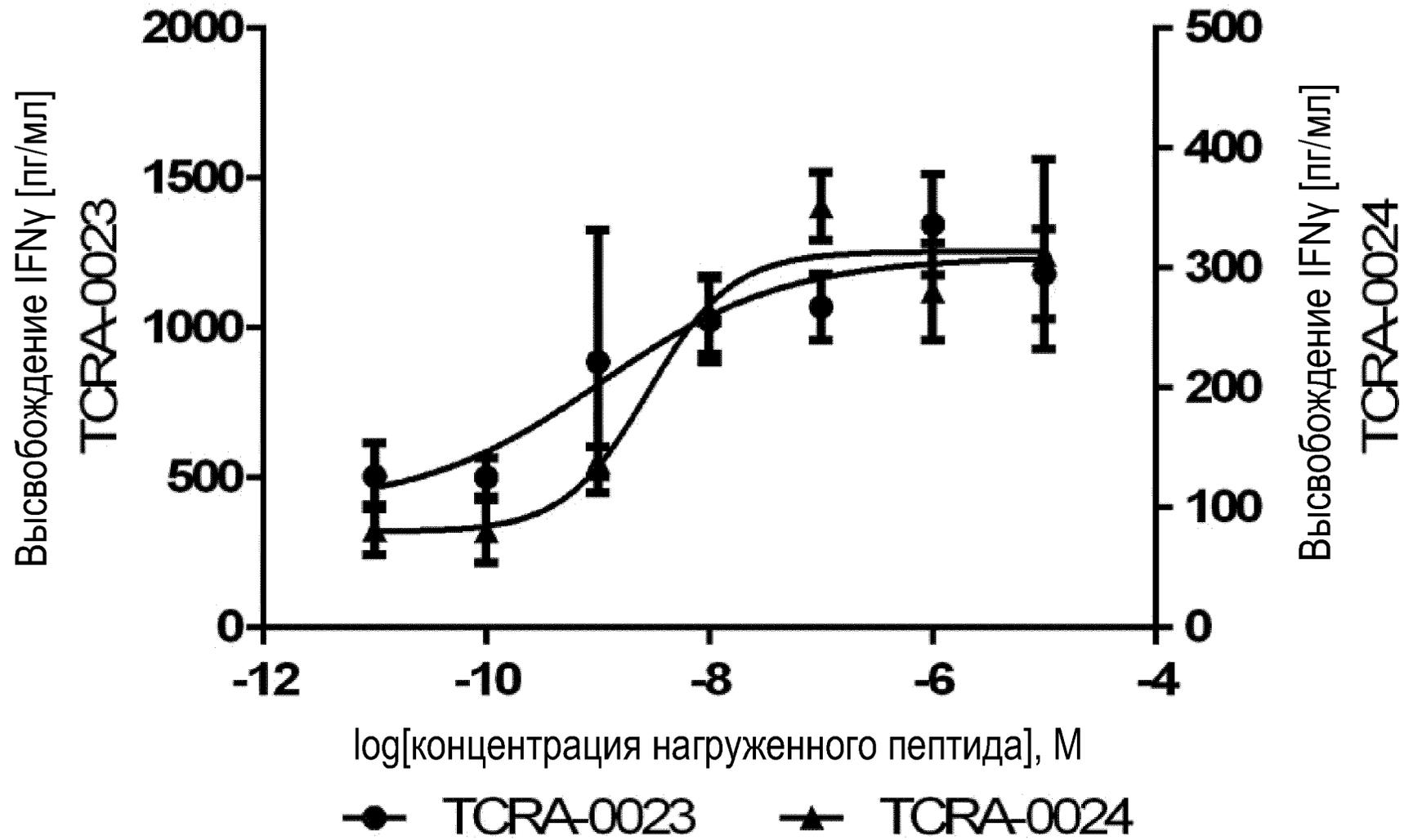
Фигура 21:



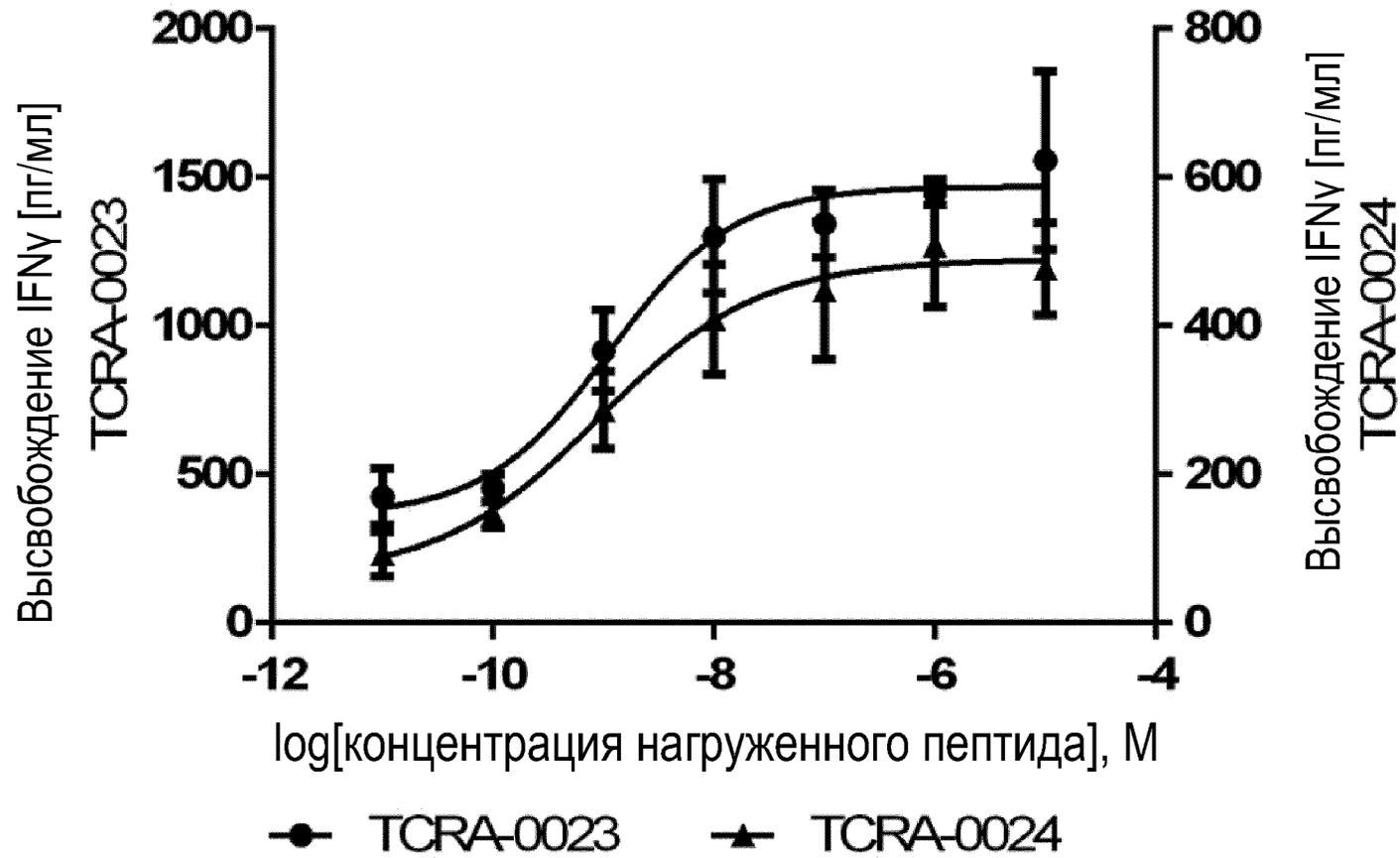
Фигура 22:



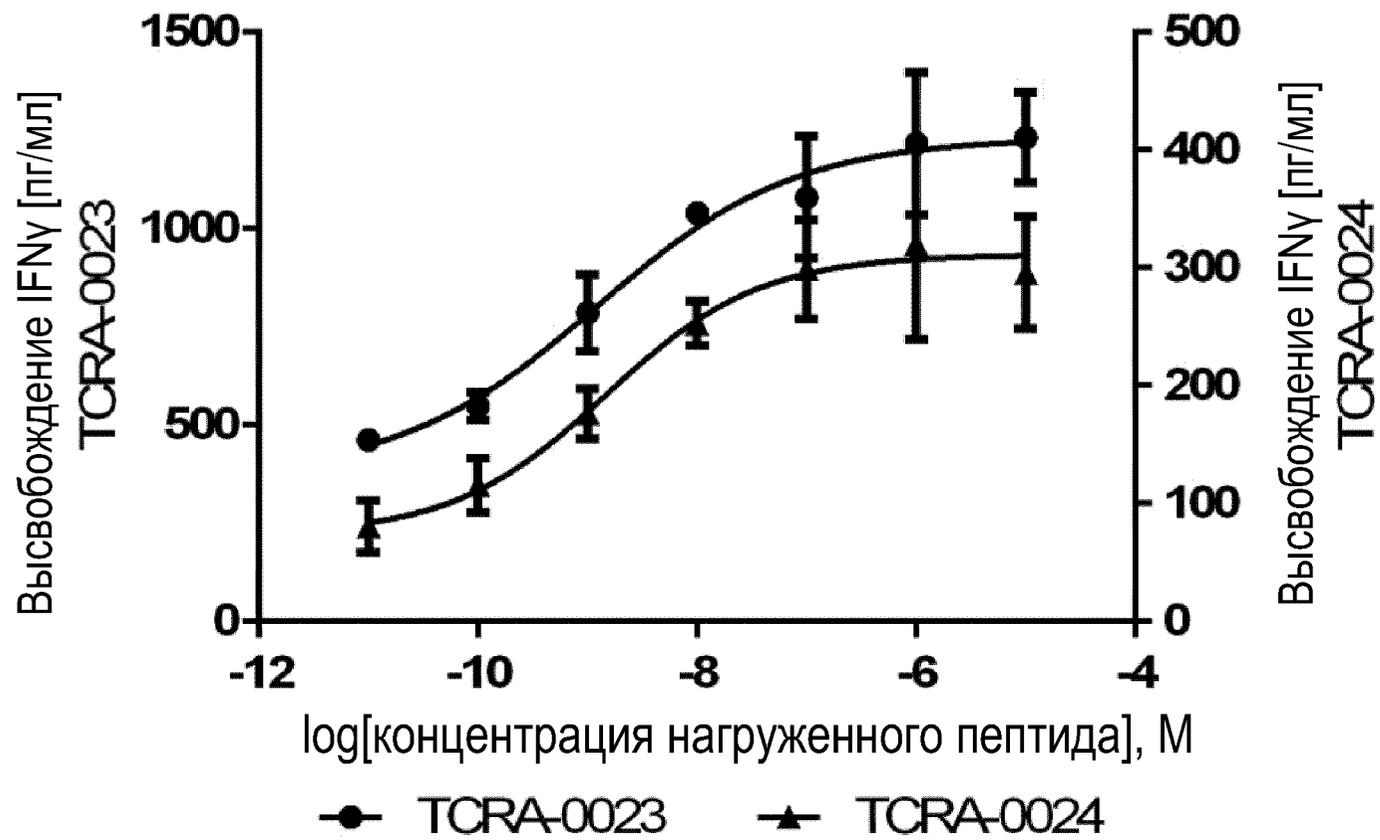
Фигура 23:



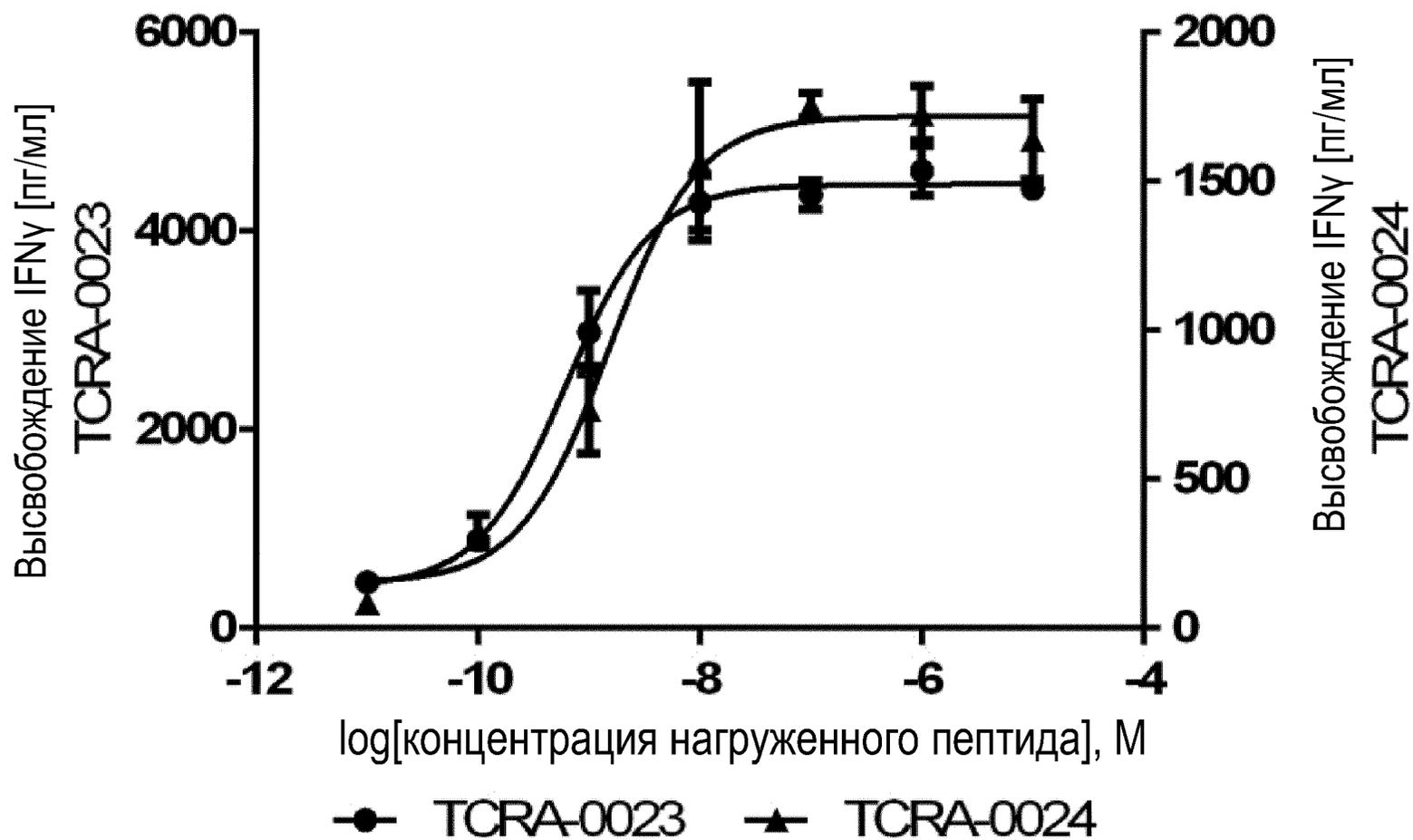
Фигура 24:



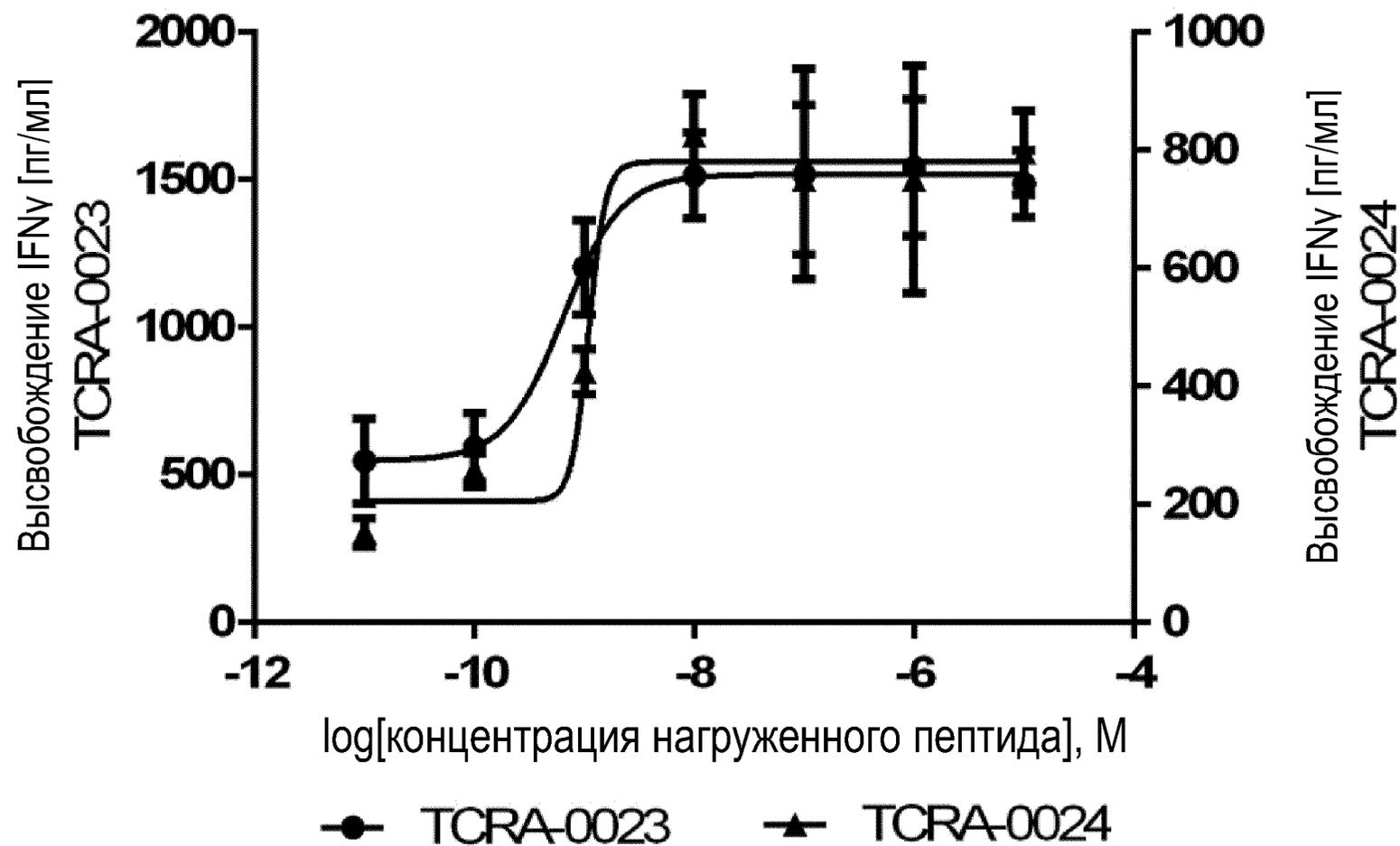
Фигура 25:



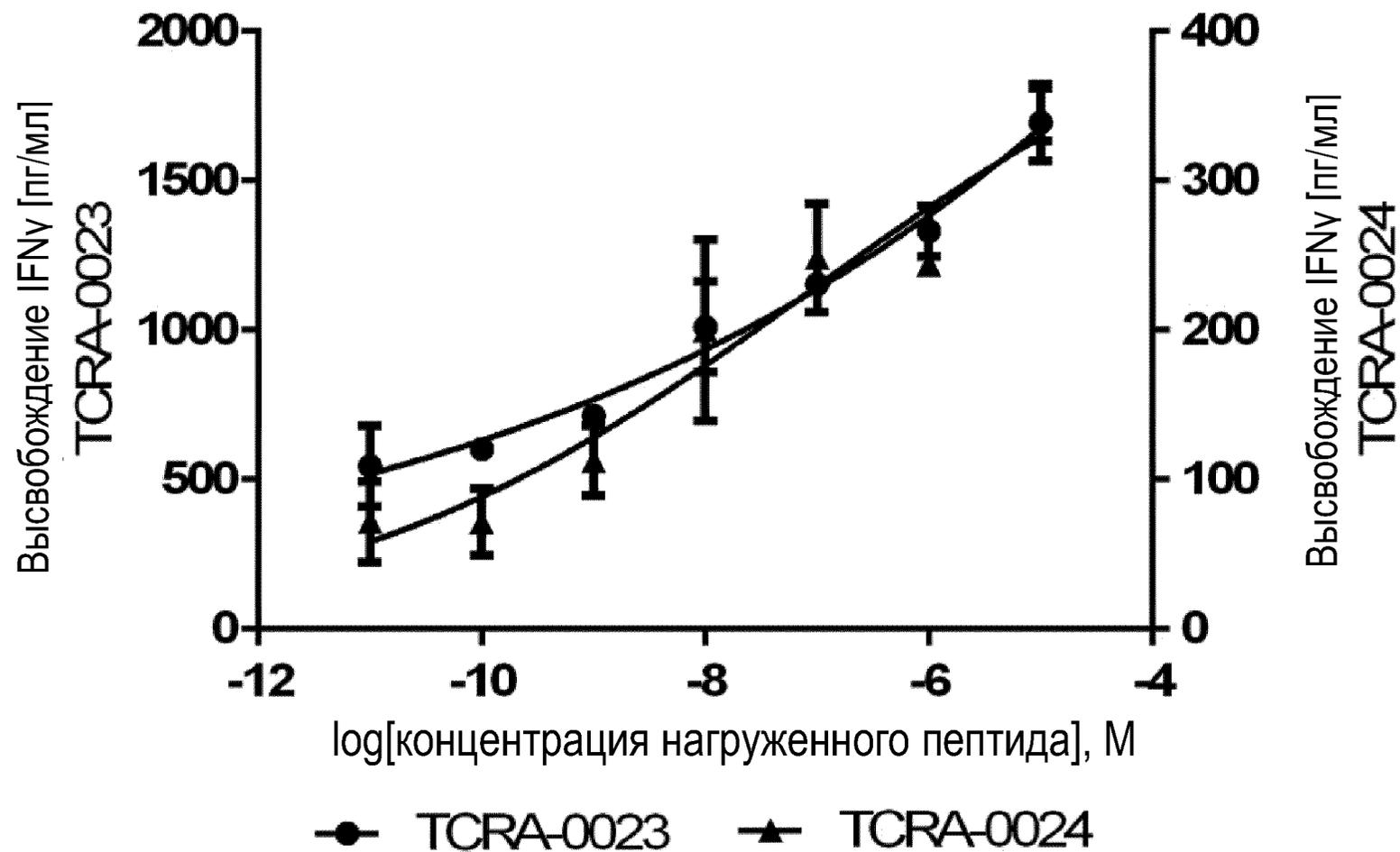
Фигура 26:



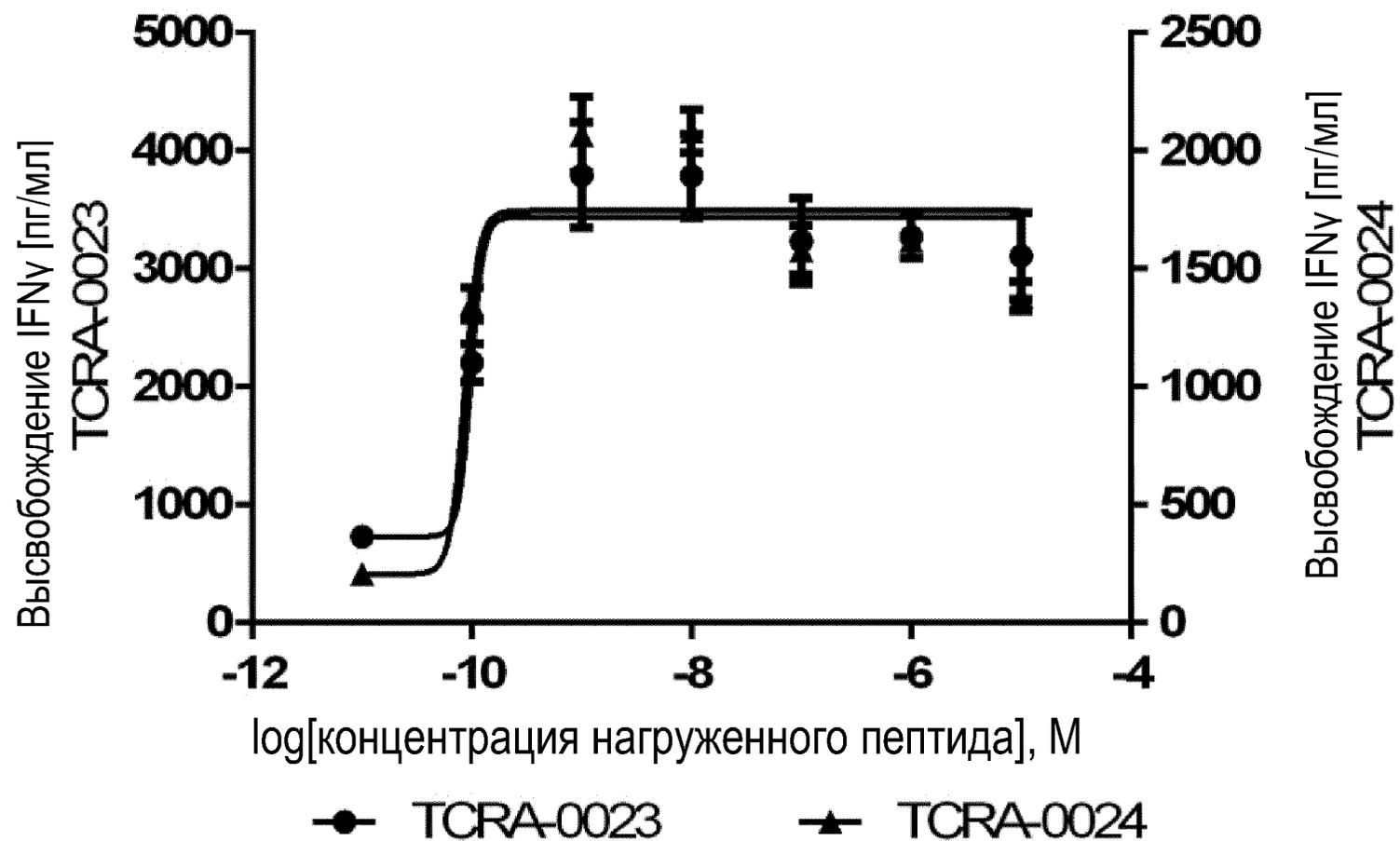
Фигура 27:



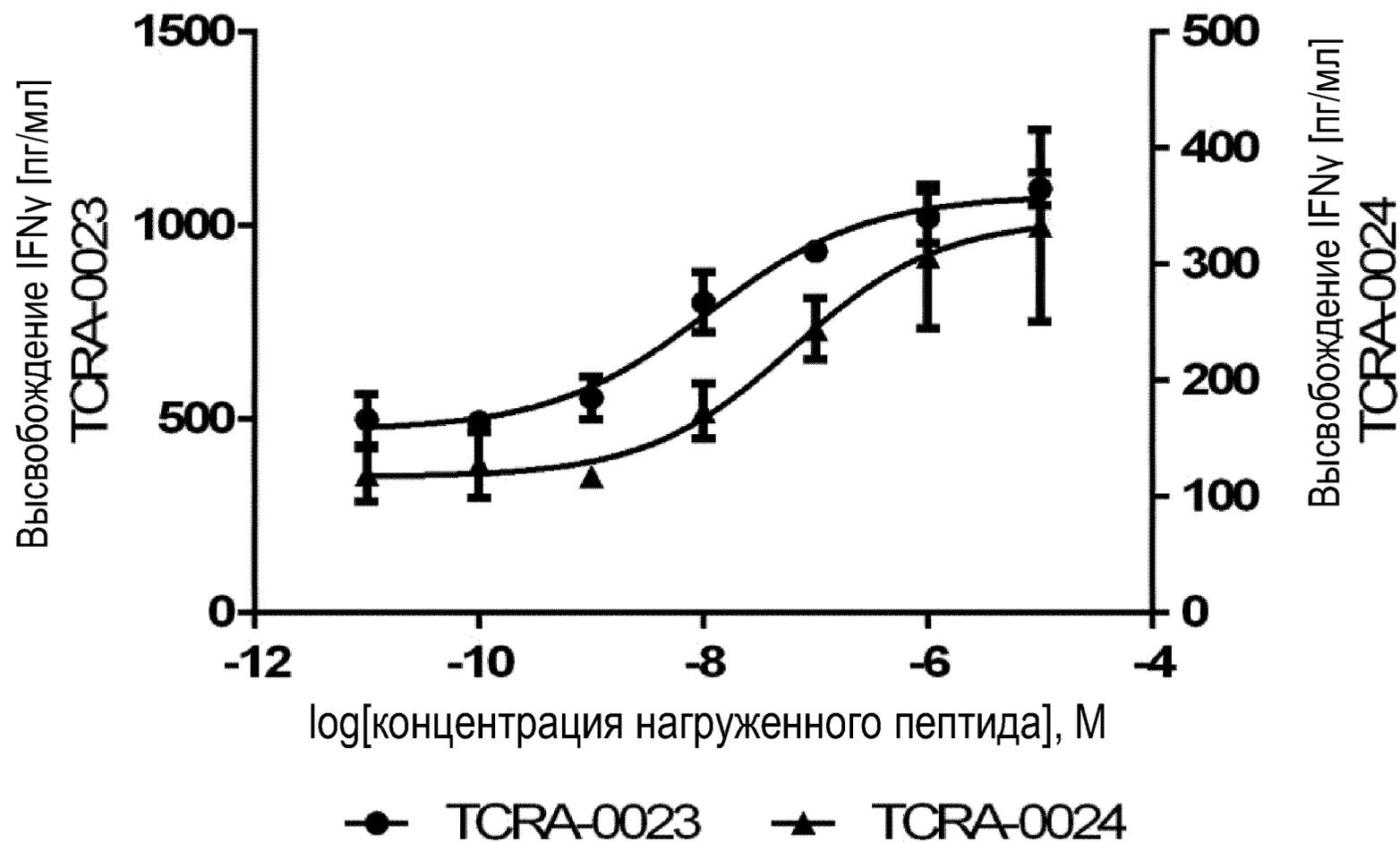
Фигура 28:



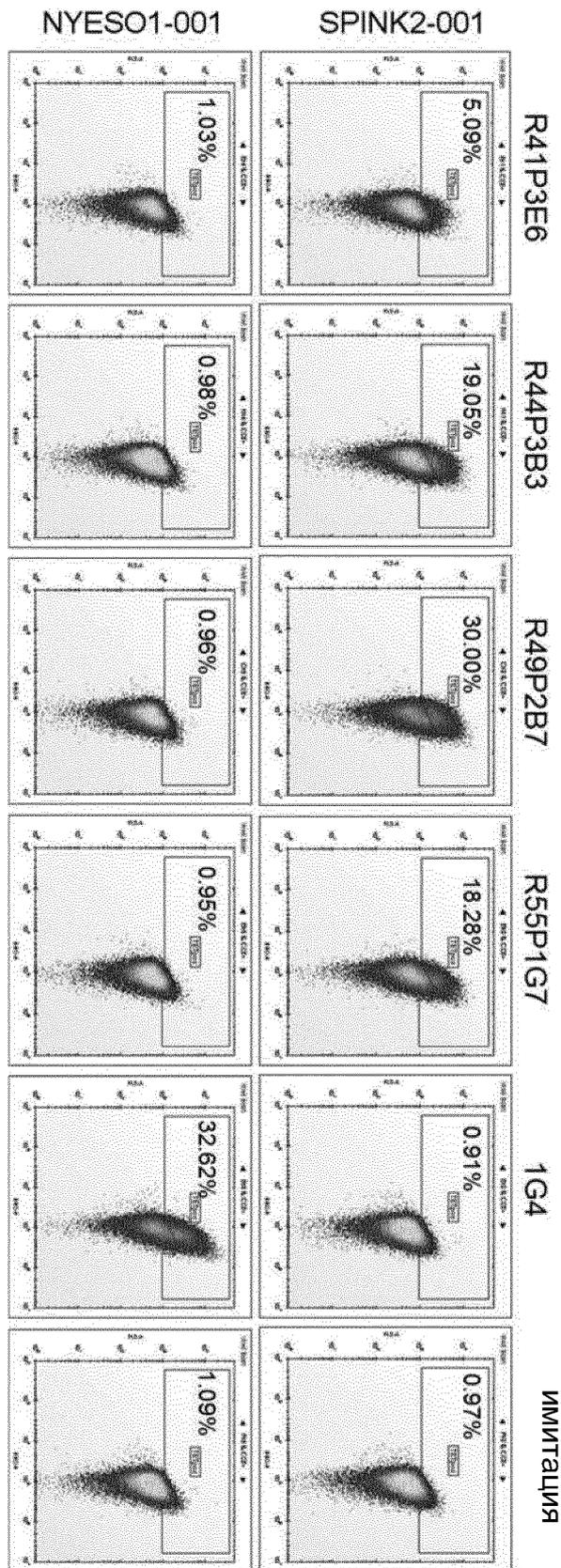
Фигура 29:



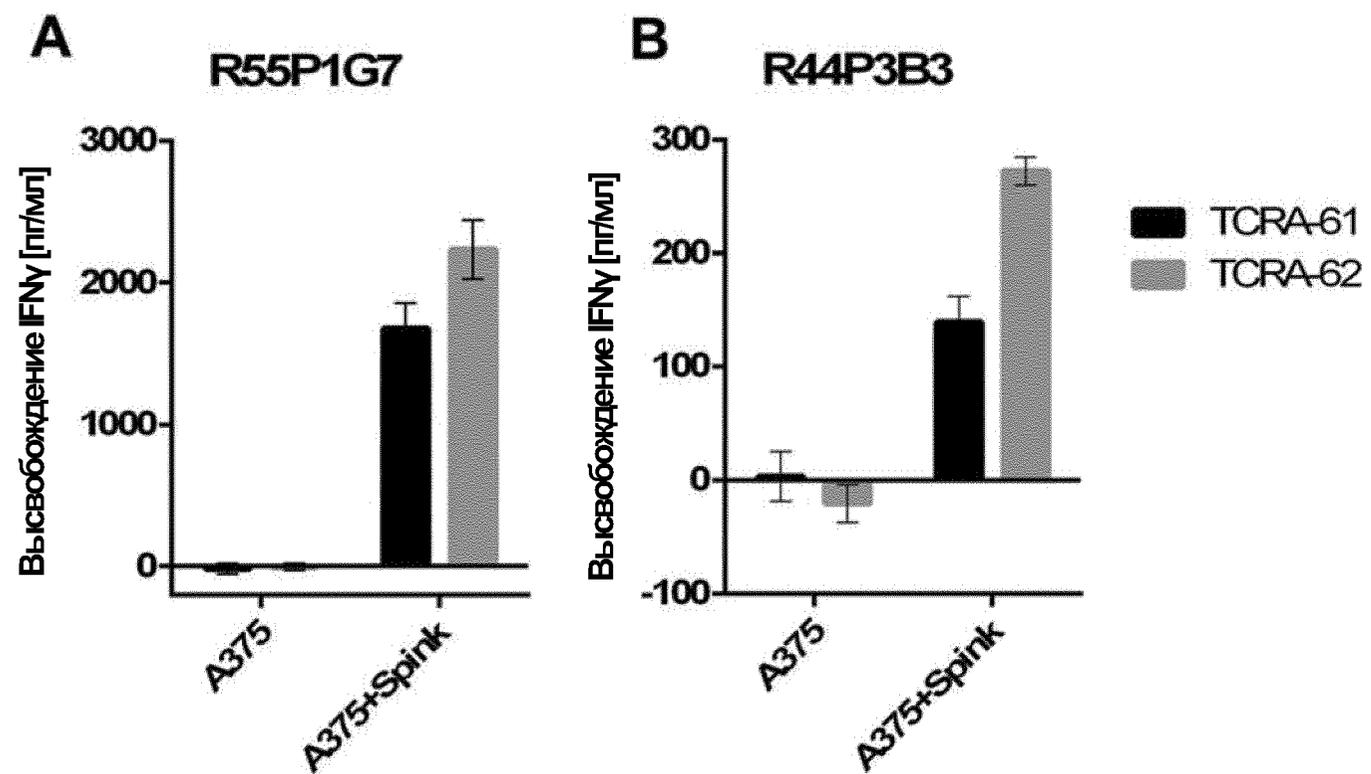
Фигура 30:



Фигура 31:



Фигура 32:



Фигура 33:

