

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202290075 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.04.05

(51) Int. Cl. C07K 16/30 (2006.01)
C07K 19/00 (2006.01)
C12N 15/62 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.06.17

(54) Т-КЛЕТОЧНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ К MAGE-A4 И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 62/862,726; 62/871,793

(32) 2019.06.18; 2019.07.09

(33) US

(86) PCT/US2020/038142

(87) WO 2020/257288 2020.12.24

(88) 2021.04.08

(71) Заявитель:

РИДЖЕНЕРОН

ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)

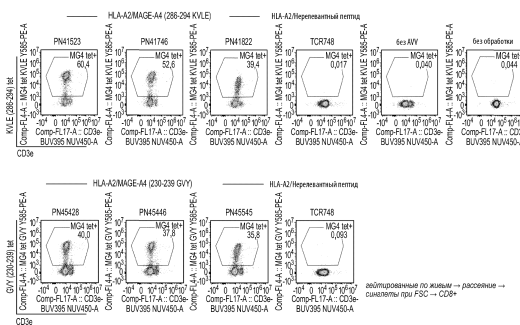
(72) Изобретатель:

Бауэрман Натали, Гурер Каган,
Хансен Джоанна (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) В настоящем изобретении представлены выделенные Т-клеточные рецепторы (TCR), которые специфически связываются с пептидом презентруемого HLA ракового антигена яичка меланома-ассоциированного антигена 4 (MAGE-A4), а также к терапевтическим и диагностическим способам применения этих выделенных TCR.



A1

202290075

202290075

A1

Т-КЛЕТОЧНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ К MAGE-A4 И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ**

[0001] Настоящая заявка заявляет приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/862726, поданной 18 июня 2019 года и предварительной заявке на патент США № 62/871793, поданной 9 июля 2019 года. Полное содержание каждой из упомянутых выше заявок включено в данный документ посредством ссылки.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0002] Настоящая заявка содержит перечень последовательностей, который был подан в электронном виде в формате с кодировкой ASCII и, таким образом, включен в данный документ посредством ссылки в полном объеме. Указанная копия в формате ASCII, созданная 15 июня 2020 года, называется 118003_00320_SL.txt, а ее размер составляет 344832 байт.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0003] Т-клеточные рецепторы (TCR) представляют собой мембраносвязанные гетеродимеры, содержащие α - и β -цепи, напоминающие переменную (V) и константную (C) область иммуноглобулина. α -цепь TCR содержит V- α -цепь, ковалентно связанную с V- α - и C- α -цепью, в то время как β -цепь содержит V- β -цепь, ковалентно связанную с C- β -цепью. V- α - и V- β -цепи образуют карман или щель, которые могут связывать антиген в контексте главного комплекса гистосовместимости (МНС) (известного у человека как комплекс HLA). (Davis *Ann. Rev. of Immunology* 3: 537 (1985); *Fundamental Immunology* 3rd Ed., W. Paul Ed. New York (1993)).

[0004] TCR представляют собой первичные эффекторы иммунной системы, которые обладают уникальными преимуществами в качестве платформы для разработки терапевтических средств. В то время как терапевтические средства на основе антител ограничиваются распознаванием патогенов в крови и внеклеточных пространствах или белковыми мишенями на поверхности клетки, Т-клеточные рецепторы могут распознавать антигены, экспонируемые молекулами МНС на поверхности клеток, включая антигены, происходящие из внутриклеточных белков. В зависимости от подтипа Т-клеток, которые распознают экспонируемый антиген и становятся активированными, TCR могут участвовать в контроле различных иммунных ответов. Например, Т-клетки участвуют в регуляции гуморального иммунного ответа посредством индукции дифференцировки В-клеток в антителопродуцирующие клетки. Кроме того, активированные Т-клетки инициируют клеточноопосредованные иммунные ответы. Кроме того, сообщалось, что TCR опосредуют уничтожение клеток, повышают В-клеточную пролиферацию и влияют на развитие и тяжесть различных нарушений, включая рак, различные виды аллергии, вирусные инфекции и аутоиммунные нарушения.

[0005] Принимая во внимание функцию TCR, антигенспецифические TCR были оценены для применения в иммунотерапии в отношении их способности перенаправлять Т-

клетки в опухоли, экспрессирующие антиген. TCR будут связываться с небольшим пептидом длиной всего 8-12 аминокислот, который связывается на поверхности клетки-мишени с помощью главного комплекса гистосовместимости (МНС). Таким образом, TCR могут распознавать внутриклеточные антигены, происходящие из раковых или вирусных белков, поскольку эти антигены процессируются и экспонируются в виде пептидов в контексте МНС поверхности. Следовательно, TCR могут распознавать дополнительные внутренние клеточные мишени, недоступные для антител или терапевтических средств, которые не могут проникнуть в клетку.

[0006] Однако задача данной отрасли состоит в том, чтобы разработать TCR, которые не обладают иммуногенностью при введении пациенту и обладают высокой специфичностью в отношении конкретного пептидного антигена, представляющего интерес, без перекрестной реакции с другими пептидами МНС или аналогичными эпитопами, обнаруженными в репертуаре природного белка.

[0007] MAGE-A4, или меланома-ассоциированный антиген A4, представляет собой хорошо известный раково-тестикулярный антиген (СТА) на X-хромосоме. Функция MAGE-A4 неизвестна, но он может участвовать в прогрессировании/регуляции клеточного цикла, контроле транскрипции, выживании клеток и/или апоптозе. Например, было продемонстрировано, что сверхэкспрессия MAGE-A4 способствует росту спонтанно трансформированных кератиноцитов ротовой полости; и приводит к ингибированию остановки роста клеток в G1 (Bhan, *et al.* (2012) *Oncol Rep* 28(4):1496).

[0008] MAGE-A4 в значительной степени экспрессируется многими опухолями различных гистологических типов, такими как плоскоклеточная карцинома головы и шеи, карцинома легких, такая как немелкоклеточная карцинома легких, плоскоклеточная карцинома пищевода, карцинома толстой кишки, рак мочевого пузыря, меланомы слизистых оболочек и кожные меланомы, карцинома яичника, например, серозная карцинома и карцинома матки, но в нормальных здоровых тканях взрослого человека экспрессия MAGE-A4 ограничена яичками.

[0009] Способность антигенов MAGE-A4 вызывать иммунные ответы вместе с их ограниченным паттерном экспрессии сделали MAGE-A4 эффективным кандидатом для иммунотерапии рака.

[0010] В данной области техники существует неудовлетворенная потребность в новых нацеливающих средствах на основе Т-клеточных рецепторов, которые специфически связываются с антигенами MAGE-A4, а также в способах получения и применения таких средств в терапевтических и диагностических целях.

Краткое описание сути изобретения

[0011] В настоящем изобретении представлены Т-клеточные рецепторы (TCR), которые были разработаны против пептидного антигена MAGE-A4 в контексте МНС (HLA-A2). Идентифицированные уникальные последовательности TCR продемонстрировали специфическое связывание с небольшим пептидом MAGE-A4, представленным в бороздке молекулы HLA, и продемонстрировали активацию Т-клеток в репортерном анализе. Кроме

того, TCR по настоящему изобретению не вступают в перекрестную реакцию с другими «подобными» пептидами.

[0012] Соответственно, в одном аспекте в настоящем изобретении представлен Т-клеточный рецептор (TCR) (например, выделенный TCR или TCR, экспрессируемый на выделенной клетке), который специфически связывается с пептидом презентруемого HLA-A2 ракового антигена яичка меланомы-ассоциированного антигена 4 (MAGE-A4), содержащим аминокислотную последовательность KVLEHVVRV (SEQ ID NO:609) (MAGE-A4 286-294), при этом TCR содержит переменный домен альфа-цепи, содержащий определяющую комплементарность область (CDR)3, при этом CDR3 содержит аминокислотную последовательность формулы I:

$N_1-N_2-N_3-N_4-N_5-N_6-N_7-N_8-N_9-N_{10}-N_{11}-N_{12}-N_{13}-N_{14}-N_{15}$ (формула I), где

N_1 представляет собой неполярную аминокислоту;

N_2 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Val;

N_3 представляет собой Tyr, Gly, Leu, Val, Glu, Met, Ala или Phe;

N_4 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Arg, Glu, Ser, Asn, Gln, Lys, Asp, Gly или Met;

N_5 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Ser, Arg, Glu, Leu, Ala, Asp, Pro, Met, Gly или Lys;

N_6 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Ala, Asp, Gly, Ser, Val, Pro, Leu, Tyr или Thr;

N_7 представляет собой Thr, Pro, Ser, Glu, Asp, Trp, Arg, Asn, Ile, Gln или Leu;

N_8 представляет собой His, Trp, Thr, Lys, Tyr или Ala;

N_9 представляет собой Asn, Gly, Lys, Ile, Ser или Arg;

N_{10} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Gln, Lys, Gly, Thr, Leu, Asp или Ser;

N_{11} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Phe, Asn, Thr, Tyr, Ala, Leu, Met или Glu;

N_{12} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Lys, Phe, Tyr или Asp;

N_{13} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Lys или Gly;

N_{14} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Thr, Leu или Tyr; и

N_{15} представляет собой Tyr, Gln, Ile, Thr, Val или Arg.

[0013] В одном варианте осуществления N_1 представляет собой Ala, Ile или Gly.

[0014] В другом аспекте в настоящем изобретении представлен выделенный Т-клеточный рецептор (TCR), который специфически связывается с презентруемым HLA-A2 раковым антигеном яичка меланомы-ассоциированным антигеном 4 (MAGE-A4), содержащим аминокислотную последовательность KVLEHVVRV (SEQ ID NO:609)

(MAGE-A4 286-294), при этом TCR содержит вариабельный домен бета-цепи, содержащий определяющую комплементарность область (CDR)3, при этом CDR3 содержит аминокислотную последовательность формулы II:

$N_1-N_2-N_3-N_4-N_5-N_6-N_7-N_8-N_9-N_{10}-N_{11}-N_{12}-N_{13}-N_{14}-N_{15}-N_{16}-N_{17}-N_{18}$ (формула II),

где

N_1 представляет собой Ala или Ser;

N_2 представляет собой Ala, Ser или Thr;

N_3 представляет собой Ser, Gly или Trp;

N_4 представляет собой Leu, Tyr, Trp, Asp, Phe, Gly, Pro или His;

N_5 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Gly или Asp;

N_6 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Phe или Arg;

N_7 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Trp, Phe, Asp, Pro, Tyr, Gly, Thr, Ser или Val;

N_8 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Pro, Arg, Asp, Tyr, Gln, Asn или Gly;

N_9 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Asp;

N_{10} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Arg;

N_{11} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Gly, Ala или Thr;

N_{12} представляет собой Ser, Trp, Thr, Gly, Val, Leu, Arg, Met, Tyr или Gln;

N_{13} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Gly;

N_{14} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Asn, Asp, Gly, Thr, Pro, Gln или His;

N_{15} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Thr, Ser, Glu, Asn, Tyr, Gln, Asp или Pro;

N_{16} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Glu, Pro, Lys, Thr, Ala, Gly или Gln;

N_{17} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Ala, Leu, Ile, Tyr или Gln; и

N_{18} представляет собой Phe, His, Tyr или Thr.

[0015] В одном варианте осуществления вариабельный домен альфа-цепи дополнительно содержит CDR1 и CDR2, при этом CDR1 содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR1 вариабельного домена альфа-цепи, изложенных в Табл. 2, а CDR2 независимо содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR2 вариабельного домена альфа-цепи, изложенных в Табл. 2.

[0016] В другом варианте осуществления переменный домен бета-цепи дополнительно содержит CDR1 и CDR2, при этом CDR1 содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR1 переменного домена бета-цепи, изложенных в Табл. 2, а CDR2 независимо содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR2 переменного домена бета-цепи, изложенных в Табл. 2.

[0017] TCR может содержать по меньшей мере один переменный домен альфа-цепи TCR и/или по меньшей мере один переменный домен бета-цепи; или TCR может содержать переменный домен альфа-цепи TCR и переменный домен бета-цепи TCR.

[0018] В одном варианте осуществления TCR содержит CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена альфа-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 4; и CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена бета-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей переменного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 4.

[0019] В другом варианте осуществления TCR содержит переменный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 4.

[0020] В еще одном варианте осуществления TCR содержит переменный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательностью любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 4.

[0021] В одном варианте осуществления TCR содержит (а) переменный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательностью любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 4; и (b) переменный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 4.

[0022] В одном варианте осуществления TCR содержит (а) CDR1 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 17, 33, 49, 65, 81, 97, 113, 129, 145, 161, 177, 193, 209, 225, 241, 257, 273, 289, 305, 321, 337, 353, 369, 385, 401, 417, 433, 449, 465, 481, 497, 513, 529, 545, 561, 577 и 593; (b) CDR2 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338, 354, 370, 386, 402, 418, 434, 450, 466, 482, 498, 514, 530, 546, 562, 578 и 594; (c) CDR3

вариабельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3, 19, 35, 51, 67, 83, 99, 115, 131, 147, 163, 179, 195, 211, 227, 243, 259, 275, 291, 307, 323, 339, 355, 371, 387, 403, 419, 435, 451, 467, 483, 499, 515, 531, 547, 563, 579 и 595; (d) CDR1 вариабельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 25, 41, 57, 73, 89, 105, 121, 137, 153, 169, 185, 201, 217, 233, 249, 265, 281, 297, 313, 329, 345, 361, 377, 393, 409, 425, 441, 457, 473, 489, 505, 521, 537, 553, 569, 585 и 601; (e) CDR2 вариабельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346, 362, 378, 394, 410, 426, 442, 458, 474, 490, 506, 522, 538, 554, 570, 586 и 602; и (f) CDR3 вариабельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11, 27, 43, 59, 75, 91, 107, 123, 139, 155, 171, 187, 203, 219, 235, 251, 267, 283, 299, 315, 331, 347, 363, 379, 395, 411, 427, 443, 459, 475, 491, 507, 523, 539, 555, 571, 587 и 603.

[0023] В одном варианте осуществления TCR содержит пару аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи/вариабельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 7/15, 23/31, 39/47, 55/63, 71/79, 87/95, 103/111, 119/127, 135/143, 151/159, 167/175, 183/191, 199/207, 215/223, 231/239, 247/255, 263/271, 279/287, 295/303, 311/319, 327/335, 343/351, 359/367, 375/383, 391/399, 407/415, 423/431, 439/447, 455/463, 471/479, 487/495, 503/511, 519/527, 535/543, 551/559, 567/575, 583/591 и 599/607.

[0024] В одном варианте осуществления TCR содержит последовательности CDR, содержащиеся в паре аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи/вариабельного домена бета-цепи, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 7/15, 23/31, 39/47, 55/63, 71/79, 87/95, 103/111, 119/127, 135/143, 151/159, 167/175, 183/191, 199/207, 215/223, 231/239, 247/255, 263/271, 279/287, 295/303, 311/319, 327/335, 343/351, 359/367, 375/383, 391/399, 407/415, 423/431, 439/447, 455/463, 471/479, 487/495, 503/511, 519/527, 535/543, 551/559, 567/575, 583/591 и 599/607.

[0025] В другом варианте осуществления TCR содержит пару аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи/вариабельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 87/31, 23/95, 231/607, 231/223, 231/591, 231/255, 231/271, 231/79, 231/47, 231/399, 599/239, 599/223, 599/591, 599/255, 599/271, 599/79, 599/47, 599/399, 215/239, 215/607, 215/591, 215/255, 215/271, 215/79, 215/47, 215/399, 583/239, 583/607, 583/223, 583/255, 583/271, 583/79, 583/47, 583/399, 247/239, 247/607, 247/223, 247/591, 247/271, 247/79, 247/47, 247/399, 263/239, 263/607, 263/223, 263/591, 263/255, 263/79, 263/47, 263/399, 71/239, 71/607, 71/223, 71/591, 71/255, 71/271, 71/47, 71/399, 39/239, 39/607, 39/223, 39/591, 39/255, 39/271, 39/79, 39/399, 391/239, 391/607, 391/223, 391/591, 391/255, 391/271, 391/79, 391/47, 439/127, 439/319, 439/287, 439/15, 439/111, 439/383, 439/191, 439/511, 439/527, 439/559, 439/207, 119/447, 119/319, 119/287, 119/15,

119/111, 119/383, 119/191, 119/511, 119/527, 119/559, 119/207, 311/447, 311/127, 311/287, 311/15, 311/111, 311/383, 311/191, 311/511, 311/527, 311/559, 311/207, 279/447, 279/127, 279/319, 279/15, 279/111, 279/383, 279/191, 279/511, 279/527, 279/559, 279/207, 7/447, 7/127, 7/319, 7/287, 7/111, 7/383, 7/191, 7/511, 7/527, 7/559, 7/207, 103/447, 103/127, 103/319, 103/287, 103/15, 103/383, 103/191, 103/511, 103/527, 103/559, 103/207, 375/447, 375/127, 375/319, 375/287, 375/15, 375/111, 375/191, 375/511, 375/527, 375/559, 375/207, 183/447, 183/127, 183/319, 183/287, 183/15, 183/111, 183/383, 183/511, 183/527, 183/559, 183/207, 503/447, 503/127, 503/319, 503/287, 503/15, 503/111, 503/383, 503/191, 503/527, 503/559, 503/207, 519/447, 519/127, 519/319, 519/287, 519/15, 519/111, 519/383, 519/191, 519/511, 519/559, 519/207, 551/447, 551/127, 551/319, 551/287, 551/15, 551/111, 551/383, 551/191, 551/511, 551/527, 551/207, 199/447, 199/127, 199/319, 199/287, 199/15, 199/111, 199/383, 199/191, 199/511, 199/527 и 199/559.

[0026] В другом варианте осуществления TCR содержит последовательности CDR, содержащиеся в паре аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи/вариабельного домена бета-цепи, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 87/31, 23/95, 231/607, 231/223, 231/591, 231/255, 231/271, 231/79, 231/47, 231/399, 599/239, 599/223, 599/591, 599/255, 599/271, 599/79, 599/47, 599/399, 215/239, 215/607, 215/591, 215/255, 215/271, 215/79, 215/47, 215/399, 583/239, 583/607, 583/223, 583/255, 583/271, 583/79, 583/47, 583/399, 247/239, 247/607, 247/223, 247/591, 247/271, 247/79, 247/47, 247/399, 263/239, 263/607, 263/223, 263/591, 263/255, 263/79, 263/47, 263/399, 71/239, 71/607, 71/223, 71/591, 71/255, 71/271, 71/47, 71/399, 39/239, 39/607, 39/223, 39/591, 39/255, 39/271, 39/79, 39/399, 391/239, 391/607, 391/223, 391/591, 391/255, 391/271, 391/79, 391/47, 439/127, 439/319, 439/287, 439/15, 439/111, 439/383, 439/191, 439/511, 439/527, 439/559, 439/207, 119/447, 119/319, 119/287, 119/15, 119/111, 119/383, 119/191, 119/511, 119/527, 119/559, 119/207, 311/447, 311/127, 311/287, 311/15, 311/111, 311/383, 311/191, 311/511, 311/527, 311/559, 311/207, 279/447, 279/127, 279/319, 279/15, 279/111, 279/383, 279/191, 279/511, 279/527, 279/559, 279/207, 7/447, 7/127, 7/319, 7/287, 7/111, 7/383, 7/191, 7/511, 7/527, 7/559, 7/207, 103/447, 103/127, 103/319, 103/287, 103/15, 103/383, 103/191, 103/511, 103/527, 103/559, 103/207, 375/447, 375/127, 375/319, 375/287, 375/15, 375/111, 375/191, 375/511, 375/527, 375/559, 375/207, 183/447, 183/127, 183/319, 183/287, 183/15, 183/111, 183/383, 183/511, 183/527, 183/559, 183/207, 503/447, 503/127, 503/319, 503/287, 503/15, 503/111, 503/383, 503/191, 503/527, 503/559, 503/207, 519/447, 519/127, 519/319, 519/287, 519/15, 519/111, 519/383, 519/191, 519/511, 519/559, 519/207, 551/447, 551/127, 551/319, 551/287, 551/15, 551/111, 551/383, 551/191, 551/511, 551/527, 551/207, 199/447, 199/127, 199/319, 199/287, 199/15, 199/111, 199/383, 199/191, 199/511, 199/527 и 199/559.

[0027] В других вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен TCR, содержащий последовательности CDR, содержащиеся в паре аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи/вариабельного домена бета-цепи, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 668/676, 103/111, 439/447 и 503/511. В некоторых вариантах осуществления TCR по настоящему изобретению содержит

определяющие комплементарность области (CDR) CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена альфа-цепи, и CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена бета-цепи, содержащие соответствующие аминокислотные последовательности: а) SEQ ID NO: 662, 663, 664, 670, 671 и 672; б) SEQ ID NO: 97, 98, 99, 105, 106 и 107; в) SEQ ID NO: 433, 434, 435, 441, 442 и 443; и д) SEQ ID NO: 497, 498, 499, 505, 506 и 507.

[0028] В настоящем изобретении также представлен TCR (например, выделенный TCR или TCR, экспрессируемый на выделенной клетке), который является полным для связывания с любым одним или несколькими TCR по настоящему изобретению.

[0029] В некоторых вариантах осуществления TCR по настоящему изобретению дополнительно содержат детектируемый фрагмент.

[0030] В настоящем изобретении дополнительно представлены фармацевтические композиции, содержащие любой из TCR по настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель; а также выделенные клетки, презентующие любой из TCR по настоящему изобретению.

[0031] В одном аспекте в настоящем изобретении представлены выделенные полинуклеотидные молекулы, содержащие полинуклеотидную последовательность, которая кодирует переменный домен альфа-цепи любого из TCR по настоящему изобретению.

[0032] В другом аспекте в настоящем изобретении представлены выделенные полинуклеотидные молекулы, содержащие полинуклеотидную последовательность, которая кодирует переменный домен альфа-цепи любого из TCR по настоящему изобретению.

[0033] В настоящем изобретении также представлены векторы, содержащие полинуклеотидные молекулы по настоящему изобретению; и клетки, экспрессирующие векторы по настоящему изобретению.

[0034] В одном аспекте в настоящем изобретении представлен способ лечения субъекта, у которого имеется ассоциированное с MAGE-A4 заболевание или нарушение. Способы включают введение субъекту терапевтически эффективного количества TCR (например, выделенного TCR или TCR, экспрессируемого на выделенной клетке), фармацевтической композиции или множества клеток по настоящему изобретению, за счет чего происходит лечение субъекта.

[0035] В одном варианте осуществления ассоциированное с MAGE-A4 заболевание или нарушение представляет собой ассоциированный с MAGE-A4 рак.

[0036] В одном варианте осуществления ассоциированный с MAGE-A4 рак представляет собой липосаркому, нейробластому, миелому, меланому, метастатическую меланому, синовиальную саркому, рак мочевого пузыря, рак пищевода, плоскоклеточный рак пищевода, гепатоцеллюлярный рак, рак головы и шеи, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, эпителиальный рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, астроцитарную опухоль, мультиформную глиобластому, анапластическую астроцитому, опухоль головного мозга, рак маточной трубы, первичный рак брюшной

полости, распространенные солидные опухоли, саркому мягких тканей, саркому, миелодиспластический синдром, острый миелоидный лейкоз, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, болезнь Ходжкина, множественную миелому, метастатические солидные опухоли, колоректальную карциному, рак желудка, рабдомиосаркому, миксоидную круглоклеточную липосаркому или рецидивирующий немелкоклеточный рак легкого.

[0037] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения TCR (например, выделенный TCR или TCR, экспрессируемый на выделенной клетке), фармацевтическую композицию или множество клеток по настоящему изобретению вводят субъекту в комбинации с вторым терапевтическим средством.

[0038] TCR, фармацевтическую композицию или множество клеток могут быть введены субъекту подкожно, внутривенно, внутрикожно, внутривнутрибрюшинно, перорально, внутримышечно или внутримозгово.

[0039] В одном аспекте в настоящем изобретении представлена выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая Т-клеточный рецептор (TCR), при этом TCR специфически связывается с пептидом презентируемого HLA-A2 ракового антигена яичка меланома-ассоциированного антигена 4 (MAGE-A4), содержащим аминокислотную последовательность KVLEHVVRV (SEQ ID NO: 609) (MAGE-A4 286-294), при этом TCR характеризуется свойством, выбранным из группы, состоящей из: (a) не связывается с клетками, экспрессирующими предположительные нецелевые пептиды, определенные с помощью люминесцентного анализа; (b) активирует Т-клеточный ответ приблизительно в два раза больший, чем MAGE-A4-специфического TCR, происходящего от пациента, определенный с помощью TCR-опосредованного люминесцентного биоанализа передачи сигнала с участием Т-клеток; и (c) активирует Т-клеточный ответ, приблизительно в два раза больший, чем MAGE-A4-специфического TCR с созревшей аффинностью (например, путем фагового дисплея), определенный с помощью TCR-опосредованного люминесцентного биоанализа передачи сигнала с участием Т-клеток.

[0040] В одном варианте осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует по меньшей мере один переменный домен альфа-цепи и/или по меньшей мере один переменный домен бета-цепи TCR.

[0041] В одном варианте осуществления TCR содержит определяющие комплементарность области (CDR) 1, CDR2 и CDR3 переменного домена альфа-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 4; и CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена бета-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей переменного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 4.

[0042] В другом варианте осуществления TCR (например, выделенный TCR или TCR, экспрессируемый на выделенной клетке) содержит переменный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных

последовательностей аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 4.

[0043] В еще одном варианте осуществления TCR содержит вариабельный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательностью любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей вариабельного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 4.

[0044] В одном варианте осуществления TCR содержит (а) вариабельный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательностью любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 4; и (b) вариабельный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей вариабельного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 4.

[0045] В одном варианте осуществления выделенный антигенсвязывающий белок содержит (а) CDR1 вариабельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 17, 33, 49, 65, 81, 97, 113, 129, 145, 161, 177, 193, 209, 225, 241, 257, 273, 289, 305, 321, 337, 353, 369, 385, 401, 417, 433, 449, 465, 481, 497, 513, 529, 545, 561, 577 и 593; (b) CDR2 вариабельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338, 354, 370, 386, 402, 418, 434, 450, 466, 482, 498, 514, 530, 546, 562, 578 и 594; (с) CDR3 вариабельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3, 19, 35, 51, 67, 83, 99, 115, 131, 147, 163, 179, 195, 211, 227, 243, 259, 275, 291, 307, 323, 339, 355, 371, 387, 403, 419, 435, 451, 467, 483, 499, 515, 531, 547, 563, 579 и 595; (d) CDR1 вариабельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 25, 41, 57, 73, 89, 105, 121, 137, 153, 169, 185, 201, 217, 233, 249, 265, 281, 297, 313, 329, 345, 361, 377, 393, 409, 425, 441, 457, 473, 489, 505, 521, 537, 553, 569, 585 и 601; (е) CDR2 вариабельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346, 362, 378, 394, 410, 426, 442, 458, 474, 490, 506, 522, 538, 554, 570, 586 и 602; и (f) CDR3 вариабельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11, 27, 43, 59, 75, 91, 107, 123, 139, 155, 171, 187, 203, 219, 235, 251, 267, 283, 299, 315, 331, 347, 363, 379, 395, 411, 427, 443, 459, 475, 491, 507, 523, 539, 555, 571, 587 и 603.

[0046] В одном варианте осуществления TCR содержит пару аминокислотных

последовательностей вариабельного домена альфа-цепи/вариабельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 7/15, 23/31, 39/47, 55/63, 71/79, 87/95, 103/111, 119/127, 135/143, 151/159, 167/175, 183/191, 199/207, 215/223, 231/239, 247/255, 263/271, 279/287, 295/303, 311/319, 327/335, 343/351, 359/367, 375/383, 391/399, 407/415, 423/431, 439/447, 455/463, 471/479, 487/495, 503/511, 519/527, 535/543, 551/559, 567/575, 583/591 и 599/607.

[0047] В другом варианте осуществления TCR содержит пару аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи/вариабельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 87/31, 23/95, 231/607, 231/223, 231/591, 231/255, 231/271, 231/79, 231/47, 231/399, 599/239, 599/223, 599/591, 599/255, 599/271, 599/79, 599/47, 599/399, 215/239, 215/607, 215/591, 215/255, 215/271, 215/79, 215/47, 215/399, 583/239, 583/607, 583/223, 583/255, 583/271, 583/79, 583/47, 583/399, 247/239, 247/607, 247/223, 247/591, 247/271, 247/79, 247/47, 247/399, 263/239, 263/607, 263/223, 263/591, 263/255, 263/79, 263/47, 263/399, 71/239, 71/607, 71/223, 71/591, 71/255, 71/271, 71/47, 71/399, 39/239, 39/607, 39/223, 39/591, 39/255, 39/271, 39/79, 39/399, 391/239, 391/607, 391/223, 391/591, 391/255, 391/271, 391/79, 391/47, 439/127, 439/319, 439/287, 439/15, 439/111, 439/383, 439/191, 439/511, 439/527, 439/559, 439/207, 119/447, 119/319, 119/287, 119/15, 119/111, 119/383, 119/191, 119/511, 119/527, 119/559, 119/207, 311/447, 311/127, 311/287, 311/15, 311/111, 311/383, 311/191, 311/511, 311/527, 311/559, 311/207, 279/447, 279/127, 279/319, 279/15, 279/111, 279/383, 279/191, 279/511, 279/527, 279/559, 279/207, 7/447, 7/127, 7/319, 7/287, 7/111, 7/383, 7/191, 7/511, 7/527, 7/559, 7/207, 103/447, 103/127, 103/319, 103/287, 103/15, 103/383, 103/191, 103/511, 103/527, 103/559, 103/207, 375/447, 375/127, 375/319, 375/287, 375/15, 375/111, 375/191, 375/511, 375/527, 375/559, 375/207, 183/447, 183/127, 183/319, 183/287, 183/15, 183/111, 183/383, 183/511, 183/527, 183/559, 183/207, 503/447, 503/127, 503/319, 503/287, 503/15, 503/111, 503/383, 503/191, 503/527, 503/559, 503/207, 519/447, 519/127, 519/319, 519/287, 519/15, 519/111, 519/383, 519/191, 519/511, 510/559, 519/207, 551/447, 551/127, 551/319, 551/287, 551/15, 551/111, 551/383, 551/191, 551/511, 551/527, 551/207, 199/447, 199/127, 199/319, 199/287, 199/15, 199/111, 199/383, 199/191, 199/511, 199/527 и 199/559.

[0048] В одном варианте осуществления выделенный антигенсвязывающий белок содержит (а) CDR1 вариабельного домена альфа-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 276, 292, 308, 324, 340, 356, 372, 388, 404, 420, 436, 452, 468, 484, 500, 516, 532, 548, 564, 580 и 596; (b) CDR2 вариабельного домена альфа-цепи, кодируемой последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5, 21, 37, 53, 69, 85, 101, 117, 133, 149, 165, 181, 197, 213, 229, 245, 261, 277, 293, 309, 325, 341, 357, 373, 389, 405, 421, 437, 453, 469, 485, 501, 517, 533, 549, 565, 581 и 597; (с) CDR3 вариабельного домена альфа-цепи, кодируемой последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 294, 310,

326, 342, 358, 374, 390, 406, 422, 438, 454, 470, 486, 502, 518, 534, 550, 566, 582 и 598; (d) CDR1 варибельного домена бета-цепи, кодируемой последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 300, 316, 332, 348, 364, 380, 396, 412, 428, 444, 460, 476, 492, 508, 524, 540, 556, 572, 588 и 604; (e) CDR2 варибельного домена бета-цепи, кодируемой последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 13, 29, 45, 61, 77, 93, 109, 125, 141, 157, 173, 189, 205, 221, 237, 253, 269, 285, 301, 317, 333, 349, 365, 381, 397, 413, 429, 445, 461, 477, 493, 509, 525, 541, 557, 573, 589 и 605; и (f) CDR3 варибельного домена бета-цепи, кодируемой последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 302, 318, 334, 350, 366, 382, 398, 414, 430, 446, 462, 478, 494, 510, 526, 542, 558, 574, 590 и 606.

[0049] В одном варианте осуществления TCR содержит пару последовательностей нуклеиновых кислот варибельного домена альфа-цепи/варибельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 8/16, 24/32, 40/48, 56/64, 72/80, 88/96, 104/112, 120/128, 136/144, 152/160, 168/176, 184/192, 200/208, 216/224, 232/240, 248/256, 264/272, 280/288, 296/304, 312/320, 328/336, 344/352, 360/368, 376/384, 392/400, 408/416, 424/432, 440/448, 456/464, 472/480, 488/496, 504/512, 520/528, 536/544, 552/560, 568/576, 584/592, 600/608.

[0050] В настоящем изобретении также представлены векторы, содержащие выделенную молекулу нуклеиновой кислоты по настоящему изобретению; и выделенные клетки, содержащие вектор по настоящему изобретению.

[0051] В одном аспекте в данном изобретении представлен способ лечения субъекта, у которого имеется ассоциированное с MAGE-A4 заболевание или нарушение, включающий введение субъекту множества клеток, за счет чего осуществляется лечение субъекта.

[0052] В одном варианте осуществления ассоциированное с MAGE-A4 заболевание или нарушение представляет собой ассоциированный с MAGE-A4 рак.

[0053] В одном варианте осуществления ассоциированный с MAGE-A4 рак представляет собой липосаркому, нейробластому, миелому, меланому, метастатическую меланому, синовиальную саркому, рак мочевого пузыря, рак пищевода, плоскоклеточный рак пищевода, гепатоцеллюлярный рак, рак головы и шеи, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, эпителиальный рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, астроцитарную опухоль, мультиформную глиобластому, анапластическую астроцитому, опухоль головного мозга, рак маточной трубы, первичный рак брюшной полости, распространенные солидные опухоли, саркому мягких тканей, саркому, миелодиспластический синдром, острый миелоидный лейкоз, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, болезнь Ходжкина, множественную миелому, метастатические солидные опухоли, колоректальную карциному, рак желудка, рабдомиосаркому, миксоидную круглоклеточную липосаркому или рецидивирующий немелкоклеточный рак

легкого.

[0054] В одном варианте осуществления множество клеток вводят субъекту в комбинации с вторым терапевтическим средством.

[0055] В одном аспекте в настоящем изобретении представлен Т-клеточный рецептор (TCR) (например, выделенный TCR или TCR, экспрессируемый на выделенной клетке), который специфически связывается с пептидом презентируемого HLA-A2 ракового антигена яичка меланомы-ассоциированного антигена 4 (MAGE-A4), содержащим аминокислотную последовательность KVLEHVVRV (SEQ ID NO:609) (MAGE-A4 286-294), при этом TCR характеризуется свойством, выбранным из группы, состоящей из (a) не связывается с клетками, экспрессирующими предположительные нецелевые пептиды, определенные с помощью люминесцентного анализа; (b) активирует Т-клеточный ответ, характеризующийся соотношением сигнала к шуму, большим или равным значению MAGE-A4-специфического TCR, происходящего от пациента, определенный с помощью TCR-опосредованного люминесцентного биоанализа передачи сигнала с участием Т-клеток; и (c) активирует Т-клеточный ответ, приблизительно в два раза больший, чем MAGE-A4-специфического TCR с созревшей аффинностью (например, путем фагового дисплея), определенный с помощью TCR-опосредованного люминесцентного биоанализа передачи сигнала с участием Т-клеток.

[0056] В некоторых вариантах осуществления TCR активирует Т-клеточный ответ приблизительно в два раза больший, или приблизительно в три раза больший, или приблизительно в четыре раза больший, чем MAGE-A4-специфический TCR, происходящий от пациента, определенный с помощью TCR-опосредованного люминесцентного биоанализа передачи сигналов с участием Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления TCR активирует Т-клеточный ответ приблизительно в два раза больший, или приблизительно в три раза больший, или приблизительно в четыре раза больший, чем MAGE-A4-специфического TCR с созревшей аффинностью (например, путем фагового дисплея), определенный с помощью TCR-опосредованного люминесцентного биоанализа передачи сигнала с участием Т-клеток.

[0057] В одном аспекте в настоящем изобретении представлен Т-клеточный рецептор (TCR) (например, выделенный TCR или TCR, экспрессируемый на выделенной клетке), который специфически связывается с пептидом презентируемого HLA-A2 ракового антигена яичка меланомы-ассоциированного антигена 4 (MAGE-A4), содержащим аминокислотную последовательность GVYDGRENTV (SEQ ID NO:612) (MAGE-A4 230-239), при этом TCR содержит определяющую комплементарность область 3 (CDR3), содержащуюся в вариабельном домене альфа-цепи любой из SEQ ID NO: 620, 636, 652, 668, 684, 700, 716, 732, 748, 764, 780, 796, 812, 828, 844 и 860.

[0058] В одном аспекте в настоящем изобретении представлен Т-клеточный рецептор (TCR) (например, выделенный TCR или TCR, экспрессируемый на выделенной клетке), который специфически связывается с пептидом презентируемого HLA-A2 ракового антигена яичка меланомы-ассоциированного антигена 4 (MAGE-A4), содержащим

аминокислотную последовательность GGYDGRENTV (SEQ ID NO:612) (MAGE-A4 230-239), при этом TCR содержит определяющую комплементарность область 3 (CDR3), содержащуюся в варибельном домене бета-цепи любой из SEQ ID NO: 628, 644, 660, 676, 692, 708, 724, 740, 756, 772, 788, 804, 820, 836, 852 и 868.

[0059] В некоторых вариантах осуществления варибельный домен альфа-цепи дополнительно содержит CDR1 и CDR2, при этом CDR1 содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR1 варибельного домена альфа-цепи, изложенных в Табл. 6, а CDR2 независимо содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR2 варибельного домена альфа-цепи, изложенных в Табл. 6. В некоторых вариантах осуществления варибельный домен бета-цепи дополнительно содержит CDR1 и CDR2, при этом CDR1 содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR1 варибельного домена бета-цепи, изложенных в Табл. 6, а CDR2 независимо содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR2 варибельного домена бета-цепи, изложенных в Табл. 6. В некоторых вариантах осуществления TCR содержит по меньшей мере один варибельный домен альфа-цепи и/или по меньшей мере один варибельный домен бета-цепи TCR. В некоторых вариантах осуществления TCR содержит варибельный домен альфа-цепи TCR и варибельный домен бета-цепи TCR.

[0060] В некоторых вариантах осуществления TCR содержит CDR1, CDR2 и CDR3 варибельного домена альфа-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей варибельного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 8; и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельного домена бета-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей варибельного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 8. В некоторых вариантах осуществления TCR содержит варибельный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей варибельного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 8. В некоторых вариантах осуществления TCR содержит варибельный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей варибельного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 8. В некоторых вариантах осуществления TCR содержит: (a) варибельный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей варибельного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 8; и (b) варибельный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей варибельного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 8.

[0061] В некоторых вариантах осуществления TCR содержит (a) CDR1 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 614, 630, 646, 662, 678, 694, 710, 726, 742, 758, 774, 790, 806, 822, 838 и 854; (b) CDR2 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 615, 631, 647, 663, 679, 695, 711, 727, 743, 759, 775, 791, 807, 823, 839 и 855; (c) CDR3 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 616, 632, 648, 664, 680, 696, 712, 728, 744, 760, 776, 792, 808, 824, 840 и 856; (d) CDR1 переменного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 622, 638, 654, 670, 686, 702, 718, 734, 750, 766, 782, 798, 814, 830, 846 и 862; (e) CDR2 переменного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 623, 639, 655, 671, 687, 703, 719, 735, 751, 767, 783, 799, 815, 831, 847 и 863; и (f) CDR3 переменного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 624, 640, 656, 672, 688, 704, 720, 736, 752, 768, 784, 800, 816, 832, 848 и 864.

[0062] В некоторых вариантах осуществления TCR содержит пару аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи/переменного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 620/628, 636/644, 652/660, 668/676, 684/692, 700/708, 716/724, 732/740, 748/756, 764/772, 780/788, 796/804, 812/820, 828/836, 844/852 и 860/868. В некоторых вариантах осуществления TCR содержит пару аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи/переменного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 620/628, 620/644, 620/660, 620/676, 620/692, 620/708, 620/724, 620/740, 620/756, 620/772, 620/788, 620/804, 620/820, 620/836, 620/852, 620/868, 636/628, 636/644, 636/660, 636/676, 636/692, 636/708, 636/724, 636/740, 636/756, 636/772, 636/788, 636/804, 636/820, 636/836, 636/852, 636/868, 652/628, 652/644, 652/660, 652/676, 652/692, 652/708, 652/724, 652/740, 652/756, 652/772, 652/788, 652/804, 652/820, 652/836, 652/852, 652/868, 668/628, 668/644, 668/660, 668/676, 668/692, 668/708, 668/724, 668/740, 668/756, 668/772, 668/788, 668/804, 668/820, 668/836, 668/852, 668/868, 684/628, 684/644, 684/660, 684/676, 684/692, 684/708, 684/724, 684/740, 684/756, 684/772, 684/788, 684/804, 684/820, 684/836, 684/852, 684/868, 700/628, 700/644, 700/660, 700/676, 700/692, 700/708, 700/724, 700/740, 700/756, 700/772, 700/788, 700/804, 700/820, 700/836, 700/852, 700/868, 716/628, 716/644, 716/660, 716/676, 716/692, 716/708, 716/724, 716/740, 716/756, 716/772, 716/788, 716/804, 716/820, 716/836, 716/852, 716/868, 732/628, 732/644, 732/660, 732/676, 732/692, 732/708, 732/724, 732/740, 732/756, 732/772, 732/788, 732/804, 732/820, 732/836, 732/852, 732/868, 748/628, 748/644, 748/660, 748/676, 748/692, 748/708, 748/724, 748/740, 748/756, 748/772, 748/788, 748/804, 748/820, 748/836, 748/852, 748/868, 764/628, 764/644, 764/660, 764/676, 764/692, 764/708, 764/724, 764/740, 764/756, 764/772, 764/788, 764/804, 764/820, 764/836, 764/852, 764/868, 780/628, 780/644, 780/660, 780/676, 780/692, 780/708, 780/724, 780/740, 780/756, 780/772, 780/788, 780/804,

780/820, 780/836, 780/852, 780/868, 796/628, 796/644, 796/660, 796/676, 796/692, 796/708, 796/724, 796/740, 796/756, 796/772, 796/788, 796/804, 796/820, 796/836, 796/852, 796/868, 812/628, 812/644, 812/660, 812/676, 812/692, 812/708, 812/724, 812/740, 812/756, 812/772, 812/788, 812/804, 812/820, 812/836, 812/852, 812/868, 828/628, 828/644, 828/660, 828/676, 828/692, 828/708, 828/724, 828/740, 828/756, 828/772, 828/788, 828/804, 828/820, 828/836, 828/852, 828/868, 844/628, 844/644, 844/660, 844/676, 844/692, 844/708, 844/724, 844/740, 844/756, 844/772, 844/788, 844/804, 844/820, 844/836, 844/852, 844/868, 860/628, 860/644, 860/660, 860/676, 860/692, 860/708, 860/724, 860/740, 860/756, 860/772, 860/788, 860/804, 860/820, 860/836, 860/852 и 860/868.

[0063] В некоторых вариантах осуществления TCR содержит детектируемый фрагмент. В некоторых вариантах осуществления TCR характеризуется значением соотношения целевое связывание/нецелевое связывание, составляющим более 2,5, более 3, более 3,5, более 4, более 4,5, более 5, более 10, более 15, более 20, более 50, более 100, более 200, более 300, более 400, более 500, более 600, более 700, более 800, более 900 или более 1000. В некоторых вариантах осуществления TCR характеризуется значением соотношения целевое связывание/нецелевое связывание, составляющим более 10. В некоторых вариантах осуществления TCR характеризуется значением соотношения целевое связывание/нецелевое связывание, составляющим более 500. В некоторых вариантах осуществления TCR конкурирует за связывание с TCR (например, выделенным TCR или TCR, экспрессируемым на выделенной клетке), как описано в данном документе.

[0064] В одном аспекте в настоящем изобретении представлена фармацевтическая композиция, содержащая TCR (например, выделенный TCR или TCR, экспрессируемый на выделенной клетке), как описано в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель. В одном аспекте в настоящем изобретении представлена выделенная клетка, презентующая TCR, как описано в данном документе. В одном аспекте в настоящем изобретении представлена выделенная полинуклеиновая кислота, содержащая полинуклеотидную последовательность, которая кодирует переменный домен альфа-цепи TCR (например, выделенный TCR или TCR, экспрессируемый на выделенной клетке), как описано в данном документе. В одном аспекте в настоящем изобретении представлена выделенная полинуклеиновая кислота, содержащая полинуклеотидную последовательность, которая кодирует переменный домен бета-цепи TCR (например, выделенный TCR или TCR, экспрессируемый на выделенной клетке), как описано в данном документе. В одном аспекте в настоящем изобретении представлен вектор, содержащий полинуклеотидную последовательность, как описано в данном документе. В одном аспекте в настоящем изобретении представлена выделенная клетка, экспрессирующая этот вектор.

[0065] В одном аспекте в настоящем изобретении представлен способ лечения субъекта, у которого имеется ассоциированное с MAGE-A4 заболевание или нарушение, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества TCR (например, выделенного TCR или TCR, экспрессируемого на выделенной клетке), описанного в данном

документе, фармацевтической композиции, описанной в данном документе, или выделенной клетки, описанной в данном документе, за счет чего осуществляется лечение субъекта. В некоторых вариантах осуществления ассоциированное с MAGE-A4 заболевание или нарушение представляет собой рак, ассоциированный с MAGE-A4. В некоторых вариантах осуществления ассоциированный с MAGE-A4 рак представляет собой липосаркому, нейробластому, миелому, меланому, метастатическую меланому, синовиальную саркому, рак мочевого пузыря, рак пищевода, плоскоклеточный рак пищевода, гепатоцеллюлярный рак, рак головы и шеи, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, эпителиальный рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, астроцитарную опухоль, мультиформную глиобластому, анапластическую астроцитому, опухоль головного мозга, рак маточной трубы, первичный рак брюшной полости, распространенные солидные опухоли, саркому мягких тканей, саркому, миелиодиспластический синдром, острый миелоидный лейкоз, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, болезнь Ходжкина, множественную миелому, метастатические солидные опухоли, колоректальную карциному, рак желудка, рабдомиосаркому, миксоидную круглоклеточную липосаркому или рецидивирующий немелкоклеточный рак легкого. В некоторых вариантах осуществления TCR, фармацевтическую композицию или клетку вводят субъекту в комбинации с вторым терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления введение является парентеральным.

[0066] В одном аспекте в настоящем изобретении представлена выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая Т-клеточный рецептор (TCR), при этом TCR специфически связывается с пептидом презентруемого HLA-A2 ракового антигена яичка меланомы-ассоциированного антигена 4 (MAGE-A4), содержащим аминокислотную последовательность GGYDGRENTV (SEQ ID NO: 612) (MAGE-A4 230-239), при этом TCR характеризуется свойством, выбранным из группы, состоящей из: (a) не связывается с клетками, экспрессирующими предположительные нецелевые пептиды, определенные с помощью люминесцентного анализа; (b) не связывается с клетками, экспрессирующими предположительные нецелевые пептиды, определенные с помощью проточно-цитометрического анализа; (c) активирует Т-клеточный ответ приблизительно в два раза больший, чем MAGE-A4-специфического TCR, происходящего от пациента, определенный с помощью TCR-опосредованного люминесцентного биоанализа передачи сигнала с участием Т-клеток; и (d) активирует Т-клеточный ответ, приблизительно в два раза больший, чем MAGE-A4-специфического TCR с созревшей аффинностью (например, путем фагового дисплея), определенный с помощью TCR-опосредованного люминесцентного биоанализа передачи сигнала с участием Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует по меньшей мере один переменный домен альфа-цепи и/или по меньшей мере один переменный домен бета-цепи TCR.

[0067] В некоторых вариантах осуществления TCR содержит определяющие комплементарность области (CDR) 1, CDR2 и CDR3 переменного домена альфа-цепи,

содержащиеся в любой из последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 8; и CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена бета-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей переменного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 8. В некоторых вариантах осуществления TCR содержит переменный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 8. В некоторых вариантах осуществления TCR содержит переменный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 8.

[0068] В некоторых вариантах осуществления TCR содержит (a) переменный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 8; и (b) переменный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 8. В некоторых вариантах осуществления TCR содержит: (a) CDR1 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 614, 630, 646, 662, 678, 694, 710, 726, 742, 758, 774, 790, 806, 822, 838 и 854; (b) CDR2 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 615, 631, 647, 663, 679, 695, 711, 727, 743, 759, 775, 791, 807, 823, 839 и 855; (c) CDR3 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 616, 632, 648, 664, 680, 696, 712, 728, 744, 760, 776, 792, 808, 824, 840 и 856; (d) CDR1 переменного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 622, 638, 654, 670, 686, 702, 718, 734, 750, 766, 782, 798, 814, 830, 846 и 862; (e) CDR2 переменного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 623, 639, 655, 671, 687, 703, 719, 735, 751, 767, 783, 799, 815, 831, 847 и 863; и (f) CDR3 переменного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 624, 640, 656, 672, 688, 704, 720, 736, 752, 768, 784, 800, 816, 832, 848 и 864.

[0069] В некоторых вариантах осуществления TCR содержит пару аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи/переменного домена бета-цепи,

выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 620/628, 636/644, 652/660, 668/676, 684/692, 700/708, 716/724, 732/740, 748/756, 764/772, 780/788, 796/804, 812/820, 828/836, 844/852 и 860/868. В некоторых вариантах осуществления TCR содержит пару аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи/вариабельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 620/628, 620/644, 620/660, 620/676, 620/692, 620/708, 620/724, 620/740, 620/756, 620/772, 620/788, 620/804, 620/820, 620/836, 620/852, 620/868, 636/628, 636/644, 636/660, 636/676, 636/692, 636/708, 636/724, 636/740, 636/756, 636/772, 636/788, 636/804, 636/820, 636/836, 636/852, 636/868, 652/628, 652/644, 652/660, 652/676, 652/692, 652/708, 652/724, 652/740, 652/756, 652/772, 652/788, 652/804, 652/820, 652/836, 652/852, 652/868, 668/628, 668/644, 668/660, 668/676, 668/692, 668/708, 668/724, 668/740, 668/756, 668/772, 668/788, 668/804, 668/820, 668/836, 668/852, 668/868, 684/628, 684/644, 684/660, 684/676, 684/692, 684/708, 684/724, 684/740, 684/756, 684/772, 684/788, 684/804, 684/820, 684/836, 684/852, 684/868, 700/628, 700/644, 700/660, 700/676, 700/692, 700/708, 700/724, 700/740, 700/756, 700/772, 700/788, 700/804, 700/820, 700/836, 700/852, 700/868, 716/628, 716/644, 716/660, 716/676, 716/692, 716/708, 716/724, 716/740, 716/756, 716/772, 716/788, 716/804, 716/820, 716/836, 716/852, 716/868, 732/628, 732/644, 732/660, 732/676, 732/692, 732/708, 732/724, 732/740, 732/756, 732/772, 732/788, 732/804, 732/820, 732/836, 732/852, 732/868, 748/628, 748/644, 748/660, 748/676, 748/692, 748/708, 748/724, 748/740, 748/756, 748/772, 748/788, 748/804, 748/820, 748/836, 748/852, 748/868, 764/628, 764/644, 764/660, 764/676, 764/692, 764/708, 764/724, 764/740, 764/756, 764/772, 764/788, 764/804, 764/820, 764/836, 764/852, 764/868, 780/628, 780/644, 780/660, 780/676, 780/692, 780/708, 780/724, 780/740, 780/756, 780/772, 780/788, 780/804, 780/820, 780/836, 780/852, 780/868, 796/628, 796/644, 796/660, 796/676, 796/692, 796/708, 796/724, 796/740, 796/756, 796/772, 796/788, 796/804, 796/820, 796/836, 796/852, 796/868, 812/628, 812/644, 812/660, 812/676, 812/692, 812/708, 812/724, 812/740, 812/756, 812/772, 812/788, 812/804, 812/820, 812/836, 812/852, 812/868, 828/628, 828/644, 828/660, 828/676, 828/692, 828/708, 828/724, 828/740, 828/756, 828/772, 828/788, 828/804, 828/820, 828/836, 828/852, 828/868, 844/628, 844/644, 844/660, 844/676, 844/692, 844/708, 844/724, 844/740, 844/756, 844/772, 844/788, 844/804, 844/820, 844/836, 844/852, 844/868, 860/628, 860/644, 860/660, 860/676, 860/692, 860/708, 860/724, 860/740, 860/756, 860/772, 860/788, 860/804, 860/820, 860/836, 860/852 и 860/868.

[0070] В некоторых вариантах осуществления TCR содержит: (a) CDR1 вариабельного домена альфа-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 617, 633, 649, 665, 681, 697, 713, 729, 745, 761, 777, 793, 809, 825, 841 и 857; (b) CDR2 вариабельного домена альфа-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 618, 634, 650, 666, 682, 698, 714, 730, 746, 762, 778, 794, 810, 826, 842 и 858; (c) CDR3 вариабельного домена альфа-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 619, 635, 651, 667, 683, 699, 715, 731, 747, 763, 779, 795, 811, 827, 843 и 859; (d) CDR1 вариабельного домена

бета-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 625, 641, 657, 673, 689, 705, 721, 737, 753, 769, 785, 801, 817, 833, 849 и 865; (е) CDR2 варибельного домена бета-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 626, 642, 658, 674, 690, 706, 722, 738, 754, 770, 786, 802, 818, 834, 850 и 866; и (f) CDR3 варибельного домена бета-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 627, 643, 659, 675, 691, 707, 723, 739, 755, 771, 787, 803, 819, 835, 851 и 867. В некоторых вариантах осуществления TCR содержит пару последовательностей нуклеиновой кислоты варибельного домена альфа-цепи/варибельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 621/629, 637/645, 653/661, 669/677, 685/693, 701/709, 717/725, 733/741, 749/757, 765/773, 781/789, 797/805, 813/821, 829/837, 845/853 и 861/869.

[0071] В одном аспекте в настоящем изобретении представлен вектор, содержащий полинуклеотидную последовательность выделенной молекулы нуклеиновой кислоты, как описано в данном документе. В одном аспекте в настоящем изобретении представлена выделенная клетка, содержащая этот вектор. В одном аспекте в данном изобретении представлен способ лечения субъекта, у которого имеется ассоциированное с MAGE-A4 заболевание или нарушение, включающий введение субъекту этой клетки, за счет чего осуществляется лечение субъекта. В некоторых вариантах осуществления ассоциированное с MAGE-A4 заболевание или нарушение представляет собой рак, ассоциированный с MAGE-A4. В некоторых вариантах осуществления ассоциированный с MAGE-A4 рак представляет собой липосаркому, нейробластому, миелому, меланому, метастатическую меланому, синовиальную саркому, рак мочевого пузыря, рак пищевода, плоскоклеточный рак пищевода, гепатоцеллюлярный рак, рак головы и шеи, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, эпителиальный рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, астроцитарную опухоль, мультиформную глиобластому, анапластическую астроцитому, опухоль головного мозга, рак маточной трубы, первичный рак брюшной полости, распространенные солидные опухоли, саркому мягких тканей, саркому, миелодиспластический синдром, острый миелоидный лейкоз, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, болезнь Ходжкина, множественную миелому, метастатические солидные опухоли, колоректальную карциному, рак желудка, рабдомиосаркому, миксоидную круглоклеточную липосаркому или рецидивирующий немелкоклеточный рак легкого. В некоторых вариантах осуществления клетку вводят субъекту в комбинации с вторым терапевтическим средством.

[0072] Данное изобретение дополнительно проиллюстрировано следующим подробным описанием и графическими материалами.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0073] На Фиг. 1 изображен анализ FACS, демонстрирующий экспрессию нацеленных на TRAC TCR к MAGE-A4 в первичных Т-клетках человека, количественно определяемую с применением анализа тетрамера рМНС в день 14 после активации.

Мишени MAGE-A4 для этих TCR представляли собой либо пептид MAGE-A4 (286-294) (KVLEHVVRV, SEQ ID NO: 609; «KVLE»), либо пептид MAGE-A4 (230-239) (GVYDGRENTV, SEQ ID NO: 612; «GVY»). Трансгенные последовательности TCR вводили в первичные Т-клетки человека посредством сайт-направленного нацеливания вставки вектора аденоассоциированного вируса (AAV) в локус TRAC человека. Клетки окрашивали указанными реагентами тетрамера пептида МНС (оси у) и антителами для маркеров поверхностного антигена и анализировали с применением проточной цитометрии. Графики гейтировали в отношении живых одиночных CD8⁺ Т-клеток.

[0074] **На Фиг. 2А и Фиг. 2В** изображена цитотоксическая активность TCR к MAGE-A4 в отношении экспрессирующих MAGE-A4 клеток меланомы A375 (донор 1, анализ в течение 2 часов). Первичные Т-клетки человека, экспрессирующие TCR в отношении двух различных ограниченных по HLA-A2 происходящих из MAGE-A4 пептидных антигенов, тестировали в отношении цитотоксической активности в отношении экспрессирующих HLA-A2*01 MAGE-A4 клеток меланомы A375, в анализе высвобождения красителя кальцеина АМ. Мишени MAGE-A4 для этих TCR представляли собой либо пептид MAGE-A4 (286-294) (KVLEHVVRV, SEQ ID NO: 609; «KVLE») (**Фиг. 2А**), либо пептид MAGE-A4 (230-239) (GVYDGRENTV, SEQ ID NO: 612; «GVY») (**Фиг. 2В**). Контрольные клетки, трансдуцированные TCR к нерелевантному антигену, включали в качестве контроля целевой специфичности TCR.

[0075] **На Фиг. 3А и Фиг. 3В** изображена цитотоксическая активность TCR к MAGE-A4 в отношении экспрессирующих MAGE-A4 клеток меланомы A375 (донор 2, анализ в течение 2,5 часов). Мишени MAGE-A4 для этих TCR представляли собой либо пептид MAGE-A4 (286-294) (KVLEHVVRV, SEQ ID NO: 609; «KVLE») (**Фиг. 3А**), либо пептид MAGE-A4 (230-239) (GVYDGRENTV, SEQ ID NO: 612; «GVY») (**Фиг. 3В**). Первичные Т-клетки человека, экспрессирующие TCR в отношении двух различных ограниченных по HLA-A2 происходящих из MAGE-A4 пептидных антигенов, тестировали в отношении цитотоксической активности в отношении экспрессирующих HLA-A2*01 MAGE-A4 клеток меланомы A375, в анализе высвобождения красителя кальцеина АМ. Нетрансдуцированные (UTD) Т-клетки включали в качестве контроля целевой специфичности TCR.

[0076] **На Фиг. 4** изображена передача сигналов с участием TCR, измеряемая посредством активации репортерной активации люциферазы AP1-RE.

[0077] **На Фиг. 5** изображен средний сигнал интерферона гамма +/- стандартная ошибка среднего (SEM) для n=3 доноров и показано, что MAGE-A4 (230-239)-специфические TCR по настоящему изобретению проявляют специфическую активность в отношении клеток Т2, активированных пептидом MAGE-A4 (230-239).

[0078] **На Фиг. 6** изображен средний сигнал интерферона гамма +/- стандартная ошибка среднего (SEM) для n=3 доноров и показано, что MAGE-A4 (230-239)-специфические TCR по настоящему изобретению проявляют специфическую активность в отношении опухолевых клеток, экспрессирующих HLA-A2 и MAGE-A4.

[0079] **На Фиг. 7** изображен средний сигнал интерферона гамма +/- стандартная ошибка среднего (SEM) для n=3 доноров и показано, что MAGE-A4 (230-239)-специфические TCR по настоящему изобретению проявляют специфическую активность в отношении опухолевых клеток, экспрессирующих HLA-A2 и MAGE-A4.

[0080] **На Фиг. 8** изображен средний сигнал интерферона гамма +/- стандартная ошибка среднего (SEM) для n=3 доноров и показано, что MAGE-A4 (230-239)-специфические TCR по настоящему изобретению проявляют специфическую активность в отношении HLA-A2-экспрессирующих опухолевых клеток, экспрессирующих низкие или средние эндогенные уровни MAGE-A4.

Подробное описание сути изобретения

[0081] В настоящем изобретении представлены Т-клеточные рецепторы (TCR), которые были разработаны против пептидного антигена MAGE-A4 в контексте МНС (HLA-A2). Идентифицированные уникальные последовательности TCR продемонстрировали специфическое связывание с небольшим пептидом MAGE-A4, представленным в бороздке молекулы HLA, и продемонстрировали активацию Т-клеток в репортерном анализе. Кроме того, TCR по настоящему изобретению не вступают в перекрестную реакцию с другими «подобными» пептидами.

I. Определения

[0082] С целью более легкого понимания настоящего изобретения сначала определяют определенные термины. Кроме того, следует отметить, что всякий раз, когда приводится значение или диапазон значений параметра, предполагается, что значения и диапазоны, промежуточные по отношению к указанным значениям, также являются частью настоящего изобретения.

[0083] В следующем описании в целях пояснения указаны конкретные номера, материалы и конфигурации для того, чтобы обеспечить полное понимание настоящего изобретения. Однако для специалиста в данной области техники будет очевидно, что настоящее изобретение может быть реализовано на практике без этих конкретных деталей. В некоторых случаях хорошо известные признаки могут быть опущены или упрощены, чтобы не затруднять понимание настоящего изобретения. Кроме того, ссылка в описании на такие фразы, как «один вариант осуществления» или «вариант осуществления» означает, что конкретный признак, структура или характеристика, описанные в связи с этим вариантом осуществления, включены по меньшей мере в один вариант осуществления настоящего изобретения. Появление фраз, таких как «в одном варианте осуществления» в различных местах данного описания, не обязательно относится к одному и тому же варианту осуществления.

[0084] **Формы единственного числа** используются в данном документе для обозначения одного или нескольких (например, по меньшей мере одного) грамматических вариантов. В качестве примера «элемент» означает один или несколько элементов.

[0085] Термин «содержащий» или «содержит» используется в данном документе в отношении композиций, способов и их соответствующего (соответствующих) компонента

(компонентов), которые необходимы для настоящего изобретения, однако он открыт для включения не указанных элементов, существенных или не существенных.

[0086] Термин «состоящий из» относится к композициям, способам и их соответствующим компонентам, как описано в данном документе, которые исключают любой элемент, не упомянутый в этом описании варианта осуществления.

[0087] Термин «Т-клеточный рецептор» (TCR), как используется в данном документе, относится к представителю суперсемейства иммуноглобулинов, содержащему переменный связывающий домен, константный домен, трансмембранную область и короткий цитоплазматический хвост; см., например, Janeway *et al.*, *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*, 3rd Ed., Current Biology Publications, p. 4:33, 1997), способному специфически связываться с антигенным пептидом, связанным с рецептором МНС. TCR может быть обнаружен на поверхности клетки и обычно состоит из гетеродимера, содержащего α - и β -цепи (также известные как TCR α и TCR β соответственно) или γ - и δ -цепи (также известные как TCR γ и TCR δ соответственно). Подобно иммуноглобулинам, внеклеточная часть цепей TCR (например, α -цепь, β -цепь) содержит две области иммуноглобулина, переменную область (например, переменную α -область TCR или V α и переменную β -область TCR или V β ; обычно аминокислоты от 1 до 116 в соответствии с нумерацией Kabat на N-конце) и одну константную область (например, константный домен TCR α или C α и обычно аминокислоты от 117 до 259 в соответствии с Kabat, константный домен TCR β или C β , обычно аминокислоты от 117 до 295 в соответствии с Kabat), прилегающие к клеточной мембране. Также, как и иммуноглобулины, переменные домены содержат определяющие комплементарность области (CDR), разделенные каркасными областями (FR). В определенных вариантах осуществления TCR встречается на поверхности Т-клеток (или Т-лимфоцитов) и ассоциируется с комплексом CD3. Источником TCR по настоящему изобретению могут быть различные виды животных, такие как человек, мышь, крыса, кролик или другое млекопитающее. В предпочтительных вариантах осуществления источником TCR по настоящему изобретению является мышь, генетически сконструированная для продуцирования TCR, содержащих альфа- и бета-цепи человека (см., например, публикацию РСТ № WO 2016/164492, полное содержание которой включено в данный документ посредством ссылки).

[0088] Термин «переменная область» (переменная область альфа-цепи (V α), переменная область бета-цепи (V β)), как используется в данном документе, обозначает каждую из альфа- и бета-цепей, которая непосредственно участвует в связывании TCR с антигеном.

[0089] «Константная область» альфа-цепи и бета-цепи не участвует непосредственно в связывании TCR с антигеном, но проявляет различные эффекторные функции.

[0090] Термин «антиген», как используется в данном документе, означает любое вещество, которое заставляет иммунную систему продуцировать антитела или специфические клеточно-опосредованные иммунные ответы в отношении его.

Ассоциированный с заболеванием антиген представляет собой любое вещество, ассоциированное с любым заболеванием, которое заставляет иммунную систему продуцировать антитела или опосредованный специфическими клетками ответ в отношении его.

[0091] Термин «MAGE-A4» или «MAGEA4» или «меланома-ассоциированный антиген А4» относится к хорошо известному антигену рака яичек (СТА), который повторно экспрессируется при многих типах рака.

[0092] Нуклеотидная и аминокислотная последовательность полноразмерного MAGE-A4 представлена в GenBank под номером доступа NM_001011548 (последовательность ДНК: SEQ ID NO: 870; последовательность РНК: SEQ ID NO: 610; аминокислотная последовательность: SEQ ID NO: 611). Термин «MAGE-A4» включает рекомбинантный MAGE-A4 или его фрагмент. Термин также включает MAGE-A4 или его фрагмент, связанный, например, с гистиридиновой меткой, мышинным или человеческим Fc или сигнальной последовательностью, такой как ROR1. В определенных вариантах осуществления термин включает в себя MAGE-A4 или его фрагмент в контексте HLA-A2, связанного с HLA-A2 или экспонируемого HLA-A2. Используемая в данном документе нумерация определенных аминокислотных остатков MAGE-A4 в полноразмерной последовательности MAGE-A4 соответствует SEQ ID NO: 611.

[0093] Термин «HLA» относится к системе или комплексу человеческого лейкоцитарного антигена (HLA), который представляет собой генный комплекс, кодирующий белки главного комплекса гистосовместимости (МНС) у человека. Эти белки клеточной поверхности отвечают за регуляцию иммунной системы человека. HLA, соответствующие МНС I класса (A, B и C), презентируют пептиды изнутри клетки.

[0094] Термин «HLA-A» относится к группе лейкоцитарных антигенов человека (HLA), которые кодируются локусом HLA-A. HLA-A представляет собой один из трех основных типов рецепторов клеточной поверхности МНС I класса человека. Рецептор представляет собой гетеродимер и состоит из тяжелой α -цепи и меньшей β -цепи. α -цепь кодируется вариантом гена HLA-A, а β -цепь (β 2-микроглобулин) представляет собой инвариантную молекулу β 2-микроглобулина.

[0095] Термин «HLA-A2» (который также может обозначаться как «HLA-A2*01») представляет собой одну конкретную группу аллелей главного комплекса гистосовместимости (МНС) I класса в локусе HLA-A; α -цепь кодируется геном HLA-A*02, а β -цепь кодируется локусом β 2-микроглобулина или B2M.

[0096] Термин «специфически связывается» или «специфически связывается с» и т.п. означает, что TCR образует комплекс с антигеном, который относительно стабилен в физиологических условиях. Специфическое связывание можно охарактеризовать константой равновесной диссоциации, составляющей по меньшей мере около 1×10^{-8} М или меньше (например, меньшее значение K_D означает более прочное связывание). Способы определения того, связываются ли две молекулы специфически, хорошо известны из уровня техники и включают, например, равновесный диализ, поверхностный

плазмонный резонанс и т.п. Как описано в данном документе, TCR по настоящему изобретению специфически связываются с пептидом презентруемого HLA-A2 ракового антигена яичка меланомы-ассоциированного антигена 4 (MAGE-A4), например, пептидом, содержащим аминокислотные остатки 230-239 или 286-294 MAGE-A4 (например, полноразмерной последовательности MAGE-A4 под SEQ ID NO: 611).

[0097] Термин «нецелевой пептид» относится к пептиду, который отличается на 1, 2, 3, 4, 5 или более аминокислот от целевого пептида (например, пептида MAGE-A4 230-239 или пептида MAGE-A4 286-294). В определенных вариантах осуществления термин включает в себя пептид, который отличается менее или 3 аминокислотами от целевого пептида. Например, для 9-мерного пептида, если 1, 2 или 3 аминокислоты не идентичны целевому пептиду, он считается «нецелевым» пептидом. В определенных вариантах осуществления идентичность аминокислот выражается в терминах «степени сходства» (DoS). Если 6 или более аминокислот в 9-мерном пептиде идентичны, DoS равна 6. В определенных вариантах осуществления пептид с $\text{DoS} \leq 6$ считается «нецелевым» пептидом. Термин «нецелевой» пептид также относится к пептиду, который подобен целевому пептиду на основании гомологии последовательности, предположительно связывается с HLA-A2 и содержится в белке, который экспрессируется в основных нормальных тканях.

[0098] Термин «выделенный» относится к композиции, соединению, веществу или молекуле, измененным человеком по отношению к естественному состоянию. Например, композиция или вещество, встречающееся в природе, выделяется, если они были изменены или удалены из своей исходной среды, или и то, и другое. Например, полинуклеотид или полипептид, естественно присутствующий в живом животном, не является выделенным, но тот же полинуклеотид или полипептид, является выделенным из сосуществующих материалов в его естественном состоянии, как этот термин используется в данном документе. Более конкретно, выделенный TCR может относиться к TCR, который был удален из клетки, например, к TCR, который был очищен. TCR также могут быть экспрессированы выделенной клеткой, например, клеткой, выделенной из животного, или клеткой из клеточной культуры. В этом контексте выделенная клетка может экспрессировать TCR на своей поверхности (т. е. клетка может «презентировать» TCR).

[0099] Термин «рекомбинантный», как используется в данном документе, относится к TCR по настоящему изобретению, созданному, экспрессируемому, выделенному или полученному с применением технологий или способов, известных из уровня техники, таких как технология рекомбинантной ДНК, которые включают, например, сплайсинг ДНК и трансгенную экспрессию. Термин относится к TCR, экспрессируемому у отличного от человека млекопитающего (включая трансгенных отличных от человека млекопитающих, например, трансгенных мышей), или в системе экспрессии клеток (например, клетки CHO), или выделенным из библиотеки рекомбинантных комбинаторных антител человека.

[00100] Как используется в данном документе, термины «полинуклеотид» и «молекула нуклеиновой кислоты» используются взаимозаменяемо для обозначения

полимерных форм нуклеотидов любой длины. Полинуклеотиды могут содержать дезоксирибонуклеотиды, рибонуклеотиды и/или их аналоги. Нуклеотиды могут характеризоваться любой трехмерной структурой и могут выполнять любую функцию, известную или неизвестную. Термин «полинуклеотид» включает, например, одно-, двухцепочечные и трехспиральные молекулы, ген или фрагмент гена, экзоны, интроны, mRNA, tRNA, rRNA, рибозимы, антисмысловые молекулы, cDNA, рекомбинантные полинуклеотиды, разветвленные полинуклеотиды, аптамеры, плазмиды, векторы, выделенную ДНК любой последовательности, выделенную РНК любой последовательности, зонды и праймеры нуклеиновых кислот. Молекула нуклеиновой кислоты может также содержать модифицированные молекулы нуклеиновой кислоты (например, содержащие модифицированные основания, сахара и/или межнауклеотидные линкеры).

[00101] Термин «полипептид» предназначен для обозначения любого полимера, предпочтительно состоящего по сути из любых из 20 природных аминокислот, независимо от его размера. Хотя термин «белок» часто используется в отношении относительно больших белков, а «пептид» часто используется в отношении небольших полипептидов, использование этих терминов в данной области часто перекрывается. Термин «полипептид» обычно относится к белкам, полипептидам и пептидам, если не указано иное. Пептиды, пригодные в соответствии с настоящим изобретением, как правило, обычно составляют от около 0,1 до 100 кДа или больше до около 1000 кДа, предпочтительно от около 0,1, 0,2, 0,5, 1, 2, 5, 10, 20, 30 и 50 кДа, по оценкам стандартных методик определения размера молекул, таких как центрифугирование или SDS-электрофорез в полиакриламидном геле.

[00102] Термин «вектор» означает молекулу нуклеиновой кислоты, которая способна автономно реплицироваться в клетке-хозяине и может принимать чужеродную ДНК. Вектор несет свою собственную точку начала репликации, один или несколько уникальных сайтов распознавания для рестрикционных эндонуклеаз, которые могут использоваться для вставки чужеродной ДНК, и обычно селективируемые маркеры, такие как гены, кодирующие устойчивость к антибиотикам, и часто последовательности распознавания (например, промотор) для экспрессии вставленной ДНК. Распространенные векторы включают плазмидные векторы и фаговые векторы.

[00103] В некоторых вариантах осуществления TCR по настоящему изобретению могут быть конъюгированы с фрагментом, таким как лиганд, детектируемый фрагмент или терапевтический фрагмент («иммуноконъюгат»), такой как цитотоксин, противораковое лекарственное средство или любой другой пригодный терапевтический фрагмент для лечения заболевания или состояния, включая ассоциированное с MAGE-A4 заболевание или нарушение, например ассоциированный с MAGE-A4 рак.

[00104] Термин «поверхностный плазмонный резонанс», как используется в данном документе, относится к оптическому явлению, которое позволяет анализировать биомолекулярные взаимодействия в реальном времени путем обнаружения изменений

концентраций белка в матрице биосенсора, например, с использованием системы BIACORE™ (Pharmacia Biosensor AB, Упсала, Швеция, и Пискатауэй, Нью-Джерси).

[00105] Термин «KD», также известный как K_D или K_d , предназначен для обозначения константы равновесной диссоциации конкретной биомолекулы и ее партнера по связыванию. Измерения KD особенно пригодны для оценки белок-белковых взаимодействий, например, как при взаимодействии антигенсвязывающего белка с антигеном. Чем меньше значение KD, тем больше (или, например, сильнее) связывающее взаимодействие или аффинность между антигенсвязывающим белком и антигеном (например, мишенью). Чем больше значение KD, тем слабее связывающее взаимодействие или аффинность между антигенсвязывающим белком и антигеном.

[00106] Термин «значительная идентичность» или «по сути идентичный», при обозначении нуклеиновой кислоты или ее фрагмента, указывает на то, что при оптимальном выравнивании с соответствующими нуклеотидными вставками или делециями с другой нуклеиновой кислотой (или ее комплементарной цепью) существует идентичность нуклеотидной последовательности у по меньшей мере около 90%, и более предпочтительно по меньшей мере около 95%, 96%, 97%, 98% или 99% нуклеотидных оснований, измеряемая с помощью любого хорошо известного алгоритма идентичности последовательностей, как обсуждается ниже. Молекула нуклеиновой кислоты, имеющая значительную идентичность с референтной молекулой нуклеиновой кислоты, может в некоторых случаях кодировать полипептид, имеющий такую же или по сути аналогичную аминокислотную последовательность, что и полипептид, кодируемый референтной молекулой нуклеиновой кислоты.

[00107] Идентичность последовательности может быть вычислена с применением алгоритма, например, алгоритма Нидлмана-Вунша (Needleman and Wunsch 1970, *J. Mol. Biol.* 48: 443-453) для глобального выравнивания, или алгоритма Смита-Уотермана (Smith and Waterman 1981, *J. Mol. Biol.* 147: 195-197) для локального выравнивания. Другой предпочтительный алгоритм описан Dufresne et al. в *Nature Biotechnology* в 2002 году (vol. 20, pp. 1269-71) и используется в программном обеспечении GenePAST (GQ Life Sciences, Inc., Бостон, Массачусетс).

[00108] Применительно к полипептидам термин «значительное сходство» или «по сути сходный» означает, что две пептидные последовательности при оптимальном выравнивании, например, с применением программ GAP или BESTFIT с использованием штрафов за открытие гэпов по умолчанию, имеют по меньшей мере 90% идентичности последовательности, даже более предпочтительно по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности последовательности. Предпочтительно положения остатков, которые не являются идентичными, отличаются консервативными аминокислотными заменами. «Консервативная аминокислотная замена» представляет собой замену, при которой аминокислотный остаток заменяется другим аминокислотным остатком, содержащим боковую цепь (R-группу) с аналогичными химическими свойствами (например, зарядом или гидрофобностью). Как правило, консервативная аминокислотная

замена значительно не изменит функциональные свойства белка. В случаях, когда две или более аминокислотные последовательности отличаются друг от друга консервативными заменами, процент или степень сходства можно корректировать в сторону повышения в целях коррекции консервативной природы замены. Специалистам в данной области техники хорошо известны средства для создания такой коррекции. См., например, работу Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331, которая включена в данный документ посредством ссылки. Примеры групп аминокислот, которые содержат боковые цепи с аналогичными химическими свойствами, включают 1) алифатические боковые цепи: глицин, аланин, валин, лейцин и изолейцин; 2) алифатические гидроксильные боковые цепи: серин и треонин; 3) амидсодержащие боковые цепи: аспарагин и глутамин; 4) ароматические боковые цепи: фенилаланин, тирозин и триптофан; 5) основные боковые цепи: лизин, аргинин и гистидин; 6) кислые боковые цепи: аспартат и глутамат, и 7) серосодержащие боковые цепи представляют собой цистеин и метионин. Предпочтительными группами консервативных аминокислотных замен являются валин-лейцин-изолейцин, фенилаланин-тирозин, лизин-аргинин, аланин-валин, глутамин-аспартат и аспарагин-глутамин. В качестве альтернативы консервативная замена представляет собой любое изменение, имеющее положительное значение в логарифмической матрице правдоподобия PAM250, раскрываемой в работе Gonnet *et al.* (1992) *Science* 256: 1443-45, включенной в данный документ посредством ссылки. «Умеренно консервативная» замена представляет собой любое изменение, имеющее неотрицательное значение в логарифмической матрице правдоподобия PAM250.

[00109] Сходство последовательностей полипептидов обычно измеряется с применением программного обеспечения для анализа последовательностей. Компьютерная программа для анализа белков совмещает аналогичные последовательности с помощью показателей сходства, присваиваемых различным заменам, делециям и другим модификациям, в том числе консервативным аминокислотным заменам. Например, программное обеспечение GCG содержит программы, такие как GAP и BESTFIT, которые можно использовать с параметрами по умолчанию в целях определения гомологии последовательностей или идентичности последовательностей между тесно связанными полипептидами, такими как гомологичные полипептиды от различных видов организмов, или между белком дикого типа и его мутантом. См., например, GCG версии 6.1. Полипептидные последовательности также можно сравнивать с помощью FASTA с применением параметров по умолчанию или рекомендованных параметров, программного обеспечения в GCG версии 6.1. FASTA (например, FASTA2 и FASTA3) предусматривает выравнивания и процент идентичности участков наилучшего перекрытия между запрашиваемой и найденной последовательностями (Pearson (2000), выше). Последовательности также можно сравнивать с помощью алгоритма поиска гомологии Смита-Уотермана с использованием поиска аффинных гэпов, при этом штраф за открытие гэпа составляет 12 и штраф за продление гэпа составляет 2, матрица BLOSUM составляет 62. Другим предпочтительным алгоритмом при сравнении последовательности по

настоящему изобретению с базой данных, содержащей большое число последовательностей от различных организмов, является компьютерная программа BLAST, особенно BLASTP или TBLASTN, с применением параметров по умолчанию. См., например, работы Altschul *et al.* (1990) *J. Mol. Biol.* 215: 403-410, и (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402, каждая из которых включена в данный документ посредством ссылки.

[00110] «TCR, происходящий от пациента» представляет собой TCR, который образуется путем выделения альфа- и бета-цепей реактивного в отношении MAGE-A4 TCR, выделенного из Т-лимфоцитов, которые опосредуют регрессию опухоли *in vivo* у субъекта, у которого имеется ассоциированный с MAGE-A4 рак.

[00111] «TCR с созревшей аффинностью» представляет собой TCR, который получают посредством мутагенеза и селекции *in vitro*. Например, можно проводить ненаправленный или направленный (например, направленный на олигонуклеотиды) мутагенез для внесения вариации в последовательности TCR, а затем последующие TCR можно подвергать скринингу в отношении аффинности в отношении к мишени, например, с применением фагового дисплея.

[00112] Термин «активирует Т-клеточный ответ, характеризующийся соотношением сигнал/шум, более высоким или равным происходящему от пациента MAGE-A4-специфическому TCR» или «активирует Т-клеточный ответ, характеризующийся соотношением сигнал/шум, более высоким или равным MAGE-A4-специфическому TCR с созревшей аффинностью TCR» предназначен для обозначения повышения, т.е., повышения в около 2 раза или больше, т.е., повышения в около 2 раза, т.е., повышения или усиления физиологической активности в около 2 раза, т.е., повышения передачи сигналов с участием Т-клеток в около 2 раза, измеряемого, например, с применением люминесцентного биоанализа. Ссылка на более высокий Т-клеточный ответ или более сильный Т-клеточный ответ или сигнал активации может использоваться взаимозаменяемо. Различные измерения и анализы Т-клеточного ответа или Т-клеточной активации хорошо известны специалистам в данной области техники.

[00113] Под фразой «терапевтически эффективное количество» подразумевается количество, которое дает необходимый эффект, для которого оно вводится. Точное количество будет зависеть от цели лечения и может быть установлено специалистом в данной области техники с применением известных методик (см., например, Lloyd (1999) *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding*). Термин «эффективное количество» предназначен для охвата таких контекстов, как фармацевтически эффективное количество или терапевтически эффективное количество. Например, в некоторых вариантах осуществления эффективное количество способно обеспечить благоприятное состояние, благоприятный результат, функциональную активность в скрининговом анализе или улучшение клинического состояния.

[00114] Как используется в данном документе, термин «субъект» относится к животному, предпочтительно млекопитающему, нуждающемуся в нормализации, предупреждении и/или лечении ассоциированного с MAGE-A4 заболевания или

нарушения, такого как ассоциированный с MAGE-A4 рак (например, MAGE-A4-положительный рак). Термин включает в себя субъектов, у которых имеется ассоциированное с MAGE-A4 заболевание или нарушение, или имеется риск его развития, такое как ассоциированный с MAGE-A4 рак.

[00115] Как используется в данном документе, термин «противораковое лекарственное средство» означает любое средство, применимое для лечения, облегчения или ингибирования рака, включая без ограничения, цитотоксины и средства, такие как антиметаболиты, алкилирующие средства, антрациклины, антибиотики, антимитотические средства, прокарбазин, гидроксимочевина, аспарагиназа, кортикостероиды, циклофосфамид, митотан (O, P'-(DDD)), биопрепараты (например, антитела и интерфероны) и радиоактивные средства. Как используется в данном документе, термин «цитотоксин или цитотоксическое средство» также относится к химиотерапевтическому средству и означает любое средство, которое является вредным для клеток. Примеры включают в себя Taxol® (паклитаксел), темозоломид, цитохалазин В, грамицидин D, этидия бромид, эметин, цисплатин, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, колхицин, доксорубицин, даунорубицин, дигидроксиантрациндион, митоксантрон, митрамицин, актиномицин D, 1-дегидротестостерон, глюкокортикоиды, прокаин, тетракаин, лидокаин, пропранолол и пуромидин и их аналоги или гомологи.

[00116] Термины «предупреждать», «осуществлять предупреждение», «предупреждение», «профилактическое лечение» и т.п. предназначены для обозначения снижения вероятности развития нарушения или состояния у субъекта, у которого не имеется нарушения или состояния, но имеется риск их развития или предрасположенность к их развитию. Предупреждение и т.п. не означает предупреждение того, что субъект когда-либо заболеет конкретным заболеванием или нарушением. Для предупреждения может потребоваться введение нескольких доз. Предупреждение может включать в себя предупреждение рецидива заболевания у субъекта, у которого были устранены все симптомы заболевания, или предупреждение рецидива рецидивирующе-ремиттирующего заболевания.

II. Т-клеточные рецепторы (TCR) к MAGE-A4 и композиции, содержащие TCR к MAGE-A4

[00117] Т-клетки представляют собой подгруппу клеток, которые вместе с другими типами иммунных клеток (полиморфноядерные, эозинофилы, базофилы, тучные клетки, В-клетки, NK-клетки) составляют клеточный компонент иммунной системы. В физиологических условиях Т-клетки выполняют функцию иммунного надзора и устраняют чужеродный антиген. Однако в патологических условиях имеются убедительные доказательства того, что Т-клетки играют важную роль в возникновении и распространении заболевания. При этих нарушениях нарушение иммунологической толерантности Т-клеток, центральной или периферической, является фундаментальным процессом, вызывающим аутоиммунное заболевание.

[00118] Т-клетки связывают эпитопы на малых антигенных детерминантах на

поверхности антигенпрезентирующих клеток, которые ассоциированы с основным комплексом гистосовместимости (МНС; у мышей) или комплексом лейкоцитарного антигена человека (HLA; у человека). Т-клетки связывают эти эпитопы посредством комплекса Т-клеточного рецептора (TCR) на поверхности Т-клетки. Т-клеточные рецепторы представляют собой гетеродимерные структуры, состоящие из цепей двух типов: α - (альфа) и β (бета)-цепи или γ - (гамма) и δ (дельта)-цепи. α -цепь кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты, расположенной в α -локусе (в хромосоме 14 человека или мыши), которая также охватывает весь δ -локус, а β -цепь кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты, расположенной в β -локусе (в хромосоме 6 мыши или хромосоме 7 человека). Большинство Т-клеток содержат $\alpha\beta$ TCR; в то время как меньшая часть Т-клеток несет $\gamma\delta$ TCR.

[00119] α - и β -полипептиды Т-клеточных рецепторов (и аналогично γ - и δ -полипептиды) связаны друг с другом посредством дисульфидной связи. Каждый из двух полипептидов, составляющих TCR, содержит внеклеточный домен, содержащий константную и переменную области, трансмембранный домен и цитоплазматический хвост (трансмембранный домен и цитоплазматический хвост также являются частью константной области). Переменная область TCR определяет его антигенную специфичность и, аналогично иммуноглобулинам, содержит три определяющие комплементарности области (CDR). TCR экспрессируется на большинстве Т-клеток в организме и, как известно, участвует в распознавании антигенов, ограниченных МНС. α -цепь TCR содержит ковалентно связанную $V\alpha$ - и $C\alpha$ -область, в то время как β -цепь содержит $V\beta$ -область, ковалентно связанную с $C\beta$ -областью. $V\alpha$ - и $V\beta$ -области образуют карман или щель, которые могут связывать антиген в контексте главного комплекса гистосовместимости (МНС) (или HLA у человека). TCR представляют собой детектирующие молекулы с исключительной специфичностью, которые, как и антитела, обладают огромным разнообразием.

[00120] Были раскрыты общая структура молекул TCR и способы получения и применения, включая связывание пептид:главный комплекс гистосовместимости. См., например, PCT/US98/04274; PCT/US98/20263; WO99/60120.

[00121] Отличные от человека животные (например, грызуны, например, мыши или крысы) могут быть генетически сконструированы для экспрессии человеческого или гуманизированного Т-клеточного рецептора (TCR), содержащего переменный домен, кодируемый по меньшей мере одним сегментом гена переменной области человеческого TCR, как описано, например, в публикации PCT № WO 2016/164492, полное содержание которой включено в данный документ посредством ссылки. Например, технология мыши Veloci-T® (Regeneron), генетически модифицированной мыши, которая позволяет продуцировать полностью человеческие терапевтические TCR в отношении опухолевых и/или вирусных антигенов, может быть использована для получения TCR по настоящему изобретению. Специалисты в данной области техники с помощью стандартных методик мутагенеза в сочетании с анализами, описанными в данном документе, могут получить

измененные последовательности TCR и исследовать их в отношении определенной аффинности и/или специфичности связывания. Пригодные методики мутагенеза, известные из уровня техники, включают без ограничения синтез гена *de novo*, олигонуклеотид-направленный мутагенез, сайт-специфический мутагенез, мутагенез со сканированием линкера и сайт-направленный мутагенез с помощью ПЦР (см., например, Sambrook et al. (1989) и Ausubel *et al.* (1999)).

[00122] Вкратце, в одном варианте осуществления способы образования TCR к пептиду MAGE-A4 230-239 или пептиду MAGE-A4 286-294 могут включать иммунизацию отличного от человека животного (например, грызуна, например, мыши или крысы), такого как генно-инженерное отличное от человека животное, которое содержит в своем геноме нереаранжированный вариабельный локус гена TCR человека с пептидом MAGE-A4 230-239 или пептидом MAGE-A4 286-294; позволяя животному вызвать иммунный ответ в отношении пептида; выделение от животного Т-клетки, реактивной в отношении к пептиду; определение последовательности нуклеиновой кислоты вариабельной области человеческого TCR, экспрессируемой Т-клеткой; клонирование вариабельной области человеческого TCR в нуклеотидную конструкцию, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты константной области человеческого TCR, так что вариабельная область человеческого TCR функционально связана с константной областью человеческого TCR; и экспрессию из конструкции человеческого Т-клеточного рецептора, специфического в отношении пептида MAGE-A4 230-239 или пептида MAGE-A4 286-294 соответственно. В одном варианте осуществления стадии выделения Т-клетки, определения последовательности нуклеиновой кислоты вариабельной области человеческого TCR, экспрессируемой Т-клеткой, клонирования вариабельной области человеческого TCR в нуклеотидную конструкцию, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты константной области человеческого TCR и экспрессии Т-клеточного рецептора человека осуществляют с применением стандартных методик, известных специалистам в данной области техники.

[00123] В одном варианте осуществления нуклеотидная последовательность, кодирующая Т-клеточный рецептор, специфический для антигена, представляющего интерес, экспрессируется в клетке. В одном варианте осуществления клетку, экспрессирующую TCR, выбирают из клетки CHO, COS, 293, HeLa, PERC.6™ и т.д.

[00124] При получении вариантов кодирующих последовательностей TCR специалистам в данной области техники будет понятно, что белки, происходящие от TCR, могут быть модифицированы с использованием определенных аминокислотных замен, добавлений, делеций и посттрансляционных модификаций без потери или снижения биологической активности. В частности, хорошо известно, что консервативные аминокислотные замены, т.е., замена одной аминокислоты другой аминокислотой аналогичного размера, заряда, полярности и конформации, маловероятно существенно изменяет функцию белка. 20 стандартных аминокислот, которые входят в состав белков, можно в общих чертах разделить на четыре группы консервативных аминокислот

следующим образом: неполярная (гидрофобная) группа включает в себя аланин, изолейцин, лейцин, метионин, фенилаланин, пролин, триптофан и валин; полярная (незаряженная, нейтральная) группа включает в себя аспарагин, цистеин, глутамин, глицин, серин, треонин и тирозин; положительно заряженная (основная) группа содержит аргинин, гистидин и лизин; и отрицательно заряженная (кислая) группа содержит аспарагиновую кислоту и глутаминовую кислоту. Замена в белке одной аминокислоты другой в пределах одной и той же группы маловероятно окажет отрицательное влияние на биологическую активность белка.

[00125] В некоторых вариантах осуществления TCR по настоящему изобретению может содержать последовательность CDR (например, последовательность CDR3, такую как V α CDR3 или V β CDR3) с 1 или более заменами по сравнению с последовательностью CDR (например, последовательностью CDR3, такой как CDR3 V α или CDR3 V β) из Табл. 6. Например, TCR по настоящему изобретению может содержать последовательность CDR с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или больше заменами по сравнению с последовательностью CDR из Табл. 6. Как правило, TCR по настоящему изобретению функционируют посредством связывания с презентуемым HLA-A2 пептидом MAGE-A4 230-239 или презентуемым HLA-A2 пептидом MAGE-A4 286-294. Как используется в данном документе, презентуемый HLA пептид (такой как презентуемый HLA-A2 пептид), может относиться к пептиду, который связан с белком лейкоцитарного антигена человека (HLA), например, белком HLA, экспрессируемым на поверхности клетки. Таким образом, TCR, который связывается с презентуемым HLA пептидом, связывается с пептидом, который связывается HLA и необязательно также связывается с самим HLA. Взаимодействие с HLA может придавать специфичность связывания с пептидом, презентуемым конкретным HLA. В некоторых вариантах осуществления TCR связывается с выделенным презентуемым HLA пептидом. В некоторых вариантах осуществления TCR связывается с презентуемым HLA пептидом на поверхности клетки.

[00126] Настоящее изобретение включает в себя TCR к MAGE-A4, которые связывают пептид MAGE-A4 230-239 или пептид MAGE-A4 286-294 в контексте HLA-A2 с высокой специфичностью. В некоторых вариантах осуществления TCR к MAGE-A4 не связываются с пептидом MAGE-A4 230-239 или пептидом MAGE-A4 286-294 в отсутствие HLA-A2, или такое связывание является минимальным. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления TCR к MAGE-A4 не связываются с нецелевым пептидом в контексте HLA-A2, или такое связывание является минимальным. Как используется в данном документе, термин «нецелевой пептид» может относиться к пептиду, который отличается от целевого пептида на 1, 2, 3, 4, 5 или больше аминокислот. В некоторых вариантах осуществления специфичность связывания может быть определена посредством а) измерения целевого связывания (например, связывания с презентуемым HLA-A2 пептидом MAGE-A4 (230-239) или связывания презентуемого HLA-A2 пептида MAGE-A4 (230-239)), б) измерения нецелевого связывания и с) количественной оценки разницы между ними, например, путем вычисления соотношения. Это соотношение может быть вычислено, например, путем

деления значений, полученных в пунктах а) и б). Измерение целевого и нецелевого связывания может быть достигнуто, например, путем измерения % связывания с пептидом/тетрамерным реагентом HLA (например, тетрамерный реагент MAGE-A4/HLA или тетрамерный реагент MAGE-A8/HLA) или с применением других методик, известных из уровня техники. В некоторых вариантах осуществления значение соотношения целевое связывание/нецелевое связывание (например, значение, полученное путем деления значений, полученных в пунктах а) и б), описанных выше) TCR по настоящему изобретению может составлять более 5, более 6, более 7, более 8, более 9, более 10, более 11, более 12, более 13, более 14, более 15, более 16, более 17, более 18, более 19, более 20, более 21, более 22, более 23, более 24, более 25, более 26, более 27, более 28, более 29, более 30, более 35, более 40, более 45, более 50, более 55, более 60, более 65, более 70, более 75, более 80, более 85, более 90, более 95, более 100, более 110, более 120, более 130, более 140, более 150, более 160, более 170, более 180, более 190, более 200, более 225, более 250, более 275, более 300, более 325, более 350, более 375, более 400, более 425, более 450, более 475, более 500, более 550, более 600, более 650, более 700, более 750, более 800, более 850, более 900, более 950, более 1000, более 1100, более 1200, более 1300, более 1400, более 1500, более 1600, более 1700, более 1800, более 1900 или более 2000. В некоторых вариантах осуществления значение соотношения целевое связывание/нецелевое связывание (например, значение, полученное путем деления значений, полученных в пунктах а) и б), описанных выше) может составлять от около 5 до около 20, от около 10 до около 30, от около 20 до около 80, от около 30 до около 70, от около 40 до около 60, от около 50 до около 250, от около 100 до около 200, от около 100 до около 1000, от около 300 до около 700, от около 500 до около 1500, от около 800 до около 1200, от около 900 до около 1100, от около 800 до около 1500, от около 1000 до около 1400 или от около 1100 до около 1300.

[00127] В одном варианте осуществления в настоящем изобретении представлен рекомбинантный антигенсвязывающий белок (например, выделенный антигенсвязывающий белок), который специфически связывается с конформационным эпитопом презентруемого HLA-A2 человеческого пептида MAGE-A4 (286-294) или с конформационным эпитопом презентруемого HLA-A2 человеческого пептида MAGE-A4 (230-239), при этом антигенсвязывающий белок характеризуется свойством, выбранным из группы, состоящей из: (а) связывает мономерный пептид HLA-A2: MAGE-A4 (286-294) или мономерный пептид MAGE-A4 (230-239) с константой равновесия при диссоциации связывания (K_D), составляющей менее около 20 нМ, как измерено в анализе поверхностного плазмонного резонанса при 25 °C; (b) связывает мономерный пептид HLA-A2: MAGE-A4 (286-294) или мономерный пептид MAGE-A4 (230-239) с константой равновесия при диссоциации связывания (K_D), составляющей менее около 25 нМ, как измерено в анализе поверхностного плазмонного резонанса при 25 °C; (с) связывается с клетками, экспрессирующими пептид HLA-A2: MAGE-A4 (286-294), или клетками, экспрессирующими пептид MAGE-A4 (230-239), со значением EC_{50} , составляющим менее около 6 нМ и не связываются с клетками, экспрессирующими предположительные

нецелевые пептиды, как определено посредством люминесцентного анализа; (d) связывается с клетками, экспрессирующими пептид HLA-A2: MAGE-A4 (286-294), или клетками, экспрессирующими пептид MAGE-A4 (230-239), со значением EC_{50} , составляющим менее около 1 нМ и по сути не связываются с клетками, экспрессирующими предположительные нецелевые пептиды, как определено посредством люминесцентного анализа; (e) связывается с клетками, экспрессирующими пептид HLA-A2: MAGE-A4 (286-294), или клетками, экспрессирующими пептид MAGE-A4 (230-239), со значением EC_{50} , составляющим менее около 30 нМ, как определено посредством проточно-цитометрического анализа; (f) связывается с клетками, экспрессирующими пептид HLA-A2: MAGE-A4 (286-294), или клетками, экспрессирующими пептид MAGE-A4 (230-239), со значением EC_{50} , составляющим менее около 75 нМ, как определено посредством проточно-цитометрического анализа; (g) опосредует уничтожение раковых клеток (например, клеток меланомы) дозозависимым образом, как определено посредством анализа высвобождения красителя кальцеина AM, и (h) конформационный эпитоп содержит одну или несколько аминокислот под SEQ ID NO: 611 или под SEQ ID NO: 612.

[00128] В некоторых вариантах осуществления TCR к MAGE-A4 по настоящему изобретению характеризуются специфической активностью или аффинностью в отношении MAGE-A4 (230-239) или в отношении MAGE-A4 (286-294), как измеряется посредством анализа *in vitro*. Например, клетки (такие как клетки T2), экспрессирующие HLA, могут быть активированы полипептидом MAGE-A4 (230-239) или MAGE-A4 (286-294) или нецелевым полипептидом, за счет чего осуществляется индукция клеток к презентации полипептида, связанного с HLA. В качестве альтернативы или в качестве дополнения к применению нецелевого полипептида в качестве контроля можно использовать нецелевой HLA (HLA, отличный от HLA, который распознается TCR, представляющим интерес). Например, нецелевой HLA можно использовать для презентации пептида MAGE-A4 для исследования специфичности связывания с презентуемым HLA-A2 пептидом MAGE-A4. Кроме того, контроль может представлять собой линию клеток, которая не экспрессирует ни MAGE-A4, ни целевой HLA (например, HLA-A2). Клетки можно кокультивировать с популяцией Т-клеток, экспрессирующих TCR, представляющий интерес, и измерять активность в виде функции количества цитокина (такого как интерферон гамма), продуцируемого клетками. В некоторых вариантах осуществления анализ может включать кокультивирование популяции TCR-экспрессирующих Т-клеток *in vitro* с нагруженными 10^{-10} М пептида клетками T2 при соотношении эффекторная клетка:целевая клетка 1:1 (1×10^5 эффекторных клеток/96 лунок) и измерение интерферона гамма через 24 часа после кокультивирования (например, с применением Sector Imager Meso Scale Discovery (MSD®)). В определенных вариантах осуществления анализ может включать кокультивирование *in vitro* популяции Т-клеток, экспрессирующих TCR, и эффекторных клеток при соотношении эффекторная клетка:целевая клетка 5:1 ($2,5 \times 10^5$ эффекторных клеток: 5×10^4 целевых клеток), и измерение интерферона гамма через 24 часа после кокультивирования (например, с

применением Sector Imager Meso Scale Discovery (MSD®)). В определенных вариантах осуществления TCR экспрессируются в первичных Т-клетках (например, цитотоксических Т-клетках, регуляторных Т-клетках, Т-клетках-хелперах или любой их комбинации) посредством замены эндогенного локуса, например, эндогенного локуса TRAC (KO/KI), и разрушения эндогенного локуса, например, локуса TRBC (KO), с применением, например, CRISPR, TALEN, цинкового пальца или других систем направленного разрушения. Анализы *in vitro*, включающие такие клетки, могут включать цитотоксическую активность в отношении экспрессирующих HLA-A2*01 MAGE-A4 клеток меланомы A375, в анализе высвобождения красителя кальцеина AM.

[00129] Возрастающее количество детектируемых цитокинов может выступать в качестве показателя активности. Активность или специфичность TCR, представляющего интерес, в отношении его целевого пептида по сравнению с контрольным (нецелевым) полипептидом, или активность или специфичность TCR, представляющего интерес, в отношении его целевого пептида, связанного с целевым HLA, по сравнению с целевым пептидом, связанным с нецелевым HLA, может быть 2-кратной или большей, 3-кратной или большей, 4-кратной или большей, 5-кратной или большей, 6-кратной или большей, 7-кратной или большей, 8-кратной или большей, 9-кратной или большей, 10-кратной или большей, 15-кратной или большей, 20-кратной или большей, 30-кратной или большей, 40-кратной или большей, 50-кратной или большей, 100-кратной или большей, 200-кратной или большей, 300-кратной или большей, 400-кратной или большей, 500-кратной или большей, 600-кратной или большей, 700-кратной или большей, 800-кратной или большей, 900-кратной или большей, 1000-кратной или большей, 1500-кратной или большей, 2000-кратной или большей, 2500-кратной или большей, 3000-кратной или большей, 4000-кратной или большей, 5000-кратной или большей, 10000-кратной или большей, 20000-кратной или большей, 30000-кратной или большей, 40000-кратной или большей, 50000-кратной или большей, 60000-кратной или большей, 70000-кратной или большей, 80000-кратной или большей, 90000-кратной или большей или 100000-кратной или большей.

[00130] В определенных вариантах осуществления TCR к MAGE-A4 по настоящему изобретению применимы для ингибирования роста опухоли или задержки прогрессирования рака при профилактическом введении субъекту, нуждающемуся в этом, и могут приводить к повышению выживаемости субъекта. Например, введение TCR к MAGE-A4 по настоящему изобретению может приводить к уменьшению размера первичной опухоли и может предупреждать метастазирование или развитие вторичных опухолей. В определенных вариантах осуществления TCR к MAGE-A4 по настоящему изобретению применимы для ингибирования роста опухоли при терапевтическом введении субъекту, нуждающемуся в этом, и могут приводить к повышению выживаемости субъекта. Например, введение субъекту терапевтически эффективного количества TCR к MAGE-A4 по настоящему изобретению может приводить к уменьшению размера и исчезновению подтвержденной опухоли у субъекта.

[00131] В одном варианте осуществления в настоящем изобретении представлен

TCR (например, выделенный TCR или TCR, экспрессируемый на выделенной клетке), который специфически связывается с презентируемым HLA-A2 пептидом MAGE-A4 286-294, при этом антигенсвязывающий белок характеризуется одной или несколькими из следующих характеристик: (i) содержит вариабельный домен альфа-цепи, содержащий определяющие комплементарность области (CDR) 1, CDR2 и CDR3, при этом CDR3 содержит аминокислотную последовательность формулы I: $N_1-N_2-N_3-N_4-N_5-N_6-N_7-N_8-N_9-N_{10}-N_{11}-N_{12}-N_{13}-N_{14}-N_{15}$ (формула I), где N_1 представляет собой Ala, Ile или Gly; N_2 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Val; N_3 представляет собой Tyr, Gly, Leu, Val, Glu, Met, Ala или Phe; N_4 представляет собой Arg, Glu, Ser, Asn, Gln, Lys, Asp, Gly или Met; N_5 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Ser, Arg, Glu, Leu, Ala, Asp, Pro, Met, Gly или Lys; N_6 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Ala, Asp, Gly, Ser, Val, Pro, Leu, Tyr или Thr; N_7 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Thr, Pro, Ser, Glu, Asp, Trp, Arg, Asn, Ile, Gln или Leu; N_8 представляет собой Gly, Trp, Thr, Lys, Tyr или Ala; N_9 представляет собой Asn, Gly, Lys, Ile, Ser или Arg; N_{10} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Gln, Lys, Gly, Thr, Leu, Asp или Ser; N_{11} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Phe, Asn, Thr, Tyr, Ala, Leu, Met или Glu; N_{12} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Lys, Phe, Tyr или Asp; N_{13} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Lys или Gly; N_{14} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Thr, Leu или Tyr; и N_{15} представляет собой Tyr, Gln, Ile, Thr, Val или Arg; (ii) содержит вариабельный домен бета-цепи, содержащий определяющие комплементарность области (CDR) 1, CDR2 и CDR3, при этом CDR3 содержит аминокислотную последовательность формулы II: $N_1-N_2-N_3-N_4-N_5-N_6-N_7-N_8-N_9-N_{10}-N_{11}-N_{12}-N_{13}-N_{14}-N_{15}-N_{16}-N_{17}-N_{18}$ (формула II), где N_1 представляет собой Ala или Ser; N_2 представляет собой Ala, Ser или Thr; N_3 представляет собой Ser, Gly или Trp; N_4 представляет собой Leu, Tyr, Trp, Asp, Phe, Gly, Pro или His; N_5 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Gly или Asp; N_6 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Phe или Arg; N_7 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Trp, Phe, Asp, Pro, Tyr, Gly, Thr, Ser или Val; N_8 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Pro, Arg, Asp, Tyr, Gln, Asn или Gly; N_9 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Asp; N_{10} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Arg; N_{11} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Gly, Ala или Thr; N_{12} представляет собой Ser, Trp, Thr, Gly, Val, Leu, Arg, Met, Tyr или Gln; N_{13} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Gly; N_{14} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Asn, Asp, Gly, Thr, Pro, Gln или His; N_{15} , который может присутствовать или может не присутствовать,

представляет собой Thr, Ser, Glu, Asn, Tyr, Gln, Asp или Pro; N₁₆, который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Glu, Pro, Lys, Thr, Ala, Gly или Gln; N₁₇, который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Ala, Leu, Ile, Tyr или Gln; и N₁₈ представляет собой Phe, His, Tyr или Thr; и (iii) содержит CDR1 варибельного домена альфа-цепи, содержащую любую из аминокислотных последовательностей CDR1, изложенных в Табл. 2, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%, и CDR2 варибельного домена альфа-цепи, независимо содержащую любую из аминокислотных последовательностей CDR2, изложенных в Табл. 2, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (iv) содержит CDR1 варибельного домена бета-цепи, содержащую любую из аминокислотных последовательностей CDR1, изложенных в Табл. 2, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%, и CDR2 варибельного домена бета-цепи, независимо содержащую любую из аминокислотных последовательностей CDR2, изложенных в Табл. 2, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (v) содержит CDR1, CDR2 и CDR3 варибельного домена альфа-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей варибельного домена альфа-цепи, перечисленных в Табл. 4, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельного домена бета-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей варибельного домена бета-цепи, перечисленных в Табл. 4, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (vi) содержит варибельный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или около 100% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей варибельного домена альфа-цепи, перечисленных в Табл. 4; (vii) содержит варибельный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или около 100% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей варибельного домена бета-цепи, перечисленных в Табл. 4; (viii) содержит (a) варибельный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную

последовательность, которая на по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или около 100% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей варибельного домена альфа-цепи, перечисленных в Табл. 4; и (b) варибельный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% , 96%, 97%, 98%, 99% или около 100% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей варибельного домена бета-цепи, перечисленных в Табл. 4; (ix) содержит (a) домен CDR1 варибельного домена альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 17, 33, 49, 65, 81, 97, 113, 129, 145, 161, 177, 193, 209, 225, 241, 257, 273, 289, 305, 321, 337, 353, 369, 385, 401, 417, 433, 449, 465, 481, 497, 513, 529, 545, 561, 577 и 593; или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (b) CDR2 варибельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338, 354, 370, 386, 402, 418, 434, 450, 466, 482, 498, 514, 530, 546, 562, 578 и 594; или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (c) CDR3 варибельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3, 19, 35, 51, 67, 83, 99, 115, 131, 147, 163, 179, 195, 211, 227, 243, 259, 275, 291, 307, 323, 339, 355, 371, 387, 403, 419, 435, 451, 467, 483, 499, 515, 531, 547, 563, 579 и 595; или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (d) CDR1 варибельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 25, 41, 57, 73, 89, 105, 121, 137, 153, 169, 185, 201, 217, 233, 249, 265, 281, 297, 313, 329, 345, 361, 377, 393, 409, 425, 441, 457, 473, 489, 505, 521, 537, 553, 569, 585 и 601; или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (e) CDR2 варибельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346, 362, 378, 394, 410, 426, 442, 458, 474, 490, 506, 522, 538, 554, 570, 586 и 602; или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; и (f) CDR3 варибельного домена бета-цепи, содержащую

аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11, 27, 43, 59, 75, 91, 107, 123, 139, 155, 171, 187, 203, 219, 235, 251, 267, 283, 299, 315, 331, 347, 363, 379, 395, 411, 427, 443, 459, 475, 491, 507, 523, 539, 555, 571, 587 и 603; или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (x) содержит пару аминокислотных последовательностей варибельного домена альфа-цепи/варибельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 7/15, 23/31, 39/47, 55/63, 71/79, 87/95, 103/111, 119/127, 135/143, 151/159, 167/175, 183/191, 199/207, 215/223, 231/239, 247/255, 263/271, 279/287, 295/303, 311/319, 327/335, 343/351, 359/367, 375/383, 391/399, 407/415, 423/431, 439/447, 455/463, 471/479, 487/495, 503/511, 519/527, 535/543, 551/559, 567/575, 583/591, 599/607, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (xi) содержит пару аминокислотных последовательностей варибельного домена альфа-цепи/варибельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 87/31, 23/95, 231/607, 231/223, 231/591, 231/255, 231/271, 231/79, 231/47, 231/399, 599/239, 599/223, 599/591, 599/255, 599/271, 599/79, 599/47, 599/399, 215/239, 215/607, 215/591, 215/255, 215/271, 215/79, 215/47, 215/399, 583/239, 583/607, 583/223, 583/255, 583/271, 583/79, 583/47, 583/399, 247/239, 247/607, 247/223, 247/591, 247/271, 247/79, 247/47, 247/399, 263/239, 263/607, 263/223, 263/591, 263/255, 263/79, 263/47, 263/399, 71/239, 71/607, 71/223, 71/591, 71/255, 71/271, 71/47, 71/399, 39/239, 39/607, 39/223, 39/591, 39/255, 39/271, 39/79, 39/399, 391/239, 391/607, 391/223, 391/591, 391/255, 391/271, 391/79, 391/47, 439/127, 439/319, 439/287, 439/15, 439/111, 439/383, 439/191, 439/511, 439/527, 439/559, 439/207, 119/447, 119/319, 119/287, 119/15, 119/111, 119/383, 119/191, 119/511, 119/527, 119/559, 119/207, 311/447, 311/127, 311/287, 311/15, 311/111, 311/383, 311/191, 311/511, 311/527, 311/559, 311/207, 279/447, 279/127, 279/319, 279/15, 279/111, 279/383, 279/191, 279/511, 279/527, 279/559, 279/207, 7/447, 7/127, 7/319, 7/287, 7/111, 7/383, 7/191, 7/511, 7/527, 7/559, 7/207, 103/447, 103/127, 103/319, 103/287, 103/15, 103/383, 103/191, 103/511, 103/527, 103/559, 103/207, 375/447, 375/127, 375/319, 375/287, 375/15, 375/111, 375/191, 375/511, 375/527, 375/559, 375/207, 183/447, 183/127, 183/319, 183/287, 183/15, 183/111, 183/383, 183/511, 183/527, 183/559, 183/207, 503/447, 503/127, 503/319, 503/287, 503/15, 503/111, 503/383, 503/191, 503/527, 503/559, 503/207, 519/447, 519/127, 519/319, 519/287, 519/15, 519/111, 519/383, 519/191, 519/511, 510/559, 519/207, 551/447, 551/127, 551/319, 551/287, 551/15, 551/111, 551/383, 551/191, 551/511, 551/527, 551/207, 199/447, 199/127, 199/319, 199/287, 199/15, 199/111, 199/383, 199/191, 199/511, 199/527 и 199/559, или его по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; и/или (xii) не связывается с клетками, экспрессирующими предполагаемые нецелевые пептиды.

[00132] В одном варианте осуществления в настоящем изобретении представлен

TCR (например, выделенный TCR или TCR, экспрессируемый на выделенной клетке), который специфически связывается с презентируемым HLA-A2 пептидом MAGE-A4 230-239, при этом антигенсвязывающий белок характеризуется одной или несколькими из следующих характеристик: (i) содержит CDR1 варибельного домена альфа-цепи, содержащую любую из аминокислотных последовательностей CDR1, изложенных в Табл. 6, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%, и CDR2 варибельного домена альфа-цепи, независимо содержащую любую из аминокислотных последовательностей CDR2, изложенных в Табл. 6, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (iv) содержит CDR1 варибельного домена бета-цепи, содержащую любую из аминокислотных последовательностей CDR1, изложенных в Табл. 6, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%, и CDR2 варибельного домена бета-цепи, независимо содержащую любую из аминокислотных последовательностей CDR2, изложенных в Табл. 6, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (v) содержит CDR1, CDR2 и CDR3 варибельного домена альфа-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей варибельного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 8, или по сути аналогичной им последовательности, идентичной на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельного домена бета-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей варибельного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 8, или по сути аналогичной им последовательности, идентичной на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (vi) содержит варибельный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98%, 99% или около 100% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей варибельного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 8; (vii) содержит варибельный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98%, 99% или около 100% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей варибельного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 8; (viii) содержит (a) варибельный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или около 100%

идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 8; и (b) переменный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или около 100% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 8; (ix) содержит (a) CDR1 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 614, 630, 646, 662, 678, 694, 710, 726, 742, 758, 774, 790, 806, 822, 838 и 854, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (b) CDR2 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 615, 631, 647, 663, 679, 695, 711, 727, 743, 759, 775, 791, 807, 823, 839 и 855, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 99%; (c) CDR3 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 616, 632, 648, 664, 680, 696, 712, 728, 744, 760, 776, 792, 808, 824, 840 и 856, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (d) CDR1 переменного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 622, 638, 654, 670, 686, 702, 718, 734, 750, 766, 782, 798, 814, 830, 846 и 862, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (e) CDR2 переменного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 623, 639, 655, 671, 687, 703, 719, 735, 751, 767, 783, 799, 815, 831, 847 и 863, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; и (f) CDR3 переменного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 624, 640, 656, 672, 688, 704, 720, 736, 752, 768, 784, 800, 816, 832, 848 и 864, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (x) содержит пару аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи/переменного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 620/628, 636/644, 652/660, 668/676, 684/692, 700/708, 716/724,

732/740, 748/756, 764/772, 780/788, 796/804, 812/820, 828/836, 844/852 и 860/868, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (xi) содержит пару аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи/переменного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 620/628, 620/644, 620/660, 620/676, 620/692, 620/708, 620/724, 620/740, 620/756, 620/772, 620/788, 620/804, 620/820, 620/836, 620/852, 620/868, 636/628, 636/644, 636/660, 636/676, 636/692, 636/708, 636/724, 636/740, 636/756, 636/772, 636/788, 636/804, 636/820, 636/836, 636/852, 636/868, 652/628, 652/644, 652/660, 652/676, 652/692, 652/708, 652/724, 652/740, 652/756, 652/772, 652/788, 652/804, 652/820, 652/836, 652/852, 652/868, 668/628, 668/644, 668/660, 668/676, 668/692, 668/708, 668/724, 668/740, 668/756, 668/772, 668/788, 668/804, 668/820, 668/836, 668/852, 668/868, 684/628, 684/644, 684/660, 684/676, 684/692, 684/708, 684/724, 684/740, 684/756, 684/772, 684/788, 684/804, 684/820, 684/836, 684/852, 684/868, 700/628, 700/644, 700/660, 700/676, 700/692, 700/708, 700/724, 700/740, 700/756, 700/772, 700/788, 700/804, 700/820, 700/836, 700/852, 700/868, 716/628, 716/644, 716/660, 716/676, 716/692, 716/708, 716/724, 716/740, 716/756, 716/772, 716/788, 716/804, 716/820, 716/836, 716/852, 716/868, 732/628, 732/644, 732/660, 732/676, 732/692, 732/708, 732/724, 732/740, 732/756, 732/772, 732/788, 732/804, 732/820, 732/836, 732/852, 732/868, 748/628, 748/644, 748/660, 748/676, 748/692, 748/708, 748/724, 748/740, 748/756, 748/772, 748/788, 748/804, 748/820, 748/836, 748/852, 748/868, 764/628, 764/644, 764/660, 764/676, 764/692, 764/708, 764/724, 764/740, 764/756, 764/772, 764/788, 764/804, 764/820, 764/836, 764/852, 764/868, 780/628, 780/644, 780/660, 780/676, 780/692, 780/708, 780/724, 780/740, 780/756, 780/772, 780/788, 780/804, 780/820, 780/836, 780/852, 780/868, 796/628, 796/644, 796/660, 796/676, 796/692, 796/708, 796/724, 796/740, 796/756, 796/772, 796/788, 796/804, 796/820, 796/836, 796/852, 796/868, 812/628, 812/644, 812/660, 812/676, 812/692, 812/708, 812/724, 812/740, 812/756, 812/772, 812/788, 812/804, 812/820, 812/836, 812/852, 812/868, 828/628, 828/644, 828/660, 828/676, 828/692, 828/708, 828/724, 828/740, 828/756, 828/772, 828/788, 828/804, 828/820, 828/836, 828/852, 828/868, 844/628, 844/644, 844/660, 844/676, 844/692, 844/708, 844/724, 844/740, 844/756, 844/772, 844/788, 844/804, 844/820, 844/836, 844/852, 844/868, 860/628, 860/644, 860/660, 860/676, 860/692, 860/708, 860/724, 860/740, 860/756, 860/772, 860/788, 860/804, 860/820, 860/836, 860/852 и 860/868, или его по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; и/или (xii) не связывается с клетками, экспрессирующими предполагаемые нецелевые пептиды.

[00133] TCR по настоящему изобретению могут обладать одной или несколькими из вышеупомянутых биологических характеристик или любыми их комбинациями. Другие биологические характеристики антигенсвязывающих белков по настоящему изобретению будут очевидны специалисту в данной области техники из обзора настоящего изобретения, в том числе демонстрационных примеров данного документа.

[00134] В определенных вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий TCR к MAGE-A4, описанный в данном документе, вставляют в вектор. Термин «вектор», используемый в данном документе, относится к носителю, в который может быть ковалентно вставлен полинуклеотид, кодирующий белок, так, чтобы вызвать экспрессию этого белка и/или клонирование полинуклеотида. Такие векторы также могут обозначаться «векторами экспрессии». Выделенный полинуклеотид может быть вставлен в вектор с применением любых подходящих способов, известных из уровня техники, например без ограничения, вектор может быть расщеплен с использованием соответствующих рестрикционных ферментов, а затем может быть лигирован с выделенным полинуклеотидом, имеющим совпадающие рестрикционные концы. Векторы экспрессии обладают способностью включать и экспрессировать гетерологичные или модифицированные последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие по меньшей мере часть генного продукта, способного транскрибироваться в клетке. В большинстве случаев молекулы РНК затем транслируются в белок. Векторы экспрессии могут содержать множество контрольных последовательностей, которые относятся к последовательностям нуклеиновой кислоты, необходимым для транскрипции и, возможно, трансляции функционально связанной кодирующей последовательности в конкретном организме-хозяине. В дополнение к контрольным последовательностям, которые регулируют транскрипцию и трансляцию, векторы и векторы экспрессии могут содержать последовательности нуклеиновых кислот, которые также выполняют другие функции и обсуждаются ниже. Вектор экспрессии может содержать дополнительные элементы, например, вектор экспрессии может содержать две системы репликации, что позволяет поддерживать его в двух организмах, например, в клетках человека для экспрессии и в прокариотическом хозяине для клонирования и амплификации.

[00135] Вектор экспрессии может содержать необходимые регуляторные элементы выше 5' и ниже 3', такие как промоторные последовательности, такие как промоторы CMV, PGK и EF1 α , сайт распознавания рибосом и связывание с ТАТА-боксом, и 3'-UTR последовательность терминации транскрипции AAUAAA для эффективной транскрипции гена и трансляции в соответствующей клетке-хозяине. Другие подходящие промоторы включают конститутивный промотор раннего промотора обезьяньего вируса 40 (SV40), вирус опухоли молочной железы мыши (MMTV), промотор LTR HIV, промотор MoMuLV, промотор вируса лейкоза птиц, предранний промотор EBV и промотор вируса саркомы Рауса. Также можно использовать промоторы генов человека, включая без ограничения промотор актина, промотор миозина, промотор гемоглобина и промотор креатинкиназы. В определенных вариантах осуществления индуцируемые промоторы также рассматриваются как часть векторов, экспрессирующих химерный антигенный рецептор. Это обеспечивает молекулярный переключатель, способный включить экспрессию полинуклеотидной последовательности, представляющей интерес, или выключить экспрессию. Примеры индуцируемых промоторов включают без ограничения промотор гена металлотенина, промотор гена глюкокортикоидного рецептора, промотор гена

прогестеронового рецептора или промотор гена устойчивости к тетрациклину.

[00136] Вектор экспрессии может иметь дополнительную последовательность, такую как бх-гистидин (SEQ ID NO: 871), метки с-Мус и FLAG, которые включены в экспрессируемые TCR. Таким образом, вектор экспрессии может быть сконструирован таким образом, чтобы он содержал 5' и 3' нетранслируемые регуляторные последовательности, которые иногда могут функционировать как энхансерные последовательности, промоторные области и/или терминаторные последовательности, которые могут способствовать или усиливать эффективную транскрипцию нуклеиновой (нуклеиновых) кислоты (кислот), представляющей (представляющих) интерес, переносимых в векторе экспрессии. Вектор экспрессии также может быть сконструирован для функции репликации и/или экспрессии (например, транскрипции и трансляции) в конкретном типе клеток, положении в клетке или типе ткани. Векторы экспрессии могут включать селектируемый маркер для поддержания вектора в клетке хозяина или реципиента.

[00137] Примерами векторов являются плазмиды, автономно реплицирующиеся последовательности и транспозируемые элементы. Дополнительные иллюстративные векторы включают без ограничения плазмиды, фагмиды, космиды, искусственные хромосомы, такие как искусственная хромосома дрожжей (YAC), бактериальная искусственная хромосома (BAC) или искусственная хромосома на основе P1 (PAC), бактериофаги, такие как фаг лямбда или фаг M13, и вирусы животных. Примеры категорий вирусов животных, используемых в качестве векторов, включают без ограничения ретровирус (включая лентивирус), аденовирус, аденоассоциированный вирус, вирус герпеса (например, вирус простого герпеса), поксвирус, бакуловирус, папилломавирус и паповавирус (например, SV40). Примерами векторов экспрессии являются векторы системы бицистронной экспрессии Lenti-X™ (Neo) (Clontech), векторы pCIneo (Promega) для экспрессии в клетках млекопитающих; pLenti4/V5-DEST™, pLenti6/V5-DEST™ и pLenti6.2N5-GW/lacZ (Invitrogen) для опосредованного лентивирусом переноса генов и экспрессии в клетках млекопитающих. Кодировующие последовательности TCR, раскрываемые в настоящем документе, можно лигировать в такие векторы экспрессии для экспрессии химерного белка в клетках млекопитающих.

[00138] В определенных вариантах осуществления нуклеиновые кислоты, кодирующие TCR по настоящему изобретению, представлены в вирусном векторе. Вирусный вектор может происходить из ретровируса, лентивируса или вируса пенистости. Как используется в данном документе, термин «вирусный вектор» относится к конструкции вектора на основе нуклеиновой кислоты, которая содержит по меньшей мере один элемент вирусного происхождения и характеризуется способностью упаковываться в частицу вирусного вектора. Вирусный вектор может содержать кодирующую последовательность для различных белков, описанных в данном документе, вместо несущественных вирусных генов. Вектор и/или частица могут быть использованы для переноса ДНК, РНК или других нуклеиновых кислот в клетки либо *in vitro*, либо *in vivo*. Из уровня техники известны

многочисленные формы вирусных векторов.

[00139] В определенных вариантах осуществления вирусный вектор, содержащий кодирующую последовательность для TCR, описанного в данном документе, представляет собой ретровирусный вектор или лентивирусный вектор. Термин «ретровирусный вектор» относится к вектору, содержащему структурные и функциональные генетические элементы, которые в основном происходят от ретровируса. Термин «лентивирусный вектор» относится к вектору, содержащему структурные и функциональные генетические элементы вне LTR, которые в основном происходят от лентивируса.

[00140] Ретровирусные векторы для применения в данном документе могут происходить от любого известного ретровируса (например, ретровирусов типа с, таких как вирус саркомы мышей Молони (MoMSV), вирус саркомы мышей Харви (HaMuSV), вирус опухоли молочной железы мышей (MuMTV), вирус лейкоза гиббонов (GaLV), вирус лейкоза кошек (FLV), спумавирус, вирус Фрэнда, вирус стволовых клеток мыши (MSCV) и вирус саркомы Рауса (RSV)). Ретровирусы по настоящему изобретению также включают вирусы Т-клеточного лейкоза человека, HTLV-1 и HTLV-2, и лентивирусное семейство ретровирусов, таких как вирусы иммунодефицита человека, HIV-1, HIV-2, вирус иммунодефицита обезьян (SIV), вирус иммунодефицита кошек (FIV), вирус иммунодефицита лошадей (EIV) и другие классы ретровирусов.

[00141] Лентивирусный вектор для применения в данном документе относится к вектору, происходящему из лентивируса, группы (или рода) ретровирусов, которые вызывают медленно развивающееся заболевание. Вирусы, включенные в эту группу, включают HIV (вирус иммунодефицита человека; включая HIV 1 типа и HIV 2 типа); вирус висна-маэди; вирус артрита-энцефалита коз; вирус инфекционной анемии лошадей; вирус иммунодефицита кошек (FIV); вирус иммунодефицита крупного рогатого скота (BIV); и вирус иммунодефицита обезьян (SIV). Получение рекомбинантного лентивируса может быть достигнуто с применением способов в соответствии с работами Dull *et al.* and Zufferey *et al.* (Dull *et al.*, *J. Virol.*, 1998; 72: 8463-8471, и Zufferey *et al.*, *J. Virol.* 1998; 72:9873-9880).

[00142] Ретровирусные векторы (т.е., как лентивирусные, так и нелентивирусные) для применения в настоящем изобретении могут быть созданы с применением стандартных методик клонирования посредством объединения необходимых последовательностей ДНК в порядке и ориентации, описанных в данном документе (*Current Protocols in Molecular Biology*, Ausubel, F. M. *et al.* (eds.) Greene Publishing Associates, (1989), Sections 9.10-9.14, и других стандартных лабораторных руководствах; Eglitis, *et al.* (1985) *Science* 230:1395-1398; Danos and Mulligan (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:6460-6464; Wilson *et al.* (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:3014-3018; Armentano *et al.* (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:6141-6145; Huber *et al.* (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:8039-8043; Ferry *et al.* (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:8377-8381; Chowdhury *et al.* (1991) *Science* 254:1802-1805; van Beusechem *et al.* (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:7640-7644; Kay *et al.* (1992) *Human Gene Therapy* 3:641-647; Dai *et al.* (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10892-10895; Hwu *et al.* (1993) *J. Immunol* 150:4104-4115; U.S. Pat. № 4868116; патенте США № 4980286; заявке PCT WO

89/07136; заявке PCT WO 89/02468; заявке PCT WO 89/05345; и заявке PCT WO 92/07573).

[00143] Подходящие источники для получения ретровирусных (т.е., как лентивирусных, так и нелентивирусных) последовательностей для применения при создании векторов включают, например, геномные РНК и cDNA, доступные из коммерчески доступных источников, включая Коллекцию типовых культур (ATCC), Роквилл, Мэриленд. Последовательности также можно синтезировать химическим путем.

[00144] Для экспрессии TCR к MAGE-A4 вектор можно ввести в клетку-хозяина, чтобы обеспечить экспрессию полипептида в клетке-хозяине. Векторы экспрессии могут содержать множество элементов для контроля экспрессии, включая без ограничения промоторные последовательности, последовательности инициации транскрипции, энхансерные последовательности, селективируемые маркеры и сигнальные последовательности. Эти элементы могут быть выбраны соответствующим образом специалистом в данной области техники, как описано выше. Например, промоторные последовательности могут быть выбраны для стимуляции транскрипции полинуклеотида в векторе. Подходящие промоторные последовательности включают без ограничения промотор T7, промотор T3, промотор SP6, промотор бета-актина, промотор EF1a, промотор CMV и промотор SV40. Для усиления транскрипции полинуклеотида могут быть выбраны энхансерные последовательности. Селективируемые маркеры могут быть выбраны для обеспечения возможности отбора клеток-хозяев, вставленных в вектор, из тех, например, селективируемых маркеров, которые могут представлять собой гены, которые придают устойчивость к антибиотикам. Сигнальные последовательности могут быть выбраны, чтобы обеспечить транспортировку экспрессируемого полипептида за пределы клетки-хозяина.

[00145] Для клонирования полинуклеотида вектор можно ввести в клетку-хозяин (выделенную клетку-хозяин), чтобы обеспечить репликацию самого вектора и тем самым амплифицировать копии содержащегося в нем полинуклеотида. Клонировующие векторы могут содержать компоненты последовательности, как правило, включая без ограничения точку начала репликации, промоторные последовательности, последовательности инициации транскрипции, энхансерные последовательности и селективируемые маркеры. Эти элементы могут быть выбраны соответствующим образом специалистом в данной области техники. Например, точка начала репликации может быть выбрана так, чтобы способствовать автономной репликации вектора в клетке-хозяине.

[00146] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены выделенные клетки-хозяева, содержащие векторы, представленные в данном документе. Клетки-хозяева, содержащие вектор, могут быть пригодны для экспрессии или клонирования полинуклеотида, содержащегося в векторе. Подходящие клетки-хозяева могут включать без ограничения прокариотические клетки, клетки грибов, дрожжевые клетки или высшие эукариотические клетки, такие как клетки млекопитающих. Подходящие для этой цели прокариотические клетки включают без ограничения эубактерии, такие как грамотрицательные или грамположительные организмы, например,

Escherichia, например, *E. coli*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, например, *Salmonella typhimurium*, *Serratia*, например, *Serratia marcescans* и *Shigella*, а также *Bacilli*, такие как *B. subtilis* и *B. licheniformis*, *Pseudomonas*, такие как *P. aeruginosa* и *Streptomyces*.

[00147] TCR по настоящему изобретению вводят в клетку-хозяина с применением методик трансфекции и/или трансдукции, известных в данной области техники. Как используется в данном документе, термины «трансфекция» и «трансдукция» относятся к процессам, посредством которых последовательность экзогенной нуклеиновой кислоты вводится в клетку-хозяина. Нуклеиновая кислота может быть интегрирована в ДНК клетки-хозяина или может сохраняться внехромосомно. Нуклеиновая кислота может сохраняться временно или может представлять собой стабильное введение. Трансфекция может осуществляться различными способами, известными в данной области техники, включая без ограничения соосаждение ДНК фосфатом кальция, трансфекцию, опосредованную DEAE-декстраном, трансфекцию, опосредованную полибренном, электропорацию, микроинъекцию, слияние липосом, липофекцию, слияние протопластов, ретровирусную инфекцию и биолистику. Трансдукция относится к доставке гена (генов) с использованием вирусного или ретровирусного вектора посредством вирусной инфекции, а не путем трансфекции. В некоторых вариантах осуществления ретровирусные векторы трансдуцируются путем упаковки векторов в вирионы перед контактом с клеткой. Например, нуклеиновая кислота, кодирующая TCR к MAGE-A4 по настоящему изобретению, переносимая ретровирусным вектором, может быть трансдуцирована в клетку посредством инфекции и интеграции провируса.

[00148] Как используется в данном документе, термин «генетически инженерный» или «генетически модифицированный» относится к добавлению дополнительного генетического материала в форме ДНК или РНК в общий генетический материал в клетке. Термины «генетически модифицированные клетки», «модифицированные клетки» и «перенаправленные клетки» используются взаимозаменяемо.

[00149] В частности, TCR по настоящему изобретению вводятся и экспрессируются в иммунных эффекторных клетках, чтобы перенаправить их специфичность на целевой антиген, представляющий интерес, например, экспонируемый HLA-A2 пептид MAGE-A4, например, аминокислотные остатки 230-239 или 286-294.

[00150] В настоящем изобретении представлены способы получения иммунных эффекторных клеток, которые экспрессируют TCR, как описано в данном документе. В одном варианте осуществления способ включает трансфекцию или трансдукцию эффекторных иммунных клеток, например, иммунных эффекторных клеток, выделенных от субъекта, такого как субъект, у которого имеется ассоциированное с MAGE-A4 заболевание или нарушение, так что иммунные эффекторные клетки экспрессируют один или несколько TCR, как описано в данном документе. В определенных вариантах осуществления эффекторные клетки выделяют от индивидуума и генетически модифицируют без дополнительных манипуляций *in vitro*. Такие клетки можно затем

повторно вводить индивидууму. В дополнительных вариантах осуществления иммунные эффекторные клетки сначала активируют и стимулируют для пролиферации *in vitro* перед их генетической модификацией для экспрессии TCR. В этом отношении иммунные эффекторные клетки можно культивировать до или после генетической модификации (т.е., трансдукции или трансфекции для экспрессии TCR, как описано в данном документе).

[00151] Перед манипуляцией с иммунными эффекторными клетками, описанными в данном документе, или генетической модификацией с ними *in vitro*, источник клеток может быть получен от субъекта. В частности, иммунные эффекторные клетки для применения с TCR, как описано в данном документе, содержат Т-клетки.

[00152] Т-клетки могут быть получены из ряда источников, включая мононуклеарные клетки периферической крови, костный мозг, ткань лимфатических узлов, пуповинную кровь, тимус, ткань из очага инфекции, асцита, плевральный выпот, ткань селезенки и опухоли. В определенных вариантах осуществления Т-клетки могут быть получены из единицы крови, взятой у субъекта, с применением любого количества методик, известных специалисту в данной области техники, таких как разделение с использованием FICOLL. В одном варианте осуществления клетки из циркулирующей крови человека получают путем афереза. Продукт афереза обычно содержит лимфоциты, включая Т-клетки, моноциты, гранулоциты, В-клетки, другие ядерные лейкоциты, эритроциты и тромбоциты. В одном варианте осуществления клетки, собранные с помощью афереза, можно промывать для удаления фракции плазмы крови и помещения клеток в соответствующий буфер или среду для последующей обработки. В одном варианте осуществления настоящего изобретения клетки промывают PBS. В альтернативном варианте осуществления в промытом растворе отсутствует кальций и магний, или могут отсутствовать многие, если не все, двухвалентные катионы. Специалистам в данной области техники будет понятно, что стадия промывки может выполняться способами, известными специалистам в данной области техники, например, с использованием полуавтоматической проточной центрифуги. После промывания клетки можно ресуспендировать в различных биосовместимых буферах или другом физиологическом растворе с буфером или без него. В определенных вариантах осуществления нежелательные компоненты образца афереза могут быть удалены в культуральной среде, непосредственно ресуспендированной клетками.

[00153] В определенных вариантах осуществления Т-клетки выделяют из мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) посредством лизирования эритроцитов и истощения моноцитов, например, центрифугированием в градиенте PERCOLL™. Специфические популяции Т-клеток, таких как CD28+, CD4+, CD8+, CD45RA+ и CD45RO+Т-клетки, можно дополнительно выделять с применением методик положительного и отрицательного отбора. Например, обогащение популяции Т-клеток путем отрицательного отбора может быть достигнуто с помощью комбинации антител, направленных на поверхностные маркеры, уникальные для отрицательно отобранных клеток. Одним из способов применения в данном документе является сортировка и/или

отбор клеток посредством отрицательной магнитной иммуноадгезии или проточной цитометрии, в которой используется коктейль моноклональных антител, направленных на маркеры клеточной поверхности, присутствующие на отрицательно отобранных клетках. Например, для обогащения клеток CD4⁺ путем отрицательного отбора коктейль моноклональных антител обычно содержит антитела к CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR и CD8. Проточная цитометрия и сортировка клеток также могут быть использованы для выделения популяций клеток, представляющих интерес, для применения в настоящем изобретении.

[00154] PBMC можно использовать непосредственно для генетической модификации с помощью TCR с применением способов, описанных в данном документе. В определенных вариантах осуществления после выделения PBMC дополнительно выделяют Т-лимфоциты, и в определенных вариантах осуществления как цитотоксические Т-лимфоциты, так и Т-лимфоциты-хэлперы можно разделить на субпопуляции наивных Т-клеток, Т-клеток памяти и эффекторных Т-клеток либо до, либо после генетической модификации и/или экспансии.

[00155] Иммунные эффекторные клетки, такие как Т-клетки, могут быть генетически модифицированы после выделения с применением известных способов, или иммунные эффекторные клетки могут быть активированы и экспандированы (или дифференцированы в случае предшественников) *in vitro* перед генетической модификацией. В другом варианте осуществления иммунные эффекторные клетки, такие как Т-клетки, генетически модифицируют химерными антигенными рецепторами, описанными в данном документе (например, трансдуцируют вирусным вектором, содержащим нуклеиновую кислоту, кодирующую TCR), а затем активируют и экспандируют *in vitro*. Способы активации и экспансии Т-клеток известны в данной области техники и описаны, например, в патенте США № 6905874; патенте США № 6867041; патенте США № 6797514; WO2012079000, US 2016/0175358.

[00156] В настоящем изобретении представлена популяция модифицированных иммунных эффекторных клеток для лечения ассоциированного с MAGE-A4 заболевания или нарушения, например, рака, при этом модифицированные иммунные эффекторные клетки содержат MAGE-A4 TCR, как раскрыто в данном документе.

[00157] TCR-экспрессирующие иммунные эффекторные клетки, полученные, как описано в данном документе, могут быть использованы в способах и композициях адаптивной иммунотерапии в соответствии с известными методиками или их вариациями, которые будут очевидны специалистам в данной области техники на основании настоящего изобретения. См., например, публикацию патентной заявки США № 2003/0170238, Gruenberg et al; см. также патент США № 4690915 за авторством Rosenberg.

III. Фармацевтические композиции

[00158] В настоящем изобретении представлены терапевтические композиции, содержащие TCR к MAGE-A4 по настоящему изобретению, или иммунные эффекторные клетки, содержащие TCR к MAGE-A4 по настоящему изобретению. Терапевтические

композиции в соответствии с настоящим изобретением будут вводиться с подходящими носителями, наполнителями и другими средствами, которые включают в составы, чтобы обеспечить улучшенный перенос, доставку, переносимость и т.п. Множество подходящих составов можно обнаружить в справочнике, известном всем химикам-фармацевтам: *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Company, Easton, PA. Эти составы включают, например, порошки, пасты, мази, желе, воска, масла, липиды, липидсодержащие (катионные или анионные) везикулы (такие как LIPOFECTIN™), конъюгаты ДНК, безводные абсорбционные пасты, эмульсии типа «масло в воде» и «вода в масле», эмульсии карбовакс (полиэтиленгликоли с различными молекулярными массами), полужидкие гели и полужидкие смеси, содержащие карбовакс. См. также Powell *et al.* "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) *J Pharm Sci Technol* 52:238-311.

[00159] В зависимости от тяжести состояния частоту и продолжительность лечения можно корректировать.

[00160] В определенных вариантах осуществления за начальной дозой может следовать введение второй или множества последующих доз TCR к MAGE-A4 по настоящему изобретению или иммунных эффекторных клеток, содержащих TCR к MAGE-A4 по настоящему изобретению в количестве, которое может быть примерно таким же или меньшим, чем начальная доза.

[00161] В определенных ситуациях фармацевтическую композицию можно доставлять в системе с контролируемым высвобождением. В одном варианте осуществления можно использовать насос.

[00162] Инъекционные препараты могут включать лекарственные формы для внутривенных, подкожных, внутрикожных, внутримышечных, внутривенных, внутримышечных и внутримышечных инъекций, капельных вливаний и т.д. TCR, фармацевтические композиции и клетки, описанные в данном документе, можно вводить посредством парентерального введения. Препараты по настоящему изобретению могут быть получены с применением общеизвестных способов. Например, препараты можно получать, например, растворением, суспендированием или эмульгированием антигенсвязывающего белка или его соли, описанных выше, в стерильной водной среде или масляной среде, обычно используемой для инъекций. Водной средой для инъекций, является, например, физиологический раствор, изотонический раствор, содержащий глюкозу и другие вспомогательные средства и т.д., например, которые можно использовать в комбинации с подходящим растворителем, таким как спирт (например, этанол), полиспирт (например, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль), неионное поверхностно-активное вещество [например, полисорбат 80, HCO-50 (полиоксиэтиленовый (50 моль) аддукт гидрогенизированного касторового масла)] и т.д. В качестве масляной среды используют, например, кунжутное масло, арахисовое масло и т.д., которые можно использовать в комбинации с растворителем, таким как бензилбензоат, бензиловый спирт и т.д. Приготовленную таким образом инъекцию предпочтительно заполняют в подходящую ампулу.

[00163] В некоторых вариантах осуществления получают составы TCR-экспрессирующих иммунных эффекторных клеток, вначале собирая их из среды для культивирования, и затем отмывая и концентрируя клетки в среде и системе для хранения для введения («фармацевтически приемлемом» носителе) в эффективном для лечения количестве. Подходящей средой для инфузии может быть любой состав изотонической среды, как правило, физиологический раствор, Normosol R (Abbott) или Plasma-Lyte A (Baxter), но также можно использовать и 5% водный раствор декстрозы или лактат Рингера. Среда для инфузии может быть дополнена человеческим сывороточным альбумином.

[00164] Эффективное для лечения количество клеток в композиции обычно составляет более 10^2 клеток и от 10^6 до 10^8 или 10^9 клеток включительно и может составлять более 10^{10} клеток. Число клеток будет зависеть от окончательного применения, для которого предполагается композиция, а также от типа клеток, включенных в нее.

[00165] Клетки могут быть аутологичными или гетерологичными по отношению к пациенту, проходящему терапию. При желании лечение может также включать введение митогенов (например, РНА) или лимфокинов, цитокинов и/или хемокинов (например, IFN- γ , IL-2, IL-12, TNF- α , IL-18 и TNF- β , GM-CSF, IL-4, IL-13, Flt3-L, RANTES, MIP1 α и т.д.), как описано в данном документе, для усиления индукции иммунного ответа.

[00166] Популяции TCR-экспрессирующих иммунных эффекторных клеток по настоящему изобретению можно вводить либо отдельно, либо в виде фармацевтической композиции в комбинации с разбавителями и/или с другими компонентами, такими как IL-2 или другие цитокины или популяции клеток. Вкратце, фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут содержать популяцию TCR-экспрессирующих иммунных эффекторных клеток, таких как Т-клетки, как описано в данном документе, в комбинации с одним или несколькими фармацевтически или физиологически приемлемыми носителями, разбавителями или наполнителями. Такие композиции могут содержать буферы, такие как нейтральный забуференный солевой раствор, фосфатный забуференный солевой раствор и т.п.; углеводы, такие как глюкоза, манноза, сахароза или декстраны, маннит; белки; полипептиды или аминокислоты, такие как глицин; антиоксиданты; хелатирующие средства, такие как EDTA или глутатион; адъюванты (например, гидроксид алюминия); и консерванты. Композиции по настоящему изобретению предпочтительно составляют для внутривенного введения.

IV. Терапевтические пути применения TCR к MAGE-A4 или иммунных эффекторных клеток, содержащих TCR к MAGE-A4

[00167] Противоопухолевый иммунный ответ, индуцированный у субъекта посредством введения TCR-экспрессирующих Т-клеток, описанных в данном документе, с применением способов, описанных в данном документе, или других способов, известных из уровня техники, может включать клеточные иммунные ответы, опосредованные цитотоксическими Т-клетками, способными уничтожать инфицированные клетки, ответами регуляторных Т-клеток и Т-клеток-хэлперов. Также могут быть индуцированы гуморальные иммунные ответы, опосредованные прежде всего Т-клетками-хэлперами,

способными активировать В-клетки, что приводит к продуцированию антител. Для анализа типа иммунных ответов, индуцированных композициями по настоящему изобретению, могут применяться различные методики, которые хорошо описаны из уровня техники; например, *Current Protocols in Immunology*, Edited by: John E. Coligan, Ada M. Kruisbeek, David H. Margulies, Ethan M. Shevach, Warren Strober (2001) John Wiley & Sons, NY, N.Y.

[00168] Таким образом, TCR к MAGE-A4 по настоящему изобретению являются применимыми, среди прочего, для лечения, предупреждения и/или облегчения любого ассоциированного с MAGE-A4 или опосредованного им заболевания или нарушения. Например, в настоящем изобретении представлены способы лечения ассоциированного с MAGE-A4 заболевания или нарушения, такого как ассоциированный с MAGE-A4 рак (например, MAGE-A4-положительный рак) (ингибирование опухолевого роста) посредством введения TCR к MAGE-A4 (или фармацевтической композиции, содержащей TCR к MAGE-A4 или множества клеток, содержащих TCR к MAGE-A4), как описано в данном документе, пациенту, нуждающемуся в таком лечении, и TCR к MAGE-A4 (или фармацевтическая композиция, содержащая TCR к MAGE-A4) для применения при лечении ассоциированного с MAGE-A4 рака. Антигенсвязывающие белки по настоящему изобретению пригодны для лечения, предупреждения и/или облегчения заболевания, нарушения или состояния, такого как ассоциированный с MAGE-A4 рак, и/или для облегчения по меньшей мере одного симптома, ассоциированного с таким заболеванием, нарушением или состоянием. В контексте способов лечения, описанных в данном документе, TCR к MAGE-A4 (или фармацевтическая композиция или множество клеток) можно вводить в виде монотерапии (т.е., в виде единственного терапевтического средства) или в комбинации с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами (примеры которых описаны в других разделах данного документа).

[00169] Соответственно, в настоящем изобретении представлены способы лечения индивидуума, у которого диагностировано ассоциированное с MAGE-A4 заболевание или нарушение, или у которого имеется подозрение на его наличие или имеется риск его развития, например, ассоциированный с MAGE-A4 рак, включающие введение индивиду терапевтически эффективного количества TCR-экспрессирующих иммунных эффекторных клеток, как описано в данном документе.

[00170] В одном варианте осуществления в настоящем изобретении представлен способ лечения субъекта, у которого диагностирован MAGE-A4-положительный рак, включающий удаление иммунных эффекторных клеток из организма субъекта, у которого диагностирован MAGE-A4-положительный рак, с генетической модификацией указанных иммунных эффекторных клеток вектором, содержащим нуклеиновую кислоту, кодирующую TCR по настоящему изобретению, за счет чего получают популяцию модифицированных иммунных эффекторных клеток и вводят популяцию модифицированных иммунных эффекторных клеток одному и тому же субъекту. В одном варианте осуществления иммунные эффекторные клетки представляют собой Т-клетки.

[00171] Способы введения клеточных композиций, описанных в данном документе,

включают любой способ, который эффективен для повторного введения *ex vivo* генетически модифицированных иммунных эффекторных клеток, которые либо непосредственно экспрессируют TCR по настоящему изобретению у субъекта, либо при повторном введении генетически модифицированных предшественников иммунных эффекторных клеток, которые при введении субъекту дифференцируются в зрелые иммунные эффекторные клетки, которые экспрессируют TCR. Один способ включает трансдукцию Т-клеток периферической крови *ex vivo* конструкцией нуклеиновой кислоты в соответствии с настоящим изобретением и возвращение трансдуцированных клеток субъекту.

[00172] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения композиции, описанные в данном документе, применимы для лечения субъектов, страдающих первичным или рецидивирующим раком, включая без ограничения ассоциированный с MAGE-A4 рак, например, ассоциированный с MAGE-A4 рак представляет собой липосаркому, нейробластому, миелому, меланому, метастатическую меланому, синовиальную саркому, рак мочевого пузыря, рак пищевода, плоскоклеточный рак пищевода, гепатоцеллюлярный рак, рак головы и шеи, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, эпителиальный рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, астроцитарную опухоль, мультиформную глиобластому, анапластическую астроцитому, опухоль головного мозга, рак маточной трубы, первичный рак брюшной полости, распространенные солидные опухоли, саркому мягких тканей, саркому, миелодиспластический синдром, острый миелоидный лейкоз, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, болезнь Ходжкина, множественную миелому, метастатические солидные опухоли, колоректальную карциному, рак желудка, рабдомиосаркому, миксоидную круглоклеточную липосаркому или рецидивирующий немелкоклеточный рак легкого. В одном варианте осуществления ассоциированный с MAGE-A4 рак представляет собой рак яичников, меланому, немелкоклеточную карциному легкого, гепатоцеллюлярную карциному, колоректальную карциному, плоскоклеточную карциному пищевода, аденокарциному пищевода, рак желудка, рак мочевого пузыря, рак головы и шеи, рак желудка, синовиальную саркому или миксоидную круглоклеточную липосаркому.

[00173] TCR могут использоваться для лечения симптомов ассоциированного с MAGE-A4 рака ранней или поздней стадии. В одном варианте осуществления TCR по настоящему изобретению можно применять для лечения распространенного или метастатического рака. TCR применимы для ослабления, ингибирования или уменьшения опухолевого роста. В определенных вариантах осуществления лечение TCR по настоящему изобретению приводит к более чем 40% регрессии, более чем 50% регрессии, более чем 60% регрессии, более чем 70% регрессии, более чем 80% регрессии или более чем 90% регрессии опухоли у субъекта. В определенных вариантах осуществления TCR можно применять для предупреждения рецидива опухоли. В определенных вариантах осуществления TCR применимы для повышения выживаемости без прогрессирования или общей выживаемости у субъекта с ассоциированным с MAGE-A4 раком. В некоторых вариантах осуществления TCR применимы для снижения токсичности, вызванной

химиотерапией или лучевой терапией, при сохранении долгосрочной выживаемости у пациента, страдающего от ассоциированного с MAGE-A4 рака.

[00174] Один или несколько TCR по настоящему изобретению можно вводить для облегчения, предупреждения или уменьшения тяжести одного или нескольких симптомов или состояний заболевания или нарушения.

[00175] В данном документе также предполагается применение одного или нескольких TCR по настоящему изобретению профилактически у пациентов с риском развития заболевания или нарушения, такого как ассоциированное с MAGE-A4 заболевание или нарушение, например, ассоциированный с MAGE-A4 рак.

[00176] В другом варианте осуществления настоящего изобретения TCR применяют для приготовления фармацевтической композиции для лечения пациентов, страдающих ассоциированным с MAGE-A4 заболеванием или нарушением, таким как ассоциированный с MAGE-A4 рак. В другом варианте осуществления настоящего изобретения TCR применяют в качестве дополнительной терапии с любым другим средством или с любой другой терапией, известной специалистам в данной области техники, применимой для лечения ассоциированного с MAGE-A4 рака.

[00177] Комбинированные виды терапии могут включать TCR к MAGE-A4 по настоящему изобретению, такой как иммунная эффекторная клетка, содержащая TCR по настоящему изобретению, или фармацевтическая композиция по настоящему изобретению, и любое дополнительное терапевтическое средство, которое можно предпочтительно комбинировать с TCR по настоящему изобретению. TCR по настоящему изобретению могут синергически комбинироваться с одним или несколькими противораковыми лекарственными средствами или терапией, применяемой для лечения или ингибирования ассоциированного с MAGE-A4 заболевания или нарушения, такого как MAGE-A4-положительный рак, например, липосаркома, нейробластома, миелома, меланома, метастатическая меланома, синовиальная саркома, рак мочевого пузыря, рак пищевода, плоскоклеточный рак пищевода, гепатоцеллюлярный рак, рак головы и шеи, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, эпителиальный рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, астроцитарная опухоль, мультиформная глиобластома, анапластическая астроцитома, опухоль головного мозга, рак маточной трубы, первичный рак брюшной полости, распространенные солидные опухоли, саркома мягких тканей, саркома, миелодиспластический синдром, острый миелоидный лейкоз, лимфома Ходжкина, неходжкинская лимфома, болезнь Ходжкина, множественная миелома, метастатические солидные опухоли, колоректальная карцинома, рак желудка, рабдомиосаркома, миксоидная круглоклеточная липосаркома или рецидивирующий немелкоклеточный рак легкого.

[00178] В данном документе предполагается применение TCR по настоящему изобретению в комбинации с иммуностимулирующими и/или иммуносупрессивными видами терапии для подавления опухолевого роста и/или повышения выживаемости пациентов с раком. Иммуностимулирующая терапия включает прямую

иммуностимулирующую терапию для увеличения активности иммунных клеток путем «снятия тормоза» с подавленных иммунных клеток или «нажатия на газ» для активации иммунного ответа. Примеры включают нацеливание на рецепторы других контрольных точек, вакцинацию и адъюванты. Иммуноподдерживающие способы могут приводить к повышению антигенности опухоли, способствуя гибели иммуногенных клеток, воспалению или иметь другие косвенные эффекты, которые способствуют противоопухолевому иммунному ответу. Примеры включают облучение, химиотерапию, антиангиогенные средства и хирургическое вмешательство.

[00179] В различных вариантах осуществления один или несколько TCR по настоящему изобретению можно применять в комбинации с ингибитором PD-1 (например, антителом к PD-1, таким как ниволумаб, пембролизумаб, пидилизумаб, BGB-A317 или REGN2810), ингибитором PD-L1 (например, антителом к PD-L1, таким как авелумаб, атезолизумаб, дурвалумаб, MDX-1105 или REGN3504), ингибитором CTLA-4 (например, ипилимумабом), ингибитором TIM3, ингибитором BTLA, ингибитором TIGIT, ингибитором CD47, ингибитором GITR, антагонистом другого Т-клеточного коингибитора или лиганда (например, антитела к CD-28, 2B4, LY108, LAIR1, ICOS, CD160 или VISTA), ингибитором индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO), антагонистом фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) [например, «ловушкой VEGF», такой как афлиберцепт или другой слитый белок, ингибирующий VEGF, как указано в US 7087411, или антителом к VEGF или его антигенсвязывающим фрагментом (например, бевацизумабом или ранибизумабом) или низкомолекулярным ингибитором киназы рецептора VEGF (например, сунитинибом, сорафенибом или пазопанибом)], ингибитором Ang2 (например, несвакумабом), ингибитором трансформирующего фактора роста бета ($TGF\beta$), ингибитором рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) (например, эрлотинибом, цетуксимабом), ингибитором CD20 (например, антителом к CD20, таким как ритуксимаб), антителом к опухолеспецифическому антигену [например, CA9, CA125, ассоциированным с меланомой антигеном 3 (MAGE3), карциноэмбриональным антигеном (CEA), виментином, белком опухоль-М2-РК, простатоспецифическим антигеном (PSA), муцином-1, MART-1 и CA19-9], вакциной (например, бациллой Кальмета-Герена, противораковой вакциной), адъювантом для повышения презентации антигена (например, гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором), биспецифическим антителом (например, биспецифическим антителом CD3хCD20 или биспецифическим антителом PSMAхCD3), цитотоксином, химиотерапевтическим средством (например, дакарбазином, темозоломидом, циклофосфамидом, доцетакселом, доксорубицином, даунорубицином, цисплатином, карбоплатином, метоксиплтрекситабином), лучевой терапией, хирургическим вмешательством, ингибитором IL-6R (например, сарилумабом), ингибитором IL-4R (например, дупилумабом), ингибитором IL-10, цитокином, таким как IL-2, IL-7, IL-21 и IL-15, конъюгатом антитело-лекарственное средство (ADC) (например, ADC антитело к CD19-DM4 и ADC антитело к DS6-DM4), противовоспалительным препаратом (например, кортикостероидными и нестероидными противовоспалительными

препаратами), пищевой добавкой, такой как антиоксиданты или любое другое терапевтическое лечение для лечения рака. В определенных вариантах осуществления TCR по настоящему изобретению можно применять в комбинации с противораковыми вакцинами, включая вакцины дендритных клеток, онколитические вирусы, вакцины опухолевых клеток и т.д., для усиления противоопухолевого ответа.

[00180] Примеры противораковых вакцин, которые можно применять в комбинации с TCR по настоящему изобретению, включают вакцину MAGE3 от меланомы и рака мочевого пузыря, вакцину MUC1 от рака молочной железы, EGFRv3 (например, риндопепимут) от рака головного мозга (включая мультиформную глиобластому) или ALVAC-CEA (от CEA+ видов рака).

[00181] В определенных вариантах осуществления TCR к MAGE-A4 по настоящему изобретению можно вводить в комбинации с лучевой терапией в способах создания долгосрочных устойчивых противоопухолевых ответов и/или повышения выживаемости пациентов с раком. В некоторых вариантах осуществления TCR к MAGE-A4 по настоящему изобретению можно вводить пациенту с раком до, вместе с или после лучевой терапии. Например, лучевая терапия может применяться в одной или нескольких дозах к опухолевым поражениям с последующим введением одной или нескольких доз TCR к MAGE-A4 по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления лучевая терапия может применяться локально к опухолевому поражению для повышения местной иммуногенности опухоли пациента (адьювантная лучевая терапия) и/или для уничтожения опухолевых клеток (абляционная лучевая терапия) с последующим системным введением TCR к MAGE-A4 по настоящему изобретению.

[00182] Дополнительное (дополнительные) терапевтически активное (активные) средство (средства)/компонент (компоненты) можно вводить до, одновременно или после введения TCR к MAGE-A4 по настоящему изобретению. Для целей данного раскрытия такие схемы введения рассматриваются как введение TCR к MAGE-A4 «в комбинации с» вторым терапевтически активным компонентом.

[00183] Дополнительный (дополнительные) терапевтически активный (активные) компонент (компоненты) можно вводить субъекту до введения MAGE-A4 к TCR по настоящему изобретению. В других вариантах осуществления дополнительный (дополнительные) терапевтически активный (активные) компонент (компоненты) можно вводить субъекту после введения MAGE-A4 к TCR по настоящему изобретению. В еще одних вариантах осуществления дополнительный (дополнительные) терапевтически активный (активные) компонент (компоненты) можно вводить субъекту одновременно с введением MAGE-A4 к TCR по настоящему изобретению. «Одновременное» введение для целей настоящего изобретения включает, например, введение TCR к MAGE-A4 и дополнительного терапевтически активного компонента субъекту в одной лекарственной форме (например, в совместном составе) или в отдельных лекарственных формах, вводимых субъекту в течение приблизительно 30 минут или менее друг после друга. При введении в отдельных лекарственных формах каждую лекарственную форму можно

вводить одним и тем же путем; в качестве альтернативы каждую лекарственную форму можно вводить другим путем. В любом случае все из введения компонентов в одной лекарственной форме, в отдельных лекарственных формах одним и тем же путем или в отдельных лекарственных формах разными путями считается «одновременным введением» для целей настоящего изобретения. Для целей настоящего изобретения введение TCR к MAGE-A4 «до», «одновременно с» или «после» (как эти термины определены в данном документе выше) введения дополнительного терапевтически активного компонента считается введением TCR к MAGE-A4 «в комбинации с «дополнительным терапевтически активным компонентом».

[00184] Настоящее изобретение дополнительно иллюстрируется следующим разделом «Примеры», которые никоим образом не носят ограничивающего характера. Полное содержание всех источников литературы, патентов и опубликованных патентных заявок, цитируемых в данной заявке, а также раздел «Фигуры» включены в данный документ посредством ссылки.

Примеры

Пример 1. Идентификация MAGE-A4-специфических Т-клеточных рецепторов

[00185] Мышей, гуманизированных в отношении компонентов клеточной иммунной системы, мышей Veloci-T® (см., например, публикацию РСТ № WO 2016/164492, полное содержание которой включено в данный документ посредством ссылки), иммунизировали пептидом MAGE-A4 (286-294) (KVLEHVVRV, SEQ ID NO: 609), специфически презентуемым человеческим HLA-A2, разведенным в PBS и смешанным с адьювантом, например в равном объеме с полным адьювантом Фрейнда (CFA; Chondrex, Inc.). Получали и диссоциировали суспензии селезенки от иммунизированных мышей. Эритроциты лизировали в буфере для лизиса ACK (Life Technologies), а спленоциты суспендировали в полной среде RPMI. Выделенные спленоциты сортировали, и отдельные Т-клетки, которые связывают пептид MAGE-A4 (286-294) в контексте МНС, выделяли с применением сортировки флуоресцентно-активируемых клеток (FACS). Выделенные Т-клетки высевали в однолуночный планшет и смешивали с праймерами для ПЦР, специфическими для альфа- и бета-цепей вариабельной области TCR. cDNA для каждой отдельной Т-клетки синтезировали с помощью реакции с использованием обратной транскриптазы (RT). Затем каждый полученный с использованием RT продукт разделяли и переносили в две соответствующие лунки для последующей ПЦР бета- и альфа-цепей TCR. Один набор полученных с использованием RT продуктов сначала амплифицировали с помощью ПЦР с использованием 5'-вырожденного праймера, специфического для лидерной последовательности вариабельной области бета-цепи TCR, или 5'-вырожденного праймера, специфического для лидерной последовательности вариабельной области альфа-цепи TCR, и 3'-праймера, специфического для константной области TCR, с получением ампликона. Затем ампликоны снова амплифицировали с помощью ПЦР с использованием 5'-вырожденного праймера, специфического для каркаса 1 вариабельной области бета-цепи TCR, или 5'-вырожденного праймера, специфического для каркаса 1 вариабельной области

альфа-цепи TCR, и 3'-праймера, специфического для константной области TCR, с получением ампликонов для клонирования. Продукты ПЦР, полученные из бета- и альфа-цепей TCR, клонировали в векторы экспрессии, содержащие бета-цепь константной области и альфа-цепь константной области соответственно. Векторы экспрессии, экспрессирующие пары полноразмерных бета- и альфа-цепей, трансфицировали в клетки СНО и исследовали в отношении связывания с коммерческим тетрамерным реагентом MAGE-A4/HLA (тетрамер HLA-A02:01 MAGE-A4; MBL International Corporation). Клетки СНО инкубировали с растворимым тетрамером HLA-A2 (KVLEHVVRV) (SEQ ID NO: 609) и антителом, специфическим к константной области TCR мыши (клон H57-597) (Biolegend, Сан-Диего, Калифорния). Затем образцы анализировали на LSRFortessa X-20 (BD Biosciences, Сан-Хосе, Калифорния). Для расчета процента положительных в отношении тетрамера клеток устанавливали антиген-положительные (Ag⁺) гейты на основе отрицательного контроля TCR, который не связывается с тетрамером HLA-A2 (KVLEHVVRV) (SEQ ID NO: 609), с применением FlowJo (LLC, Ашленд, Орегон). Все Ag⁺ TCR характеризовались критерием FlowJo $\geq 1\%$ клеток при Ag⁺ гейтинге со средней интенсивностью флуоресценции (MFI) > 250 . Ag⁺ TCR определяли с помощью секвенирования следующего поколения, и общее количество TCR, которые экспрессируют идентичные альфа- и бета-нуклеотидные последовательности TCR, представлено в Табл. 1 ниже.

Таблица 1.

ID TCR	Все Ag ⁺ TCR (CH0t)	% при Ag ⁺ гейтинге >250 MFI, $>1\%$
PN41520	2	16,90
PN41494	1	9,24
PN41703	24	42,50
PN41573	2	85,70
PN41869	1	76,50
PN41568	8	82,90
PN41868	1	67,10
PN41577	45	80,00
PN41607	18	81,00
PN41518	19	34,90
PN41513	36	29,60
PN41702	42	8,13
PN41654	2	36,20
PN41656	5	13,80
PN41820	3	8,32
PN41746	1	90,20
PN41532	7	85,40
PN41617	11	90,60

PN41608	6	77,00
PN41475	1	65,50
PN41523	6	90,50
PN41690	3	75,30
PN41559	2	74,30
PN41822	32	63,50
PN41829	1	19,50
PN41852	1	18,00
PN41565	1	4,02
PN41805	61	30,40
PN41867	2	73,00
PN41712	16	20,70
PN41748	3	9,56
PN41557	2	8,76
PN41636	1	78,30
PN41613	1	58,70
PN41550	17	92,20
PN41839	1	85,40
PN41539	1	10,90
PN41516	1	7,83

[00186] Подробный перечень аминокислотных последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 варибельного домена бета-цепи и аминокислотных последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 варибельного домена альфа-цепи TCR, которые были определены, как описано выше, представлен в Табл. 2. Подробный перечень последовательностей нуклеиновых кислот CDR1, CDR2 и CDR3 варибельного домена бета-цепи и последовательностей нуклеиновых кислот CDR1, CDR2 и CDR3 варибельного домена альфа-цепи TCR, которые были определены, как описано выше, представлен в Табл. 3. В Табл. 4 представлены аминокислотные и нуклеотидные последовательности варибельных областей бета-цепи и варибельных областей альфа-цепи TCR.

Таблица 2. Аминокислотные последовательности CDR для TCR Veloci-T®, специфических в отношении MAGE-A4 (286-294) / HLA-A2

№ TCR	ID TCR	CDR1 V α	SEQ ID NO	CDR2 V α	SEQ ID NO	CDR3 V α	SEQ ID NO:	CDR1 V β	SEQ ID NO	CDR2 V β	SEQ ID NO	CDR3 V β	SEQ ID NO:
1	PN41475	<u>TSESDYY</u>	1	<u>QEAYKQQN</u>	2	<u>AYRSATGNQFY</u>	3	<u>MDHEN</u>	9	<u>SYDVKM</u>	10	<u>ASSLWGSNTEAF</u>	11
2	PN41494	<u>TSESDYY</u>	17	<u>QEAYKQQN</u>	18	<u>AYRSATGNQFY</u>	19	<u>MDHEN</u>	25	<u>SYDVKM</u>	26	<u>ASSLWGWNSPLH</u>	27
3	PN41513	<u>TSESDYY</u>	33	<u>QEAYKQQN</u>	34	<u>AYRSAPGNQFY</u>	35	<u>MDHEN</u>	41	<u>SYDVKM</u>	42	<u>ASSLFATNEKLF</u>	43
4	PN41516	<u>SVFSS</u>	49	<u>VVTGGEV</u>	50	<u>AGERDSWGKFQ</u>	51	<u>MNHNY</u>	57	<u>SVGAGI</u>	58	<u>ASSFWTGGDEKLF</u>	59
5	PN41518	<u>TSESDYY</u>	65	<u>QEAYKQQN</u>	66	<u>AYRSAPGNQFY</u>	67	<u>MDHEN</u>	73	<u>SYDVKM</u>	74	<u>ASSLWATNEKLF</u>	75
6	PN41520	<u>TSESDYY</u>	81	<u>QEAYKQQN</u>	82	<u>AYRSARGNQFY</u>	83	<u>MDHEN</u>	89	<u>SYDVKM</u>	90	<u>ASSLWGVNSPLH</u>	91
7	PN41523	<u>TSESDYY</u>	97	<u>QEAYKQQN</u>	98	<u>AYRSAPGNQFY</u>	99	<u>MDHEN</u>	105	<u>SYDVKM</u>	106	<u>ASSLWGLNTEAF</u>	107
8	PN41532	<u>TSESDYY</u>	113	<u>QEAYKQQN</u>	114	<u>AYRSAEGNQFY</u>	115	<u>MDHEN</u>	121	<u>SYDVKM</u>	122	<u>ASSLWGLNTEAF</u>	123
9	PN41539	<u>TRDTTY</u>	129	<u>RNSFDEQN</u>	130	<u>ALSEGDTGGFKTI</u>	131	<u>MNHNY</u>	137	<u>SVGAGI</u>	138	<u>ASSYFPDRGLGNTIY</u>	139
10	PN41550	<u>DRGSQS</u>	145	<u>IYSNGD</u>	146	<u>AVNLSWGKFQ</u>	147	<u>SGHDT</u>	153	<u>YYEEEE</u>	154	<u>ASSLDRSTEAF</u>	155
11	PN41557	<u>VSGLRG</u>	161	<u>LYSAGEE</u>	162	<u>AVQAVTGGGNKLT</u>	163	<u>DFQATT</u>	169	<u>SNEGSKA</u>	170	<u>SASWDRDYGYT</u>	171
12	PN41559	<u>TSESDYY</u>	177	<u>QEAYKQQN</u>	178	<u>AYRSATGNQFY</u>	179	<u>MDHEN</u>	185	<u>SYDVKM</u>	186	<u>ASSLWGWGTEAF</u>	187
13	PN41565	<u>TSESDYY</u>	193	<u>QEAYKQQN</u>	194	<u>AYRSPTGNQFY</u>	195	<u>MDHEN</u>	201	<u>SYDVKM</u>	202	<u>ASSLWAMNTEAF</u>	203
14	PN41568	<u>TSESDYY</u>	209	<u>QEAYKQQN</u>	210	<u>AYRSARGNQFY</u>	211	<u>MDHEN</u>	217	<u>SYDVKM</u>	218	<u>ASSLWGTNEKLF</u>	219
15	PN41573	<u>TSESDYY</u>	225	<u>QEAYKQQN</u>	226	<u>AYRSATGNQFY</u>	227	<u>MDHEN</u>	233	<u>SYDVKM</u>	234	<u>ASSLWGTNEKLF</u>	235
16	PN41577	<u>TSESDYY</u>	241	<u>QEAYKQQN</u>	242	<u>AYRSAPGNQFY</u>	243	<u>MDHEN</u>	249	<u>SYDVKM</u>	250	<u>ASSLWGTNEKLF</u>	251
17	PN41607	<u>TSESDYY</u>	257	<u>QEAYKQQN</u>	258	<u>AYRSASGNQFY</u>	259	<u>MDHEN</u>	265	<u>SYDVKM</u>	266	<u>ASSLWGTNEKLF</u>	267

18	PN41608	<u>TSESDYY</u>	273	<u>QEAYKQQN</u>	274	<u>AYRSAPGNQFY</u>	275	<u>MDHEN</u>	281	<u>SYDVKM</u>	282	<u>ASSFWGWNTEAF</u>	283
19	PN41613	<u>TSESDYY</u>	289	<u>QEAYKQQN</u>	290	<u>AYRSATGNQFY</u>	291	<u>MNHEY</u>	297	<u>SMNVEV</u>	298	<u>ASSLLYSNQPOH</u>	299
20	PN41617	<u>TSESDYY</u>	305	<u>QEAYKQQN</u>	306	<u>AYRSASGNQFY</u>	307	<u>MDHEN</u>	313	<u>SYDVKM</u>	314	<u>ASSLWGMNTEAF</u>	315
21	PN41636	<u>SSNFYA</u>	321	<u>MTLNGDE</u>	322	<u>ALNRDDKII</u>	323	<u>KGHDR</u>	329	<u>SFDVKD</u>	330	<u>ATSDPQRNQPOH</u>	331
22	PN41654	<u>NSASDY</u>	337	<u>IRSNMDK</u>	338	<u>AEKRDNYGQNFV</u>	339	<u>MDHEN</u>	345	<u>SYDVKM</u>	346	<u>ASSLYSYGYT</u>	347
23	PN41656	<u>TSDPSYG</u>	353	<u>QGSYDQQN</u>	354	<u>AMRDLTTSPTYKYI</u>	355	<u>MDHEN</u>	361	<u>SYDVKM</u>	362	<u>ASSFGGWGYGYT</u>	363
24	PN41690	<u>TSESDYY</u>	369	<u>QEAYKQQN</u>	370	<u>AYRSAIGNQFY</u>	371	<u>MDHEN</u>	377	<u>SYDVKM</u>	378	<u>ASSLWGVNTEAF</u>	379
25	PN41702	<u>TSESDYY</u>	385	<u>QEAYKQQN</u>	386	<u>AYRSATGNQFY</u>	387	<u>MDHEN</u>	393	<u>SYDVKM</u>	394	<u>ASSLWAVNEKLF</u>	395
26	PN41703	<u>TISGNEY</u>	401	<u>GLKNN</u>	402	<u>IVRPGGTYKYI</u>	403	<u>MDHEN</u>	409	<u>SYDVKM</u>	410	<u>ATGGDNQPOH</u>	411
27	PN41712	<u>TSENNYY</u>	417	<u>QEAYKQQN</u>	418	<u>ALNTGNQFY</u>	419	<u>DFQATT</u>	425	<u>NEGSKA</u>	426	<u>SAWDGFYGYT</u>	427
28	PN41746	<u>TSESDYY</u>	433	<u>QEAYKQQN</u>	434	<u>AYRSATGNQFY</u>	435	<u>MDHEN</u>	441	<u>SYDVKM</u>	442	<u>ASSLWGLNTEAF</u>	443
29	PN41748	<u>KTLYG</u>	449	<u>LQKGEE</u>	450	<u>GADMYSGGGADGLT</u>	451	<u>DFQATT</u>	457	<u>NEGSKA</u>	458	<u>SAWDGFYGYT</u>	459
30	PN41805	<u>TSENNYY</u>	465	<u>QEAYKQQN</u>	466	<u>AFGMYSGGGADGLT</u>	467	<u>PRHDT</u>	473	<u>FYEKMQ</u>	474	<u>ASSPTGTGDGYT</u>	475
31	PN41820	<u>SSVPPY</u>	481	<u>YTTGATLV</u>	482	<u>AVSSGSARQLT</u>	483	<u>MDHEN</u>	489	<u>SYDVKM</u>	490	<u>ASSHDRWDYGYT</u>	491
32	PN41822	<u>TSESDYY</u>	497	<u>QEAYKQQN</u>	498	<u>AYRSATGNQFY</u>	499	<u>MDHEN</u>	505	<u>SYDVKM</u>	506	<u>ASSLWALNTEAF</u>	507
33	PN41829	<u>TSESDYY</u>	513	<u>QEAYKQQN</u>	514	<u>AYRSATGNQFY</u>	515	<u>MDHEN</u>	521	<u>SYDVKM</u>	522	<u>ASSLFALNTEAF</u>	523
34	PN41839	<u>TISGNEY</u>	529	<u>GLKNN</u>	530	<u>IVYGGSQGNLI</u>	531	<u>SGHDT</u>	537	<u>YEEEE</u>	538	<u>ASSFSRVQPOH</u>	539
35	PN41852	<u>TSESDYY</u>	545	<u>QEAYKQQN</u>	546	<u>AYRSALGNDMR</u>	547	<u>MDHEN</u>	553	<u>SYDVKM</u>	554	<u>ASSLWALNTEAF</u>	555
36	PN41867	<u>TSENNYY</u>	561	<u>QEAYKQQN</u>	562	<u>AFMKTQGGSEKLV</u>	563	<u>PRHDT</u>	569	<u>FYEKMQ</u>	570	<u>ASSLVGYGYT</u>	571
37	PN41868	<u>TSESDYY</u>	577	<u>QEAYKQQN</u>	578	<u>AYRSATGNQFY</u>	579	<u>MDHEN</u>	585	<u>SYDVKM</u>	586	<u>ASSLWGTHEKLF</u>	587
38	PN41869	<u>TSESDYY</u>	593	<u>QEAYKQQN</u>	594	<u>AYRSSTGNQFY</u>	595	<u>MDHEN</u>	601	<u>SYDVKM</u>	602	<u>ASSLWGTNEKLF</u>	603

Таблица 3. Последовательности нуклеиновых кислот CDR для TCR Veloci-T®, специфических в отношении MAGE-A4 (286-

294) / HLA-A2

№ TCR	ID TCR	CDR1 V α	SEQ ID NO	CDR2 V α	SEQ ID NO	CDR3 V α	SEQ ID NO:	CDR1 V β	SEQ ID NO	CDR2 V β	SEQ ID NO	CDR3 V β	SEQ ID NO:
1	PN41475	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	4	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	5	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CGACCGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	6	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	12	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	13	<u>GCCAGCAGTTTATG</u> <u>GGGCAGTAACACTG</u> <u>AAGCTTTC</u>	14
2	PN41494	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	20	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	21	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CGACCGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	22	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	28	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	29	<u>GCCAGCAGTTTATG</u> <u>GGGGTGGAATTCAC</u> <u>CCCTCCAC</u>	30
3	PN41513	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	36	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	37	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CTCCCGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	38	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	44	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	45	<u>GCCAGCAGTTTATT</u> <u>TGCAACTAATGAAA</u> <u>AACTGTTT</u>	46
4	PN41516	<u>AGTGTTT</u> <u>TTCCAG</u> <u>C</u>	52	<u>GTAGTTACG</u> <u>GGTGGAGA</u> <u>AGTG</u>	53	<u>GCAGGAGAGAGGG</u> <u>ACAGCTGGGGGAA</u> <u>ATTCCAG</u>	54	<u>ATGAAC</u> <u>CATAAC</u> <u>TAC</u>	60	<u>TCAGTTG</u> <u>GTGCTG</u> <u>GTATC</u>	61	<u>GCCAGCAGTTTTTG</u> <u>GACAGGGGGCGAT</u> <u>GAAAAACTGTTT</u>	62
5	PN41518	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	68	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	69	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CGCCCGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	70	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	76	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	77	<u>GCCAGCAGTTTATG</u> <u>GGCAACTAATGAAA</u> <u>AACTGTTT</u>	78
6	PN41520	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	84	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	85	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CTCGGGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	86	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AA</u>	92	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	93	<u>GCCAGCAGTTTATG</u> <u>GGGGGTAAATTCAC</u> <u>CCCTCCAC</u>	94
7	PN41523	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	100	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	101	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CGCCCGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	102	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	108	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	109	<u>GCCAGCAGTTTATG</u> <u>GGGGTTGAACACTG</u> <u>AAGCTTTC</u>	110

8	PN41532	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	116	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	117	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CGGAGGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	118	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	124	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	125	<u>GCCAGCAGTTTATG</u> <u>GGGGTTGAACACTG</u> <u>AAGCTTTC</u>	126
9	PN41539	<u>ACCCGT</u> <u>GATACT</u> <u>ACTTATT</u> <u>AC</u>	132	<u>CGGAACTCT</u> <u>TTTGATGAG</u> <u>CAAAAT</u>	133	<u>GCTCTGAGTGAGG</u> <u>GGGATACTGGAGG</u> <u>CTTCAAACTATC</u>	134	<u>ATGAAC</u> <u>CATAAC</u> <u>TAC</u>	140	<u>TCAGTTG</u> <u>GTGCTG</u> <u>GTATC</u>	141	<u>GCCAGCAGTTACTT</u> <u>CCCGGACAGGGGGC</u> <u>TTGGAAACACCATA</u> <u>TAT</u>	142
10	PN41550	<u>GACCGA</u> <u>GGTTCCC</u> <u>AGTCC</u>	148	<u>ATATACTCC</u> <u>AATGGTGA</u> <u>C</u>	149	<u>GCCGTGAACTTGA</u> <u>GCTGGGGGAAATT</u> <u>CCAG</u>	150	<u>TCTGGG</u> <u>CATGAC</u> <u>ACT</u>	156	<u>TATTATG</u> <u>AGGAGG</u> <u>AAGAG</u>	157	<u>GCCAGCAGCTTGGA</u> <u>CAGGAGCACTGAAG</u> <u>CTTTC</u>	158
11	PN41557	<u>GTCAGC</u> <u>GGTTTAA</u> <u>GAGGG</u>	164	<u>CTGTATTCA</u> <u>GCTGGGGA</u> <u>AGAA</u>	165	<u>GCTGTGCAGGCGG</u> <u>TCACGGGAGGAGG</u> <u>AAACAACTCACC</u>	166	<u>GACTTT</u> <u>CAGGCC</u> <u>ACAAC</u>	172	<u>TCCAATG</u> <u>AGGGCT</u> <u>CCAAGG</u> <u>CC</u>	173	<u>AGTGCTAGTTGGGA</u> <u>CAGGGACTATGGCT</u> <u>ACACC</u>	174
12	PN41559	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	180	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	181	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CCACCGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	182	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	188	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	189	<u>GCCAGCAGTTTATG</u> <u>GGGTTGGGGCACTG</u> <u>AAGCTTTC</u>	190
13	PN41565	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	196	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	197	<u>GCTTATAGGAGCC</u> <u>CCACCGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	198	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	204	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	205	<u>GCCAGCAGTTTATG</u> <u>GGCAATGAACACTG</u> <u>AAGCTTTC</u>	206
14	PN41568	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	212	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	213	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CGCGGGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	214	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	220	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	221	<u>GCCAGCAGTTTATG</u> <u>GGGGACTAATGAAA</u> <u>AACTGTTT</u>	222
15	PN41573	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	228	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	229	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CAACCGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	230	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	236	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	237	<u>GCCAGCAGTTTGTG</u> <u>GGGAACTAATGAAA</u> <u>AACTGTTT</u>	238
16	PN41577	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u>	244	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	245	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CGCCCGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	246	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	252	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	253	<u>GCCAGCAGTTTATG</u> <u>GGGGACTAATGAAA</u> <u>AACTGTTT</u>	254

		<u>AT</u>											
17	PN41607	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	260	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	261	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CGTCCGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	262	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	268	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	269	<u>GCCAGCAGTTTATG</u> <u>GGGCTAATGAAA</u> <u>AACTGTTT</u>	270
18	PN41608	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	276	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	277	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CGCCCGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	278	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	284	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	285	<u>GCCAGCAGTTTCTG</u> <u>GGGATGGAACACTG</u> <u>AAGCTTTC</u>	286
19	PN41613	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	292	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	293	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CGACCGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	294	<u>ATGAAC</u> <u>CATGAG</u> <u>TAT</u>	300	<u>TCAATG</u> <u>AATGTTG</u> <u>AGGTG</u>	301	<u>GCCAGCAGTTTACT</u> <u>GTATAGCAATCAGC</u> <u>CCCAGCAT</u>	302
20	PN41617	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	308	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	309	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CGTCCGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	310	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	316	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	317	<u>GCCAGCAGTTTATG</u> <u>GGGGATGAACACTG</u> <u>AAGCTTTC</u>	318
21	PN41636	<u>TCCAGC</u> <u>AATTTTT</u> <u>ATGCC</u>	324	<u>ATGACTTTA</u> <u>AATGGGGA</u> <u>TGAA</u>	325	<u>GCCCTGAACAGAG</u> <u>ATGACAAGATCAT</u> <u>C</u>	326	<u>AAGGGT</u> <u>CATGAT</u> <u>AGA</u>	332	<u>TCCTTTG</u> <u>ATGTCA</u> <u>AAGAT</u>	333	<u>GCCACCAGTGATCC</u> <u>TCAGAGAAATCAGC</u> <u>CCCAGCAT</u>	334
22	PN41654	<u>AACAGC</u> <u>GCCTCA</u> <u>GACTAC</u>	340	<u>ATTCGTTCA</u> <u>AATATGGA</u> <u>CAAA</u>	341	<u>GCAGAGAAGAGGG</u> <u>ATAACTATGGTCA</u> <u>GAATTTTGTC</u>	342	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	348	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	349	<u>GCCAGCAGTTTATA</u> <u>CAGCTATGGCTACA</u> <u>CC</u>	350
23	PN41656	<u>ACCAGT</u> <u>GATCCA</u> <u>AGTTATG</u> <u>GT</u>	356	<u>CAGGGGTCT</u> <u>TATGACCAG</u> <u>CAAAAT</u>	357	<u>GCAATGAGAGACC</u> <u>TACTACCTCAGGA</u> <u>ACCTACAAATACA</u> <u>TC</u>	358	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	364	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	365	<u>GCCAGCAGTTTCGG</u> <u>GGGCTGGGGCTATG</u> <u>GCTACACC</u>	366
24	PN41690	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	372	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	373	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CGATCGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	374	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	380	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	381	<u>GCCAGCAGTTTATG</u> <u>GGGTGTGAACACTG</u> <u>AAGCTTTC</u>	382
25	PN41702	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u>	388	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	389	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CGACCGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	390	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	396	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	397	<u>GCCAGCAGTTTATG</u> <u>GGCCGTAAATGAAA</u> <u>AACTGTTT</u>	398

		<u>AT</u>											
26	PN41703	<u>ACCATC</u> <u>AGTGGA</u> <u>AATGAG</u> <u>TAT</u>	404	<u>GGTCTAAA</u> <u>AAACAAT</u>	405	<u>ATCGTCAGACCGG</u> <u>GGGGAACCTACAA</u> <u>ATACATC</u>	406	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	412	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	413	<u>GCGACCGGGGGTGA</u> <u>CAATCAGCCCCAGC</u> <u>AT</u>	414
27	PN41712	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAAT</u> <u>AATTATT</u> <u>AT</u>	420	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	421	<u>GCCCTCAACACCG</u> <u>GTAACCAGTTCTAT</u>	422	<u>GACTTT</u> <u>CAGGCC</u> <u>ACAAC</u>	428	<u>TCCAATG</u> <u>AGGGCT</u> <u>CCAAGG</u> <u>CC</u>	429	<u>AGTGCCTGGGACGG</u> <u>ATTCTATGGCTACA</u> <u>CC</u>	430
28	PN41746	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	436	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	437	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CGACCGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	438	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	444	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	445	<u>GCCAGCAGTTTATG</u> <u>GGGCTTAAACACTG</u> <u>AAGCTTTC</u>	446
29	PN41748	<u>AAGACG</u> <u>TTATATG</u> <u>GC</u>	452	<u>CTACAGAA</u> <u>AGGTGGGG</u> <u>AAGAG</u>	453	<u>GGAGCAGACATGT</u> <u>ATTCAGGAGGAGG</u> <u>TGCTGACGGACTC</u> <u>ACC</u>	454	<u>GACTTT</u> <u>CAGGCC</u> <u>ACAAC</u>	460	<u>TCCAATG</u> <u>AGGGCT</u> <u>CCAAGG</u> <u>CC</u>	461	<u>AGTGCCTGGGACGG</u> <u>ATTCTATGGCTACA</u> <u>CC</u>	462
30	PN41805	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAAT</u> <u>AATTATT</u> <u>AT</u>	468	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	469	<u>GCTTTCGGTATGTA</u> <u>TTCAGGAGGAGGT</u> <u>GCTGACGGACTCA</u> <u>CC</u>	470	<u>CCTAGA</u> <u>CACGAC</u> <u>ACT</u>	476	<u>TTTTATG</u> <u>AAAAGA</u> <u>TGCAG</u>	477	<u>GCCAGCAGCCCTAC</u> <u>CGGGACAGGGGAT</u> <u>GGCTACACC</u>	478
31	PN41820	<u>TCGTCTG</u> <u>TTCCACC</u> <u>ATAT</u>	484	<u>TACACAAC</u> <u>AGGGGCCA</u> <u>CCCTGGTT</u>	485	<u>GCTGTGAGTTCTGG</u> <u>TTCTGCAAGGCAA</u> <u>CTGACC</u>	486	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	492	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	493	<u>GCCAGCAGTCATGA</u> <u>CAGGTGGGACTATG</u> <u>GCTACACC</u>	494
32	PN41822	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	500	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	501	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CCACCGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	502	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	508	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	509	<u>GCCAGCAGTTTGTG</u> <u>GGCATTGAACACTG</u> <u>AAGCTTTC</u>	510
33	PN41829	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	516	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	517	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CGACCGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	518	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	524	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	525	<u>GCCAGCAGTTTATT</u> <u>CGCATTGAACACTG</u> <u>AAGCTTTC</u>	526
34	PN41839	<u>ACCATC</u> <u>AGTGGA</u>	532	<u>GGTCTAAA</u> <u>AAACAAT</u>	533	<u>ATCGTTTATGGAGG</u> <u>AAGCCAAGGAAAT</u>	534	<u>TCTGGG</u> <u>CATGAC</u>	540	<u>TATTATG</u> <u>AGGAGG</u>	541	<u>GCCAGCAGCTTCAG</u> <u>CAGGGTCCAGCCCC</u>	542

		<u>AATGAG</u> <u>TAT</u>				<u>CTCATC</u>		<u>ACT</u>		<u>AAGAG</u>		<u>AGCAT</u>	
35	PN41852	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	548	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	549	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CGTTGGGCAATGA</u> <u>CATGCGC</u>	550	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	556	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	557	<u>GCCAGCAGTTTATG</u> <u>GGCACTGAACACTG</u> <u>AAGCTTTC</u>	558
36	PN41867	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAAT</u> <u>AATTATT</u> <u>AT</u>	564	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	565	<u>GCTTTCATGAAAAC</u> <u>TCAGGGCGGATCT</u> <u>GAAAAGCTGGTC</u>	566	<u>CCTAGA</u> <u>CACGAC</u> <u>ACT</u>	572	<u>TTTTATG</u> <u>AAAAGA</u> <u>TGCAG</u>	573	<u>GCCAGCAGCTTAGT</u> <u>TGGGTATGGCTACA</u> <u>CC</u>	574
37	PN41868	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	580	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	581	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>CAACCGGTAACCA</u> <u>GTTCTAT</u>	582	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	588	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	589	<u>GCCAGCAGTTTATG</u> <u>GGGACACATGAA</u> <u>AAACTGTTT</u>	590
38	PN41869	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	596	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAGAAT</u>	597	<u>GCTTATAGGAGCTC</u> <u>CACCGGTAACCAG</u> <u>TTCTAT</u>	598	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	604	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	605	<u>GCCAGCAGTTTATG</u> <u>GGGAACTAATGAAA</u> <u>AACTGTTT</u>	606

Таблица 4. Аминокислотные последовательности и последовательности нуклеиновых кислот для TCR Veloci-T®, специфических в отношении MAGE-A4 (286-294) / HLA-A2

<i>Название TCR</i> <i>Название домена</i>	<i>Название последовательности</i> Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO); последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 <u>подчеркнуты</u> Последовательность нуклеиновых кислот (SEQ ID NO); последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 <u>подчеркнуты</u>
Vα PN41475	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSTCTYDT<u>SESDYYL</u>FWYKQPPSRQMIL VIR<u>QEAYKQQN</u>ATVNRFSVNFQKAASFSLKISDSQLGDAAMYFCAY <u>RSATGNQFYFGTGTSLTVIP</u> (SEQ ID NO: 7) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGAC<u>ACCAGTGAGAGTG</u> <u>ATTATTATTTATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT</u> TCTCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGTG AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG TGCTTATAGGAGCGCGACCGGTA<u>ACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG</u> ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 8)
Vβ PN41475	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLCVDMDH<u>EN</u>MFWYRQDPGLGLRLI YF<u>SYDVKMKEK</u>GDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>CASSL</u> <u>WGSNTEAFFGQGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 15) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA <u>AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA</u> TCTATTTCTCATATGATGTAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT <u>GCCAGCAGTTTATGGGGCAGTAACACTGAAGCTTTCTTTGGACAAG</u> GCACCAGACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 16)
Vα PN41494	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSTCTYDT<u>SESDYYL</u>FWYKQPPSRQMIL VIR<u>QEAYKQQN</u>ATENRFSVNFQKAASFSLKISDSQLGDAAMYFCAY <u>RSATGNQFYFGTGTSLTVIP</u> (SEQ ID NO: 23) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGAC<u>ACCAGTGAGAGTG</u>

	<u>ATTATTATTTATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT</u> TCTCGTTATTTCGCC<u>CAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGAG</u> AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAGGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG <u>TGCTTATAGGAGCGCGACCGGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG</u> ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 24)
Vβ PN41494	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLI YF<u>SYDVKMKEK</u>GDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>ASSL</u> <u>WGWSPLHF</u>GNGTRLTVT (SEQ ID NO: 31) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA <u>AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA</u> TCTATTTCTCATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT <u>GCCAGCAGTTTATGGGGGTGGAATTCACCCCTCCACTTTGGGAACG</u> GGACCAGGCTCACTGTGACA (SEQ ID NO: 32)
Vα PN41513	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDT<u>SESDYYL</u>FWYKQPPSRQMIL VIR<u>QEAYKQQN</u>ATENRFSVNFQKAASFSCLKISDSQLGDAAMYFC<u>AY</u> <u>RSAPGNQFY</u>FGTGTS�TVIP (SEQ ID NO: 39) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGAC<u>ACCAGTGAGAGTG</u> <u>ATTATTATTTATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT</u> TCTCGTTATTTCGCC<u>CAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGAG</u> AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG <u>TGCTTATAGGAGCGCTCCCGGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG</u> ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 40)
Vβ PN41513	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLI YF<u>SYDVKMKEK</u>GDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>ASSL</u> <u>FATNEKLFF</u>SGTQLSVL (SEQ ID NO: 47) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA <u>AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA</u> TCTATTTCTCATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC

	TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT <u>GCCAGCAGTTTATTTGCAACTAATGAAAACTGTTTTTTGGCAGTG</u> GAACCCAGCTCTCTGTCTTG (SEQ ID NO: 48)
V α PN41516	TQLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTV <u>VTGGEVKKLKRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCAGERDSW</u> <u>GKFQFGAGTQVVVTP</u> (SEQ ID NO: 55) ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGG GAGAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTTTTTTCCAG <u>CTTACAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCTCTCTG</u> <u>GTGACAGTAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTA</u> ACCTTTCAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCA CTGCGGCCCAGCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTCTGTGCAGGAGA <u>GAGGGACAGCTGGGGGAAATTCCAGTTTGGAGCAGGGACCCAGGT</u> TGTGGTCACCCCA (SEQ ID NO: 56)
V β PN41516	NAGVTQTPKFRILKIGQSMTLQCAQDMNHNMYWYRQDPGMGLKLI YY<u>SVGAGITDKGEVPNGYNVSRSTTEYFPLRLELAAPSQTSVYFCASSF</u> <u>WTGGDEKLFFGSGTQLSVL</u> (SEQ ID NO: 63) AATGCTGGTGTCACTCAGACCCCAAAATTCCGCATCCTGAAGATAG GACAGAGCATGACACTGCAGTGTGCCCAGGATATGAACCATAACT <u>ACATGTACTGGTATCGACAAGACCCAGGCATGGGGCTGAAGCTGA</u> TTTATTATT<u>CAGTTGGTGCTGGTATCACTGATAAAGGAGAAGTCCC</u> GAATGGCTACAACGTCTCCAGATCAACCACAGAGTATTTCCCGCTC AGGCTGGAGTTGGCTGCTCCCTCCAGACATCTGTGTACTTCTGTG <u>CCAGCAGTTTTTGGACAGGGGGCGATGAAAACTGTTTTTTGGCAG</u> TGGAACCCAGCTCTCTGTCTTG (SEQ ID NO: 64)
V α PN41518	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDTSESDYYLFWYKQPPSRQMIL VIRQEAYKQQNATENRFSVNFQKAASFSLKISDSQLGDAAMYFCAY <u>RSAPGNQFYFGTGTS�TVIP</u> (SEQ ID NO: 71) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGACACCAGTGAGAGTG <u>ATTATTATTTATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT</u> TCTCGTTATT<u>CGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGAG</u> AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG

	<u>TGCTTATAGGAGCGCGCCCGGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG</u> ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 72)
Vβ PN41518	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQD<u>MDHEN</u>MFWYRQDPGLGLRLI YF<u>SYDVKMKEK</u>GDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>CASSL</u> <u>WATNEKLF</u>FGSGTQLSVL (SEQ ID NO: 79) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA <u>AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA</u> TCTATTTCTCATATGATGTTAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT <u>GCCAGCAGTTTATGGGCAACTAATGAAAACTGTTTTTTGGCAGTG</u> GAACCCAGCTCTCTGTCTTG (SEQ ID NO: 80)
Vα PN41520	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDT<u>SESDYYL</u>FWYKQPPSRQMIL VIR<u>QEAYKQON</u>ATENRFSVNFQKAASFSLKISDSQLGDAAMYFCAY <u>RSARGNQFY</u>FGTGTSLTVIP (SEQ ID NO: 87) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGAC<u>ACCAGTGAGAGTG</u> <u>ATTATTATTTATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT</u> TCTCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGAG AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG <u>TGCTTATAGGAGCGCTCGGGGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG</u> ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 88)
Vβ PN41520	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQD<u>MDHEN</u>MFWYRQDPGLGLRLI YF<u>SYDVKMKEK</u>GDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>CASSL</u> <u>WGVNSPLH</u>FGNGTRLTVT (SEQ ID NO: 95) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA <u>AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA</u> TCTATTTCTCATATGATGTTAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT <u>GCCAGCAGTTTATGGGGGGTAAATTCACCCCTCCACTTTGGGAACG</u> GGACCAGGCTCACTGTGACA (SEQ ID NO: 96)

V α PN41523	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDT<u>SESDYYL</u>FWYKQPPSRQMIL VIR<u>QEAYKQQN</u>ATENRFSVNFQKAASFSCLKISDSQLGDAAMYFCAY <u>RSAPGNQFY</u>FGTGTSLTVIP (SEQ ID NO: 103) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGAC<u>ACCAGTGAGAGTG</u> <u>ATTATTATTT</u>ATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT TCTCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGAG AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG TGCTTATAGGAGCGCGCCCGGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 104)
V β PN41523	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLI YF<u>SYDVKMKEK</u>GDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>ASSL</u> <u>WGLNTEAFFGQ</u>GTRLTVV (SEQ ID NO: 111) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA <u>AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA</u> TCTATTTCTCATATGATGTTAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT <u>GCCAGCAGTTTATGGGGGTTGAACACTGAAGCTTTCTTTGGACAAG</u> GCACCAGACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 112)
V α PN41532	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDT<u>SESDYYL</u>FWYKQPPSRQMIL VIR<u>QEAYKQQN</u>ATENRFSVNFQKAASFSCLKISDSQLGDAAMYFCAY <u>RSAEGNQFY</u>FGTGTSLTVIP (SEQ ID NO: 119) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGAC<u>ACCAGTGAGAGTG</u> <u>ATTATTATTT</u>ATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT TCTCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGAG AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG TGCTTATAGGAGCGCGGAGGGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 120)
V β PN41532	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLI YF<u>SYDVKMKEK</u>GDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>ASSL</u>

	<u>WGLNTEAFFGQGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 127) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA <u>AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA</u> TCTATTTCTCATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT <u>GCCAGCAGTTTATGGGGGTTGAACACTGAAGCTTTCTTTGGACAAG</u> GCACCAGACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 128)
V α PN41539	AQKVTQAQTEISVVEKEDVTLDCVYET<u>TRDTTYLFWYKQPPSGELVF</u> LIRRNSFDEQNEISGRYSWNFQKSTSSFNFTITASQVVDSAVYFC<u>ALSE</u> <u>GDTGGFKTIFGAGTRLFVKA</u> (SEQ ID NO: 135) GCTCAGAAGGTA ACTCAAGCGCAGACTGAAATTTCTGTGGTGGAG AAGGAGGATGTGACCTTGGACTGTGTGTATGAA<u>ACCCGTGATACTA</u> <u>CTTATTACTTATTCTGGTACAAGCAACCACCAAGTGGAGAATTGGT</u> TTTCCTTATTCGTC<u>CGGAACTCTTTTGATGAGCAAAATGAAATAAGT</u> GGTCGGTATTCTTGGA ACTTCCAGAAATCCACCAGTTCCTTCAACTT CACCATCACAGCCTCACAAGTCGTGGACTCAGCAGTATACTTCTGT <u>GCTCTGAGTGAGGGGGATACTGGAGGCTTCAAACTATCTTTGGAG</u> CAGGAACAAGACTATTTGTTAAAGCA (SEQ ID NO: 136)
V β PN41539	NAGVTQTPKFRILKIGQSM TLQCAQDM<u>MNHNYMYWYRQDPGMGLKLI</u> YYSVGAGITDKGEVPNGYNVSRSTTEYFPLRLELAAPSQTSVYFC<u>ASS</u> <u>YFPDRGLGNTIYFGEGSWLTVV</u> (SEQ ID NO: 143) AATGCTGGTGTCACTCAGACCCCAA AATTCGCATCCTGAAGATAG GACAGAGCATGACACTGCAGTGTGCCCAGGATATGAACCATAACT <u>ACATGTACTGGTATCGACAAGACCCAGGCATGGGGCTGAAGCTGA</u> TTTATTATT<u>CAGTTGGTGTCTGGTATC</u>ACTGATAAAGGAGAAGTCCC GAATGGCTACAACGTCTCCAGATCAACCACAGAGTATTTCCCGCTC AGGCTGGAGTTGGCTGCTCCCTCCAGACATCTGTGTACTTCTGT<u>G</u> <u>CCAGCAGTTACTTCCCGGACAGGGGGCTTGGAACACCATATATTT</u> TGGAGAGGGAAGTTGGCTCACTGTTGTA (SEQ ID NO: 144)
V α PN41550	QKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYS<u>DRGSQSFFWYRQYSGKSPELIM</u> <u>SIYSNGDKEDGRFTAQLNKASQYVSLLRDSQPSDSATYLC</u><u>AVNLSWG</u> <u>KFQFGAGTQVVVTP</u> (SEQ ID NO: 151) CAGAAGGAGGTGGAGCAGAATTCTGGACCCCTCAGTGTTCAGAG

	GGAGCCATTGCCTCTCTCAACTGCACTTACAGT<u>GACCGAGGTTCCC</u> <u>AGTCCTTCTTCTGGTACAGACAATATTCTGGGAAAAGCCCTGAGTT</u> GATAATGTCC<u>ATATACTCCAATGGTGACAAAGAAGATGGAAGGTTT</u> ACAGCACAGCTCAATAAAGCCAGCCAGTATGTTTCTCTGCTCATCA GAGACTCCCAGCCCAGTGATTGAGCCACCTACCTCTGT<u>GCCGTGAA</u> <u>CTTGAGCTGGGGGAAATTCCAGTTTGGAGCAGGGACCCAGGTTGTG</u> GTCACCCCA (SEQ ID NO: 152)
Vβ PN41550	DAGVTQSPHLIKTRGQQVTLRCSPK<u>SGHDTV</u>SWYQQALGQGPQFIFQ <u>YEEEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSSSELNVNALLLGDSALYLC</u><u>ASSLD</u> <u>RSTEAFFGQGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 159) GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAACGAGA GGACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACA CTGTGTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTAT CTTTCAGTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTTCCC TGATCGATTCTCAGGTCACCAGTTCCCTAACTATAGCTCTGAGCTG AATGTGAACGCCTTGTTGCTGGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTG CCAGCAGCTTGGACAGGAGCACTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCAC CAGACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 160)
Vα PN41557	EDQVTQSPEALRLQEGESSLNCSYTV<u>SGLRGLFWYRQDPGKGPEFLF</u> TL<u>YSAGEEKEKERL</u>KATLTKKESFLHITAPKPEDSATYLC<u>AVQAVTGG</u> <u>GNKLTFGTGTQLKVEL</u> (SEQ ID NO: 167) GAAGACCAGGTGACGCAGAGTCCCGAGGCCCTGAGACTCCAGGAG GGAGAGAGTAGCAGTCTCAACTGCAGTTACACAGT<u>CAGCGGTTTA</u> <u>AGAGGGCTGTTCTGGTATAGGCAAGATCCTGGGAAAGGCCCTGAA</u> TTCCTCTTCACCCTGTATTCAGCTGGGGAAGAAAAGGAGAAAGAA AGGCTAAAAGCCACATTAACAAAGAAGGAAAGCTTTCTGCACATC ACAGCCCCTAAACCTGAAGACTCAGCCACTTATCTCTGTGCTGTGC AGGCGGT<u>CACGGGAGGAGGAAACAACTCACCTTTGGGACAGGCA</u> CTCAGCTAAAAGTGGAAGCTC (SEQ ID NO: 168)
Vβ PN41557	GAVVSQHPSWVICKSGTSVKIECRSL<u>DFQATTMFWYRQFPKQSLMLM</u> AT<u>SNEGSKATYE</u>QGVKDKFLINHASLTLSTLTVTSAHPEDSSFYICSA <u>SWDRDYGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 175) GGTGCTGTCGTCTCTCAACATCCGAGCTGGGTTATCTGTAAGAGTG GAACCTCTGTGAAGATCGAGTGCCGTTCCCTGGACTTTCAGGCCAC AACTATGTTTTGGTATCGTCAGTTCCCGAAACAGAGTCTCATGCTG

	ATGGCAACTTCCAATGAGGGCTCCAAGGCCACATACGAGCAAGGC GTCGAGAAGGACAAGTTTCTCATCAACCATGCAAGCCTGACCTTGT CCACTCTGACAGTGACCAGTGCCCATCCTGAAGACAGCAGCTTCTA CATCTGCAGTGCTAGTTGGGACAGGGACTATGGCTACACCTTCGGT TCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 176)
V α PN41559	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTL SCTYDTSESDYYLFWYKQPPSRQMIL VIRQEAYKQQNATENRFSVNFQKA AKSFSLKISDSQLGDAAMYFCAY RSATGNQFYFGTGTSLTVIP (SEQ ID NO: 183) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGACACCAGTGAGAGTG ATTATTATTTATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT TCTCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGAG AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG TGCTTATAGGAGCGCCACCGGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 184)
V β PN41559	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLCVQMDHENMFWYRQDPGLGLRLI YFSYDVKMKEKGDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLCASSL WGWGTEAFFGQGTRLTVV (SEQ ID NO: 191) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA TCTATTTCTCATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT GCCAGCAGTTTATGGGGTTGGGGCACTGAAGCTTTCTTTGGACAAG GCACCAGACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 192)
V α PN41565	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTL SCTYDTSESDYYLFWYKQPPSRQMIL VIRQEAYKQQNATENRFSVNFQKA AKSFSLKISDSQLGDAAMYFCAY RSPTGNQFYFGTGTSLTVIP (SEQ ID NO: 199) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGACACCAGTGAGAGTG ATTATTATTTATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT TCTCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGAG AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC

	TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG <u>TGCTTATAGGAGCCCCACCGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG</u> ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 200)
Vβ PN41565	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLCVDMDHENMFWYRQDPGLGLRLI YFSYDVKMKEKGDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>ASSL</u> <u>WAMNTEAFFGQGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 207) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTCTGGAATGTGTCCAGGAT<u>ATGGACCATGAA</u> <u>AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA</u> TCTATTTCTCATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT <u>GCCAGCAGTTTATGGGCAATGAACACTGAAGCTTTCTTTGGACAAG</u> GCACCAGACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 208)
Vα PN41568	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDTSESDYYLFWYKQPPSRQMIL VIRQEAYKQQNATENRFSVNFQKAASFSLSKISDSQLGDAAMYFCAY <u>RSARGNQFYFGTGTSLTVIP</u> (SEQ ID NO: 215) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGAC<u>ACCAGTGAGAGTG</u> <u>ATTATTATTTATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT</u> TCTCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGAG AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG <u>TGCTTATAGGAGCGCGCGGGGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG</u> ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 216)
Vβ PN41568	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLCVDMDHENMFWYRQDPGLGLRLI YFSYDVKMKEKGDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>ASSL</u> <u>WGTNEKLFFGSGTQLSVL</u> (SEQ ID NO: 223) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTCTGGAATGTGTCCAGGAT<u>ATGGACCATGAA</u> <u>AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA</u> TCTATTTCTCATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT <u>GCCAGCAGTTTATGGGGGACTAATGAAAACTGTTTTTTGGCAGTG</u>

	GAACCCAGCTCTCTGTCTTG (SEQ ID NO: 224)
V α PN41573	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDT<u>TESDY</u>YLFWYKQPPSRQMIL VIR<u>QEAYKQQN</u>ATENRFSVNFQKAASFSCLKISDSQLGDAAMYFC<u>AY</u> <u>RSATGNQFY</u>FGTGTSLTVIP (SEQ ID NO: 231) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGAC<u>ACCAGTGAGAGTG</u> <u>ATTATTATTT</u>ATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT TCTCGTTATTCGCC<u>CAAGAAGCTTATAAGCAACAGAAT</u>GCAACAGAG AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG TGCTTATAGGAGCGCAACCGGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 232)
V β PN41573	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQD<u>MDHEN</u>MFWYRQDPGLGLRLI YF<u>SYDVKMKEK</u>GDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>ASSL</u> <u>WGTNEKLFF</u>SGTQLSVL (SEQ ID NO: 239) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTCTGGAATGTGTCCAGGAT<u>ATGGACCATGAA</u> <u>AATATGTTCT</u>GGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA TCTATTTCT<u>TCATATGATGTTAAAATG</u>AAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT GCCAGCAGTTTGTGGGGA<u>ACTAATGAAAACTGTTTTT</u>TGGCAGTG GAACCCAGCTCTCTGTCTTG (SEQ ID NO: 240)
V α PN41577	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDT<u>TESDY</u>YLFWYKQPPSRQMIL VIR<u>QEAYKQQN</u>ATENRFSVNFQKAASFSCLKISDSQLGDAAMYFC<u>AY</u> <u>RSAPGNQFY</u>FGTGTSLTVIP (SEQ ID NO: 247) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTTAGCTGCACATATGAC<u>ACCAGTGAGAGTG</u> <u>ATTATTATTT</u>ATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT TCTCGTTATTCGCC<u>CAAGAAGCTTATAAGCAACAGAAT</u>GCAACAGAG AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG TGCTTATAGGAGCGCGCCCGGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 248)
V β PN41577	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQD <u>MDHEN</u> MFWYRQDPGLGLRLI

	YF<u>SYDVKMKEK</u>GDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>ASSL</u> <u>WGTNEKLFFGSGTQLSVL</u> (SEQ ID NO: 255) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTCTGGAATGTGTCCAGGAT<u>ATGGACCATGAA</u> <u>AAT</u>ATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA TCTATTTCT<u>CATATGATGTTAAAATG</u>AAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT GCCAGCAGTTTATGGGGGACTAATGAAAAACTGTTTTTTGGCAGTG GAACCCAGCTCTCTGTCTTG (SEQ ID NO: 256)
V α PN41607	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDTSESDYYLFWYKQPPSRQMIL VIR<u>QEAYKQQN</u>ATENRFSVNFQKAASFSCLKISDSQLGDAAMYFC<u>AY</u> <u>RSASGNQFYFGTGTSLTVIP</u> (SEQ ID NO: 263) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGAC<u>ACCAGTGAGAGTG</u> <u>ATTATTATTT</u>ATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT TCTCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGAG AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG TGCTTATAGGAGCGCGTCCGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 264)
V β PN41607	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLCVDMDHENMFWYRQDPGLGLRLI YF<u>SYDVKMKEK</u>GDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>ASSL</u> <u>WGTNEKLFFGSGTQLSVL</u> (SEQ ID NO: 271) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTCTGGAATGTGTCCAGGAT<u>ATGGACCATGAA</u> <u>AAT</u>ATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA TCTATTTCT<u>CATATGATGTTAAAATG</u>AAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT GCCAGCAGTTTATGGGGGACTAATGAAAAACTGTTTTTTGGCAGTG GAACCCAGCTCTCTGTCTTG (SEQ ID NO: 272)
V α PN41608	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDTSESDYYLFWYKQPPSRQMIL VIR<u>QEAYKQQN</u>ATENRFSVNFQKAASFSCLKISDSQLGDAAMYFC<u>AY</u> <u>RSAPGNQFYFGTGTSLTVIP</u> (SEQ ID NO: 279)

	GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGAC<u>ACCAGTGAGAGTG</u> <u>ATTATTATTTATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT</u> TCTCGTTATTTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGAG AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG TGCTTATAGGAGCGCGCCCGGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 280)
Vβ PN41608	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLVCVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLI YFSYDVKMKEKGDIPGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>ASSF</u> <u>WGWNTAEFFGQGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 287) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA <u>AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA</u> TCTATTTCTCATATGATGTTAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT <u>GCCAGCAGTTTCTGGGGATGGAACACTGAAGCTTTCTTTGGACAAG</u> GCACCAGACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 288)
Vα PN41613	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDTSESDDYILFWYKQPPSRQMIL VIRQEAYKQQNATENRFSVNFQKAAKSFSCLKISDSQLGDAAMYFCAY <u>RSATGNQFYFGTGTSLTVIP</u> (SEQ ID NO: 295) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGAC<u>ACCAGTGAGAGTG</u> <u>ATTATTATTTATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT</u> TCTCGTTATTTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGAG AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG TGCTTATAGGAGCGCGACCGGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 296)
Vβ PN41613	EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQI YYSMNVEVTDKGDVPEGYKVSKEKRNFLILESPSPNQTSLYFC<u>ASS</u> <u>LLYSNQPHFGDGTRLSIL</u> (SEQ ID NO: 303) GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAAGATACCTCATCACAGTGA GGAAAGAAGTTAACAGTGAAGTTGTTCTCAGAATATGAACCATGAGT

	<u>ATATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGAT</u> <u>CTACTATTCAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCT</u> <u>GAAGGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCCTG</u> <u>ATCCTGGAGTCGCCCAGCCCCAACCAGACCTCTCTGTACTTCTGTG</u> <u>CCAGCAGTTTACTGTATAGCAATCAGCCCCAGCATT</u><u>TTTGGTGATGG</u> <u>GACTCGACTCTCCATCCTA</u> (SEQ ID NO: 304)
V α PN41617	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCTYDT<u>SESDYYLFWYKQPPSRQMIL</u> <u>VIRQEA</u><u>YKQQN</u>ATENRFSVNFQKAASFSCLKISDSQLGDAAMYFC<u>AY</u> <u>RSASGNQFYFGTG</u>SLTVIP (SEQ ID NO: 311) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGAC<u>ACCAGTGAGAGTG</u> <u>ATTATTATTTATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT</u> TCTCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGAG AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG TGCTTATAGGAGCGCGTCCGGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 312)
V β PN41617	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLCVQDM<u>MDHEN</u>MFWYRQDPGLGLRLI YF<u>SYDV</u><u>KMKEK</u>GDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>ASSL</u> <u>WGMNTEAFFGQGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 319) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA <u>AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA</u> TCTATTTCTCATATGATGTTAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT <u>GCCAGCAGTTTATGGGGGATGAACACTGAAGCTTTCTTTGGACAAG</u> GCACCAGACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 320)
V α PN41636	ILNVEQSPQSLHVQEGDSTNFTCSFP<u>SSNFYAL</u>HWYRWETAKSPEALF <u>VMTLNGDEK</u>KKGRISATLNTKEGYSYLYIKGSQPEDSATYLC<u>ALNRD</u> <u>DKIIFGKGTRLHILP</u> (SEQ ID NO: 327) ATACTGAACGTGGAACAAAGTCCTCAGTCACTGCATGTTTCAGGAGG GAGACAGCACCAATTTACCTGCAGCTTCCCTTCCAGCAATTTTTAT <u>GCCTTACACTGGTACAGATGGGAAACTGCAAAAAGCCCCGAGGCC</u> TTGTTTGTAATGACTTTAAATGGGGATGAAAAGAAGAAAGGACGA

	ATAAGTGCCACTCTTAATACCAAGGAGGGTTACAGCTATTTGTACA TCAAAGGATCCCAGCCTGAAGACTCAGCCACATACCTCTGTGCCCT <u>GAACAGAGATGACAAGATCATCTTTGGAAAAGGGACACGACTTCA</u> TATTCTCCCC (SEQ ID NO: 328)
Vβ PN41636	DADVTQTPRNRITKTGKRIMLECSQTK<u>GHDR</u>MYWYRQDPGLGLRLIY Y<u>SFDVKD</u>INKGEISDGYSVSRQAQAKFSLSESAIPNQATALYFC<u>ATSDP</u> <u>QRNQPH</u>FGDGTRLSIL (SEQ ID NO: 335) GATGCTGATGTTACCCAGACCCCAAGGAATAGGATCACAAAGACA GGAAAGAGGATTATGCTGGAATGTTCTCAGACT<u>AAGGGTCATGAT</u> <u>AGAATGTACTGGTATCGACAAGACCCAGGACTGGGCCTACGGTTG</u> ATCTATTACTCCTTTGATGTCAAAGATATAAACAAAGGAGAGATCT CTGATGGATACAGTGTCTCTCGACAGGCACAGGCTAAATTCTCCCT GTCCCTAGAGTCTGCCATCCCCAACCAGACAGCTCTTTACTTCTGTG <u>CCACCAGTGATCCTCAGAGAAATCAGCCCCAGCATT</u>TTTGGTGATGG GACTCGACTCTCCATCCTA (SEQ ID NO: 336)
Vα PN41654	GESVGLHLPTLSVQEGDNSIINCAYS<u>NSASD</u>YFIWYKQESGKGPQFIID <u>RSNMDK</u>RQGQRVTVLLNKTVKHLSLQIAATQPGDSAVYFCA<u>AEKRDN</u> <u>YGQNFV</u>FGPGTRLSVLP (SEQ ID NO: 343) GGAGAGAGTGTGGGGCTGCATCTTCCCTACCCTGAGTGTCCAGGAGG GTGACAACTCTATTATCAACTGTGCTTATTCAAACAGCGCCTCAGA <u>CTACTTCATTTGGTACAAGCAAGAATCTGGAAAAGGTCCTCAATTC</u> ATTATAGACATTCGTTCAAATATGGACAAAAGGCAAGGCCAAAGA GTCACCGTTTTATTGAATAAGACAGTGAAACATCTCTCTCTGCAAA TTGCAGCTACTCAACCTGGAGACTCAGCTGTCTACTTTTGT<u>G</u>CAGA <u>GAAGAGGGATAACTATGGTCAGAAATTTGTCTTTGGTCCCGGAACC</u> AGATTGTCCGTGCTGCCC (SEQ ID NO: 344)
Vβ PN41654	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMD<u>HEN</u>MFWYRQDPGLGLRLI YF<u>SYDVKM</u>KEKGDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>ASSL</u> <u>YSYGYT</u>FGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 351) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA <u>AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA</u> TCTATTTCTCATATGATGTTAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT

	<u>GCCAGCAGTTTATACAGCTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCA</u> GGTTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 352)
V α PN41656	AQKITQTQPGMFVQEKEAVTLDCTYDT<u>SDPSYGLFWYKQPSSGEMIFL</u> <u>IYQGSYDQQN</u>ATEGRYSLNFQKARKSANLVISASQLGDSAMYFC<u>AMR</u> <u>DLTTS</u>GTYKYIFGTGTRLKVLA (SEQ ID NO: 359) GCCCAGAAGATAACTCAAACCCAACCAGGAATGTTCTGTCAGGAA AAGGAGGCTGTGACTCTGGACTGCACATATGAC<u>ACCAGTGATCCA</u> <u>AGTTATGGT</u>CTATTCTGGTACAAGCAGCCCAGCAGTGGGGAAATGA TTTTTCTTATTTAT<u>CAGGGGTCTTATGACCAGCAAAATGCAACAGA</u> AGGTCGCTACTCATTGAATTTCCAGAAGGCAAGAAAATCCGCCAAC CTTGTCATCTCCGCTTCACAACTGGGGGACTCAGCAATGTACTTCT GT<u>GCAATGAGAGACCTTACTACCTCAGGAACCTACAAATACATCTT</u> TGGAACAGGCACCAGGCTGAAGGTTTTAGCA (SEQ ID NO: 360)
V β PN41656	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLCVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLI YF<u>SYDVKMKEK</u>GDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>ASSF</u> <u>GGWGYGYTF</u>GSCTRLTVV (SEQ ID NO: 367) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA <u>AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA</u> TCTATTTCTCATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT <u>GCCAGCAGTTTCGGGGGCTGGGGCTATGGCTACACCTTCGGTTCGG</u> GGACCAGGTAAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 368)
V α PN41690	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDT<u>SESDYYLFWYKQPPSRQMIL</u> <u>VIRQEAYKQQN</u>ATENRFSVNFQKAASFSCLKISDSQLGDAAMYFC<u>AY</u> <u>RSAIGNQFYF</u>GTGTS�TVIP (SEQ ID NO: 375) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCTGAGCTGCACATATGAC<u>ACCAGTGAGAGTG</u> <u>ATTATTATTTATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT</u> TCTCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGAG AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG <u>TGCTTATAGGAGCGCGATCGGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG</u> ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 376)

Vβ PN41690	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLI YF<u>SYDVKMKEK</u>GDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>CASSL</u> <u>WGVNTEAFFGQGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 383) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA <u>AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA</u> <u>TCTATTTCTCATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC</u> <u>TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT</u> <u>GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT</u> <u>GCCAGCAGTTTATGGGGTGTGAACACTGAAGCTTTCTTTGGACAAG</u> <u>GCACCAGACTCACAGTTGTA</u> (SEQ ID NO: 384)
Vα PN41702	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDTSESDYYLFWYKQPPSRQMIL VIRQEAYKQONATENRFSVNFQKAASFSLKISDSQLGDAAMYFCAY <u>RSATGNQFYFGTGTSLTVIP</u> (SEQ ID NO: 391) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGACACCAGTGAGAGTG <u>ATTATTATTTATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT</u> <u>TCTCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGAG</u> <u>AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC</u> <u>TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG</u> <u>TGCTTATAGGAGCGCGACCGGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG</u> <u>ACAAGTTTGACGGTCATTCCA</u> (SEQ ID NO: 392)
Vβ PN41702	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLI YF<u>SYDVKMKEK</u>GDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>CASSL</u> <u>WAVNEKLFFGSGTQLSVL</u> (SEQ ID NO: 399) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA <u>AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA</u> <u>TCTATTTCTCATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC</u> <u>TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT</u> <u>GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT</u> <u>GCCAGCAGTTTATGGGCCGTTAATGAAAACTGTTTTTGGCAGTG</u> <u>GAACCCAGCTCTCTGTCTTG</u> (SEQ ID NO: 400)
Vα PN41703	DAKTTQPPSMDCAEGRAANLPCNHSTISGNEYVYWYRQIHSQGPQYII <u>HGLKNN</u>ETNEMASLIITEDRKSSTLILPHATLRDTAVYYCIVRPGGTYK

	<u>YIFGTGTRLKVLA</u> (SEQ ID NO: 407) GATGCTAAGACCACCCAGCCACCCTCCATGGATTGCGCTGAAGGA AGAGCTGCAAACCTGCCTTGTAATCACTCT<u>ACCATCAGTGGAAATG</u> <u>AGTATGTGTATTGGTATCGACAGATTCACTCCCAGGGGCCACAGTA</u> TATCATTTCATGGTCTAAAAACAATGAAACCAATGAAATGGCCTCT CTGATCATCACAGAAGACAGAAAGTCCAGCACCTTGATCCTGCCCC ACGCTACGCTGAGAGACACTGCTGTGTACTATTGCATCGTCAGACC <u>GGGGGGAACCTACAAATACATCTTTTGGAACAGGCACCAGGCTGAA</u> GGTTTTAGCA (SEQ ID NO: 408)
Vβ PN41703	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLI YFSYDVKMKEKGDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLCATG <u>GDNQPQHFGDGTRLSIL</u> (SEQ ID NO: 415) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA <u>AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA</u> TCTATTTCTCATATGATGTTAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT <u>GCGACCGGGGGTGACAATCAGCCCCAGCATTTTGGTGATGGGACTC</u> GACTCTCCATCCTA (SEQ ID NO: 416)
Vα PN41712	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDTSENNYYLFWYKQPPSRQMIL VIRQEAYKQQNATENRFSVNFQKAASFSLKISDSQLGDTAMYFCAL <u>NTGNQFYFGTGTS�TVIP</u> (SEQ ID NO: 423) GCCCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAG GCAGAGACTGTGACCCTGAGTTGCACATATGACACCAGTGAGAAT <u>AATTATTATTTGTTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGA</u> TTCTCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACGGA GAATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGT CTCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGACACTGCGATGTATTTCT GTGCCCTCAACACCGGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGGACAAG TTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 424)
Vβ PN41712	GAVVSQHPSWVICKSGTSVKIECRSLDFQATTMFWYRQFPKQSLMLM AT<u>SNEGSKATYEQ</u>GVEKDKFLINHASLTLSTLTVTSAHPEDSSFYICSA <u>WDGFYGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 431) GGTGCTGTCGTCTCTCAACATCCGAGCTGGGTTATCTGTAAGAGTG

	GAACCTCTGTGAAGATCGAGTGCCGTTCCCTGG<u>ACTTTCAGGCCAC</u> <u>A</u>ACTATGTTTTGGTATCGTCAGTTCCCGAAACAGAGTCTCATGCTG ATGGCAACTTCCAATGAGGGCTCCAAGGCCACATACGAGCAAGGC GTCGAGAAGGACAAGTTTCTCATCAACCATGCAAGCCTGACCTTGT CCACTCTGACAGTGACCAGTGCCCATCCTGAAGACAGCAGCTTCTA CATCTGCAGTGCCTGGGACGGATTCTATGGCTACACCTTCGGTTCG GGGACCAGGTTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 432)
V α PN41746	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDT<u>SESDYYL</u>FWYKQPPSRQMIL VIRQEA<u>YKQQN</u>ATENRFSVNFQKAASFSCLKISDSQLGDAAMYFCAY RSATGNQFYFGTGTSLTVIP (SEQ ID NO: 439) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGACACCAGTGAGAGTG ATTATTATTTATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT TCTCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGAG AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG TGCTTATAGGAGCGCGACCGGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 440)
V β PN41746	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLCVDMDHENMFWYRQDPGLGLRLI YFSYDVKMKEKGDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>ASSL</u> WGLNTEAFFGQGTRLTVV (SEQ ID NO: 447) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA TCTATTTCTCATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT GCCAGCAGTTTATGGGGCTTAAACACTGAAGCTTCTTTGGACAAG GCACCAGACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 448)
V α PN41748	SQELEQSQQSLIVQEGKNTINCTSSKTLYGLYWKQKYGEGLIFLMM LQKGGEESHEKITAKLDEKKQSSLHITASQPSHAGIYLCGADMYSG GGADGLTFGKGTHLIIQP (SEQ ID NO: 455) AGCCAAGAAGTGGAGCAGAGTCAACAGTCCTTGATCGTCCAAGAG GGAAAGAATCTCACCATAAACTGCACGTCATCAAAGACGTTATATG GCTTATACTGGTATAAGCAAAAGTATGGTGAAGGTCTTATCTTCTT

	GATGATGCTACAGAAAGGTGGGGAAGAGAAAAGTCATGAAAAGAT AACTGCCAAGTTGGATGAGAAAAAGCAGCAAAGTTCCTGCATAT CACAGCCTCCCAGCCCAGCCATGCAGGCATCTACCTCTGTGGAGCA GACATGTATTTCAGGAGGAGGTGCTGACGGACTCACCTTTGGCAA GGGACTCATCTAATCATCCAGCCC (SEQ ID NO: 456)
Vβ PN41748	GAVVSQHPSWVICKSGTSVKIECRSLDFQATTMFWYRQFPKQSLMLM ATSNEGSKATYEQGVEKDKFLINHASLTLSTLTVTSAHPEDSSFYICSA WDGFYGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 463) GGTGCTGTCGTCTCTCAACATCCGAGCTGGGTTATCTGTAAGAGTG GAACCTCTGTGAAGATCGAGTGCCGTTCCCTGGACTTTCAGGCCAC AACTATGTTTTGGTATCGTCAGTTCCCGAAACAGAGTCTCATGCTG ATGGCAACTTCCAATGAGGGCTCCAAGGCCACATACGAGCAAGGC GTCGAGAAGGACAAGTTTCTCATCAACCATGCAAGCCTGACCTTGT CCACTCTGACAGTGACCAGTGCCCATCCTGAAGACAGCAGCTTCTA CATCTGCAGTGCCTGGGACGGATTCTATGGCTACACCTTCGGTTCG GGGACCAGGTAAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 464)
Vα PN41805	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDTSENNYYLFWYKQPPSRQMIL VIRQEAYKQQNATENRFSVNFQKAASFSCLKISDSQLGDTAMYFCAFG MYSGGGADGLTFGKGTHLIQP (SEQ ID NO: 471) GCCCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAG GCAGAGACTGTGACCCTGAGTTGCACATATGACACCAGTGAGAAT AATTATTATTTGTTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGA TTCTCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACGGA GAATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGT CTCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGACACTGCGATGTATTTCT GTGCTTTCGGTATGTATTCAGGAGGAGGTGCTGACGGACTCACCTT TGGCAAAGGGACTCATCTAATCATCCAGCCC (SEQ ID NO: 472)
Vβ PN41805	AAGVIQSPRHLIKEKRETATLKCYPPIRHDIVYWYQQGPGQDPQFLISE YEKMQSDKGSIPDRFSAQQFSDYHSELNMSLELGDSALYFCASSPTG TGDGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 479) GCTGCTGGAGTCATCCAGTCCCCAAGACATCTGATCAAAGAAAAG AGGGAAACAGCCACTCTGAAATGCTATCCTATCCCTAGACACGACA CTGTCTACTGGTACCAGCAGGGTCCAGGTCAGGACCCCCAGTTCT CATTTTCGTTTTATGAAAAGATGCAGAGCGATAAAGGAAGCATCCCT GATCGATTCTCAGCTCAACAGTTCAGTGACTATCATTCTGAACTGA

	ACATGAGCTCCTTGGAGCTGGGGGACTCAGCCCTGTACTTCTGTGC CAGCAGCCCTACCGGGACAGGGGATGGCTACACCTTCGGTTCGGG GACCAGGTAAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 480)
V α PN41820	AQSVTQPGSHVSVSEGA LVLLRCNYSSSVPPYLFWYVQYPNQGLQLL LKYTTGATLVKGINGFEAEFKKSETSFHLTKPSAHMSDAAEYFCAVSS GSARQLTFSGTQLTVLP (SEQ ID NO: 487) GCCCAGTCGGTGACCCAGCCTGGCAGCCACGTCTCTGTCTCTGAGG GAGCCCTGGTTCTGCTGAGGTGCAACTACTCATCGTCTGTTCCACC ATATCTCTTCTGGTATGTGCAATACCCCAACCAAGGACTCCAGCTT CTCCTGAAGTTACACAACAGGGGCCACCCTGGTTAAAGGCATCAAC GGTTTTGAGGCTGAATTTAAGAAGAGTGAAACCTCCTTCCACCTGA CGAAACCCTCAGCCCATATGAGCGACGCGGCTGAGTACTTCTGTGC TGTGAGTTCTGGTTCTGCAAGGCAACTGACCTTTGGATCTGGGACA CAATTGACTGTTTTACCT (SEQ ID NO: 488)
V β PN41820	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLI YFSYDVKMKEKGDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLCASS HDRWDYGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 495) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA TCTATTTCTCATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT GCCAGCAGTCATGACAGGTGGGACTATGGCTACACCTTCGGTTCGG GGACCAGGTAAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 496)
V α PN41822	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCTYDTSESDYYLFWYKQPPSRQMIL VIRQEAYKQQNATENRFSVNFQKAAKSFSLKISDSQLGDAAMYFCAY RSATGNQFYFGTGTSLTVIP (SEQ ID NO: 503) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGACACCAGTGAGAGTG ATTATTATTTATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT TCTCGTTATTTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGAG AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG TGCTTATAGGAGCGCCACCGGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG

	ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 504)
Vβ PN41822	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLI YFSYDVKMKEKGDIPGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLCASSL WALNTEAFFGQGTRLTVV (SEQ ID NO: 511) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA TCTATTTCTCATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT GCCAGCAGTTTGTGGGCATTGAACACTGAAGCTTTCTTTGGACAAG GCACCAGACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 512)
Vα PN41829	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDTSESDDYLFWYKQPPSRQMIL VIRQEAYKQQNATENRFSVNFQKAASFSCLKISDSQLGDAAMYFCAY RSATGNQFYFGTGTSLTVIP (SEQ ID NO: 519) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGACACCAGTGAGAGTG ATTATTATTTATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT TCTCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGAG AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG TGCTTATAGGAGCGCGACCGGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 520)
Vβ PN41829	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLI YFSYDVKMKEKGDIPGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLCASSL FALNTEAFFGQGTRLTVV (SEQ ID NO: 527) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA TCTATTTCTCATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT GCCAGCAGTTTATTCGCATTGAACACTGAAGCTTTCTTTGGACAAG GCACCAGACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 528)
Vα PN41839	DAKTTQPPSMDCAEGRAANLPCNHSTISGNEYVYWYRQIHSQGPQYII

	<u>HGLKNN</u>ETNEMASLIITEDRKSSTLILPHATLRDTAVYYC<u>IVYGG</u>SQGN <u>LIFGKG</u>TKLSVKP (SEQ ID NO: 535) GATGCTAAGACCACCCAGCCCCCTCCATGGATTGCGCTGAAGGAA GAGCTGCAAACCTGCCTTGTAATCACTCT<u>ACCATCAGTGGAAATGA</u> <u>GTAT</u>GTGTATTGGTATCGACAGATTCCTCCAGGGGCCACAGTAT ATCATTCAT<u>GGTCTAAAAACAAT</u>GAAACCAATGAAATGGCCTCTC TGATCATCACAGAAGACAGAAAGTCCAGCACCTTGATCCTGCCCA CGCTACGCTGAGAGACACTGCTGTGTACTATTGC<u>ATCGTTTATGGA</u> <u>GGAAGCCAAGGAAATCTCATCTTTG</u>GAAAAGGCACTAAACTCTCTG TTAAACCA (SEQ ID NO: 536)
Vβ PN41839	DAGVTQSPHLIKTRGQQVTLRCSPK<u>SGHDTV</u>SWYQQALGQGPQFIFQ <u>YEEEEER</u>QRGNFDRFSGHQFPNYSELNVNALLGDSALYLC<u>ASSFS</u> <u>RVQPQH</u>FGDGTRLSIL (SEQ ID NO: 543) GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAACGAGA GGACAGCAAGTGA CTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACA <u>CTGTGT</u>CCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTAT CTTTCAGT<u>ATTATGAGGAGGAAGAG</u>AGACAGAGAGGCAACTTCCC TGATCGATTCTCAGGTCACCAAGTTCCCTAACTATAGCTCTGAGCTG AATGTGAACGCCTTGTTGCTGGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGT<u>G</u> <u>CCAGCAGCTTCAGCAGGGTCCAGCCCCAGCATT</u>TTTGGTGATGGGAC TCGACTCTCCATCCTA (SEQ ID NO: 544)
Vα PN41852	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDTSES<u>DYYL</u>FWYKQPPSRQMIL VIR<u>QEAYKQQN</u>ATENRFSVNFQKAASFSLSKISDSQLGDAAMYFC<u>AY</u> <u>RSALGNDMR</u>FGAGTRLTVKP (SEQ ID NO: 551) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGAC<u>ACCAGTGAGAGTG</u> <u>ATTATTATTTATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT</u> TCTCGTTATTGCGC<u>AAGAAGCTTATAAGCAACAGAAT</u>GCAACAGAG AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG TGCTTATAGGAGCGCGTTGGGCAATGACATGCGCTTTGGAGCAGGG ACCAGACTGACAGTAAAACCA (SEQ ID NO: 552)
Vβ PN41852	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLCVDMDHENMFYWRQDPGLGLRLI YF<u>SYDVKM</u>KEKGDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>ASSL</u> <u>WALNTEA</u>FFGQGTRLTVV (SEQ ID NO: 559)

	GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA TCTATTTCTCATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT GCCAGCAGTTTATGGGCACTGAACACTGAAGCTTTCTTTGGACAAG GCACCAGACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 560)
V α PN41867	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDTSENNYYLFWYKQPPSRQMIL VIRQEAYKQQNATENRFSVNFQKAAKSFSLKISDSQLGDTAMYFCAF MKTQGGSEKLVFGKGTKLTVNP (SEQ ID NO: 567) GCCCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAG GCAGAGACTGTGACCCTGAGTTGCACATATGACACCAGTGAGAAT AATTATTATTTGTTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGA TTCTCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACGGA GAATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGT CTCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGACACTGCGATGTATTTCT GTGCTTTCATGAAAACTCAGGGCGGATCTGAAAAGCTGGTCTTTGG AAAGGGAACGAAACTGACAGTAAACCCA (SEQ ID NO: 568)
V β PN41867	AAGVIQSPRHLIKEKRETATLKCYPIPRHDTVYWYQQGPGQDPQFLISE YEKMQSDKGSIPDRFSAQQFSDYHSELNMSSLELGDSALYFCASSLVG YGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 575) GCTGCTGGAGTCATCCAGTCCCCAAGACATCTGATCAAAGAAAAG AGGGAAACAGCCACTCTGAAATGCTATCCTATCCCTAGACACGACA CTGTCTACTGGTACCAGCAGGGTCCAGGTCAGGACCCCCAGTTCCT CATTTCTGTTTATGAAAAGATGCAGAGCGATAAAGGAAGCATCCCT GATCGATTCTCAGCTCAACAGTTCAGTGACTATCATTCTGAACTGA ACATGAGCTCCTTGGAGCTGGGGGACTCAGCCCTGTACTTCTGTGC CAGCAGCTTAGTTGGGTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGG TTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 576)
V α PN41868	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDTSESDYYLFWYKQPPSRQMIL VIRQEAYKQQNATENRFSVNFQKAAKSFSLKISDSQLGDAAMYFCAY RSATGNQFYFGTGTSLTVIP (SEQ ID NO: 583) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGACACCAGTGAGAGTG

	<u>ATTATTATTTATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT</u> <u>TCTCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGAG</u> AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG <u>TGCTTATAGGAGCGCAACCGGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG</u> ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 584)
Vβ PN41868	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLI YF<u>SYDVKMKEK</u>GDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>ASSL</u> <u>WGTHEKLFFGSGTQLSVL</u> (SEQ ID NO: 591) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA <u>AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA</u> TCTATTTCTCATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT <u>GCCAGCAGTTTATGGGGGACACATGAAAACTGTTTTTTGGCAGTG</u> GAACCCAGCTCTCTGTCTTG (SEQ ID NO: 592)
Vα PN41869	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTL SCTYDT<u>SESDYYL</u>FWYKQPPSRQMIL VIR<u>QEAYKQQN</u>ATENRFSVNFQKAASFSCLKISDSQLGDAAMYFCAY <u>RSSTGNQFYFGTGTSLTVIP</u> (SEQ ID NO: 599) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGAC<u>ACCAGTGAGAGTG</u> <u>ATTATTATTTATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGAT</u> TCTCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGAG AATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTC TCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTG <u>TGCTTATAGGAGCTCCACCGGTAACCAGTTCTATTTTGGGACAGGG</u> ACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 600)
Vβ PN41869	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLI YF<u>SYDVKMKEK</u>GDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>ASSL</u> <u>WGTNEKLFFGSGTQLSVL</u> (SEQ ID NO: 607) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAGGACG GGAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAA <u>AATATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGA</u> TCTATTTCTCATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCC

	TGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCT GATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGT <u>GCCAGCAGTTTATGGGGAACTAATGAAAACTGTTTTTGGCAGTG</u> GAACCCAGCTCTCTGTCTTG (SEQ ID NO: 608)
--	---

Пример 2. Идентификация MAGE-A4-специфических Т-клеточных рецепторов

[00187] Мышей, гуманизированных в отношении компонентов клеточной иммунной системы, мышей Veloci-T® (см., например, публикацию РСТ № WO 2016/164492, полное содержание которой включено в данный документ посредством ссылки), иммунизировали пептидом MAGE-A4 (230-239) (GVYDGRENTV, SEQ ID NO: 612), специфически презентруемым человеческим HLA-A2, разведенным в PBS и смешанным с адьювантом, например в равном объеме с полным адьювантом Фрейнда (CFA; Chondrex, Inc.). Получали и диссоциировали суспензии селезенки от иммунизированных мышей. Эритроциты лизировали в буфере для лизиса ACK (Life Technologies), а спленоциты суспендировали в полной среде RPMI. Выделенные спленоциты сортировали, и отдельные Т-клетки, которые связывают пептид MAGE-A4 (230-239) в контексте МНС, выделяли с помощью сортировки флуоресцентно-активируемых клеток (FACS). Выделенные Т-клетки высевали в однолуночный планшет и смешивали с праймерами для ПЦР, специфическими для альфа- и бета-цепей вариабельной области TCR. cDNA для каждой отдельной Т-клетки синтезировали с помощью реакции с использованием обратной транскриптазы (RT). Затем каждый полученный с использованием RT продукт разделяли и переносили в две соответствующие лунки для последующей ПЦР бета- и альфа-цепей TCR. Один набор полученных с использованием RT продуктов сначала амплифицировали с помощью ПЦР с использованием 5'-вырожденного праймера, специфического для лидерной последовательности вариабельной области бета-цепи TCR, или 5'-вырожденного праймера, специфического для лидерной последовательности вариабельной области альфа-цепи TCR, и 3'-праймера, специфического для константной области TCR, с получением ампликона. Затем ампликоны снова амплифицировали с помощью ПЦР с использованием 5'-вырожденного праймера, специфического для каркаса 1 вариабельной области бета-цепи TCR, или 5'-вырожденного праймера, специфического для каркаса 1 вариабельной области альфа-цепи TCR, и 3'-праймера, специфического для константной области TCR, с получением ампликонов для клонирования. Продукты ПЦР, полученные из бета- и альфа-цепей TCR, клонировали в векторы экспрессии, содержащие бета-цепь константной области и альфа-цепь константной области соответственно. Векторы экспрессии, экспрессирующие пары полноразмерных бета- и альфа-цепей, трансфицировали в клетки CHO и исследовали в отношении связывания с коммерческим тетрамерным реагентом MAGE-A4/HLA (тетрамер HLA-A02:01 MAGE-A4; MBL International Corporation) или с коммерческим тетрамерным реагентом MAGE-A8/HLA (тетрамер HLA-A02:01 MAGE-A8; MBL International Corporation). Клетки CHO инкубировали с антителом, специфическим в отношении константной области TCR мыши (клон H57-597) (Biolegend, Сан-Диего,

Калифорния), и либо с растворимым тетрамером HLA-A2 MAGE-A4 (GVYDGREHTV) (SEQ ID NO: 612), либо с растворимым тетрамером HLA-A2 MAGE-A8 (GLYDGREHSV) (SEQ ID NO: 613). Затем образцы анализировали на LSRFortessa X-20 (BD Biosciences, Сан-Хосе, Калифорния). Для расчета процента положительных в отношении тетрамера клеток для MAGE-A4 (230-239) устанавливали антиген-положительные (Ag⁺) гейты на основе отрицательного контроля TCR, который не связывается с тетрамером HLA-A2 (GVYDGREHTV) (SEQ ID NO: 612). Для расчета процента положительных в отношении тетрамера клеток для MAGE-A8 устанавливали антиген-положительные (Ag⁺) гейты на основе отрицательного контроля TCR, который не связывается с тетрамером HLA-A2 (GLYDGREHSV) (SEQ ID NO: 613) с применением FlowJo (LLC, Ашленд, Орегон). Все Ag⁺ TCR характеризовались критерием FlowJo $\geq 1\%$ клеток при Ag⁺ гейтинге со средней интенсивностью флуоресценции (MFI) > 250 . Однако более строгое пороговое значение, такое как 3%, можно использовать для выделения Ag⁺ TCR, которые более эффективно функционируют в анализе связывания. Ag⁺ TCR определяли с помощью секвенирования следующего поколения. В Табл. 5 показано общее количество TCR, которые экспрессируют идентичные нуклеотидные последовательности TCR альфа- и бета-цепей, % тетрамера при Ag⁺ гейтинге (MAGE-A4 (230-239)), % тетрамера при Ag⁺-гейтинге (MAGE-A8 (232-241)) и соотношение последних двух чисел (% тетрамера при Ag⁺ гейтинге (MAGE-A4 (230-239)), деленный на % тетрамера при Ag⁺ гейтинге (MAGE-A8 (232-241))). Это соотношение является показателем специфичности связывания MAGE-A4 (230-239).

Таблица 5. Связывание TCR-антиген, целевое и нецелевое

ID TCR	Все Ag⁺ TCR (CH0t)	% тетрамера при Ag⁺ гейтинге (MAGE-A4)	% тетрамера при Ag⁺ гейтинге (MAGE-A8)	MAGE-A4/MAGE-A8
PN45515	1	11,50	0,00	1150,00
PN45593	34	56,50	0,06	991,23
PN45539	37	59,80	0,12	498,33
PN45545	1	11,50	0,08	149,35
PN45584	1	69,10	1,30	53,15
PN45581	1	3,18	0,17	18,71
PN45428	26	27,40	1,92	14,27
PN45418	1	12,30	1,24	9,92
PN45446	5	52,20	16,90	3,09
PN45489	1	16,00	6,39	2,50
PN45460	1	34,70	16,70	2,08
PN45494	1	3,70	1,88	1,97
PN45590	15	77,90	46,80	1,66
PN45557	10	94,70	66,30	1,43
PN45546	5	74,80	60,60	1,23
PN45481	41	87,90	72,90	1,21

[00188] Подробный перечень аминокислотных последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена бета-цепи и аминокислотных последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена альфа-цепи TCR, которые были определены, как описано выше, представлен в Табл. 6, а соответствующие последовательности нуклеиновых кислот представлены в Табл. 7. В Табл. 8 представлены аминокислотные и нуклеотидные последовательности переменных областей бета-цепи и переменных областей альфа-цепи TCR.

[00189] В Табл. 9 представлены семейства генов TCR для переменных областей и соединительных областей альфа- и бета-цепей выделенных TCR, а в Табл. 10 представлены идентификаторы аминокислотных последовательностей и последовательностей полинуклеиновых кислот для переменных доменов и CDR альфа- и бета-цепей.

Таблица 6. Аминокислотные последовательности для TCR Veloci-T®, специфических в отношении MAGE-A4 (230-239) / HLA-A2

№ TCR	ID TCR	CDR1 V α	SEQ ID NO	CDR2 V α	SEQ ID NO	CDR3 V α	SEQ ID NO:	CDR1 V β	SEQ ID NO	CDR2 V β	SEQ ID NO	CDR3 V β	SEQ ID NO:
39	PN45515	<u>TISGNEY</u>	614	<u>GLKNN</u>	615	<u>IVRPYNAGNNRKL</u>	616	<u>MDHEN</u>	622	<u>SYDVKM</u>	623	<u>ASSFGGGYYGYT</u>	624
40	PN45593	<u>TSDPSYG</u>	630	<u>QGSYDQQ</u>	631	<u>AMREGPGNNARL</u>	632	<u>MNHEY</u>	638	<u>SVGEGT</u>	639	<u>ASSYWDRGSPLH</u>	640
41	PN45539	<u>TISGNEY</u>	646	<u>GLKN</u>	647	<u>IVRPYNAGNNRKL</u>	648	<u>MDHEN</u>	654	<u>SYDVKM</u>	655	<u>ASSFEGGYGYT</u>	656
42	PN45545	<u>TSDPSYG</u>	662	<u>QGSYDQQ</u>	663	<u>AMRGGGSGGSYIPT</u>	664	<u>MDHEN</u>	670	<u>SYDVKM</u>	671	<u>ASSFTGPYNSPLH</u>	672
43	PN45584	<u>TSDPSYG</u>	678	<u>QGSYDEQ</u>	679	<u>AMREGPGSGNTGK LI</u>	680	<u>MNHNY</u>	686	<u>SVGAGI</u>	687	<u>ASSYSEWQNYGYT</u>	688
44	PN45581	<u>TSDPSYG</u>	694	<u>QGSYDQQ</u>	695	<u>AMREGPGNNARL</u>	696	<u>MNHEY</u>	702	<u>SMNVEV</u>	703	<u>ASSLWTGGGYT</u>	704
45	PN45428	<u>VSGLRG</u>	710	<u>LYSAGEE</u>	711	<u>AVQPLNAGNNRKL</u>	712	<u>DFQATT</u>	718	<u>SNEGSKA</u>	719	<u>SAREWGGTEAF</u>	720
46	PN45418	<u>VSGLRG</u>	726	<u>LYSAGE</u>	727	<u>AVQPSYSGAGSYQL T</u>	728	<u>MNHEY</u>	734	<u>SMNVEV</u>	735	<u>ASSPGTGGFSPLH</u>	736
47	PN45446	<u>VSGLRG</u>	742	<u>LYSAGEE</u>	743	<u>AVQPSYSGAGSYQL T</u>	744	<u>DFQATT</u>	750	<u>SNEGSKA</u>	751	<u>SAREWRGTEAF</u>	752
48	PN45489	<u>SVFSS</u>	758	<u>VVTGGE</u>	759	<u>AEDGGSQGNLI</u>	760	<u>MDHEN</u>	766	<u>SYDVKM</u>	767	<u>ASSLQGRYYGYT</u>	768
49	PN45460	<u>ATGYPS</u>	774	<u>ATKADD</u>	775	<u>ALSDTRDDKII</u>	776	<u>MNHEY</u>	782	<u>SMNVEV</u>	783	<u>ASSPGTGGFSPLH</u>	784
50	PN45494	<u>ATGYPS</u>	790	<u>ATKADD</u>	791	<u>ALSDTRDDKTI</u>	792	<u>MDHEN</u>	798	<u>SYDVKM</u>	799	<u>ASSLQGRYYGYT</u>	800
51	PN45590	<u>YGATPY</u>	806	<u>YFSGDTL</u>	807	<u>AVGAGSARQLT</u>	808	<u>SGHDT</u>	814	<u>YEEEE</u>	815	<u>ASSFDTEAF</u>	816
52	PN45557	<u>TSDPSYG</u>	822	<u>QGSYDQQ</u>	823	<u>AMREGPGSGNTGK LI</u>	824	<u>MNHNY</u>	830	<u>SVGAGI</u>	831	<u>ASSYSEWQNYGYT</u>	832
53	PN45546	<u>TSEDYY</u>	838	<u>QEAYKQQ</u>	839	<u>AYRSGAGGTSYGKL T</u>	840	<u>SGHKS</u>	846	<u>YYEKEE</u>	847	<u>ASSIRDYGYT</u>	848
54	PN45481	<u>ATGYPS</u>	854	<u>ATKADD</u>	855	<u>ALSDTRDDKII</u>	856	<u>MDHEN</u>	862	<u>SYDVKM</u>	863	<u>ASSLQGRYYGYT</u>	864

Таблица 7. Последовательности нуклеиновых кислот CDR для TCR Veloci-T®, специфических в отношении MAGE-A4 (230-239) / HLA-A2

№ TCR	ID TCR	CDR1 V α	SEQ ID NO	CDR2 V α	SEQ ID NO	CDR3 V α	SEQ ID NO:	CDR1 V β	SEQ ID NO	CDR2 V β	SEQ ID NO	C3 V β	SEQ ID NO:
39	PN45515	<u>ACCATC</u> <u>AGTGGA</u> <u>AATGAG</u> <u>TAT</u>	617	<u>GGTCTAAA</u> <u>AAACAAT</u>	618	<u>ATCGTCAGACCTTA</u> <u>TAATGCTGGCAAC</u> <u>AACCGTAAGCTG</u>	619	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	625	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	626	<u>GCCAGCAGTTTTGG</u> <u>GGGGGGGATACTATG</u> <u>GCTACACC</u>	627
40	PN45593	<u>ACCAGT</u> <u>GATCCA</u> <u>AGTTATG</u> <u>GT</u>	633	<u>CAGGGGTCT</u> <u>TATGACCAG</u> <u>CAA</u>	634	<u>GCAATGAGAGAGG</u> <u>GCCCTGGTAACAA</u> <u>TGCCAGACTC</u>	635	<u>ATGAAC</u> <u>CATGAA</u> <u>TAC</u>	641	<u>TCAGTTG</u> <u>GTGAGG</u> <u>GTACA</u>	642	<u>GCCAGCAGTTACTG</u> <u>GGACAGGGGGCTCAC</u> <u>CCCTCCAC</u>	643
41	PN45539	<u>ACCATC</u> <u>AGTGGA</u> <u>AATGAG</u> <u>TAT</u>	649	<u>GGTCTAAA</u> <u>AAAC</u>	650	<u>ATCGTCAGACCTTA</u> <u>TAATGCTGGCAAC</u> <u>AACCGTAAGCTG</u>	651	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	657	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	658	<u>GCCAGCAGTTTTGA</u> <u>GGGGGGGATACTATG</u> <u>GCTACACC</u>	659
42	PN45545	<u>ACCAGT</u> <u>GATCCA</u> <u>AGTTATG</u> <u>GT</u>	665	<u>CAGGGGTCT</u> <u>TATGACCAG</u> <u>CAA</u>	666	<u>GCAATGAGAGGGG</u> <u>GGGGATCAGGAGG</u> <u>AAGCTACATACCT</u> <u>ACA</u>	667	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	673	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	674	<u>GCCAGCAGTTTCAC</u> <u>AGGGCCCTATAATT</u> <u>CACCCCTCCAC</u>	675
43	PN45584	<u>ACCAGT</u> <u>GATCCA</u> <u>AGTTATG</u> <u>GT</u>	681	<u>CAGGGGTCT</u> <u>TATGACGA</u> <u>GCAA</u>	682	<u>GCAATGAGAGAGG</u> <u>GCCCGGGCTCTGG</u> <u>CAACACAGGCAAA</u> <u>CTAATC</u>	683	<u>ATGAAC</u> <u>CATAAC</u> <u>TAC</u>	689	<u>TCAGTTG</u> <u>GTGCTG</u> <u>GTATC</u>	690	<u>GCCAGCAGTTACTC</u> <u>GGAGTGGCAGAACT</u> <u>ATGGCTACACC</u>	691
44	PN45581	<u>ACCAGT</u> <u>GATCCA</u> <u>AGTTATG</u> <u>GT</u>	697	<u>CAGGGGTCT</u> <u>TATGACCAG</u> <u>CAA</u>	698	<u>GCAATGAGAGAGG</u> <u>GCCCTGGTAACAA</u> <u>TGCCAGACTC</u>	699	<u>ATGAAC</u> <u>CATGAG</u> <u>TAT</u>	705	<u>TCAATG</u> <u>AATGTTG</u> <u>AGGTG</u>	706	<u>GCCAGCAGTTTATG</u> <u>GACAGGGGGAGGC</u> <u>TACACC</u>	707
45	PN45428	<u>GTCAGC</u> <u>GGTTTAA</u> <u>GAGGG</u>	713	<u>CTGTATTCA</u> <u>GCTGGGGA</u> <u>A</u>	714	<u>GCTGTGCAGCCCCT</u> <u>TAATGCTGGCAAC</u> <u>AACCGTAAGCTG</u>	715	<u>GACTTT</u> <u>CAGGCC</u> <u>ACAAC</u>	721	<u>TCCAATG</u> <u>AGGGCT</u> <u>CCAAGG</u>	722	<u>AGTGCTAGAGAATG</u> <u>GGGTGGCACTGAAG</u> <u>CTTTC</u>	723

										CC			
46	PN45418	<u>GTCAGC</u> <u>GGTTTAA</u> <u>GAGGG</u>	729	<u>CTGTATTCA</u> <u>GCTGGGGA</u> <u>A</u>	730	<u>GCTGTGCAGCCCTC</u> <u>ATACTCTGGGGCTG</u> <u>GGAGTTACCAACT</u> <u>CACT</u>	731	<u>ATGAAC</u> <u>CATGAG</u> <u>TAT</u>	737	<u>TCAATG</u> <u>AATGTTG</u> <u>AGGTG</u>	738	<u>GCCAGCAGTCCCGG</u> <u>GACAGGGGGATT</u> <u>TTT</u> <u>CACCCCTCCAC</u>	739
47	PN45446	<u>GTCAGC</u> <u>GGTTTAA</u> <u>GAGGG</u>	745	<u>CTGTATTCA</u> <u>GCTGGGGA</u> <u>A</u>	746	<u>GCTGTGCAGCCCTC</u> <u>ATACTCTGGGGCTG</u> <u>GGAGTTACCAACT</u> <u>CACT</u>	747	<u>GACTTT</u> <u>CAGGCC</u> <u>ACAAC</u>	753	<u>TCCAATG</u> <u>AGGGCT</u> <u>CCAAGG</u> <u>CC</u>	754	<u>AGTGCTAGAGAGTG</u> <u>GAGGGGCACTGAA</u> <u>GCTTTC</u>	755
48	PN45489	<u>AGTGTTT</u> <u>TTTCCAG</u> <u>C</u>	761	<u>GTAGTTACG</u> <u>GGTGGAGA</u> <u>A</u>	762	<u>GCAGAAGATGGAG</u> <u>GAAGCCAAGGAAA</u> <u>TCTCATC</u>	763	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	769	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	770	<u>GCCAGCAGTTTACA</u> <u>GGGGAGGTACTATG</u> <u>GCTACACC</u>	771
49	PN45460	<u>GCCACA</u> <u>GGATAC</u> <u>CCTTCC</u>	777	<u>GCCACGAA</u> <u>GGCTGATG</u> <u>AC</u>	778	<u>GCTCTGAGTGATAC</u> <u>CAGAGATGACAAG</u> <u>ATCATC</u>	779	<u>ATGAAC</u> <u>CATGAG</u> <u>TAT</u>	785	<u>TCAATG</u> <u>AATGTTG</u> <u>AGGTG</u>	786	<u>GCCAGCAGTCCCGG</u> <u>GACAGGGGGATT</u> <u>TTT</u> <u>CACCCCTCCAC</u>	787
50	PN45494	<u>GCCACA</u> <u>GGATAC</u> <u>CCTTCC</u>	793	<u>GCCACGAA</u> <u>GGCTGATG</u> <u>AC</u>	794	<u>GCTCTGAGTGATAC</u> <u>CAGAGATGACAAG</u> <u>ACCATC</u>	795	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	801	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	802	<u>GCCAGCAGTTTACA</u> <u>GGGGAGGTACTATG</u> <u>GCTACACC</u>	803
51	PN45590	<u>TATGGG</u> <u>GCAACA</u> <u>CCTTAT</u>	809	<u>TACTTTTCA</u> <u>GGAGACAC</u> <u>TCTG</u>	810	<u>GCTGTGGGTGCTG</u> <u>GTTCTGCAAGGCA</u> <u>ACTGACC</u>	811	<u>TCTGGG</u> <u>CATGAC</u> <u>ACT</u>	817	<u>TATTATG</u> <u>AGGAGG</u> <u>AAGAG</u>	818	<u>GCCAGCAGCTTTGA</u> <u>CACTGAAGCTTTC</u>	819
52	PN45557	<u>ACCAGT</u> <u>GATCCA</u> <u>AGTTATG</u> <u>GT</u>	825	<u>CAGGGGTCT</u> <u>TATGACCAG</u> <u>CAA</u>	826	<u>GCAATGAGAGAGG</u> <u>GCCCGGGCTCTGG</u> <u>CAACACAGGCAAA</u> <u>CTAATC</u>	827	<u>ATGAAC</u> <u>CATAAC</u> <u>TAC</u>	833	<u>TCAGTTG</u> <u>GTGCTG</u> <u>GTATC</u>	834	<u>GCCAGCAGTTACTC</u> <u>GGAGTGGCAGAACT</u> <u>ATGGCTACACC</u>	835
53	PN45546	<u>ACCAGT</u> <u>GAGAGT</u> <u>GATTATT</u> <u>AT</u>	841	<u>CAAGAAGC</u> <u>TTATAAGCA</u> <u>ACAG</u>	842	<u>GCTTATAGGAGCG</u> <u>GTGCTGGTGGTACT</u> <u>AGCTATGGAAAGC</u> <u>TGACA</u>	843	<u>TCTGGG</u> <u>CACAAG</u> <u>AGT</u>	849	<u>TATTATG</u> <u>AGAAAG</u> <u>AAGAG</u>	850	<u>GCCAGCAGCATCCG</u> <u>GGACACCTATGGCT</u> <u>ACACC</u>	851
54	PN45481	<u>GCCACA</u> <u>GGATAC</u> <u>CCTTCC</u>	857	<u>GCCACGAA</u> <u>GGCTGATG</u> <u>AC</u>	858	<u>GCTCTGAGTGATAC</u> <u>CAGAGATGACAAG</u> <u>ATCATC</u>	859	<u>ATGGAC</u> <u>CATGAA</u> <u>AAT</u>	865	<u>TCATATG</u> <u>ATGTTAA</u> <u>AATG</u>	866	<u>GCCAGCAGTTTACA</u> <u>GGGGAGGTACTATG</u> <u>GCTACACC</u>	867

Таблица 8. Аминокислотные последовательности и последовательности нуклеиновых кислот для TCR Veloci-T®, специфических в отношении MAGE-A4 (230-239) / HLA-A2

<i>Название TCR</i> <i>Название домена</i>	<i>Название последовательности</i> Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO); последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 <u>подчеркнуты</u> Последовательность нуклеиновых кислот (SEQ ID NO); последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 <u>подчеркнуты</u>
Vα PN45515	DAKTTQPPSMDCAEGRAANLPCNHSTISGNEYVYWYRQIHSQGPQYIIH <u>GLKNN</u>ETNEMASLIITEDRKSSTLILPHATLRDTAVYYCIVRPYNAGNNR <u>KLIWGLG</u>TS LAVNP (SEQ ID NO: 620) GATGCTAAGACCACCCAGCCCCCTCCATGGATTGCGCTGAAGGAA GAGCTGCAAACCTGCCTTGTAATCACTCT<u>ACCATCAGTGGA</u>AATGAG <u>TATGTGTATTGGTATCGACAGATTCACTCCCAGGGGCCACAGTATAT</u> CATTCATGGTCTAAAAACAATGAAACCAATGAAATGGCCTCTCTGA TCATCACAGAAGACAGAAAGTCCAGCACCTTGATCCTGCCCCACGCT ACGCTGAGAGACACTGCTGTGTACTATTGCATCGTCAGACCTTATAA <u>TGCTGGCAACAACCGTAAGCTGATTTGGGGATTGGGAACAAGCCTG</u> GCAGTAAATCCG (SEQ ID NO: 621)
Vβ PN45515	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLIY <u>FSYDVKMKEK</u>GDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLCASSEF <u>GGYYGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 628) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAGGACGG GAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAAAA <u>TATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGATCT</u> ATTTCTCATATGATGTTAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCCTGAG GGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCTGATCCT GGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGTGCCAGCA <u>GTTTTGGGGGGGGATACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGG</u> CTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 629)
Vα PN45593	AQKITQTQPGMFVQEKEAVTLDCITYDTSDPSYGLFWYKQPSSGEMIFLI <u>YQGSYDQQN</u>ATEGRYSLNFQKARKSANLVISASQLGDSAMYFC<u>AMRE</u> <u>GPGNNARLM</u>FGDGTQLVVKP (SEQ ID NO: 636) GCCCAGAAGATAACTCAAACCCAACCAGGAATGTTTCGTGCAGGAAA AGGAGGCTGTGACTCTGGACTGCACATATGACACCAGTGATCCAAG

	<u>TTATGGTCTATTCTGGTACAAGCAGCCCAGCAGTGGGGAAATGATTT</u> <u>TTCTTATTTATCAGGGGTCTTATGACCAGCAAAATGCAACAGAAGGT</u> <u>CGCTACTCATTGAATTTCCAGAAGGCAAGAAAATCCGCCAACCTTGT</u> <u>CATCTCCGCTTCACAACCTGGGGGACTCAGCAATGTACTTCTGTGCAA</u> <u>TGAGAGAGGGGCCCTGGTAACAATGCCAGACTCATGTTTGGAGATGG</u> <u>AACTCAGCTGGTGGTGAAGCCC</u> (SEQ ID NO: 637)
V β PN45593	NAGVTQTPKFRVLKTGQSMTLLLCAQDMNHEYMYWYRQDPGMGLRLI HYSVGEGTTAKGEVPDGYNVSRLLKKQNFLLGLESAAPSQTSVYFCASS YWDRGSPLHFGNGTRLTVT (SEQ ID NO: 644) AATGCTGGTGTCACTCAGACCCCCAAAATTCCGGGTCCTGAAGACAG GACAGAGCATGACACTGCTGTGTGCCAGGATATGAACCATGAATA CATGTACTGGTATCGACAAGACCCAGGCATGGGGCTGAGGCTGATT CATTACTCAGTTGGTGAGGGTACAACTGCCAAAGGAGAGGTCCCTG ATGGCTACAATGTCTCCAGATTAAAAAACAGAATTCCTGCTGGGG TTGGAGTCGGCTGCTCCCTCCCAAACATCTGTGTACTTCTGTGCCAG CAGTTACTGGGACAGGGGCTCACCCCTCCACTTTGGGAACGGGACC AGGCTCACTGTGACA (SEQ ID NO: 645)
V α PN45539	DAKTTQPPSMDCAEGRAANLPCNHSTISGNEYVYWYRQIHSQGPQYIIH GLKNNETNEMASLIITEDRKSSTLILPHATLRDTAVYYCIVRPYNAGNNR KLIWGLGTSLAVNP (SEQ ID NO: 652) GATGCTAAGACCACCCAGCCCCCCTCCATGGATTGCGCTGAAGGAA GAGCTGCAAACCTGCCTTGTAACTACTCTACCATCAGTGGAATGAG TATGTGTATTGGTATCGACAGATTCACTCCCAGGGGCCACAGTATAT CATTCATGGTCTAAAAAACAATGAAACCAATGAAATGGCCTCTCTGA TCATCACAGAAGACAGAAAGTCCAGCACCTTGATCCTGCCCCACGCT ACGCTGAGAGACACTGCTGTGTACTATTGCATCGTCAGACCTTATAA TGCTGGCAACAACCGTAAGCTGATTTGGGGATTGGGAACAAGCCTG GCAGTAAATCCG (SEQ ID NO: 653)
V β PN45539	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLIY FSYDVKMKEKGDIPEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLCASSFEG GYYGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 660) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAGGACGG GAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAAAA TATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGATCT ATTTCTCATATGATGTTAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCCTGAG

	GGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCTGATTCT GGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGTGCCAGCA <u>GTTTTGAGGGGGGATACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGG</u> TTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 661)
V α PN45545	AQKITQTQPGMFVQEKEAVTLDCYDTS DP SYGLFWYKQPSSGEMIFLI YQGSYDQQNATEGRYSLNFQKARKSANLVISASQLGDSAMYFC AM RG <u>GGSGGSYIPTFGRG</u> TSLIVHP (SEQ ID NO: 668) GCCCAGAAGATAACTCAAACCCAACCAGGAATGTTTCGTGCAGGAAA AGGAGGCTGTGACTCTGGACTGCACATATGACACCAGTGATCCAAG <u>TTATGGT</u> CTATTCTGGTACAAGCAGCCCAGCAGTGGGGAAATGATTT TTCTTATTTATCAGGGGGTCTTATGACCAGCAAAATGCAACAGAAGGT CGCTACTCATTGAATTTCCAGAAGGCAAGAAAATCCGCCAACCTTGT CATCTCCGCTTCACAACTGGGGGACTCAGCAATGTACTTCTGTGCAA <u>TGAGAGGGGGGGGATCAGGAGGAAGCTACATACCTACATTTGGAAG</u> AGGAACCAGCCTTATTGTTTCATCCG (SEQ ID NO: 669)
V β PN45545	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQD MD HENMFWYRQDPGLGLRLIY FSYDV KM KEKGDIPGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC ASS FTG <u>PYNSPLHFGNGTRL</u> TVT (SEQ ID NO: 676) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAGGACGG GAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAAAA <u>TATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGATCT</u> ATTTCTCATATGATGTTAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCCTGAG GGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCTGATTCT GGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGTGCCAGCA <u>GTTTCACAGGGCCCTATAATTCACCCCTCCACTTTGGGAACGGGACC</u> AGGCTCACTGTGACA (SEQ ID NO: 677)
V α PN45584	AQKITQTQPGMFVQEKEAVTLDCYDTS DP SYGLFWYKQPSSGEMIFLI YQGSYDEQNATEGRYSLNFQKARKSANLVISASQLGDSAMYFC AM RE <u>GPGSGNTGKLIFGQGTTLQVKP</u> (SEQ ID NO: 684) GCCCAGAAGATAACTCAAACCCAACCAGGAATGTTTCGTGCAGGAAA AGGAGGCTGTGACTCTGGACTGCACATATGACACCAGTGATCCAAG <u>TTATGGT</u> CTATTCTGGTACAAGCAGCCCAGCAGTGGGGAAATGATTT TTCTTATTTATCAGGGGGTCTTATGACGAGCAAAATGCAACAGAAGGT CGCTACTCATTGAATTTCCAGAAGGCAAGAAAATCCGCCAACCTTGT CATCTCCGCTTCACAACTGGGGGACTCAGCAATGTACTTCTGTGCAA

	<u>TGAGAGAGGGCCCCGGGCTCTGGCAACACAGGCAAACCTAATCTTTGG</u> GCAAGGGACAACCTTTACAAGTAAAACCA (SEQ ID NO: 685)
Vβ PN45584	NAGVTQTPKFRILKIGQSMTLQCAQDMNHNYMYWYRQDPGMGLKLIY Y<u>SVGAGITDKGEVPNGYNVSRSTTEYFPLRLELAAPSQTSVYFCASSYSE</u> <u>WQNYGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 692) AATGCTGGTGTCACTCAGACCCCCAAAATTCCGCATCCTGAAGATAGG ACAGAGCATGACACTGCAGTGTGCCCAGGATATGAACCATAACTAC ATGTACTGGTATCGACAAGACCCAGGCATGGGGCTGAAGCTGATTT ATTATTCAGTTGGTGTCTGGTATCACTGATAAAGGAGAAGTCCCGAAT GGCTACAACGTCTCCAGATCAACCACAGAGTATTTCCCGCTCAGGCT GGAGTTGGCTGCTCCCTCCAGACATCTGTGTACTTCTGTGCCAGCA <u>GTTACTCGGAGTGGCAGAACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACC</u> AGGTAAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 693)
Vα PN45581	AQKITQTQPGMFVQEKEAVTLDCTYD<u>TS</u>DPSYGLFWYKQPSSGEMIFLI YQGSYDQQNATEGRYSLNFQKARKSANLVISASQLGDSAMYFC<u>AMRE</u> <u>GPGNNARLMFGDGTQLVVKP</u> (SEQ ID NO: 700) GCCCAGAAGATAACTCAAACCCAACCAGGAATGTTTCGTGCAGGAAA AGGAGGCTGTGACTCTGGACTGCACATATGACACCAGTGATCCAAG <u>TTATGGTCTATTCTGGTACAAGCAGCCCAGCAGTGGGGAAATGATTT</u> TTCTTATTTATCAGGGGTCTTATGACCAGCAAAATGCAACAGAAGGT CGCTACTCATTGAATTTCCAGAAGGCAAGAAAATCCGCCAACCTTGT CATCTCCGCTTCACAACCTGGGGGACTCAGCAATGTACTTCTGTGCAA <u>TGAGAGAGGGCCCTGGTAACAATGCCAGACTCATGTTTGGAGATGG</u> AACTCAGCTGGTGGTGAAGCCC (SEQ ID NO: 701)
Vβ PN45581	EAQVTQTPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIY Y<u>SMNVEVTDKGDVPEGYKVS</u>RKEKRNFLILESPSPNQTSLYFC<u>ASSLW</u> <u>TGGGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 708) GAAGCCCAAGTGACCCAGACCCCAAGATACCTCATCACAGTGACTG GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTTCAGAAATATGAACCATGAGTAT ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT ACTATTCAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAA GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCCTGATCC TGAGAGTCGCCAGCCCCAACCAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGC <u>AGTTTATGGACAGGGGGAGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGT</u> TAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 709)

Vα PN45428	EDQVTQSPEALRLQEGESSSLNCSYTV<u>SGLRGL</u>FWYRQDPGKGPEFLFT <u>LYSAGEEKEKERL</u>KATLTKKESFLHITAPKPEDSATYLC<u>AVQPLNAGNN</u> <u>RKLIWGLG</u>TS LAVNP (SEQ ID NO: 716) GAAGACCAGGTGACGCAGAGTCCCGAGGCCCTGAGACTCCAGGAGG GAGAGAGTAGCAGTCTCAACTGCAGTTACACAGTCAGCGGTTTAAG <u>AGGGCTGTTCTGGTATAGGCAAGATCCTGGGAAAGGCCCTGAATTCC</u> TCTTCACCC<u>TGTATTCAGCTGGGGAAGAAAAGGAGAAAGAAAGGCT</u> AAAAGCCACATTAACAAAGAAGGAAAGCTTTCTGCACATCACAGCC CCTAAACCTGAAGACTCAGCCACTTATCTCTGT<u>GCTGTGCAGCCCCT</u> <u>TAATGCTGGCAACAACCGTAAGCTGATTTGGGGATTGGGAACAAGC</u> CTGGCAGTAAATCCG (SEQ ID NO: 717)
Vβ PN45428	GAVVSQHPSWVICKSGTSVKIECRSL<u>DFQATT</u>MFYRQFPKQSLMLMA TS<u>NEGSKAT</u>YEQGVEKDKFLINHASLTLSTLTVTSAHPEDSSFYICS<u>SARE</u> <u>WGGTEAFFGQGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 724) GGTGCTGTCGTCTCTCAACATCCGAGCTGGGTTATCTGTAAGAGTGG AACCTCTGTGAAGATCGAGTGCCGTTCCCTGG<u>ACTTTCAGGCCACAA</u> <u>CTATGTTTTGGTATCGTCAGTTCCCGAAACAGAGTCTCATGCTGATG</u> GCAACT<u>TCCAATGAGGGCTCCAAGGCCACATACGAGCAAGGCGTCG</u> AGAAGGACAAGTTTCTCATCAACCATGCAAGCCTGACCTTGTCCTACT CTGACAGTGACCAGTGCCCATCCTGAAGACAGCAGCTTCTACATCTG CAGTGCTAGAGAATGGGGTGGCACTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGC ACCAGACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 725)
Vα PN45418	EDQVTQSPEALRLQEGESSSLNCSYTV<u>SGLRGL</u>FWYRQDPGKGPEFLFT <u>LYSAGEEKEKERL</u>KATLTKKESFLHITAPKPEDSATYLC<u>AVQPSYSGAG</u> <u>SYQLTFGKGTKLSVIP</u> (SEQ ID NO: 732) GAAGACCAGGTGACGCAGAGTCCCGAGGCCCTGAGACTCCAGGAGG GAGAGAGTAGCAGTCTCAACTGCAGTTACACAGTCAGCGGTTTAAG <u>AGGGCTGTTCTGGTATAGGCAAGATCCTGGGAAAGGCCCTGAATTCC</u> TCTTCACCC<u>TGTATTCAGCTGGGGAAGAAAAGGAGAAAGAAAGGCT</u> AAAAGCCACATTAACAAAGAAGGAAAGCTTTCTGCACATCACAGCC CCTAAACCTGAAGACTCAGCCACTTATCTCTGT<u>GCTGTGCAGCCCCTC</u> <u>ATACTCTGGGGCTGGGAGTTACCAACTCACTTTCGGGAAGGGGACC</u> AAACTCTCGGTCATACCA (SEQ ID NO: 733)
Vβ PN45418	EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNM<u>NHEY</u>MSWYRQDPGLGLRQIY Y<u>SMNVEV</u>TDKGDVPEGYKVS RKEKRNFLILESPSPNQTSLYFC<u>ASSPG</u>

	<u>TGGFSPLH</u>FGNGTRLTVT (SEQ ID NO: 740) GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTG GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTTCAGAAAT<u>ATGAACCATGAGTAT</u> ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT ACTATTCAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAA GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCCTGATCC TGGAGTCGCCCAGCCCCAACCAGACCTCTCTGTACTTCTGT<u>GCCAGC</u> <u>AGTCCCGGGACAGGGGGATTTTCACCCCTCCACTTTGGGAACGGGAC</u> CAGGCTCACTGTGACA (SEQ ID NO: 741)
V α PN45446	EDQVTQSPEALRLQEGESSLNCSYTV<u>SGLRGL</u>FWYRQDPGKGPEFLFT <u>LYSAGEEKEKERL</u>KATLTKKESFLHITAPKPEDSATYLC<u>AVQPSYSGAG</u> <u>SYQLTF</u>GKGTKLSVIP (SEQ ID NO: 748) GAAGACCAGGTGACGCAGAGTCCCGAGGCCCTGAGACTCCAGGAGG GAGAGAGTAGCAGTCTCAACTGCAGTTACACAGTCAGCGGTTTAAG <u>AGGGCTGTTCTGGTATAGGCAAGATCCTGGGAAAGGCCCTGAATTCC</u> TCTTCACCCTGTATTCAGCTGGGGAAGAAAAGGAGAAAGAAAGGCT AAAAGCCACATTAACAAAGAAGGAAAGCTTTCTGCACATCACAGCC CCTAAACCTGAAGACTCAGCCACTTATCTCTGT<u>GCTGTGCAGCCCTC</u> <u>ATACTCTGGGGCTGGGAGTTACCAACTCACTTTTCGGGAAGGGGACC</u> AAACTCTCGGTCATACCA (SEQ ID NO: 749)
V β PN45446	GAVVSQHPSWVICKSGTSVKIECRSL<u>DFQATT</u>MFYRQFPKQSLMLMA <u>TSNEGSKATYE</u>QGVKDKFLINHASLTLSTLTVTSAHPEDSSFYICS<u>SARE</u> <u>WRGTEA</u>FFGQGTRLTVV (SEQ ID NO: 756) GGTGCTGTCGTCTCTCAACATCCGAGCTGGGTTATCTGTAAGAGTGG AACCTCTGTGAAGATCGAGTGCCGTTCCCTGGACTTTCAGGCCACAA <u>CTATGTTTTGGTATCGTCAGTTCCCGAAACAGAGTCTCATGCTGATG</u> GCAACTTCCAATGAGGGCTCCAAGGCCACATACGAGCAAGGCGTCG AGAAGGACAAGTTTCTCATCAACCATGCAAGCCTGACCTTGTCCTACT CTGACAGTGACCAGTGCCCATCCTGAAGACAGCAGCTTCTACATCTG <u>CAGTGCTAGAGAGTGGAGGGGCACTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGC</u> ACCAGACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 757)
V α PN45489	TQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVT<u>VV</u> <u>TGGEVKKL</u>KRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCA<u>AEDGGSQGN</u> <u>LIFGK</u>GTKLSVKP (SEQ ID NO: 764) ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGTCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGG

	GAGAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCA<u>AGTGTTTTTTCCAGC</u> TTACAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCCTCCTGGT GACAGTAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACC TTTCAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGC GGCCCAGCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTCTGTGCAGAAGATGGA <u>GGAAGCCAAGGAAATCTCATCTTTGGAAAAGGCACTAAACTCTCTGT</u> TAAACCA (SEQ ID NO: 765)
V β PN45489	DVKVTQTSRYLVKRTGEKVFLCVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLIY <u>FSYDVKMKEKGDIPGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLCASSLQ</u> <u>GRYYGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 772) GATGTGAAAGTAACCCAGACCTCGAGATATCTAGTCAAAAGGACGG GAGAGAAAGTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAAAA <u>TATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGATCT</u> ATTTCTCATATGATGTTAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCCTGAG GGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCTGATTCT GGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGTGCCAGCA <u>GTTTACAGGGGAGGTACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGG</u> TTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 773)
V α PN45460	GNSVTQMEGPVTLSEEAFLTINCTYTATGYPSLFWYVQYPGEGLQLLLK ATKADDKGSNKGFEATYRKETTSFHLEKGSVQVSDSAVYFCALSDTRD DKIIFGKGTRLHILP (SEQ ID NO: 780) GGAAATTCAGTGACCCAGATGGAAGGGCCAGTGACTCTCTCAGAAG AGGCCTTCCTGACTATAAACTGCACGTACACAGCCACAGGATACCCT <u>TCCCTTTTCTGGTATGTCCAATATCCTGGAGAAGGTCTACAGCTCCTC</u> CTGAAAGCCACGAAGGCTGATGACAAGGGAAGCAACAAAGGTTTTG AAGCCACATACCGTAAAGAAACCACTTCTTTCCACTTGGAGAAAGG CTCAGTTCAAGTGTCAGACTCAGCGGTGTA CTCTGTGCTCTGAGTG ATACCAGAGATGACAAGATCATCTTTGGAAAAGGGACACGACTTCA TATTCTCCCC (SEQ ID NO: 788)
V β PN45460	EAQVTQSPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYY SMNVEVTDKGDVPEGYKVS RKEKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSPGT GGFSPLHFGNGTRLTVT (SEQ ID NO: 781) GAAGCCCAAGTGACCCAGAGCCCAAGATACCTCATCACAGTGACTG GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTAT ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT

	ACTATT<u>CAATGAATGTTGAGGTG</u>ACTGATAAGGGAGATGTTCTGAA GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCCTGATCC TGGAGTCGCCCAGCCCCAACCAGACCTCTCTGTACTTCTGT<u>GCCAGC</u> <u>AGTCCCGGGACAGGGGGATTTTCACCCCTCCACTTTGGGAACGGGAC</u> CAGGCTCACTGTGACA (SEQ ID NO: 789)
V α PN45494	GNSVTQIEGPVTLSEEAFLTINCTYTATGYPSLFWYVQYPGEGLQLLLK <u>ATKADDKGSNKGFEATYRKETTSFHLEKGSVQVSDSAVYFCALSDTRD</u> <u>DKTIFGKGTRLHILP</u> (SEQ ID NO: 796) GGAAATTCAGTGACCCAGATTGAAGGGCCAGTGACTCTCTCAGAAG AGGCCTTCCTGACTATAAACTGCACGTACACAGCCACAGGATACCCT TCCCTTTTCTGGTATGTCCAATATCCTGGAGAAGGTCTACAGCTCCTC CTGAAAGCCACGAAGGCTGATGACAAGGGAAGCAACAAAGGTTTTG AAGCCACATACCGTAAAGAAACCACTTCTTTCCACTTGGAGAAAGG CTCAGTTCAAGTGTCAGACTCAGCGGTGTACTTCTGTGCTCTGAGTG <u>ATACCAGAGATGACAAGACCATCTTTGGAAAAGGGACACGACTTCA</u> TATTCTCCCC (SEQ ID NO: 804)
V β PN45494	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLIY <u>FSYDVKMKEKGDIPGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLCASSLQ</u> <u>GRYYGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 797) GATGTGAAAGTAACCCAGAGTTCGAGATATCTAGTCAAAAGGACGG GAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAAAA TATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGATCT ATTTCTCATATGATGTTAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCCTGAG GGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCTGATTCT GGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGTGCCAGCA <u>GTTTACAGGGGAGGTACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGG</u> TTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 805)
V α PN45590	AQSVTQPDIHITVSEGASLELRCNYSYGATPYLFWYVQSPGQGLQLLLK <u>YFSGDTLVQGIKGFEAEFKRSQSSFNLRKPSVHWSDAAEYFC</u><u>AVGAGS</u> <u>ARQLTFGSGTQLTVLP</u> (SEQ ID NO: 812) GCCCAGTCAGTGACCCAGCCTGACATCCACATCACTGTCTCTGAAGG AGCCTCACTGGAGTTGAGATGTAACATTCCTATGGGGCAACACCTT ATCTCTTCTGGTATGTCCAGTCCCCCGGCCAAGGCCTCCAGCTGCTC CTGAAGTACTTTTCAGGAGACACTCTGGTTCAAGGCATTAAAGGCTT TGAGGCTGAATTTAAGAGGAGTCAATCTTCCTTCAATCTGAGGAAAC

	CCTCTGTGCATTGGAGTGATGCTGCTGAGTACTTCTGT<u>GCTGTGGGT</u> <u>GCTGGTTCTGCAAGGCAACTGACCTTTGGATCTGGGACACAATTGAC</u> TGTTTTACCT (SEQ ID NO: 820)
Vβ PN45590	DAGVTQSPHLLIKTRGQQVTLRCSPK<u>SGHDTV</u>SWYQQALGQGPQFIFQ <u>YEEEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSELNVNALLLGDSALYLC</u><u>ASSFDT</u> <u>EAFFGQGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 813) GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAACGAGAG GACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGT<u>CTGGGCATGACACT</u> GTGTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCAGGGGGCCCCAGTTTATCTT TCAGT<u>ATTATGAGGAGGAAGAG</u>AGACAGAGAGGCAACTTCCCTGAT CGATTCTCAGGTCACCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGT GAACGCCTTGTTGCTGGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGT<u>GCCAGCA</u> <u>GCTTTGACACTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGTT</u> GTA (SEQ ID NO: 821)
Vα PN45557	AQKITQTQPGMFVQEKEAVTLDCYDTS<u>SDPSYGLFWYKQPSSGEMIFLI</u> <u>YQGSYDQQNATEGRYSLNFQKARKSANLVISASQLGDSAMYFC</u><u>AMRE</u> <u>GPGSGNTGKLIFGQGTTLQVKP</u> (SEQ ID NO: 828) GCCCAGAAGATAACTCAAACCCAACCAGGAATGTTTCGTGCAGGAAA AGGAGGCTGTGACTCTGGACTGCACATATGAC<u>ACCAGTGATCCAAG</u> <u>TTATGGTCTATTCTGGTACAAGCAGCCCAGCAGTGGGGAAATGATTT</u> TTCTTATTTAT<u>CAGGGGTCTTATGACCAGCAA</u>AATGCAACAGAAGGT CGCTACTCATTGAATTTCCAGAAGGCAAGAAAATCCGCCAACCTTGT CATCTCCGCTTCACAACCTGGGGGACTCAGCAATGTACTTCTGT<u>GCAA</u> <u>TGAGAGAGGGCCCCGGGCTCTGGCAACACAGGCAA</u>ACTAATCTTTGG GCAAGGGACAACCTTTACAAGTAAAACCA (SEQ ID NO: 836)
Vβ PN45557	NAGVTQTPKFRILKIGQSMTLQCAQDM<u>NHNHNYMYWYRQDPGMGLKLIY</u> <u>YSVGAGITDKGEVPNGYNVSRSTTEYFPLRLELAAPSQTSVYFC</u><u>ASSYSE</u> <u>WQNYGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 829) AATGCTGGTGTCACTCAGACCCCAAATTCGCATCCTGAAGATAGG ACAGAGCATGACACTGCAGTGTGCCAGGATATGAACCATAACTAC ATGTACTGGTATCGACAAGACCCAGGCATGGGGCTGAAGCTGATTT ATTATT<u>CAGTTGGTGCTGGTATC</u>ACTGATAAAGGAGAAGTCCCGAAT GGCTACAACGTCTCCAGATCAACCACAGAGTATTTCCCGCTCAGGCT GGAGTTGGCTGCTCCCTCCAGACATCTGTGTACTTCTGT<u>GCCAGCA</u> <u>GTTACTCGGAGTGGCAGAACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACC</u>

	AGGTTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 837)
V α PN45546	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCITYDT<u>SESDYYLFWYKQPPSRQMILVI</u> <u>RQEAYKQQNATENRFSVNFQKAAKSFS</u>SLKISDSQLGDAAMYFC<u>AYRSG</u> <u>AGGTSYGKLT</u>FGQGTILTVHP (SEQ ID NO: 844) GCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACCGTGACCCTGAGCTGCACATATGAC<u>ACCAGTGAGAGTGA</u> <u>TTATTATTTATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGATTC</u> TCGTTATTTCGC<u>CAAGAAGCTTATAAGCAACAGA</u>AATGCAACAGAGAA TCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTCTCA AGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTGT<u>GCT</u> <u>TATAGGAGCGGTGCTGGTGGTACTAGCTATGGAAAGCTGACATTTGG</u> ACAAGGGACCATCTTGACTGTCCATCCA (SEQ ID NO: 852)
V β PN45546	DAGVTQSPHLLIKTRGQQVTLRCSPIS<u>GHKSV</u>SWYQQVLGQGPQFIFQY <u>YEKEERGRGNFPDRFSARQFPNYSSELNVNALLLGDSALYLC</u><u>ASSIRDT</u> <u>YGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 845) GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAACGAGAG GACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTATCT<u>CTGGGCACAAGAGT</u> GTGTCCTGGTACCAACAGGTCCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTATCTT TCAGT<u>ATTATGAGAAAGAAGAG</u>AGAGGAAGAGGAAACTTCCCTGAT CGATTCTCAGCTCGCCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGT GAACGCCTTGTTGCTGGGGGACTCGGCCCTGTATCTCTGT<u>GCCAGCA</u> <u>GCATCCGGGACACCTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTA</u> ACCGTTGTA (SEQ ID NO: 853)
V α PN45481	GNSVTQMEGPVTLSEEAFLTINCTYTATGYPSLFWYVQYPGEGLQLLLK <u>ATKADDKGSNKGFEATYRKETTSFHLEKGSVQVSDSAVYFC</u><u>ALSDTRD</u> <u>DKIIFGKGTRLHILP</u> (SEQ ID NO: 860) GGAAATTCAGTGACCCAGATGGAAGGGCCAGTGA CTCTCTCAGAAG AGGCCTTCCTGACTATAAACTGCACGTACACAG<u>CCACAGGATACCCT</u> <u>TCCCTTTTCTGGTATGTCCAATATCCTGGAGAAGGTCTACAGCTCCTC</u> CTGAAAG<u>CCACGAAGGCTGATGACA</u>AGGGAAGCAACAAAGGTTTTG AAGCCACATACCGTAAAGAAACCACTTCTTTCCACTTGGAGAAAGG CTCAGTTCAAGTGTGACTCAGCGGTGTACTTCTGT<u>GCTCTGAGTG</u> ATACCAGAGATGACAAGATCATCTTTGGAAAAGGGACACGACTTCA TATTCTCCCC (SEQ ID NO: 868)
V β	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLCVD <u>MDHEN</u> MFWYRQDPGLGLRLIY

PN45481	<u>FSYDVKMKEKGD</u>IPeGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLC<u>ASSLQ</u> <u>GRYYGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 861) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAGGACGG GAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAAAA <u>TATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGATCT</u> ATTTCTCATATGATGTTAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCCTGAG GGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCTGATTCT GGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGTGCCAGCA <u>GTTTACAGGGGAGGTACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGG</u> TTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 869)
---------	--

Таблица 9. Семейства переменных (V) и соединительных (J) областей генов для α - и β -цепей TCR Veloci-T®, специфических в отношении MAGE-A4 (230-239) / HLA-A2

ID TCR	V β -цепей	J β -цепей	V α -цепей	J α -цепей
PN45515	28	1-2	26-1	38
PN45593	6-2	1-6	14/DV4	31
PN45539	28	1-2	26-1	38
PN45545	28	1-6	14/DV4	6
PN45584	6-6	1-2	14/DV4	37
PN45581	27	1-2	14/DV4	31
PN45428	20-1	1-1	20	38
PN45418	27	1-6	20	28
PN45446	20-1	1-1	20	28
PN45489	28	1-2	27	42
PN45460	27	1-6	9-2	30
PN45494	28	1-2	9-2	30
PN45590	5-6	1-1	8-3	22
PN45557	6-6	1-2	14/DV4	37
PN45546	5-5	1-2	38-2/DV8	52
PN45481	28	1-2	9-2	30

Таблица 10. Идентификаторы аминокислотных последовательностей и последовательностей полинуклеиновых кислот для альфа- и бета-вариабельных цепей и CDR TCR

	Аминокислотные последовательности								Последовательности полинуклеиновых кислот							
	CDR α -цепей				CDR β -цепей				CDR α -цепей				CDR β -цепей			
	V α	CDR 1	CDR2	CDR3	V β	CDR1	CDR2	CDR3	V α	CDR1	CDR2	CDR3	V β	CDR1	CDR2	CDR3
ID TCR	SEQ ID NO:								SEQ ID NO:							
PN45515	620	614	615	616	628	622	623	624	621	617	618	619	629	625	626	627
PN45593	636	630	631	632	644	638	639	640	637	633	634	635	645	641	642	643
PN45539	652	646	647	648	660	654	655	656	653	649	650	651	661	657	658	659
PN45545	668	662	663	664	676	670	671	672	669	665	666	667	677	673	674	675
PN45584	684	678	679	680	692	686	687	688	685	681	682	683	693	689	690	691
PN45581	700	694	695	696	708	702	703	704	701	697	698	699	709	705	706	707
PN45428	716	710	711	712	724	718	719	720	717	713	714	715	725	721	722	723
PN45418	732	726	727	728	740	734	735	736	733	729	730	731	741	737	738	739
PN45446	748	742	743	744	756	750	751	752	749	745	746	747	757	753	754	755
PN45489	764	758	759	760	772	766	767	768	765	761	762	763	773	769	770	771
PN45460	780	774	775	776	788	782	783	784	781	777	778	779	789	785	786	787
PN45494	796	790	791	792	804	798	799	800	797	793	794	795	805	801	802	803
PN45590	812	806	807	808	820	814	815	816	813	809	810	811	821	817	818	819
PN45557	828	822	823	824	836	830	831	832	829	825	826	827	837	833	834	835
PN45546	844	838	839	840	852	846	847	848	845	841	842	843	853	849	850	851
PN45481	860	854	855	856	868	862	863	864	861	857	858	859	869	865	866	867

Пример 3. Цитотоксичность TCR к MAGE-A4 в отношении клеток меланомы A375

[00190] В данном примере описана способность некоторых TCR к Mage-A4 по настоящему изобретению избирательно уничтожать клетки меланомы A375.

Способы

Манипуляция с T-клетками

[00191] Все Т-клетки очищали посредством отрицательной селекции из моноцитов периферической крови человека (PBMC) с использованием набора для выделения Т-клеток человека EasySep (StemCell Technologies 17951), затем криоконсервировали. В день эксперимента 0 Т-клетки размораживали и высевали в концентрации 1×10^6 клеток/мл в среду (среда CTS OpTmizer [Life Technologies A1048501] с добавлением 10 мг/мл гентамицина, 4 мМ L-глутамина), содержащую 200 ЕД/мл человеческого ИЛ-2 и гранулы для активации антитела к CD3/антитела к CD28 в соотношении гранулы:клетки 1:1 (Life Technologies 111.32D). В день 3 гранулы для активации удаляли и 5×10^6 клеток трансфицировали 20 мг белка Cas9 (Life Technologies A36499) в комплексе с sgRNA, нацеленными на локусы TRAC и TRBC, с применением устройства Nucleofector 2b и набора для нуклеофекции Т-клеток человека (Lonza VVPA-1002). После нуклеофекции клетки трансдуцировали векторами на основе аденоассоциированного вируса (AAV), сконструированными для нацеливания кассет экспрессии с TCRA и TCRB на locus TRAC человека. Каждые 2-3 дня клетки повторно высевали в свежую среду с добавками до около 1×10^6 клеток/мл. В различные временные точки после трансдукции конструкции с TCR клетки окрашивали антителами к поверхностным маркерам и тетрамерными реагентами пептид-МНС, затем анализировали с применением проточной цитометрии для количественной оценки эффективности трансдукции.

Анализ цитотоксичности

[00192] Антигенспецифическую цитотоксическую функцию Т-клеток оценивали применением анализа высвобождения кальцеина. Опухолевые клетки-мишени метили в присутствии 8 мМ красителя кальцеина AM (Life Technologies C1430) в течение 30 минут при 37°C, затем промывали средой. 1×10^4 клеток-мишеней высевали на лунку для анализа в 96-луночной планшете вместе с различными разведениями трансдуцированных Т-клеток или нетрансдуцированных (UTD) контролей. Через два часа в культуральных супернатантах измеряли высвобождение флуоресцентного красителя. Спонтанное высвобождение (SR) измеряли в лунках, содержащих меченые клетки-мишени, но не содержащие Т-клетки, а максимальное высвобождение (MR) измеряли в лунках с мечеными клетками-мишенями в присутствии 0,5% Triton X-100. Процент специфической цитотоксичности определяли в виде $100 \times (\text{высвобождение при тестировании} - \text{SR})/(\text{MR} - \text{SR})$.

Результаты

[00193] Первичные Т-клетки человека конструировали для экспрессии MAGE-A4-специфических TCR в отношении двух рестриктированных пептидов HLA-A2 (MAGE-A4

286-294 (KVLEHVVRV; SEQ ID NO: 609) и MAGE-A4 230-239 (GVYDGRENTV; SEQ ID NO: 294)) или нерелевантных рестриктированного пептида HLA-A2, полученный из вирусного белка (HPV). Как изображено на Фиг. 1, анализ проточной цитометрии с использованием тетрамерных реагентов пептида МНС подтвердил экспрессию и предполагаемую антигенную специфичность трансдуцированных TCR.

[00194] Для подтверждения цитотоксической активности TCR, сконструированные Т-клетки тестировали в отношении их способности направлять цитолитическую функцию в отношении опухолевых клеток, экспрессирующих MAGE-A4, в анализе высвобождения красителя кальцеина АМ, который осуществляли в двух повторах (Фиг. 2А, Фиг. 2В, Фиг. 3А, Фиг. 3В). Эти анализы подтвердили, что TCR, специфические в отношении MAGE-A4 (как в отношении пептидов MAGE-A4 286-294, так и в отношении пептидов MAGE-A4 230-239), но не TCR в отношении нерелевантного рестриктированного пептида HLA-A2, опосредовали уничтожение клеток меланомы A375 дозозависимым образом.

Пример 4. TCR к MAGE-A4 (286-294) в биоанализах передачи сигнала с участием TCR в клетках Jurkat

[00195] В данном примере описана способность некоторых TCR к MAGE-A4 по настоящему изобретению активировать передачу сигналов с участием TCR в клетках Jurkat.

Способ

Создание клеточной линии Jurkat

[00196] Клеточную линию Jurkat, у которой отсутствовала эндогенная экспрессия TCR α и TCR β , создавали с помощью нокаута этих генов, а затем конструировали таким образом, чтобы сделать возможной однокопийную вставку трансгенных конструкций TCR, опосредованную рекомбиназой Cre. Затем в эту исходную линию для биоанализа включали репортер люциферазы, управляемый элементом ответа AP1. Линии для биоанализа с TCR создавали с использованием опосредованной Cre вставки индивидуальных конструкций для экспрессии TCR α/β .

Биоанализ активации TCR

[00197] Линии для биоанализа Jurkat, экспрессирующие конструкции TCR, сортировали с применением FACS до гомогенности, а затем тестировали в анализах стимуляции пептид-МНС. Клетки 293Т (HLA-A2*01) высевали в лунки для анализа с различными разведениями антигенного (MAGE-A4 286-294 (KVLE)) или нерелевантного (MAGE-A4 230-239 (GVY)) пептида. Через 2 часа после инкубации сконструированные клетки Jurkat добавляли в лунки в соотношении 3:1 клетки Jurkat:293Т и инкубировали еще 5 часов. Репортерную активность люциферазы определяли путем измерения выхода люминесценции в анализируемых клетках.

Результаты

[00198] Линии Jurkat для биоанализа с трансгеном люциферазы, управляемым элементом ответа AP1 и сконструированные для экспрессии MAGE-A4-специфических TCR или TCR в отношении нерелевантного антигена (NY-ESO-1), тестировали в анализах стимуляции пептидами. Как изображено на Фиг. 4А и Фиг. 4В, TCR, специфические в

отношении рестриктированного HLA-A2*01 MAGE-A4 (286-294 (KVLE)) реагировали только с когнатным (KVLE) пептидом, но не с нерелевантным пептидом MAGE-A4 (230-239 (GVY)). Исходные TCR-отрицательные (TCR-) клетки и клетки, экспрессирующие нерелевантный TCR (в отношении к NY ESO), не проявляли реактивности. Кроме того, на Фиг. 4А и Фиг. 4В продемонстрировано, что активация репортера AP1, индуцированная MAGE-A4-специфическими TCR, была дозозависимой.

Пример 5. Специфическая активность TCR к MAGE-A4 (230-239) в Т-клетках

[00199] В данном примере описана способность некоторых TCR к Mage-A4 по настоящему изобретению активировать передачу сигналов с участием TCR в Т-клетках.

[00200] Мононуклеарные клетки периферической крови человека (PBMC) (n=3 донора) активировали, трансдуцировали лентивирусным вектором, кодирующим TCR, связывающийся с рестриктированным HLA-A2 MAGE-A4 (230-239 (GVY)), и экспандировали *in vitro* в течение 10 дней до замораживания. После размораживания Т-клетки, содержащие вышеупомянутые TCR, культивировали в соотношении 1:1 с клетками Т2, активированными пептидом MAGE-A4 230-239. Реактивность измеряли по высвобождению гамма-интерферона через 24 часа после кокультивирования. Только Т-клетки использовали в качестве контроля независимого от антигена высвобождения интерферона гамма. Т-клетки, культивированные с неактивированными Т2-клетками или Т2-клетками с нерелевантным пептидом, использовали в качестве контроля специфичности. На Фиг. 5 изображен средний сигнал интерферона гамма +/- стандартная ошибка среднего (SEM) для n=3 доноров и показано, что MAGE-A4 (230-239)-специфические TCR по настоящему изобретению проявляют специфическую активность в отношении клеток Т2, активированных пептидом MAGE-A4 (230-239).

[00201] Для тестирования активности в отношении опухолевых клеток, экспрессирующих MAGE-A4, PBMC человека (n=3 донора) активировали, трансдуцировали лентивирусным вектором, кодирующим MAGE-A4 (230-239) TCR, и экспандировали *in vitro* в течение 10 дней до замораживания. После размораживания Т-клетки с TCR в отношении к MAGE-A4 (230-239) культивировали в соотношении 5:1 с опухолевыми клетками, экспрессирующими сконструированные уровни HLA-A2 и MAGE-A4 (клетки A549.A2.MAGEA4) или эндогенные уровни HLA- A2 и MAGE-A4 (клетки A375). Реактивность измеряли по высвобождению гамма-интерферона через 24 часа после кокультивирования. Только Т-клетки использовали в качестве контроля независимого от антигена высвобождения интерферона гамма. Т-клетки, культивированные с немодифицированными клетками A549 (которые являются MAGE-A4-отрицательными и HLA-A2-отрицательными) или клетками A549, модифицированными для экспрессии HLA-A2 (A549.A2), использовали в качестве контроля специфичности. На Фиг. 6 изображен средний сигнал интерферона гамма +/- стандартная ошибка среднего (SEM) для n=3 доноров и показано, что MAGE-A4 (230-239)-специфические TCR по настоящему изобретению проявляют специфическую активность в отношении опухолевых клеток, экспрессирующих HLA-A2 и MAGE-A4. В отдельном анализе Т-клетки кокультивировали

с клетками A549, клетками A549.A2, клетками NCI-H520 (HLA-A2-отрицательные/MAGE-A4-положительные) и MCF-7 (HLA-A2-положительные/MAGE-A4-отрицательные) клетки, чтобы обеспечить дополнительный контроль специфичности комплекса HLA-A2/MAGE-A4. На Фиг. 7 изображен средний сигнал интерферона гамма +/- стандартная ошибка среднего (SEM) для n=3 доноров и показано, что MAGE-A4 (230-239)-специфические TCR по настоящему изобретению проявляют специфическую активность в отношении опухолевых клеток, экспрессирующих HLA-A2 и MAGE-A4. В дополнительном анализе Т-клетки, экспрессирующие MAGE-A4 (230-239) TCR, культивировали в соотношении 5:1 с опухолевыми клетками, экспрессирующими низкие или средние эндогенные уровни MAGE-A4 (U2-OS и NCI-H1703 соответственно). Реактивность измеряли по высвобождению IFN γ через 24 часа после кокультивирования. На Фиг. 8 изображен средний сигнал интерферона гамма +/- стандартная ошибка среднего (SEM) для n=3 доноров и показано, что MAGE-A4 (230-239)-специфические TCR по настоящему изобретению проявляют специфическую активность в отношении HLA-A2-экспрессирующих опухолевых клеток, экспрессирующих низкие или средние эндогенные уровни MAGE-A4.

Эквиваленты

[00202] Специалистам в данной области техники будут понятны или они смогут установить, используя не более чем рутинное экспериментирование, многие эквиваленты конкретных вариантов осуществления настоящего изобретения, описанных в данном документе. Такие эквиваленты охватываются следующей формулой изобретения. Содержание всех ссылок, патентов и опубликованных патентных заявок, процитированных в этой заявке, включено в данный документ посредством ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Т-клеточный рецептор (TCR), который специфически связывается с презентруемым HLA-A2 раковым антигеном яичка меланомы-ассоциированным антигеном 4 (MAGE-A4), содержащим аминокислотную последовательность KVLEHVVRV (SEQ ID NO:609) (MAGE-A4 286-294), при этом TCR содержит переменный домен альфа-цепи, содержащий определяющую комплементарность область (CDR)3, при этом CDR3 содержит аминокислотную последовательность формулы I:

$N_1-N_2-N_3-N_4-N_5-N_6-N_7-N_8-N_9-N_{10}-N_{11}-N_{12}-N_{13}-N_{14}-N_{15}$ (формула I), где

N_1 представляет собой неполярную аминокислоту;

N_2 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Val;

N_3 представляет собой Tyr, Gly, Leu, Val, Glu, Met, Ala или Phe;

N_4 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Arg, Glu, Ser, Asn, Gln, Lys, Asp, Gly или Met;

N_5 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Ser, Arg, Glu, Leu, Ala, Asp, Pro, Met, Gly или Lys;

N_6 , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Ala, Asp, Gly, Ser, Val, Pro, Leu, Tyr или Thr;

N_7 представляет собой Thr, Pro, Ser, Glu, Asp, Trp, Arg, Asn, Ile, Gln или Leu;

N_8 представляет собой His, Trp, Thr, Lys, Tyr или Ala;

N_9 представляет собой Asn, Gly, Lys, Ile, Ser или Arg;

N_{10} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Gln, Lys, Gly, Thr, Leu, Asp или Ser;

N_{11} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Phe, Asn, Thr, Tyr, Ala, Leu, Met или Glu;

N_{12} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Lys, Phe, Tyr или Asp;

N_{13} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Lys или Gly;

N_{14} , который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Thr, Leu или Tyr; и

N_{15} представляет собой Tyr, Gln, Ile, Thr, Val или Arg.

2. TCR по п. 1, отличающийся тем, что N_1 представляет собой Ala, Ile или Gly.

3. Т-клеточный рецептор (TCR), который специфически связывается с презентруемым HLA-A2 раковым антигеном яичка меланомы-ассоциированным антигеном 4 (MAGE-A4), содержащим аминокислотную последовательность KVLEHVVRV (SEQ ID NO:609) (MAGE-A4 286-294), при этом TCR содержит переменный домен бета-цепи, содержащий определяющую комплементарность область (CDR)3, при этом CDR3 содержит аминокислотную последовательность формулы II:

$N_1-N_2-N_3-N_4-N_5-N_6-N_7-N_8-N_9-N_{10}-N_{11}-N_{12}-N_{13}-N_{14}-N_{15}-N_{16}-N_{17}-N_{18}$ (формула II), где

N₁ представляет собой Ala или Ser;

N₂ представляет собой Ala, Ser или Thr;

N₃ представляет собой Ser, Gly или Trp;

N₄ представляет собой Leu, Tyr, Trp, Asp, Phe, Gly, Pro или His;

N₅, который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Gly или Asp;

N₆, который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Phe или Arg;

N₇, который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Trp, Phe, Asp, Pro, Tyr, Gly, Thr, Ser или Val;

N₈, который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Pro, Arg, Asp, Tyr, Gln, Asn или Gly;

N₉, который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Asp;

N₁₀, который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Arg;

N₁₁, который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Gly, Ala или Thr;

N₁₂ представляет собой Ser, Trp, Thr, Gly, Val, Leu, Arg, Met, Tyr или Gln;

N₁₃, который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Gly;

N₁₄, который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Asn, Asp, Gly, Thr, Pro, Gln или His;

N₁₅, который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Thr, Ser, Glu, Asn, Tyr, Gln, Asp или Pro;

N₁₆, который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Glu, Pro, Lys, Thr, Ala, Gly или Gln;

N₁₇, который может присутствовать или может не присутствовать, представляет собой Ala, Leu, Ile, Tyr или Gln; и

N₁₈ представляет собой Phe, His, Tyr или Thr.

4. TCR по п. 1 или п. 2, отличающийся тем, что указанный переменный домен альфа-цепи дополнительно содержит CDR1 и CDR2, при этом CDR1 содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR1 переменного домена альфа-цепи, изложенных в Табл. 2, а CDR2 независимо содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR2 переменного домена альфа-цепи, изложенных в Табл. 2.

5. TCR по п. 3, отличающийся тем, что указанный переменный домен бета-цепи дополнительно содержит CDR1 и CDR2, при этом CDR1 содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR1 переменного домена бета-цепи, изложенных в Табл. 2, а CDR2 независимо содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR2 переменного домена бета-цепи, изложенных в Табл. 2.

6. TCR по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что указанный TCR содержит по меньшей мере один переменный домен альфа-цепи и/или по меньшей мере один переменный домен бета-цепи TCR.

7. TCR по п. 6, отличающийся тем, что указанный TCR содержит переменный домен альфа-цепи TCR и переменный домен бета-цепи TCR.

8. TCR по любому из пп. 3-7, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена альфа-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 4; и CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена бета-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей переменного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 4.

9. TCR по любому из пп. 1-8, содержащий переменный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 4.

10. TCR по любому из пп. 1-9, содержащий переменный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 4.

11. TCR по любому из пп. 1-10, содержащий: (a) переменный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 4; и (b) переменный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 4.

12. TCR по любому из пп. 3-11, содержащий:

(a) CDR1 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 17, 33, 49, 65, 81, 97, 113, 129, 145, 161, 177, 193, 209, 225, 241, 257, 273, 289, 305, 321, 337, 353, 369, 385, 401, 417, 433, 449, 465, 481, 497, 513, 529, 545, 561, 577 и 593;

(b) CDR2 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338, 354, 370, 386, 402, 418, 434, 450, 466, 482, 498 514, 530, 546, 562, 578 и 594;

(c) CDR3 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3, 19, 35, 51, 67, 83,

99, 115, 131, 147, 163, 179, 195, 211, 227, 243, 259, 275, 291, 307, 323, 339, 355, 371, 387, 403, 419, 435, 451, 467, 483, 499, 515, 531, 547, 563, 579 и 595;

(d) CDR1 варибельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 25, 41, 57, 73, 89, 105, 121, 137, 153, 169, 185, 201, 217, 233, 249, 265, 281, 297, 313, 329, 345, 361, 377, 393, 409, 425, 441, 457, 473, 489, 505, 521, 537, 553, 569, 585 и 601;

(e) CDR2 варибельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346, 362, 378, 394, 410, 426, 442, 458, 474, 490, 506, 522, 538, 554, 570, 586 и 602; и

(f) CDR3 варибельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11, 27, 43, 59, 75, 91, 107, 123, 139, 155, 171, 187, 203, 219, 235, 251, 267, 283, 299, 315, 331, 347, 363, 379, 395, 411, 427, 443, 459, 475, 491, 507, 523, 539, 555, 571, 587 и 603.

13. TCR по п. 12, содержащий пару аминокислотных последовательностей варибельного домена альфа-цепи/варибельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 7/15, 23/31, 39/47, 55/63, 71/79, 87/95, 103/111, 119/127, 135/143, 151/159, 167/175, 183/191, 199/207, 215/223, 231/239, 247/255, 263/271, 279/287, 295/303, 311/319, 327/335, 343/351, 359/367, 375/383, 391/399, 407/415, 423/431, 439/447, 455/463, 471/479, 487/495, 503/511, 519/527, 535/543, 551/559, 567/575, 583/591 и 599/607.

14. TCR по п. 12, содержащий пару аминокислотных последовательностей варибельного домена альфа-цепи/варибельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 87/31, 23/95, 231/607, 231/223, 231/591, 231/255, 231/271, 231/79, 231/47, 231/399, 599/239, 599/223, 599/591, 599/255, 599/271, 599/79, 599/47, 599/399, 215/239, 215/607, 215/591, 215/255, 215/271, 215/79, 215/47, 215/399, 583/239, 583/607, 583/223, 583/255, 583/271, 583/79, 583/47, 583/399, 247/239, 247/607, 247/223, 247/591, 247/271, 247/79, 247/47, 247/399, 263/239, 263/607, 263/223, 263/591, 263/255, 263/79, 263/47, 263/399, 71/239, 71/607, 71/223, 71/591, 71/255, 71/271, 71/47, 71/399, 39/239, 39/607, 39/223, 39/591, 39/255, 39/271, 39/79, 39/399, 391/239, 391/607, 391/223, 391/591, 391/255, 391/271, 391/79, 391/47, 439/127, 439/319, 439/287, 439/15, 439/111, 439/383, 439/191, 439/511, 439/527, 439/559, 439/207, 119/447, 119/319, 119/287, 119/15, 119/111, 119/383, 119/191, 119/511, 119/527, 119/559, 119/207, 311/447, 311/127, 311/287, 311/15, 311/111, 311/383, 311/191, 311/511, 311/527, 311/559, 311/207, 279/447, 279/127, 279/319, 279/15, 279/111, 279/383, 279/191, 279/511, 279/527, 279/559, 279/207, 7/447, 7/127, 7/319, 7/287, 7/111, 7/383, 7/191, 7/511, 7/527, 7/559, 7/207, 103/447, 103/127, 103/319, 103/287, 103/15, 103/383, 103/191, 103/511, 103/527, 103/559, 103/207, 375/447, 375/127, 375/319, 375/287, 375/15, 375/111, 375/191, 375/511, 375/527, 375/559, 375/207, 183/447, 183/127, 183/319, 183/287, 183/15, 183/111, 183/383, 183/511, 183/527, 183/559, 183/207, 503/447, 503/127, 503/319, 503/287, 503/15, 503/111, 503/383, 503/191, 503/527, 503/559, 503/207, 519/447, 519/127, 519/319, 519/287, 519/15, 519/111, 519/383, 519/191, 519/511, 519/559, 519/207, 551/447, 551/127,

551/319, 551/287, 551/15, 551/111, 551/383, 551/191, 551/511, 551/527, 551/207, 199/447, 199/127, 199/319, 199/287, 199/15, 199/111, 199/383, 199/191, 199/511, 199/527 и 199/559.

15. TCR, который конкурирует за связывание с TCR по любому из пп. 1-14.

16. TCR по любому из пп. 1-15, дополнительно содержащий детектируемый фрагмент.

17. Фармацевтическая композиция, содержащая TCR по любому из пп. 1-16 и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

18. Выделенная клетка, презентующая TCR по любому из пп. 1-16.

19. Выделенная полинуклеотидная молекула, содержащая полинуклеотидную последовательность, которая кодирует переменный домен альфа-цепи TCR, как изложено в любом из пп. 1-16.

20. Выделенная полинуклеотидная молекула, содержащая полинуклеотидную последовательность, которая кодирует переменный домен бета-цепи TCR, как изложено в любом из пп. 1-16.

21. Вектор, содержащий полинуклеотидную молекулу по п. 19 или 20.

22. Выделенная клетка, экспрессирующая вектор по п. 21.

23. Способ лечения субъекта, у которого имеется ассоциированное с MAGE-A4 заболевание или нарушение, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества TCR, как изложено в любом из пп. 1-16, фармацевтической композиции по п. 17 или множества выделенных клеток по п. 18, за счет чего осуществляется лечение субъекта.

24. Способ по п. 23, отличающийся тем, что указанное ассоциированное с MAGE-A4 заболевание или нарушение представляет собой рак, ассоциированный с MAGE-A4.

25. Способ по п. 24, отличающийся тем, что указанный ассоциированный с MAGE-A4 рак представляет собой липосаркому, нейробластому, миелому, меланому, метастатическую меланому, синовиальную саркому, рак мочевого пузыря, рак пищевода, плоскоклеточный рак пищевода, гепатоцеллюлярный рак, рак головы и шеи, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, эпителиальный рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, астроцитарную опухоль, мультиформную глиобластому, анапластическую астроцитому, опухоль головного мозга, рак маточной трубы, первичный рак брюшной полости, распространенные солидные опухоли, саркому мягких тканей, саркому, миелодиспластический синдром, острый миелоидный лейкоз, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, болезнь Ходжкина, множественную миелому, метастатические солидные опухоли, колоректальную карциному, рак желудка, рабдомиосаркому, миксоидную круглоклеточную липосаркому или рецидивирующий немелкоклеточный рак легкого.

26. Способ по любому из пп. 23-25, отличающийся тем, что указанный TCR, фармацевтическую композицию или множество клеток вводят субъекту в комбинации с вторым терапевтическим средством.

27. Способ по любому из пп. 23-26, отличающийся тем, что указанный TCR,

фармацевтическую композицию или множество клеток вводят субъекту подкожно, внутривенно, внутрикожно, внутривнутрибрюшинно, перорально, внутримышечно или внутричерепно.

28. Полинуклеотидная молекула, кодирующая Т-клеточный рецептор (TCR), при этом TCR специфически связывается с пептидом презентируемого HLA-A2 ракового антигена яичка меланомы-ассоциированного антигена 4 (MAGE-A4), содержащим аминокислотную последовательность KVLEHVVRV (SEQ ID NO: 609) (MAGE-A4 286-294), при этом TCR характеризуется свойством, выбранным из группы, состоящей из: (a) не связывается с клетками, экспрессирующими предположительные нецелевые пептиды, определенные с помощью люминесцентного анализа; (b) активирует Т-клеточный ответ приблизительно в два раза больший, чем MAGE-A4-специфического TCR, происходящего от пациента, определенный с помощью TCR-опосредованного люминесцентного биоанализа передачи сигнала с участием Т-клеток; и (c) активирует Т-клеточный ответ, приблизительно в два раза больший, чем MAGE-A4-специфического TCR с созревшей аффинностью (например, путем фагового дисплея), определенный с помощью TCR-опосредованного люминесцентного биоанализа передачи сигнала с участием Т-клеток.

29. Полинуклеотидная молекула по п. 28, кодирующая по меньшей мере один переменный домен альфа-цепи и/или по меньшей мере один переменный домен бета-цепи TCR.

30. Полинуклеотидная молекула по п. 28, отличающаяся тем, что указанный TCR содержит определяющие комплементарности области (CDR) 1, CDR2 и CDR3 переменного домена альфа-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 4; и CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена бета-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей переменного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 4.

31. Полинуклеотидная молекула по п. 29 или 30, отличающаяся тем, что указанный TCR содержит переменный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 4.

32. Полинуклеотидная молекула по любому из пп. 28-31, отличающаяся тем, что указанный TCR содержит переменный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 4.

33. Полинуклеотидная молекула по любому из пп. 28-32, отличающаяся тем, что указанный TCR содержит (a) переменный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в

Табл. 4; и (b) вариабельный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична всей аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей вариабельного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 4.

34. Полинуклеотидная молекула по любому из пп. 28-33, отличающаяся тем, что указанный TCR содержит

(a) CDR1 вариабельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 17, 33, 49, 65, 81, 97, 113, 129, 145, 161, 177, 193, 209, 225, 241, 257, 273, 289, 305, 321, 337, 353, 369, 385, 401, 417, 433, 449, 465, 481, 497, 513, 529, 545, 561, 577 и 593;

(b) CDR2 вариабельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338, 354, 370, 386, 402, 418, 434, 450, 466, 482, 498 514, 530, 546, 562, 578 и 594;

(c) CDR3 вариабельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3, 19, 35, 51, 67, 83, 99, 115, 131, 147, 163, 179, 195, 211, 227, 243, 259, 275, 291, 307, 323, 339, 355, 371, 387, 403, 419, 435, 451, 467, 483, 499, 515, 531, 547, 563, 579 и 595;

(d) CDR1 вариабельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 9, 25, 41, 57, 73, 89, 105, 121, 137, 153, 169, 185, 201, 217, 233, 249, 265, 281, 297, 313, 329, 345, 361, 377, 393, 409, 425, 441, 457, 473, 489, 505, 521, 537, 553, 569, 585 и 601;

(e) CDR2 вариабельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346, 362, 378, 394, 410, 426, 442, 458, 474, 490, 506, 522, 538, 554, 570, 586 и 602; и

(f) CDR3 вариабельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11, 27, 43, 59, 75, 91, 107, 123, 139, 155, 171, 187, 203, 219, 235, 251, 267, 283, 299, 315, 331, 347, 363, 379, 395, 411, 427, 443, 459, 475, 491, 507, 523, 539, 555, 571, 587 и 603.

35. Полинуклеотидная молекула по п. 34, отличающаяся тем, что указанный TCR содержит пару аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи/вариабельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 7/15, 23/31, 39/47, 55/63, 71/79, 87/95, 103/111, 119/127, 135/143, 151/159, 167/175, 183/191, 199/207, 215/223, 231/239, 247/255, 263/271, 279/287, 295/303, 311/319, 327/335, 343/351, 359/367, 375/383, 391/399, 407/415, 423/431, 439/447, 455/463, 471/479, 487/495, 503/511, 519/527, 535/543, 551/559, 567/575, 583/591 и 599/607.

36. Полинуклеотидная молекула по п. 34, отличающаяся тем, что указанный TCR содержит пару аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи/вариабельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:

87/31, 23/95, 231/607, 231/223, 231/591, 231/255, 231/271, 231/79, 231/47, 231/399, 599/239, 599/223, 599/591, 599/255, 599/271, 599/79, 599/47, 599/399, 215/239, 215/607, 215/591, 215/255, 215/271, 215/79, 215/47, 215/399, 583/239, 583/607, 583/223, 583/255, 583/271, 583/79, 583/47, 583/399, 247/239, 247/607, 247/223, 247/591, 247/271, 247/79, 247/47, 247/399, 263/239, 263/607, 263/223, 263/591, 263/255, 263/79, 263/47, 263/399, 71/239, 71/607, 71/223, 71/591, 71/255, 71/271, 71/47, 71/399, 39/239, 39/607, 39/223, 39/591, 39/255, 39/271, 39/79, 39/399, 391/239, 391/607, 391/223, 391/591, 391/255, 391/271, 391/79, 391/47, 439/127, 439/319, 439/287, 439/15, 439/111, 439/383, 439/191, 439/511, 439/527, 439/559, 439/207, 119/447, 119/319, 119/287, 119/15, 119/111, 119/383, 119/191, 119/511, 119/527, 119/559, 119/207, 311/447, 311/127, 311/287, 311/15, 311/111, 311/383, 311/191, 311/511, 311/527, 311/559, 311/207, 279/447, 279/127, 279/319, 279/15, 279/111, 279/383, 279/191, 279/511, 279/527, 279/559, 279/207, 7/447, 7/127, 7/319, 7/287, 7/111, 7/383, 7/191, 7/511, 7/527, 7/559, 7/207, 103/447, 103/127, 103/319, 103/287, 103/15, 103/383, 103/191, 103/511, 103/527, 103/559, 103/207, 375/447, 375/127, 375/319, 375/287, 375/15, 375/111, 375/191, 375/511, 375/527, 375/559, 375/207, 183/447, 183/127, 183/319, 183/287, 183/15, 183/111, 183/383, 183/511, 183/527, 183/559, 183/207, 503/447, 503/127, 503/319, 503/287, 503/15, 503/111, 503/383, 503/191, 503/527, 503/559, 503/207, 519/447, 519/127, 519/319, 519/287, 519/15, 519/111, 519/383, 519/191, 519/511, 519/559, 519/207, 551/447, 551/127, 551/319, 551/287, 551/15, 551/111, 551/383, 551/191, 551/511, 551/527, 551/207, 199/447, 199/127, 199/319, 199/287, 199/15, 199/111, 199/383, 199/191, 199/511, 199/527 и 199/559.

37. Полинуклеотидная молекула по п. 33, отличающаяся тем, что указанный TCR содержит

(а) CDR1 переменного домена альфа-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 276, 292, 308, 324, 340, 356, 372, 388, 404, 420, 436, 452, 468, 484, 500, 516, 532, 548, 564, 580 и 596;

(b) CDR2 переменного домена альфа-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5, 21, 37, 53, 69, 85, 101, 117, 133, 149, 165, 181, 197, 213, 229, 245, 261, 277, 293, 309, 325, 341, 357, 373, 389, 405, 421, 437, 453, 469, 485, 501, 517, 533, 549, 565, 581 и 597;

(с) CDR3 переменного домена альфа-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 294, 310, 326, 342, 358, 374, 390, 406, 422, 438, 454, 470, 486, 502, 518, 534, 550, 566, 582 и 598;

(d) CDR1 переменного домена бета-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 300, 316, 332, 348, 364, 380, 396, 412, 428, 444, 460, 476, 492, 508, 524, 540, 556, 572, 588 и 604;

(e) CDR2 переменного домена бета-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 13, 29, 45, 61, 77,

93, 109, 125, 141, 157, 173, 189, 205, 221, 237, 253, 269, 285, 301, 317, 333, 349, 365, 381, 397, 413, 429 445 461 477, 493, 509, 525, 541, 557, 573, 589 и 605; и

(f) CDR3 варибельного домена бета-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 302, 318, 334, 350, 366, 382, 398, 414, 430, 446, 462, 478, 494, 510, 526, 542, 558, 574, 590 и 606.

38. Полинуклеотидная молекула по п. 37, отличающаяся тем, что указанный TCR содержит пару последовательностей нуклеиновой кислоты варибельного домена альфа-цепи/варибельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 8/16, 24/32, 40/48, 56/64, 72/80, 88/96, 104/112, 120/128, 136/144, 152/160, 168/176, 184/192, 200/208, 216/224, 232/240, 248/256, 264/272, 280/288, 296/304, 312/320, 328/336, 344/352, 360/368, 376/384, 392/400, 408/416, 424/432, 440/448, 456/464, 472/480, 488/496, 504/512, 520/528, 536/544, 552/560, 568/576, 584/592, 600/608.

39. Вектор, содержащий полинуклеотидную молекулу по любому из пп. 28-38.

40. Выделенная клетка, содержащая вектор по п. 39.

41. Способ лечения субъекта, у которого имеется ассоциированное с MAGE-A4 заболевание или нарушение, включающий введение субъекту множества клеток по п. 40, за счет чего осуществляется лечение субъекта.

42. Способ по п. 41, отличающийся тем, что указанное ассоциированное с MAGE-A4 заболевание или нарушение представляет собой ассоциированный с MAGE-A4 рак.

43. Способ по п. 43, отличающийся тем, что указанный ассоциированный с MAGE-A4 рак представляет собой липосаркому, нейробластому, миелому, меланому, метастатическую меланому, синовиальную саркому, рак мочевого пузыря, рак пищевода, плоскоклеточный рак пищевода, гепатоцеллюлярный рак, рак головы и шеи, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, эпителиальный рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, астроцитарную опухоль, мультиформную глиобластому, анапластическую астроцитому, опухоль головного мозга, рак маточной трубы, первичный рак брюшной полости, распространенные солидные опухоли, саркому мягких тканей, саркому, миелодиспластический синдром, острый миелоидный лейкоз, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, болезнь Ходжкина, множественную миелому, метастатические солидные опухоли, колоректальную карциному, рак желудка, рабдомиосаркому, миксоидную круглоклеточную липосаркому или рецидивирующий немелкоклеточный рак легкого.

44. Способ по любому из пп. 41-43, отличающийся тем, что указанное множество клеток вводят субъекту в комбинации с вторым терапевтическим средством.

45. Т-клеточный рецептор (TCR), который специфически связывается с пептидом презентируемого HLA-A2 ракового антигена яичка меланомы-ассоциированного антигена 4 (MAGE-A4), содержащим аминокислотную последовательность GGYDGRENTV (SEQ ID NO:612) (MAGE-A4 230-239), при этом TCR содержит варибельный домен альфа-цепи, содержащий определяющую комплементарность область 3 (CDR3), содержащуюся в

вариабельном домене альфа-цепи любой из SEQ ID NO: 620, 636, 652, 668, 684, 700, 716, 732, 748, 764, 780, 796, 812, 828, 844 и 860.

46. Т-клеточный рецептор (TCR), который специфически связывается с пептидом презентируемого HLA-A2 ракового антигена яичка меланома-ассоциированного антигена 4 (MAGE-A4), содержащим аминокислотную последовательность GGYDGRENTV (SEQ ID NO:612) (MAGE-A4 230-239), при этом TCR содержит вариабельный домен альфа-цепи, содержащий определяющую комплементарность область 3 (CDR3), содержащуюся в вариабельном домене бета-цепи любой из SEQ ID NO: 628, 644, 660, 676, 692, 708, 724, 740, 756, 772, 788, 804, 820, 836, 852 и 868.

47. TCR по п. 45, отличающийся тем, что указанный вариабельный домен альфа-цепи дополнительно содержит CDR1 и CDR2, при этом CDR1 содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR1 вариабельного домена альфа-цепи, изложенных в Табл. 6, а CDR2 независимо содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR2 вариабельного домена альфа-цепи, изложенных в Табл. 6.

48. TCR по п. 46, отличающийся тем, что указанный вариабельный домен бета-цепи дополнительно содержит CDR1 и CDR2, при этом CDR1 содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR1 вариабельного домена бета-цепи, изложенных в Табл. 6, а CDR2 независимо содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR2 вариабельного домена бета-цепи, изложенных в Табл. 6.

49. TCR по любому из пп. 45-48, отличающийся тем, что указанный TCR содержит по меньшей мере один вариабельный домен альфа-цепи и/или по меньшей мере один вариабельный домен бета-цепи TCR.

50. TCR по п. 49, отличающийся тем, что указанный TCR содержит вариабельный домен альфа-цепи TCR и вариабельный домен бета-цепи TCR.

51. TCR по любому из пп. 46-50, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельного домена альфа-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей вариабельного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 8; и CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельного домена бета-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей вариабельного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 8.

52. TCR по любому из пп. 45-51, содержащий вариабельный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 8.

53. TCR по любому из пп. 45-52, содержащий вариабельный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей вариабельного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 8.

54. TCR по любому из пп. 45-53, содержащий: (а) вариабельный домен альфа-цепи,

содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 8; и (b) вариабельный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей вариабельного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 8.

55. TCR по любому из пп. 46-54, содержащий:

(a) CDR1 вариабельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 614, 630, 646, 662, 678, 694, 710, 726, 742, 758, 774, 790, 806, 822, 838 и 854;

(b) CDR2 вариабельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 615, 631, 647, 663, 679, 695, 711, 727, 743, 759, 775, 791, 807, 823, 839 и 855;

(c) CDR3 вариабельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 616, 632, 648, 664, 680, 696, 712, 728, 744, 760, 776, 792, 808, 824, 840 и 856;

(d) CDR1 вариабельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 622, 638, 654, 670, 686, 702, 718, 734, 750, 766, 782, 798, 814, 830, 846 и 862;

(e) CDR2 вариабельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 623, 639, 655, 671, 687, 703, 719, 735, 751, 767, 783, 799, 815, 831, 847 и 863; и

(f) CDR3 вариабельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 624, 640, 656, 672, 688, 704, 720, 736, 752, 768, 784, 800, 816, 832, 848 и 864.

56. TCR по п. 55, содержащий пару аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи/вариабельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 620/628, 636/644, 652/660, 668/676, 684/692, 700/708, 716/724, 732/740, 748/756, 764/772, 780/788, 796/804, 812/820, 828/836, 844/852 и 860/868.

57. TCR по п. 55, содержащий пару аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи/вариабельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 620/628, 620/644, 620/660, 620/676, 620/692, 620/708, 620/724, 620/740, 620/756, 620/772, 620/788, 620/804, 620/820, 620/836, 620/852, 620/868, 636/628, 636/644, 636/660, 636/676, 636/692, 636/708, 636/724, 636/740, 636/756, 636/772, 636/788, 636/804, 636/820, 636/836, 636/852, 636/868, 652/628, 652/644, 652/660, 652/676, 652/692, 652/708, 652/724, 652/740, 652/756, 652/772, 652/788, 652/804, 652/820, 652/836, 652/852, 652/868, 668/628, 668/644, 668/660, 668/676, 668/692, 668/708, 668/724, 668/740, 668/756, 668/772, 668/788, 668/804, 668/820, 668/836, 668/852, 668/868, 684/628, 684/644, 684/660,

684/676, 684/692, 684/708, 684/724, 684/740, 684/756, 684/772, 684/788, 684/804, 684/820, 684/836, 684/852, 684/868, 700/628, 700/644, 700/660, 700/676, 700/692, 700/708, 700/724, 700/740, 700/756, 700/772, 700/788, 700/804, 700/820, 700/836, 700/852, 700/868, 716/628, 716/644, 716/660, 716/676, 716/692, 716/708, 716/724, 716/740, 716/756, 716/772, 716/788, 716/804, 716/820, 716/836, 716/852, 716/868, 732/628, 732/644, 732/660, 732/676, 732/692, 732/708, 732/724, 732/740, 732/756, 732/772, 732/788, 732/804, 732/820, 732/836, 732/852, 732/868, 748/628, 748/644, 748/660, 748/676, 748/692, 748/708, 748/724, 748/740, 748/756, 748/772, 748/788, 748/804, 748/820, 748/836, 748/852, 748/868, 764/628, 764/644, 764/660, 764/676, 764/692, 764/708, 764/724, 764/740, 764/756, 764/772, 764/788, 764/804, 764/820, 764/836, 764/852, 764/868, 780/628, 780/644, 780/660, 780/676, 780/692, 780/708, 780/724, 780/740, 780/756, 780/772, 780/788, 780/804, 780/820, 780/836, 780/852, 780/868, 796/628, 796/644, 796/660, 796/676, 796/692, 796/708, 796/724, 796/740, 796/756, 796/772, 796/788, 796/804, 796/820, 796/836, 796/852, 796/868, 812/628, 812/644, 812/660, 812/676, 812/692, 812/708, 812/724, 812/740, 812/756, 812/772, 812/788, 812/804, 812/820, 812/836, 812/852, 812/868, 828/628, 828/644, 828/660, 828/676, 828/692, 828/708, 828/724, 828/740, 828/756, 828/772, 828/788, 828/804, 828/820, 828/836, 828/852, 828/868, 844/628, 844/644, 844/660, 844/676, 844/692, 844/708, 844/724, 844/740, 844/756, 844/772, 844/788, 844/804, 844/820, 844/836, 844/852, 844/868, 860/628, 860/644, 860/660, 860/676, 860/692, 860/708, 860/724, 860/740, 860/756, 860/772, 860/788, 860/804, 860/820, 860/836, 860/852 и 860/868.

58. TCR по любому из пп. 45-57, дополнительно содержащий детектируемый фрагмент.

59. TCR по любому из пп. 45-57, отличающийся тем, что указанный выделенный TCR характеризуется значением соотношения целевое связывание/нецелевое связывание, составляющим более 5, более 10, более 15, более 20, более 50, более 100, более 200, более 300, более 400, более 500, более 600, более 700, более 800, более 900 или более 1000.

60. TCR по п. 61, отличающийся тем, что указанный выделенный TCR характеризуется значением соотношения целевое связывание/нецелевое связывание, составляющим более 10.

61. TCR по п. 61, отличающийся тем, что указанный выделенный TCR характеризуется значением соотношения целевое связывание/нецелевое связывание, составляющим более 500.

62. TCR, который конкурирует за связывание с выделенным TCR по любому из пп. 45-61.

63. Фармацевтическая композиция, содержащая TCR по любому из пп. 45-61 и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

64. Выделенная клетка, презентующая TCR по любому из пп. 45-61.

65. Полинуклеотидная молекула, содержащая полинуклеотидную последовательность, которая кодирует переменный домен альфа-цепи TCR, как изложено в любом из пп. 45, 47 и 49-61.

66. Выделенная полинуклеотидная молекула, содержащая полинуклеотидную

последовательность, которая кодирует вариабельный домен бета-цепи TCR, как изложено в любом из пп. 46, 48 и 49-61.

67. Вектор, содержащий полинуклеотидную последовательность по п. 65 или 66.

68. Выделенная клетка, экспрессирующая вектор по п. 67.

69. Способ лечения субъекта, у которого имеется ассоциированное с MAGE-A4 заболевание или нарушение, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества TCR по любому из пп. 45-61, фармацевтической композиции по п. 63 или выделенной клетки по п. 64, за счет чего осуществляется лечение субъекта.

70. Способ по п. 69, отличающийся тем, что указанное ассоциированное с MAGE-A4 заболевание или нарушение представляет собой ассоциированный с MAGE-A4 рак.

71. Способ по п. 70, отличающийся тем, что указанный ассоциированный с MAGE-A4 рак представляет собой липосаркому, нейробластому, миелому, меланому, метастатическую меланому, синовиальную саркому, рак мочевого пузыря, рак пищевода, плоскоклеточный рак пищевода, гепатоцеллюлярный рак, рак головы и шеи, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, эпителиальный рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, астроцитарную опухоль, мультиформную глиобластому, анапластическую астроцитому, опухоль головного мозга, рак маточной трубы, первичный рак брюшной полости, распространенные солидные опухоли, саркому мягких тканей, саркому, миелодиспластический синдром, острый миелоидный лейкоз, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, болезнь Ходжкина, множественную миелому, метастатические солидные опухоли, колоректальную карциному, рак желудка, рабдомиосаркому, миксоидную круглоклеточную липосаркому или рецидивирующий немелкоклеточный рак легкого.

72. Способ по любому из пп. 69-71, отличающийся тем, что указанный TCR, фармацевтическую композицию или клетку вводят субъекту в комбинации с вторым терапевтическим средством.

73. Способ по любому из пп. 69-71, отличающийся тем, что указанное введение является парентеральным.

74. Полинуклеотидная молекула, кодирующая Т-клеточный рецептор (TCR), при этом TCR специфически связывается с пептидом презентируемого HLA-A2 ракового антигена яичка меланомы-ассоциированного антигена 4 (MAGE-A4), содержащим аминокислотную последовательность GGYDGRENTV (SEQ ID NO: 612) (MAGE-A4 230-239), при этом TCR характеризуется свойством, выбранным из группы, состоящей из: (a) не связывается с клетками, экспрессирующими предположительные нецелевые пептиды, определенные с помощью люминесцентного анализа; (b) не связывается с клетками, экспрессирующими предположительные нецелевые пептиды, определенные с помощью проточно-цитометрического анализа; (c) активирует Т-клеточный ответ приблизительно в два раза больший, чем MAGE-A4-специфического TCR, происходящего от пациента, определенный с помощью TCR-опосредованного люминесцентного биоанализа передачи сигнала с участием Т-клеток; и (d) активирует Т-клеточный ответ, приблизительно в два

раза больший, чем MAGE-A4-специфического TCR с созревшей аффинностью (например, путем фагового дисплея), определенный с помощью TCR-опосредованного люминесцентного биоанализа передачи сигнала с участием Т-клеток.

75. Полинуклеотидная молекула по п. 74, кодирующая по меньшей мере один переменный домен альфа-цепи и/или по меньшей мере один переменный домен бета-цепи TCR.

76. Полинуклеотидная молекула по п. 74, отличающаяся тем, что указанный TCR содержит определяющие комплементарность области (CDR) 1, CDR2 и CDR3 переменного домена альфа-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 8; и CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена бета-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей переменного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 8.

77. Полинуклеотидная молекула по п. 75 или 76, отличающаяся тем, что указанный TCR содержит переменный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 8.

78. Полинуклеотидная молекула по любому из пп. 74-77, отличающаяся тем, что указанный TCR содержит переменный домен бета-цепи, имеющий аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% аминокислотную идентичность с полной аминокислотной последовательностью любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 8.

79. Полинуклеотидная молекула по любому из пп. 74-78, отличающаяся тем, что указанный TCR содержит (а) переменный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в Табл. 8; и (б) переменный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательностью любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена бета-цепи, приведенных в Табл. 8.

80. Полинуклеотидная молекула по любому из пп. 74-79, отличающаяся тем, что указанный TCR содержит

(а) CDR1 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 614, 630, 646, 662, 678, 694, 710, 726, 742, 758, 774, 790, 806, 822, 838 и 854;

(б) CDR2 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 615, 631, 647, 663, 679, 695, 711, 727, 743, 759, 775, 791, 807, 823, 839 и 855;

(с) CDR3 варибельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 616, 632, 648, 664, 680, 696, 712, 728, 744, 760, 776, 792, 808, 824, 840 и 856;

(d) CDR1 варибельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 622, 638, 654, 670, 686, 702, 718, 734, 750, 766, 782, 798, 814, 830, 846 и 862;

(е) CDR2 варибельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 623, 639, 655, 671, 687, 703, 719, 735, 751, 767, 783, 799, 815, 831, 847 и 863; и

(f) CDR3 варибельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 624, 640, 656, 672, 688, 704, 720, 736, 752, 768, 784, 800, 816, 832, 848 и 864.

81. Полинуклеотидная молекула по п. 80, отличающаяся тем, что указанный TCR содержит пару аминокислотных последовательностей варибельного домена альфа-цепи/варибельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 620/628, 636/644, 652/660, 668/676, 684/692, 700/708, 716/724, 732/740, 748/756, 764/772, 780/788, 796/804, 812/820, 828/836, 844/852 и 860/868.

82. Полинуклеотидная молекула по п. 80, отличающаяся тем, что указанный TCR содержит пару аминокислотных последовательностей варибельного домена альфа-цепи/варибельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 620/628, 620/644, 620/660, 620/676, 620/692, 620/708, 620/724, 620/740, 620/756, 620/772, 620/788, 620/804, 620/820, 620/836, 620/852, 620/868, 636/628, 636/644, 636/660, 636/676, 636/692, 636/708, 636/724, 636/740, 636/756, 636/772, 636/788, 636/804, 636/820, 636/836, 636/852, 636/868, 652/628, 652/644, 652/660, 652/676, 652/692, 652/708, 652/724, 652/740, 652/756, 652/772, 652/788, 652/804, 652/820, 652/836, 652/852, 652/868, 668/628, 668/644, 668/660, 668/676, 668/692, 668/708, 668/724, 668/740, 668/756, 668/772, 668/788, 668/804, 668/820, 668/836, 668/852, 668/868, 684/628, 684/644, 684/660, 684/676, 684/692, 684/708, 684/724, 684/740, 684/756, 684/772, 684/788, 684/804, 684/820, 684/836, 684/852, 684/868, 700/628, 700/644, 700/660, 700/676, 700/692, 700/708, 700/724, 700/740, 700/756, 700/772, 700/788, 700/804, 700/820, 700/836, 700/852, 700/868, 716/628, 716/644, 716/660, 716/676, 716/692, 716/708, 716/724, 716/740, 716/756, 716/772, 716/788, 716/804, 716/820, 716/836, 716/852, 716/868, 732/628, 732/644, 732/660, 732/676, 732/692, 732/708, 732/724, 732/740, 732/756, 732/772, 732/788, 732/804, 732/820, 732/836, 732/852, 732/868, 748/628, 748/644, 748/660, 748/676, 748/692, 748/708, 748/724, 748/740, 748/756, 748/772, 748/788, 748/804, 748/820, 748/836, 748/852, 748/868, 764/628, 764/644, 764/660, 764/676, 764/692, 764/708, 764/724, 764/740, 764/756, 764/772, 764/788, 764/804, 764/820, 764/836, 764/852, 764/868, 780/628, 780/644, 780/660, 780/676, 780/692, 780/708, 780/724, 780/740, 780/756, 780/772, 780/788, 780/804, 780/820, 780/836, 780/852, 780/868, 796/628, 796/644, 796/660, 796/676, 796/692, 796/708, 796/724, 796/740, 796/756, 796/772, 796/788, 796/804, 796/820, 796/836, 796/852, 796/868, 812/628, 812/644, 812/660, 812/676, 812/692, 812/708, 812/724, 812/740,

812/756, 812/772, 812/788, 812/804, 812/820, 812/836, 812/852, 812/868, 828/628, 828/644, 828/660, 828/676, 828/692, 828/708, 828/724, 828/740, 828/756, 828/772, 828/788, 828/804, 828/820, 828/836, 828/852, 828/868, 844/628, 844/644, 844/660, 844/676, 844/692, 844/708, 844/724, 844/740, 844/756, 844/772, 844/788, 844/804, 844/820, 844/836, 844/852, 844/868, 860/628, 860/644, 860/660, 860/676, 860/692, 860/708, 860/724, 860/740, 860/756, 860/772, 860/788, 860/804, 860/820, 860/836, 860/852 и 860/868.

83. Полинуклеотидная молекула по п. 33, отличающаяся тем, что указанный TCR содержит

(a) CDR1 переменного домена альфа-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 617, 633, 649, 665, 681, 697, 713, 729, 745, 761, 777, 793, 809, 825, 841 и 857;

(b) CDR2 переменного домена альфа-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 618, 634, 650, 666, 682, 698, 714, 730, 746, 762, 778, 794, 810, 826, 842 и 858;

(c) CDR3 переменного домена альфа-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 619, 635, 651, 667, 683, 699, 715, 731, 747, 763, 779, 795, 811, 827, 843 и 859;

(d) CDR1 переменного домена бета-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 625, 641, 657, 673, 689, 705, 721, 737, 753, 769, 785, 801, 817, 833, 849 и 865;

(e) CDR2 переменного домена бета-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 626, 642, 658, 674, 690, 706, 722, 738, 754, 770, 786, 802, 818, 834, 850 и 866; и

(f) CDR3 переменного домена бета-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 627, 643, 659, 675, 691, 707, 723, 739, 755, 771, 787, 803, 819, 835, 851 и 867.

84. Выделенная нуклеиновая кислота по п. 83, отличающаяся тем, что указанный TCR содержит пару последовательностей нуклеиновой кислоты переменного домена альфа-цепи/переменного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 621/629, 637/645, 653/661, 669/677, 685/693, 701/709, 717/725, 733/741, 749/757, 765/773, 781/789, 797/805, 813/821, 829/837, 845/853 и 861/869.

85. Вектор, содержащий полинуклеотидную последовательность выделенной молекулы нуклеиновой кислоты по любому из пп. 74-84.

86. Выделенная клетка, содержащая вектор по п. 85.

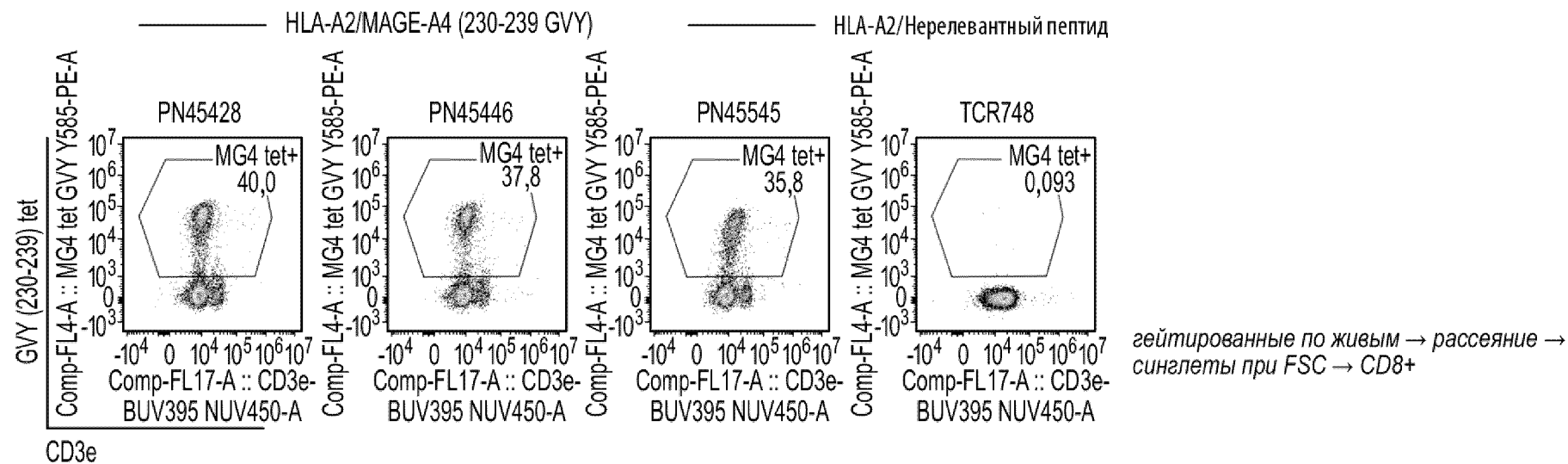
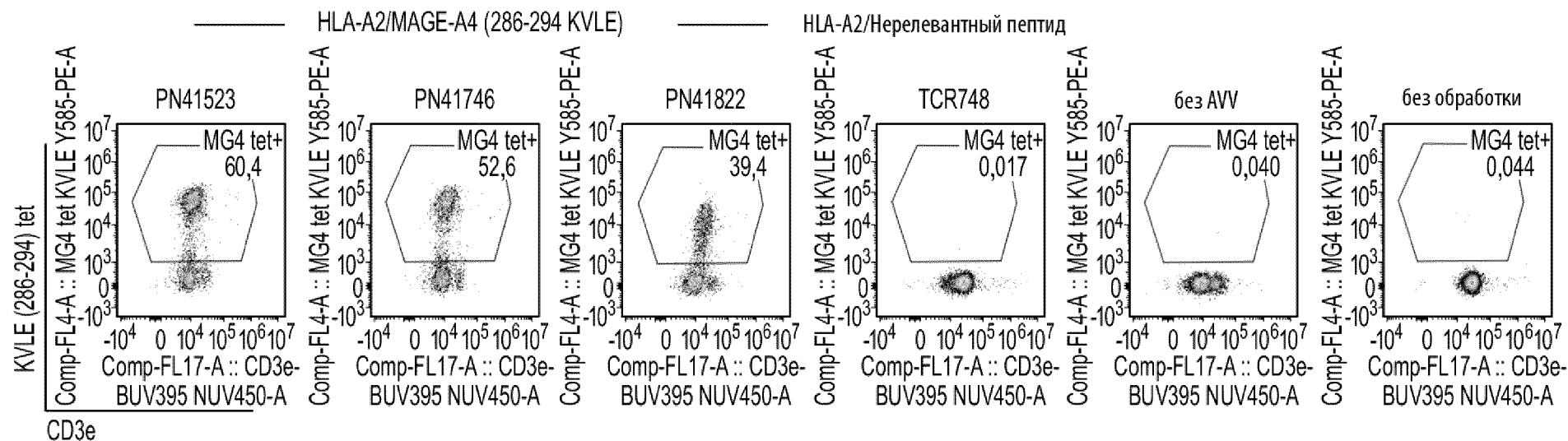
87. Способ лечения субъекта, у которого имеется ассоциированное с MAGE-A4 заболевание или нарушение, включающий введение субъекту клетки по п. 86, за счет чего осуществляется лечение субъекта.

88. Способ по п. 87, отличающийся тем, что указанное ассоциированное с MAGE-A4 заболевание или нарушение представляет собой ассоциированный с MAGE-A4 рак.

89. Способ по п. 88, отличающийся тем, что указанный ассоциированный с MAGE-

А4 рак представляет собой липосаркому, нейробластому, миелому, меланому, метастатическую меланому, синовиальную саркому, рак мочевого пузыря, рак пищевода, плоскоклеточный рак пищевода, гепатоцеллюлярный рак, рак головы и шеи, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, эпителиальный рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, астроцитарную опухоль, мультиформную глиобластому, анапластическую астроцитому, опухоль головного мозга, рак маточной трубы, первичный рак брюшной полости, распространенные солидные опухоли, саркому мягких тканей, саркому, миелодиспластический синдром, острый миелоидный лейкоз, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, болезнь Ходжкина, множественную миелому, метастатические солидные опухоли, колоректальную карциному, рак желудка, рабдомиосаркому, миксоидную круглоклеточную липосаркому или рецидивирующий немелкоклеточный рак легкого.

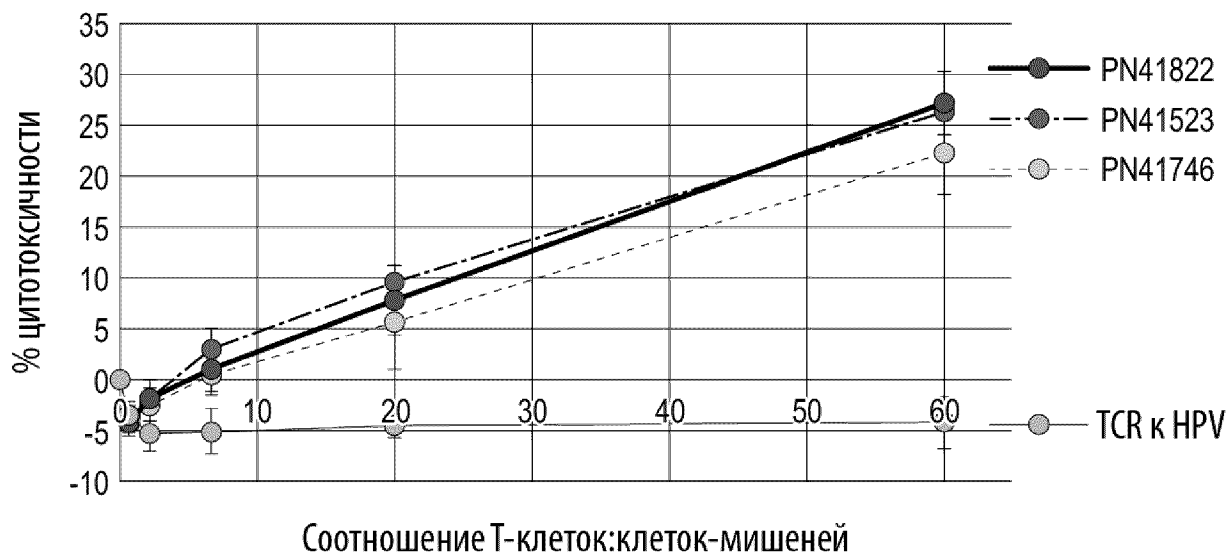
90. Способ по любому из пп. 87-89, отличающийся тем, что указанную клетку вводят субъекту в комбинации с вторым терапевтическим средством.



Фиг. 1

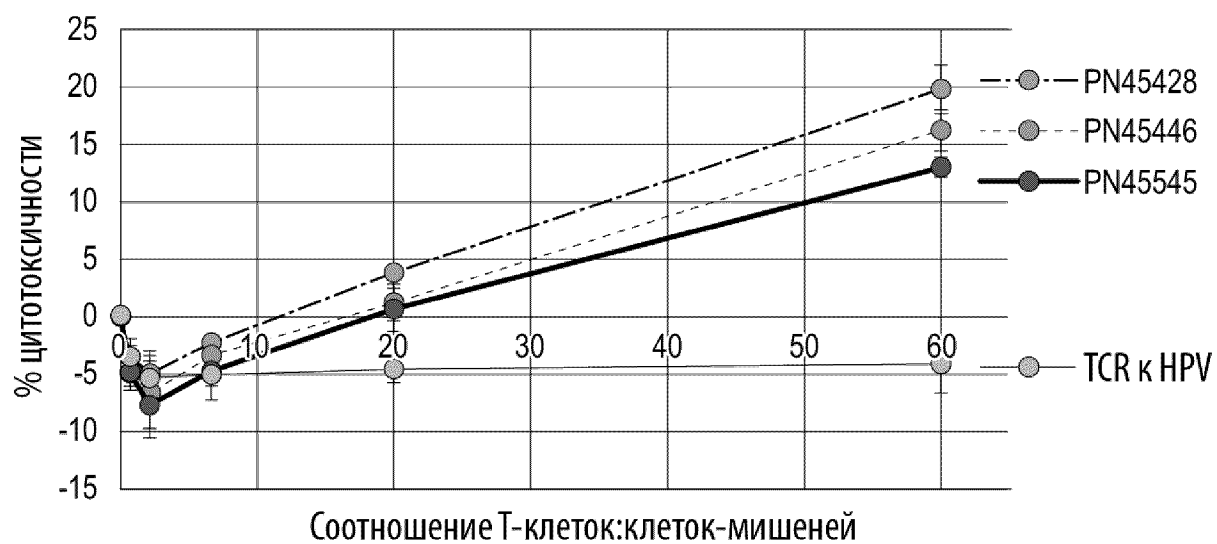
A.

Опосредованная TCR к KVLE MAGE-A4 цитотоксичность в отношении
клеток A375



B.

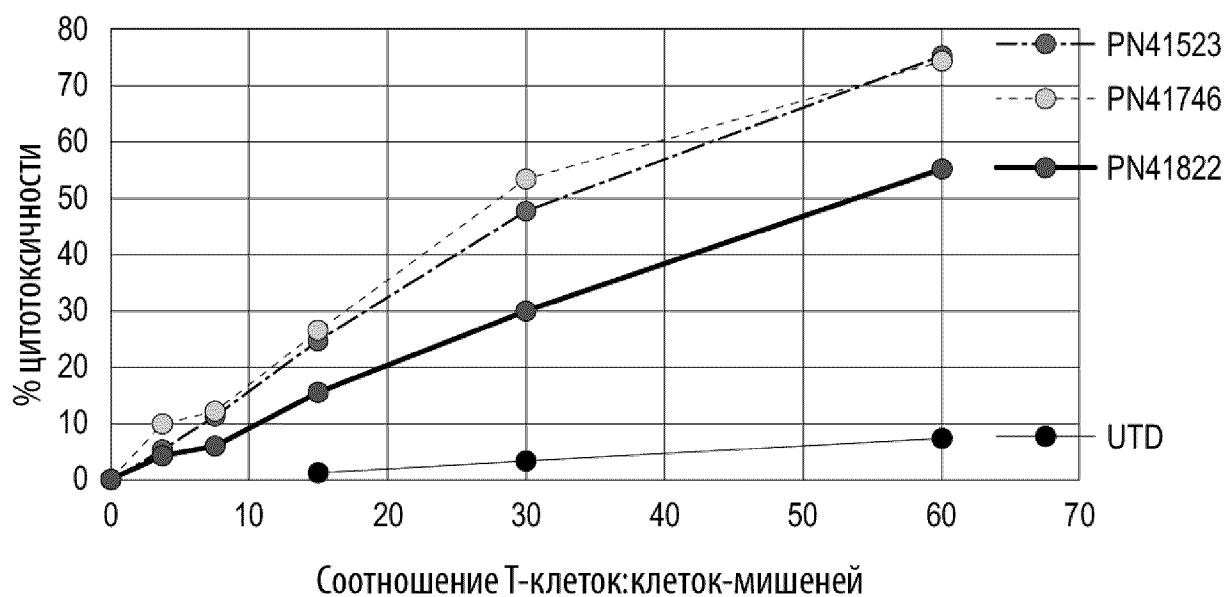
Опосредованная TCR к GVY MAGE-A4 цитотоксичность в отношении
клеток A375



Фиг. 2

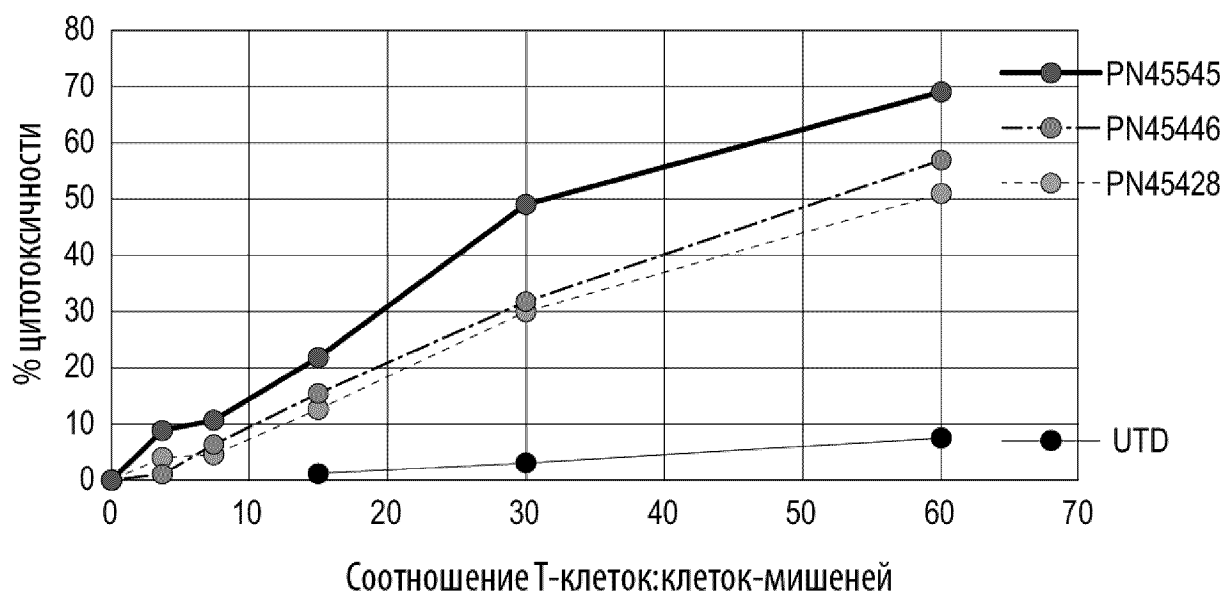
A.

Опосредованная TCR к KVLE MAGE-A4 цитотоксичность в отношении клеток A375

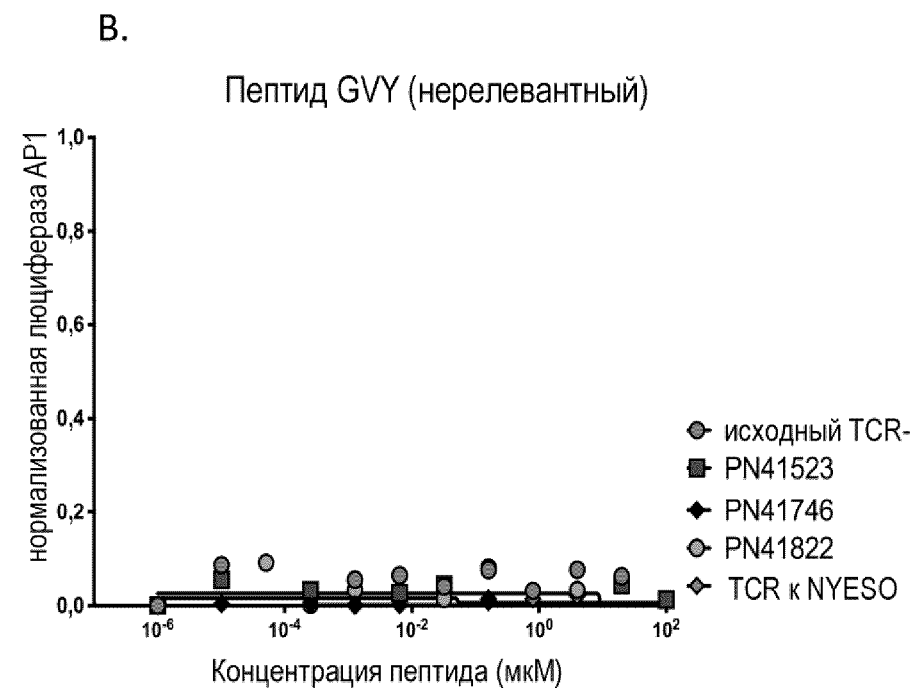
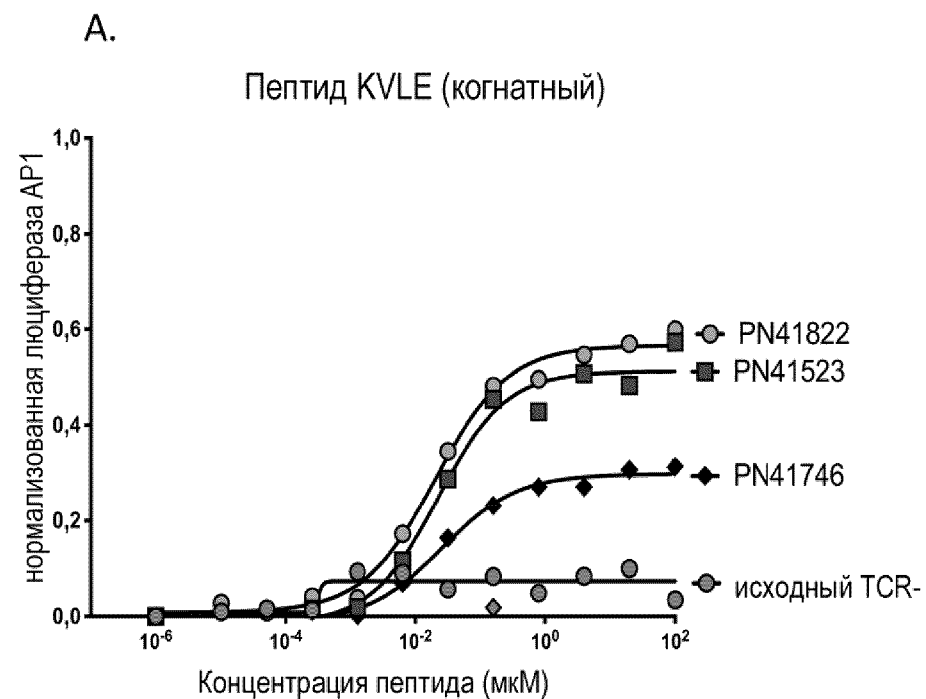


B.

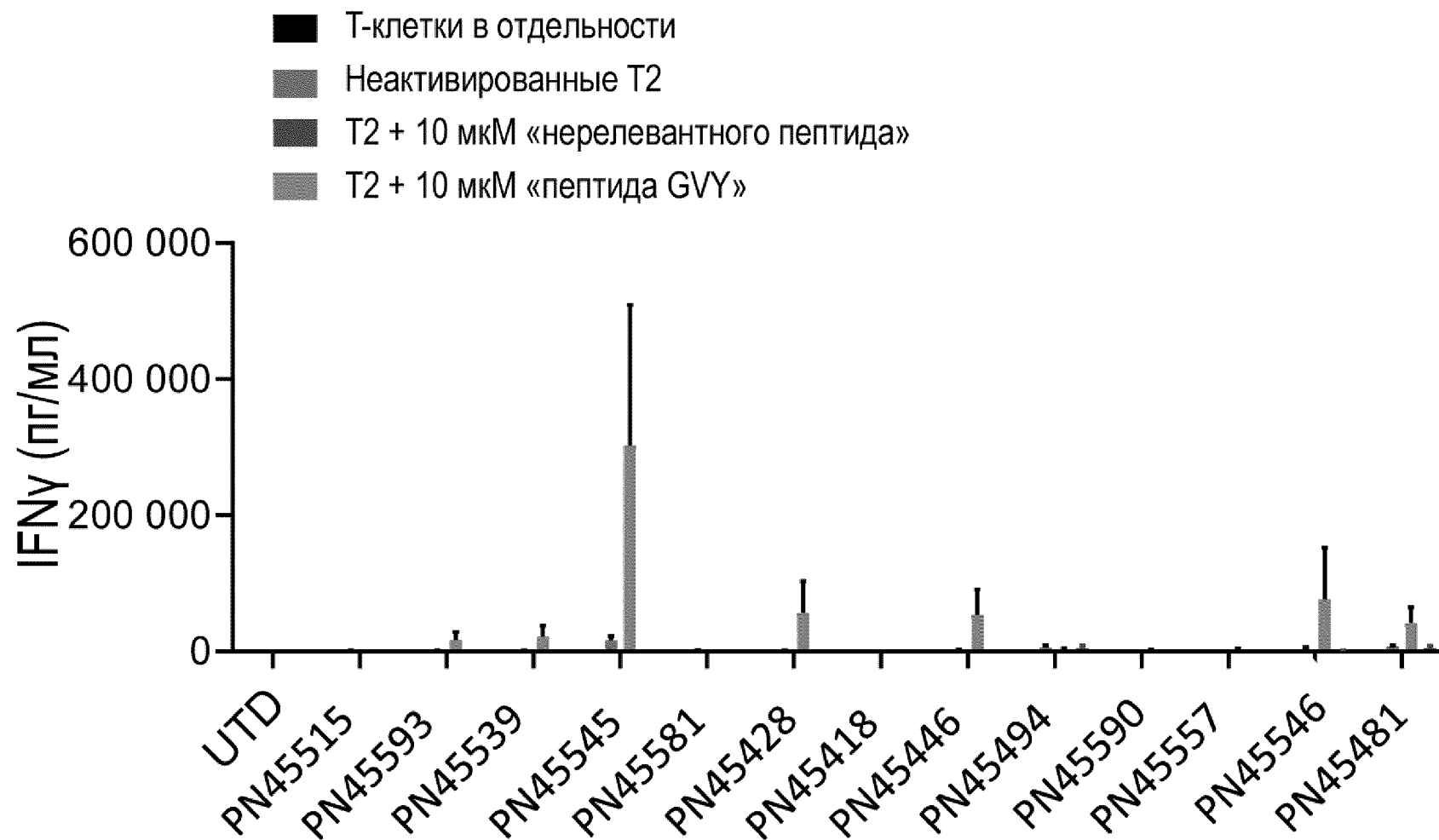
Опосредованная TCR к GYV MAGE-A4 цитотоксичность в отношении клеток A375



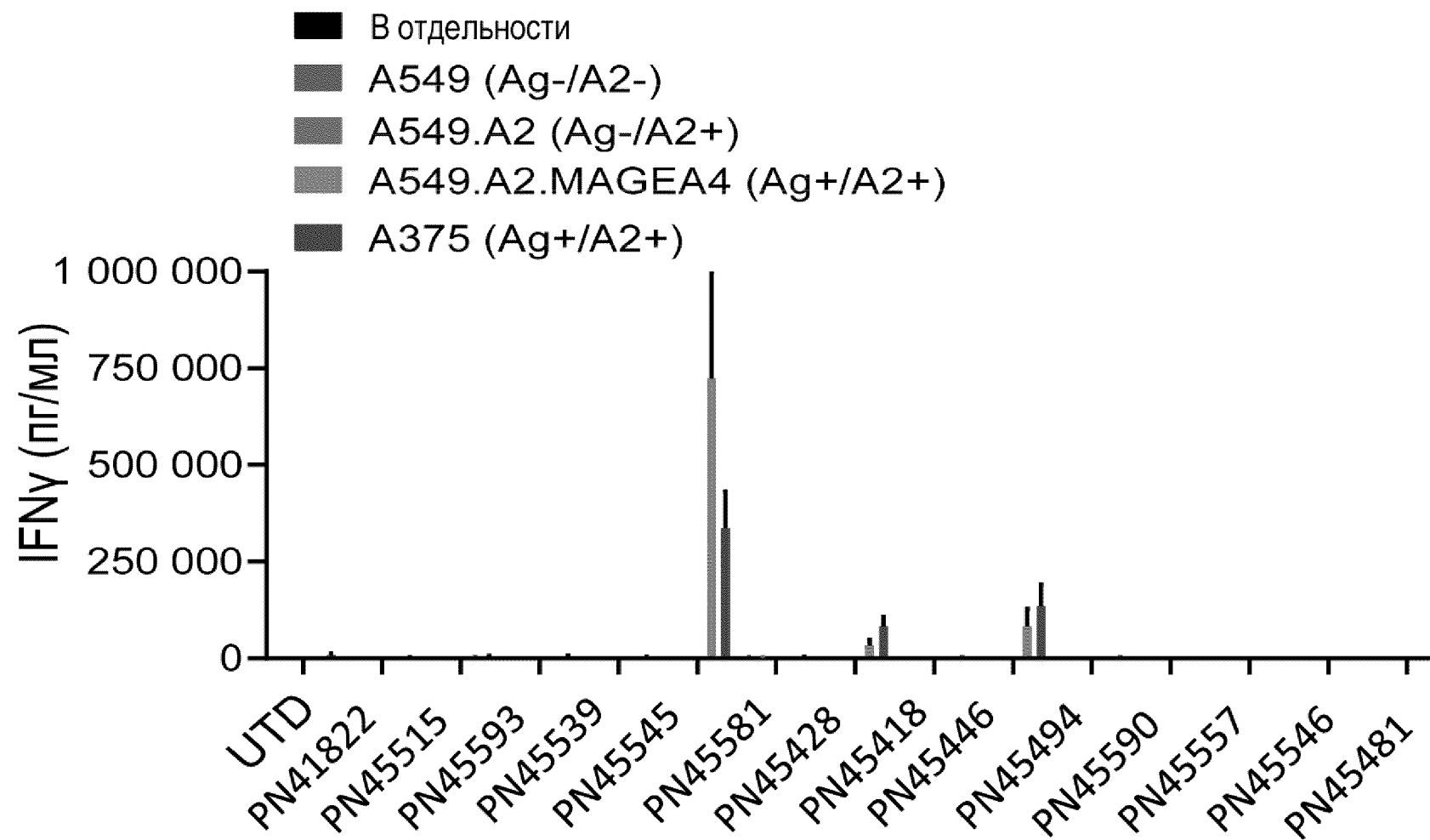
Фиг. 3



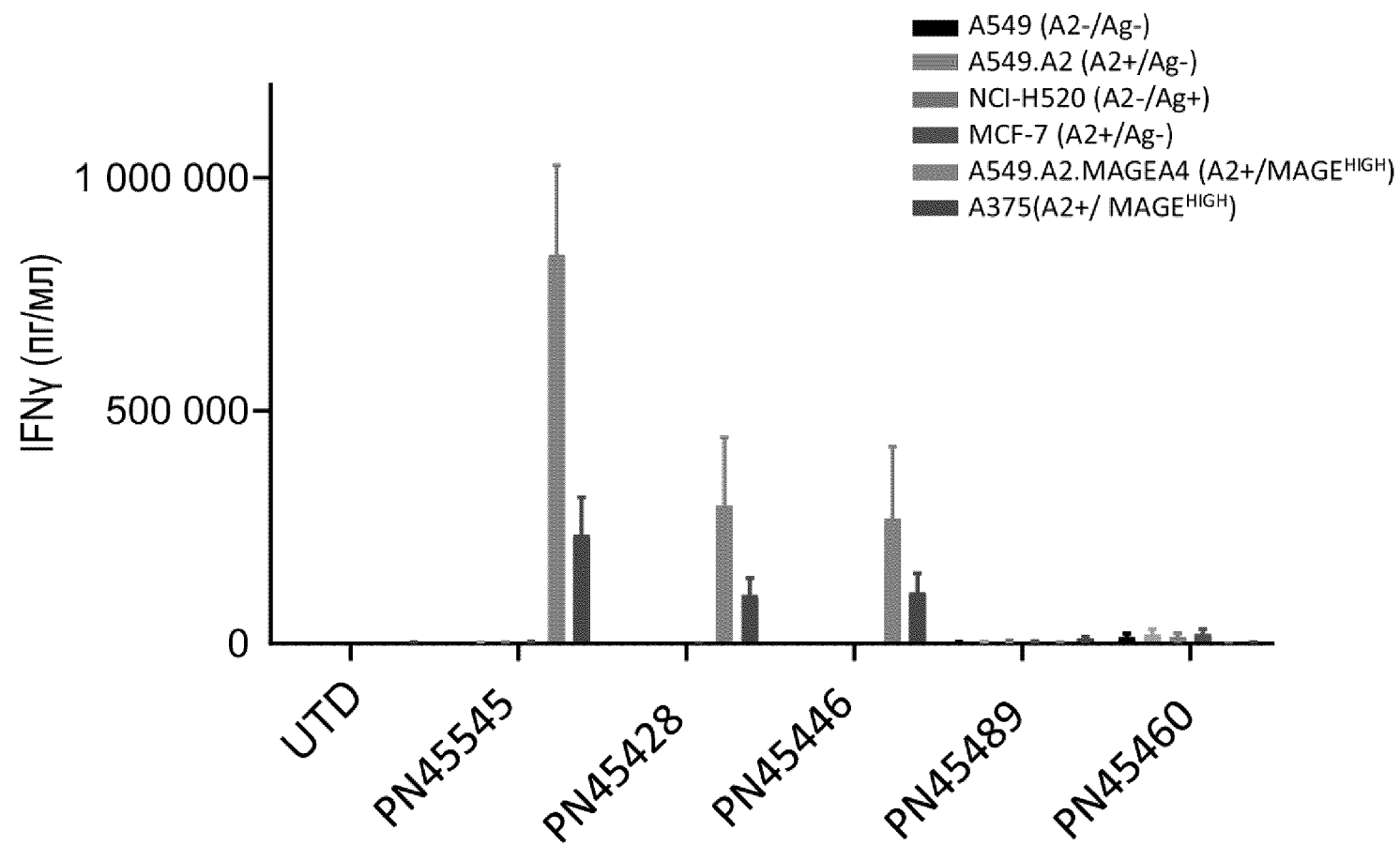
Фиг. 4



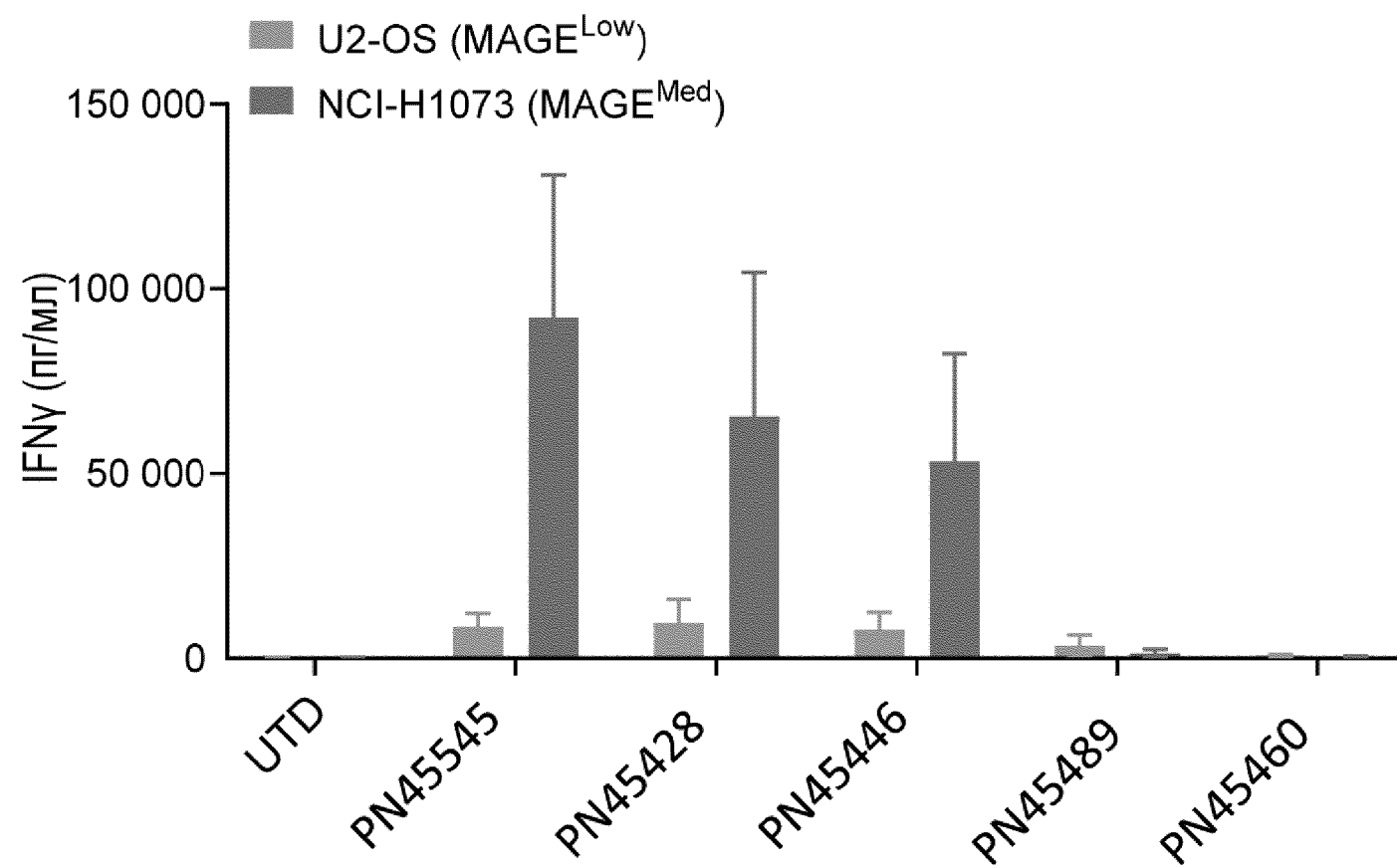
Фиг. 5



Фиг. 6



Фиг. 7



Фиг. 8