

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **045443**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.11.27

(51) Int. Cl. **C07K 14/725 (2006.01)**
C07K 14/47 (2006.01)

(21) Номер заявки
201992536

(22) Дата подачи заявки
2018.04.24

(54) **ТСР И ПЕПТИДЫ**

(31) **62/489,226**

(32) **2017.04.24**

(33) **US**

(43) **2020.03.05**

(86) **PCT/EP2018/060477**

(87) **WO 2018/197492 2018.11.01**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ОСПЕДАЛЕ САН РАФФАЭЛЕ С.Р.Л.;
ФОНДАЦИОНЕ ЧЕНТРО САН
РАФФАЭЛЕ (ИТ)

(72) Изобретатель:
Бонини Мариа Кьяра, Руджеро
Элиана, Маньяни Зулма Ирене,
Ваго Лука Адьдо Эдоардо, Бонданца
Аггилио, Чичери Фабио (ИТ)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) **WO-A2-2005056595**
SHEENA N. SMITH ET AL.: "Changing the peptide specificity of a human T-cell receptor by directed evolution", NATURE COMMUNICATIONS, vol. 5, 7 November 2014 (2014-11-07), page 5223, XP055186132, DOI: 10.1038/ncomms6223 e.g. abstract; fig. 2; the whole document

US-A1-2014212888

CHLEWICKI L K ET AL.: "High-affinity, Peptide-specific T Cell Receptors can be Generated by Mutations in CDR1, CDR2 or CDR3" JOURNAL OF MOLECULAR BIO, ACADEMIC PRESS, UNITED KINGDOM, vol. 346, no. 1, 11 February 2005 (2005-02-11), pages 223-239, XP004720649, ISSN: 0022-2836, DOI: 10.1016/J.JMB.2004.11.057 e.g. abstract; the whole document

WO-A1-2016161273

(57) Т-клеточный рецептор (TCR), который связывается с пептидом белка опухоли Вильмса 1 (WT1), презентированным главным комплексом гистосовместимости (MHC).

B1

045443

045443
B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к Т-клеточным рецепторам (TCR), которые связываются с пептидами, полученными из белка опухоли Вильмса 1 (WT1), когда они презентированы главным комплексом гистосовместимости. В этом отношении данное изобретение относится определяющим компонентом областям (CDR-областям), которые специфично распознают пептиды WT1. Настоящее изобретение также относится к иммуногенным пептидам, полученным из WT1.

Уровень техники

Генотерапия с применением Т-клеточных рецепторов (TCR) основана на генетическом переносе генов высокоавидных опухолеспецифичных TCR в Т-лимфоциты, что позволяет направленно связывать требуемые опухолеассоциированные антигены и приводит к менее токсичной и более специфичной и эффективной терапии. Этот подход показал многообещающие результаты в клинических исследованиях. Одним из основных препятствий, ограничивающих применение TCR генотерапии для клинического лечения рака, является отсутствие опухолеспецифичных Т-клеток и соответствующих TCR. Таким образом, низкая доступность опухолеспецифичных TCR все еще остается открытой проблемой, ограничивающей широкое применение иммунотерапевтических подходов на основе TCR.

Большинство опухолеассоциированных антигенов (ОАА) являются аутоантигенами, поэтому Т-клетки, специфичные в отношении таких молекул, либо разрушаются, либо подвергаются анергизации в результате центральной и периферической толерантности. Несмотря на это, природные опухолеспецифичные Т-клетки наблюдали у здоровых доноров и пациентов, особенно у пациентов, пораженных гемобластомами, после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), где частота опухолеспецифичных лимфоцитов коррелировала с регрессией заболевания (Karr, M. et al. Bone Marrow Transplantation 43,399-410 (2009); и Tyler, E.M. et al. Blood 121,308-317 (2013)).

Выбор опухолевого антигена, который будет являться мишенью иммунотерапевтических методов, все еще остается предметом обсуждений. В идеальном случае ОАА экспрессируются в опухолевых клетках на высоком уровне при минимальной экспрессии в здоровых тканях.

Белок опухоли Вильмса 1 (WT1) - внутриклеточный белок, кодирующий фактор транскрипции с доменами цинковых пальцев, который играет важную роль в росте и дифференцировке клеток (Yang, L. et al. Leukemia 21, 868-876 (2007)). WT1 широко экспрессируется на различных гемобластных и солидных опухолях, демонстрируя при этом ограниченную экспрессию в различных здоровых тканях (например, гонадах, матке, почке, мезотелии, клетках-предшественниках в различных тканях). Последние данные свидетельствуют о роли WT1 в лейкогенезе и онкогенезе.

Некоторые продолжающиеся клинические исследования основаны на получении ответов цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ) при вакцинации пептидами WT1. Однако, несмотря на признание того, что WT1 можно применять в иммунотерапии, малое количество эпитопов WT1, которые ограничены небольшим числом аллелей HLA, используются в настоящее время в целях вакцинации (Di Stasi, A. et al. Front. Immunol. (2015)). Одним из таких эпитопов является эпитоп WT1 126-134 (RMFPNAPYL; SEQ ID NO: 255), который презентуется МНС, кодируемым аллелем HLA-A*0201 (то есть эпитоп является HLA-A*0201-рестриктированным).

HLA-A*0201-рестриктированные эпитопы и соответствующие TCR представляют интерес, поскольку главный комплекс гистосовместимости (МНС), имеющий гаплотип HLA-A*0201, экспрессируется у подавляющего большинства (60%) представителей европеоидной расы. Таким образом, TCR рецепторы, которые взаимодействуют с HLA-A*0201-рестриктированными эпитопами WT1, особенно предпочтительны, поскольку иммунотерапия с использованием таких TCR, может широко применяться.

Эпитоп WT1 126-134 широко изучали в нескольких исследованиях, отдельно или в комбинации с дополнительными опухолевыми антигенами. Тем не менее, недавние сообщения выдвинули на первый план серьезную озабоченность в отношении процессинга этого конкретного эпитопа, что может осложнить его применение в целях иммунотерапии. Примечательно то, что эпитоп WT1 126-134 более эффективно процессируется иммунопротеасомой по сравнению со стандартными протеасомами (Jaigirdar, A. et al. J Immunother. 39(3): 105-16 (2016)), что приводит к плохому распознаванию многих HLA-A*0201 опухолевых клеточных линий или первичных лейкозных клеток, которые эндогенно экспрессируют WT1.

Таким образом, остается потребность в новых эпитопах WT1, особенно в эпитопах WT1, презентуемых МНС с распространенными HLA гаплотипами (например, HLA-A*0201).

Одним природно процессируемым HLA-A*0201-рестриктированным эпитопом, который был идентифицирован, является WT1 37-45, который имеет аминокислотную последовательность VLDFAPPGA (SEQ ID NO: 157, см., например, Smithgall et al 2001; Blood 98 (11 Part 1): 121a). Однако было описано малое число аминокислотных последовательностей TCR, особенно CDR-последовательностей, специфичных в отношении этой пептидной последовательности (Schmitt, T.M. et al. (2017) Nat Biotechnol 35: 1188-1195).

Таким образом, остается потребность в новых эпитопах WT1, особенно таких, которые рестриктированы распространенными аллелями HLA, и потребность в новых TCR, способных связываться с эпитопами WT1.

Сущность изобретения

В настоящем изобретении идентифицировали новые TCR, которые связываются с пептидами WT1, презентированными МНС. Кроме того, были определены аминокислотные последовательности TCR, включающие аминокислотные последовательности их CDR-областей, которые ответственны за специфичность связывания с WT1. Кроме того, было продемонстрировано, что Т-клетки, экспрессирующие TCR-рецепторы согласно настоящему изобретению, специфично взаимодействуют и убивают клетки, которые повышено экспрессируют белок WT1. Кроме того, было показано, что TCR-рецепторы согласно настоящему изобретению рестриктированы МНС, кодируемыми аллелями HLA класса 1 и 2, распространенными среди европеоидной расы, такими как HLA-A*0201 и HLA-B*3501 или HLA-B*3502.

Таким образом, в первом аспекте настоящего изобретения предложен Т-клеточный рецептор (TCR), который связывается с пептидом белка опухоли Вильмса 1 (WT1), презентированный главным комплексом гистосовместимости (МНС), где TCR:

(i) включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность
CGTAWINDYKLSF (SEQ ID NO: 3) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и

CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность
CASRKTGGYSNQPQHF (SEQ ID NO: 8) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(ii) включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность
CVVNLLSNQGGKLI (SEQ ID NO: 36) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и

CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность
CASSQDYLVSNKLF (SEQ ID NO: 41) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(iii) включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность
CAVRLSGSARQLTF (SEQ ID NO: 14) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и

CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность
CASLLGDEQYF (SEQ ID NO: 24) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(iv) включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность
CAVRLSGSARQLTF (SEQ ID NO: 14) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и

CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность
CASLVALQGAGEQYF (SEQ ID NO: 30) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(v) включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность
CAYRSLKYGNKLVF (SEQ ID NO: 19) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и

CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность
CASLLGDEQYF (SEQ ID NO: 24) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(vi) включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность
CAYRSLKYGNKLVF (SEQ ID NO: 19) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и

CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность
CASLVALQGAGEQYF (SEQ ID NO: 30) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(vii) включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность
CATDAYSGNTPLVF (SEQ ID NO: 47) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и

CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность
CASRAAGLDTEAFF (SEQ ID NO: 57) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(viii) включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность
CATDAYSGNTPLVF (SEQ ID NO: 47) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и

CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность
CASTQTPYEQYF (SEQ ID NO: 63) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(ix) включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAVRTSYDKVIF (SEQ ID NO: 113) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и

CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSLGLSISQETQYF (SEQ ID NO: 288) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(xxxx) включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAERLNTDKLIF (SEQ ID NO: 103) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и

CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CSARDVLTGDYGYTF (SEQ ID NO: 282) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(xxxxi) включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAVEATDSWGKQLQF (SEQ ID NO: 108) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и

CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CSARDVLTGDYGYTF (SEQ ID NO: 282) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций; или

(xxxxii) включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAVRTSYDKVIF (SEQ ID NO: 113) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и

CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CSARDVLTGDYGYTF (SEQ ID NO: 282) или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения предложен TCR настоящего изобретения, включающий следующие CDR-последовательности:

(i) CDR1 α - KALYS (SEQ ID NO: 1),

CDR2 α - LLKGGEQ (SEQ ID NO: 2),

CDR3 α - CGTAWINDYKLSF (SEQ ID NO: 3),

CDR1 β - SGHDY (SEQ ID NO: 6),

CDR2 β - FNNNVP (SEQ ID NO: 7), и

CDR3 β - CASRKTGGYSNQPQHF (SEQ ID NO: 8), или их варианты, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(ii) CDR1 α - NSASQS (SEQ ID NO: 34),

CDR2 α - VYSSGN (SEQ ID NO: 35),

CDR3 α - CVVNLLSNQGGKLIF (SEQ ID NO: 36),

CDR1 β - LGHNA (SEQ ID NO: 39),

CDR2 β - YSLEER (SEQ ID NO: 40), и

CDR3 β - CASSQDYLVSNEKLFF (SEQ ID NO: 41), или их варианты, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(iii) CDR1 α - SSVPPY (SEQ ID NO: 12),

CDR2 α - YTSAATLV (SEQ ID NO: 13),

CDR3 α - CAVRLSGSARQLTF (SEQ ID NO: 14),

CDR1 β - SGHAT (SEQ ID NO: 22),

CDR2 β - FQNGV (SEQ ID NO: 23), и

CDR3 β - CASSLLGDEQYF (SEQ ID NO: 24), или их варианты, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(iv) CDR1 α - SSVPPY (SEQ ID NO: 12),

CDR2 α - YTSAATLV (SEQ ID NO: 13),

CDR3 α - CAVRLSGSARQLTF (SEQ ID NO: 14),

CDR1 β - SGHTA (SEQ ID NO: 28),

CDR2 β - FQGNSA (SEQ ID NO: 29), и

CDR3 β - CASSLVALQGAGEQYF (SEQ ID NO: 30), или их варианты, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(v) CDR1 α - TSESDYY (SEQ ID NO: 17),

CDR2 α - QEAYKQQN (SEQ ID NO: 18),

CDR3 α - CAYRSLKYGNKLVF (ID NO: 19 SEQ),

CDR1 β - SGHAT (SEQ ID NO: 22),

CDR2 β - FQNGV (SEQ ID NO: 23), и

CDR3 β - CASSLLGDEQYF (SEQ ID NO: 24), или их варианты, каждый из которых содержит до

трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(vi) CDR1 α - TSESDYY (SEQ ID NO: 17),
 CDR2 α - QEAYKQQN (SEQ ID NO: 18),
 CDR3 α - CAYRSLKYGNKLVF (ID NO: 19 SEQ),
 CDR1 β - SGHTA (SEQ ID NO: 28),
 CDR2 β - FQGNSA (SEQ ID NO: 29), и
 CDR3 β - CASSLVALQGAGEQYF (SEQ ID NO: 30), или их варианты, каждый из которых содержит

до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(vii) CDR1 α - TSINN (SEQ ID NO: 45),
 CDR2 α - IRSNERE (SEQ ID NO: 46),
 CDR3 α - CATDAYSGNTPLVF (SEQ ID NO: 47),
 CDR1 β - MNHNS (SEQ ID NO: 55),
 CDR2 β - SASEGT (SEQ ID NO: 56), и
 CDR3 β - CASRAAGLDTEAFF (SEQ ID NO: 57), или их варианты, каждый из которых содержит до

трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(viii) CDR1 α - TSINN (SEQ ID NO: 45),
 CDR2 α - IRSNERE (SEQ ID NO: 46),
 CDR3 α - CATDAYSGNTPLVF (SEQ ID NO: 47),
 CDR1 β - MNHNY (SEQ ID NO: 61),
 CDR2 β - SVGAGI (SEQ ID NO: 62), и
 CDR3 β - CASTQTPYEQYF (SEQ ID NO: 63), или их варианты, каждый из которых содержит до

трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(ix) CDR1 α - TSINN (SEQ ID NO: 45),
 CDR2 α - IRSNERE (SEQ ID NO: 46),
 CDR3 α - CATDAYSGNTPLVF (SEQ ID NO: 47),
 CDR1 β - SGHNS (SEQ ID NO: 67),
 CDR2 β - FNNNVP (SEQ ID NO: 68), и
 CDR3 β - CASSTVGGEDYGYTF (SEQ ID NO: 69), или их варианты, каждый из которых содержит

до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(x) CDR1 α - DSAIYN (SEQ ID NO: 50),
 CDR2 α - IQSSQRE (SEQ ID NO: 51),
 CDR3 α - CAVRAEIYNQGGKLIF (SEQ ID NO: 52),
 CDR1 β - MNHNS (SEQ ID NO: 55),
 CDR2 β - SASEGT (SEQ ID NO: 56), и
 CDR3 β - CASRAAGLDTEAFF (SEQ ID NO: 57), или их варианты, каждый из которых содержит до

трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(xi) CDR1 α - DSAIYN (SEQ ID NO: 50),
 CDR2 α - IQSSQRE (SEQ ID NO: 51),
 CDR3 α - CAVRAEIYNQGGKLIF (SEQ ID NO: 52),
 CDR1 β - MNHNY (SEQ ID NO: 61),
 CDR2 β - SVGAGI (SEQ ID NO: 62), и
 CDR3 β - CASTQTPYEQYF (SEQ ID NO: 63), или их варианты, каждый из которых содержит до

трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(xii) CDR1 α - DSAIYN (SEQ ID NO: 50),
 CDR2 α - IQSSQRE (SEQ ID NO: 51),
 CDR3 α - CAVRAEIYNQGGKLIF (SEQ ID NO: 52),
 CDR1 β - SGHNS (SEQ ID NO: 67),
 CDR2 β - FNNNVP (SEQ ID NO: 68), и
 CDR3 β - CASSTVGGEDYGYTF (SEQ ID NO: 69), или их варианты, каждый из которых содержит

до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(xiii) CDR1 α - DSASNY (SEQ ID NO: 73),
 CDR2 α - IRSNVGE (SEQ ID NO: 74),
 CDR3 α - CAASMAGAGSYQLTF (SEQ ID NO: 75),
 CDR1 β - ENHRY (SEQ ID NO: 78),
 CDR2 β - SYGVKD (SEQ ID NO: 79), и
 CDR3 β - CAISVGQGALYEQYF (SEQ ID NO: 80), или их варианты, каждый из которых содержит

до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(xiv) CDR1 α - DSASNY (SEQ ID NO: 73),

CDR2 α - IRSNVGE (SEQ ID NO: 74),
 CDR3 α - CAASMAGAGSYQLTF (SEQ ID NO: 75),
 CDR1 β - SGDLS (SEQ ID NO: 84),
 CDR2 β - YYNGEE (SEQ ID NO: 85), и
 CDR3 β - CASSVARDRRNYGYTF (SEQ ID NO: 86), или их варианты, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(xv) CDR1 α - NSMFDY (SEQ ID NO: 90),
 CDR2 α - ISSIKDK (SEQ ID NO: 91),
 CDR3 α - CAANNARLMF (SEQ ID NO: 92),
 CDR1 β - SGHNS (SEQ ID NO: 95),
 CDR2 β - FNNNVP (SEQ ID NO: 96), и
 CDR3 β - CASSDTRAREQFF (SEQ ID NO: 97), или их варианты, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(xvi) CDR1 α - DSSSTY (SEQ ID NO: 101),
 CDR2 α - IFSNMDM (SEQ ID NO: 102),
 CDR3 α - CAERLNTDKLIF (SEQ ID NO: 103),
 CDR1 β - DFQATT (SEQ ID NO: 161),
 CDR2 β - SNEGSKA (SEQ ID NO: 162), и
 CDR3 β - CSARDSVSGNTIYF (SEQ ID NO: 163), или их варианты, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(xvii) CDR1 α - DSSSTY (SEQ ID NO: 101),
 CDR2 α - IFSNMDM (SEQ ID NO: 102),
 CDR3 α - CAERLNTDKLIF (SEQ ID NO: 103),
 CDR1 β - SQVTM (SEQ ID NO: 167),
 CDR2 β - ANQGSEA (SEQ ID NO: 168), и
 CDR3 β - CSVGGSGSYNEQFF (SEQ ID NO: 169), или их варианты, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(xviii) CDR1 α - DSVNN (ID NO: 106 SEQ),
 CDR2 α - IPSGT (SEQ ID NO: 107),
 CDR3 α - CAVEATDSWGKLQF (SEQ ID NO: 108),
 CDR1 β - DFQATT (SEQ ID NO: 161),
 CDR2 β - SNEGSKA (SEQ ID NO: 162), и
 CDR3 β - CSARDSVSGNTIYF (SEQ ID NO: 163), или их варианты, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(xix) CDR1 α - DSVNN (ID NO: 106 SEQ),
 CDR2 α - IPSGT (SEQ ID NO: 107),
 CDR3 α - CAVEATDSWGKLQF (SEQ ID NO: 108),
 CDR1 β - SQVTM (SEQ ID NO: 167),
 CDR2 β - ANQGSEA (SEQ ID NO: 168), и
 CDR3 β - CSVGGSGSYNEQFF (SEQ ID NO: 169), или их варианты, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(xx) CDR1 α - DSASNY (SEQ ID NO: 111),
 CDR2 α - IRSNVGE (SEQ ID NO: 112),
 CDR3 α - CAVRTSYDKVIF (SEQ ID NO: 113),
 CDR1 β - DFQATT (SEQ ID NO: 161),
 CDR2 β - SNEGSKA (SEQ ID NO: 162), и
 CDR3 β - CSARDSVSGNTIYF (SEQ ID NO: 163), или их варианты, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(xxi) CDR1 α - DSASNY (SEQ ID NO: 111),
 CDR2 α - IRSNVGE (SEQ ID NO: 112),
 CDR3 α - CAVRTSYDKVIF (SEQ ID NO: 113),
 CDR1 β - SQVTM (SEQ ID NO: 167),
 CDR2 β - ANQGSEA (SEQ ID NO: 168), и
 CDR3 β - CSVGGSGSYNEQFF (SEQ ID NO: 169), или их варианты, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(xxii) CDR1 α - VGISA (SEQ ID NO: 173),
 CDR2 α - LSSGK (SEQ ID NO: 174),
 CDR3 α - CAVTVGNKLVF (SEQ ID NO: 175),

CDR1 β - MNHNS (SEQ ID NO: 178),
 CDR2 β - SASEGT (SEQ ID NO: 179), и
 CDR3 β - CASRGWREQFF (SEQ ID NO: 180), или их варианты, каждый из которых содержит до
 трех аминокислотных замен, вставок или делеций;
 (xxiii) CDR1 α - VGISA (SEQ ID NO: 184),
 CDR2 α - LSSGK (SEQ ID NO: 185),
 CDR3 α - CAARSYNTDKLIF (SEQ ID NO: 186),
 CDR1 β - SGHTS (SEQ ID NO: 194),
 CDR2 β - YDEGEE (SEQ ID NO: 195), и
 CDR3 β - CASSWGYQETQYF (SEQ ID NO: 196), или их варианты, каждый из которых содержит до
 трех аминокислотных замен, вставок или делеций;
 (xxiv) CDR1 α - VGISA (SEQ ID NO: 184),
 CDR2 α - LSSGK (SEQ ID NO: 185),
 CDR3 α - CAARSYNTDKLIF (SEQ ID NO: 186),
 CDR1 β - KGSHS (SEQ ID NO: 200),
 CDR2 β - LQKENI (SEQ ID NO: 201), и
 CDR3 β - CASSPTGGEYYGYTF (SEQ ID NO: 202), или их варианты, каждый из которых содержит
 до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;
 (xxv) CDR1 α - VGISA (SEQ ID NO: 184),
 CDR2 α - LSSGK (SEQ ID NO: 185),
 CDR3 α - CAARSYNTDKLIF (SEQ ID NO: 186),
 CDR1 β - MNHEY (SEQ ID NO: 206),
 CDR2 β - SVGAGI (SEQ ID NO: 207), и
 CDR3 β - CASSYPLRTGRYNSYNSPLHF (SEQ ID NO: 208), или их варианты, каждый из которых
 содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;
 (xxvi) CDR1 α - NSMFDY (SEQ ID NO: 189),
 CDR2 α - ISSIKDK (SEQ ID NO: 190),
 CDR3 α - CAASYNNARLMF (SEQ ID NO: 191),
 CDR1 β - SGHTS (SEQ ID NO: 194),
 CDR2 β - YDEGEE (SEQ ID NO: 195), и
 CDR3 β - CASSWGYQETQYF (SEQ ID NO: 196), или их варианты, каждый из которых содержит до
 трех аминокислотных замен, вставок или делеций;
 (xxvii) CDR1 α - NSMFDY (SEQ ID NO: 189),
 CDR2 α - ISSIKDK (SEQ ID NO: 190),
 CDR3 α - CAASYNNARLMF (SEQ ID NO: 191),
 CDR1 β - KGSHS (SEQ ID NO: 200),
 CDR2 β - LQKENI (SEQ ID NO: 201), и
 CDR3 β - CASSPTGGEYYGYTF (SEQ ID NO: 202), или их варианты, каждый из которых содержит
 до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;
 (xxviii) CDR1 α - NSMFDY (SEQ ID NO: 189),
 CDR2 α - ISSIKDK (SEQ ID NO: 190),
 CDR3 α - CAASYNNARLMF (SEQ ID NO: 191),
 CDR1 β - MNHEY (SEQ ID NO: 206),
 CDR2 β - SVGAGI (SEQ ID NO: 207), и
 CDR3 β - CASSYPLRTGRYNSYNSPLHF (SEQ ID NO: 208), или их варианты, каждый из которых
 содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;
 (xxix) CDR1 α - NSMFDY (SEQ ID NO: 212),
 CDR2 α - ISSIKDK (SEQ ID NO: 213),
 CDR3 α - CAASGGRDDKIIF (SEQ ID NO: 214),
 CDR1 β - MNHEY (SEQ ID NO: 217),
 CDR2 β - SVGAGI (SEQ ID NO: 218), и
 CDR3 β - CASSYSRTESTDTQYF (SEQ ID NO: 219), или их варианты, каждый из которых содержит
 до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;
 (xxx) CDR1 α - NSMFDY (SEQ ID NO: 90),
 CDR2 α - ISSIKDK (SEQ ID NO: 91),
 CDR3 α - CAANNARLMF (SEQ ID NO: 92),
 CDR1 β - SGHRS (SEQ ID NO: 269),
 CDR2 β - YFSETQ (SEQ ID NO: 270), и

(xxxix) CDR1 α - DSASNY (SEQ ID NO: 111),
 CDR2 α - IRSNVGE (SEQ ID NO: 112),
 CDR3 α - CAVRTSYDKVIF (SEQ ID NO: 113),
 CDR1 β - SGHDY (SEQ ID NO: 286),
 CDR2 β - FNNNVP (SEQ ID NO: 287), и
 CDR3 β - CASSLGLSISQETQYF (SEQ ID NO: 288), или их варианты, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(xxxx) CDR1 α - DSSSTY (SEQ ID NO: 101),
 CDR2 α - IFSNMDM (SEQ ID NO: 102),
 CDR3 α - CAERLNTDKLIF (SEQ ID NO: 103),
 CDR1 β - DFQATT (SEQ ID NO: 280),
 CDR2 β - SNEGSKA (SEQ ID NO: 281), и
 CDR3 β - CSARDVLTGDYGYTF (SEQ ID NO: 282), или их варианты, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

(xxxxi) CDR1 α - DSVNN (SEQ ID NO: 106),
 CDR2 α - IPSGT (SEQ ID NO: 107),
 CDR3 α - CAVEATDSWGKLQF (SEQ ID NO: 108),
 CDR1 β - DFQATT (SEQ ID NO: 280),
 CDR2 β - SNEGSKA (SEQ ID NO: 281), и
 CDR3 β - CSARDVLTGDYGYTF (SEQ ID NO: 282), или их варианты, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций; или

(xxxxii) CDR1 α - DSASNY (SEQ ID NO: 111),
 CDR2 α - IRSNVGE (SEQ ID NO: 112),
 CDR3 α - CAVRTSYDKVIF (SEQ ID NO: 113),
 CDR1 β - DFQATT (SEQ ID NO: 280),
 CDR2 β - SNEGSKA (SEQ ID NO: 281), и
 CDR3 β - CSARDVLTGDYGYTF (SEQ ID NO: 282), или их варианты, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения предложен TCR настоящего изобретения, включающий:

(i) вариабельный домен α -цепи, включающий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 или ее вариант, обладающий по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, 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%, предпочтительно по меньшей мере 75% идентичностью последовательности с ней; и вариабельный домен β -цепи, включающий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 или ее вариант, обладающий по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, 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%, предпочтительно по меньшей мере 75% идентичностью последовательности с ней;

(ii) вариабельный домен α -цепи, включающий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37 или ее вариант, обладающий по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, 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%, предпочтительно по меньшей мере 75% идентичностью последовательности с ней; и вариабельный домен β -цепи, включающий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42 или ее вариант, обладающий по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, 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%, предпочтительно по меньшей мере 75% идентичностью последовательности с ней;

(iii) вариабельный домен α -цепи, включающий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15 или ее вариант, обладающий по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, 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%, предпочтительно по меньшей мере 75% идентичностью последовательности с ней; и вариабельный домен β -цепи, включающий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25 или ее вариант, обладающий по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, 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%, предпочтительно по меньшей мере 75% идентичностью последовательности с ней;

(iv) вариабельный домен α -цепи, включающий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15 или ее вариант, обладающий по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере

или по меньшей мере 99%, предпочтительно по меньшей мере 75% идентичностью последовательности с ней; и β -цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 259 или ее вариант, обладающий по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, 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%, предпочтительно по меньшей мере 75% идентичностью последовательности с ней.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения предложен TCR настоящего изобретения, включающий α -цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 261 или ее вариант, обладающий по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, 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%, предпочтительно по меньшей мере 75% идентичностью последовательности с ней; и β -цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 263 или ее вариант, обладающий по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, 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%, предпочтительно по меньшей мере 75% идентичностью последовательности с ней.

TCR настоящего изобретения может связываться с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из

EPASQHTLRSG (SEQ ID NO: 123),

YESDNHTTPIL (SEQ ID NO: 126),

NHTTPILCGAQYRIH (SEQ ID NO: 127),

QCLSAFTVHFSGQFT (SEQ ID NO: 118),

EDPMGQQGSLGEQQY (SEQ ID NO: 119),

SQLECMTWNQMNLGA (SEQ ID NO: 120),

APVLDFAAPGA (SEQ ID NO: 117),

NQMNLGATLKG (SEQ ID NO: 250),

DPGGIWAKLGAAEAS (SEQ ID NO: 251),

NHTTPILCGAQYRIH (SEQ ID NO: 252),

KRHQRRHTGVKPFQC (SEQ ID NO: 253),

PSCQKKFARSDELVR (SEQ ID NO: 254) и их вариантов, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен Т-клеточный рецептор (TCR), который связывается с пептидом белка опухоли Вильмса I (WT1), презентируемый главным комплексом гистосовместимости (МНС), где пептид WT1 включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из

EPASQHTLRSG (SEQ ID NO: 123),

YESDNHTTPIL (SEQ ID NO: 126),

NHTTPILCGAQYRIH (SEQ ID NO: 127),

QCLSAFTVHFSGQFT (SEQ ID NO: 118),

EDPMGQQGSLGEQQY (SEQ ID NO: 119),

SQLECMTWNQMNLGA (SEQ ID NO: 120),

APVLDFAAPGA (SEQ ID NO: 117),

NQMNLGATLKG (SEQ ID NO: 250),

DPGGIWAKLGAAEAS (SEQ ID NO: 251),

NHTTPILCGAQYRIH (SEQ ID NO: 252),

KRHQRRHTGVKPFQC (SEQ ID NO: 253),

PSCQKKFARSDELVR (SEQ ID NO: 254) и их вариантов, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций.

В одном варианте осуществления TCR настоящего изобретения связывается с пептидным комплексом МНС I и/или МНС II.

В одном варианте осуществления TCR настоящего изобретения рестриктирован аллелем человеческого лейкоцитарного антигена (HLA). В одном варианте осуществления TCR настоящего изобретения рестриктирован аллелем HLA-A или HLA-B. В одном варианте осуществления TCR настоящего изобретения рестриктирован аллелем HLA-A, выбранным из группы, состоящей из HLA-A*0201, HLA-A*0101, HLA-A*2402 и HLA-A*0301, или аллелем HLA-B, выбранным из группы, состоящей из HLA-B*0702, HLA-B*3501 и HLA-B*3502.

В одном варианте осуществления TCR настоящего изобретения рестриктирован HLA-A*0201.

В одном варианте осуществления TCR настоящего изобретения рестриктирован HLA-B*3502.

В одном варианте осуществления TCR настоящего изобретения рестриктирован HLA-B*3501.

В одном варианте осуществления TCR настоящего изобретения рестриктирован аллелем HLA-C. В одном варианте осуществления TCR настоящего изобретения рестриктирован аллелем HLA-C, выбранным из группы, состоящей из HLA-C*07:01, HLA-C*03:04, HLA-C*04:01, HLA-C*05:01, HLA-C*06:02 и HLA-C*07:02.

В одном варианте осуществления TCR настоящего изобретения включает одну или более мутаций в области соединения α -цепи/ β -цепи, такие, что, когда α -цепь и β -цепь экспрессируются в Т-клетке, частота ошибочного спаривания между указанными цепями и α и β -цепями эндогенного TCR снижена.

В одном варианте осуществления TCR настоящего изобретения включает одну или более мутаций в области соединения α -цепи/ β -цепи, такие, что, когда α -цепь и β -цепь экспрессируются в Т-клетке, уровень экспрессии α и β цепи TCR повышен.

В одном варианте осуществления одна или более мутаций вводят остаток цистеина в домен константной области каждой α -цепи и β -цепи, где остатки цистеина способны образовывать дисульфидную связь между α -цепью и β -цепью.

TCR настоящего изобретения может включать мурализованную константную область.

В одном варианте осуществления TCR изобретения является растворимым TCR.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий α -цепь Т-клеточного рецептора (TCR) настоящего изобретения и/или β -цепь TCR настоящего изобретения.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен выделенный полинуклеотид, включающий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 256 и/или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 258, или их варианты, обладающие по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, 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% идентичностью последовательности с ними.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен выделенный полинуклеотид, включающий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 260 и/или нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 262, или их варианты, обладающие по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, 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% идентичностью последовательности с ними.

В одном варианте осуществления выделенный полинуклеотид кодирует α -цепь, связанную с β -цепью. В одном варианте осуществления выделенный полинуклеотид кодирует одну или более последовательностей коротких интерферирующих РНК (миРНК) и/или одно или более других средств, способных снижать или блокировать экспрессию одного или более эндогенных генов TCR.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен вектор, включающий полинуклеотид настоящего изобретения. В одном варианте осуществления вектор включает полинуклеотид, который кодирует одну или более цепей CD3, CD8, суицидальный ген и/или селективный маркер.

В другом аспекте настоящего изобретения предложена клетка, включающая TCR настоящего изобретения, полинуклеотид настоящего изобретения или вектор настоящего изобретения.

В одном варианте осуществления клетка дополнительно включает вектор, который кодирует одну или более цепей CD3, CD8, суицидальный ген и/или селективный маркер.

В одном варианте осуществления клетка является Т-клеткой, лимфоцитом или стволовой клеткой, такой как гемопоэтические стволовые клетки или индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (иПС). Т-клетка, лимфоцит или стволовая клетка могут быть выбраны из группы, состоящей из CD4 клеток, CD8 клеток, Th0 клеток, Tc0 клеток, Th1 клеток, Tc1 клеток, Th2 клеток, Tc2 клеток, Th17 клеток, Th22 клеток, гамма/дельта Т-клеток, естественных киллерных клеток (NK), естественных киллерных Т-клеток (NKT), двойных отрицательных Т-клеток, наивных Т-клеток, стволовых Т-клеток памяти, Т-клеток центральной памяти, эффекторных Т-клеток памяти, эффекторный Т-клеток, гемопоэтических стволовых клеток и плюрипотентных стволовых клеток.

В одном варианте осуществления клетка является Т-клеткой, которая была выделена у субъекта.

В одном варианте осуществления эндогенный ген, кодирующий α -цепь TCR, и/или эндогенный ген, кодирующий β -цепь TCR, в клетке прерван, предпочтительно таким образом, что эндогенный ген, кодирующий α -цепь TCR, и/или эндогенный ген, кодирующий β -цепь TCR, не экспрессируется. В одном варианте осуществления эндогенный ген, кодирующий α -цепь TCR и/или эндогенный ген, кодирующий β -цепь TCR, прерван в результате вставки кассеты экспрессии, включающей полинуклеотидную последовательность, кодирующую TCR настоящего изобретения. В одном варианте осуществления один или более эндогенных генов, кодирующих МНС, в клетке прерваны, где клетка предпочтительно является неаллореактивной универсальной Т-клеткой. В одном варианте осуществления эндогенный ген, участвующий в персистенции, размножении, активности, устойчивости к сигналам истощения/старения/ингибирования, хоуминг-способности или других функциях Т-клеток в клетке, прерван, где эндогенный ген, участвующий в персистенции, размножении, активности, устойчивости к сигналам истощения/старения/ингибирования, хоуминг-способности или других функциях Т-клеток, предпочтительно выбран из группы, состоящей из PD1, TIM3, LAG3, 2B4, KLRG1, TGFbR, CD160 и CTLA4. В одном варианте осуществления эндогенный ген, участвующий в персистенции, размножении, активности, устойчивости к сигналам истощения/старения/ингибирования, хоуминг-способности или других функциях Т-клеток, прерван в результате интеграции кассеты экспрессии, где кассета экспрессии вклю-

чает полинуклеотидную последовательность, кодирующую TCR настоящего изобретения.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен способ получения клетки, который включает этап введения вектора изобретения в клетку *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo*, например, путем трансфекции или трансдукции.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен способ получения клетки, который включает этап трансдукции клетки *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo* одним или более векторами настоящего изобретения.

В одном варианте осуществления клетка, которая подлежит трансдукции одним или более векторами, выбрана из группы, состоящей из Т-клеток, лимфоцитов или стволовых клеток, таких как гемопоэтические стволовые клетки или индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (иПС), необязательно Т-клетка, лимфоцит или стволовая клетка могут быть выбраны из группы, состоящей из CD4 клеток, CD8 клеток, Th0 клеток, Tc0 клеток, Th1 клеток, Tc1 клеток, Th2 клеток, Tc2 клеток, Th17 клеток, Th22 клеток, гамма/дельта Т-клеток, естественных киллерных клеток (NK), естественных киллерных Т-клеток (NKT), двойных отрицательных Т-клеток, наивных Т-клеток, стволовых Т-клеток памяти, Т-клеток центральной памяти, эффекторных Т-клеток памяти, эффекторных Т-клеток, гемопоэтических стволовых клеток и плюрипотентных стволовых клеток.

В одном варианте осуществления способ включает этап редактирования Т-клеток, который включает прерывание эндогенного гена, например, эндогенного гена, кодирующего α -цепь TCR, и/или эндогенного гена, кодирующего β -цепь TCR, с помощью искусственной нуклеазы, где искусственная нуклеаза предпочтительно выбрана из группы, состоящей из цинк-пальцевых нуклеаз (ZFN), подобных активаторам транскрипции эффекторных нуклеаз (TALEN) и системы CRISPR/Cas.

В одном варианте осуществления способ включает этап редактирования Т-клеток, который включает прерывание эндогенного гена, кодирующего α -цепь TCR, и/или эндогенного гена, кодирующего β -цепь TCR, с помощью искусственной нуклеазы, где искусственная нуклеаза предпочтительно выбрана из группы, состоящей из цинк-пальцевых нуклеаз (ZFN), подобных активаторам транскрипции эффекторных нуклеаз (TALEN) и системы CRISPR/Cas.

В одном варианте осуществления способ включает этап направленной интеграции кассеты экспрессии в эндогенный ген, кодирующий α -цепи TCR, и/или эндогенный ген, кодирующий β -цепь TCR, прерванный с помощью искусственной нуклеазы, где кассета экспрессии включает полинуклеотид, кодирующий TCR настоящего изобретения или полинуклеотидную последовательность настоящего изобретения.

В одном варианте осуществления способ включает этап прерывания одного или более эндогенных генов, кодирующих MHC, где клетка, полученная с применением данного способа, предпочтительно является неаллореактивной универсальной Т-клеткой.

В одном варианте осуществления способ включает этап прерывания одного или более эндогенных генов MHC, где клетка, полученная с применением данного способа, предпочтительно является неаллореактивной универсальной Т-клеткой.

В одном варианте осуществления способ включает этап прерывания одного или более эндогенных генов с целью модификации персистенции, размножения, активности, устойчивости к сигналам истощения/старения/ингибирования, хоуминг-способности или других функций Т-клеток, где способ предпочтительно включает этап направленной интеграции кассеты экспрессии в эндогенный ген, участвующий в персистенции, размножении, активности, устойчивости к сигналам истощения/старения/ингибирования, хоуминг-способности или других функциях Т-клеток, прерванный с помощью искусственной нуклеазы, где кассета экспрессии включает полинуклеотидную последовательность, кодирующую TCR настоящего изобретения, где эндогенный ген предпочтительно выбран из группы, состоящей из PD1, TIM3, LAG3, 2B4, KLRG1, TGF β R, CD160 и CTLA4.

В другом аспекте настоящего изобретения предложена клетка настоящего изобретения или клетка, полученная способом настоящего изобретения, для применения в адоптивном переносе клетки, предпочтительно адоптивном переносе Т-клетки, при этом, необязательно, адоптивный перенос Т-клетки может быть адоптивным переносом аллогенной Т-клетки, переносом универсальной неаллореактивной Т-клетки или адоптивным переносом аутологичной Т-клетки.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен TCR настоящего изобретения, выделенный полинуклеотид настоящего изобретения, вектор настоящего изобретения, клетка настоящего изобретения, клетка, полученная способом настоящего изобретения, или химерная молекула настоящего изобретения для применения в терапии.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен TCR настоящего изобретения, выделенный полинуклеотид настоящего изобретения, вектор настоящего изобретения, клетка настоящего изобретения, клетка, полученная способом настоящего изобретения, для применения в лечении и/или предотвращении заболевания, связанного с экспрессией WT1.

В другом аспекте настоящего изобретения предложена Т-клетка, генетически модифицированная (генетически отредактированная) с целью модификации персистенции, размножения, активности, устойчивости к сигналам истощения/старения/ингибирования, хоуминг-способности или других функ-

ций Т-клеток, где Т-клетка экспрессирует α -цепь TCR настоящего изобретения и/или β -цепь TCR настоящего изобретения.

В другом аспекте настоящего изобретения предложена Т-клетка, генетически модифицированная (генетически отредактированная) с помощью методики, которая включает этап направленной интеграции кассеты экспрессии в эндогенный ген, участвующий в персистенции, размножении, активности, устойчивости к сигналам истощения/старения/ингибирования, хоуминг-способности или других функциях Т-клеток, прерванный с помощью искусственной нуклеазы, где кассета экспрессии включает полинуклеотидную последовательность, кодирующую α -цепь TCR настоящего изобретения и/или β -цепь TCR настоящего изобретения.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен способ лечения и/или предотвращения заболевания, связанного с экспрессией WT1, который включает этап введения TCR настоящего изобретения, выделенного полинуклеотида настоящего изобретения, вектора настоящего изобретения, клетки настоящего изобретения, клетки, полученной с применением данного способа настоящего изобретения, или химерной молекулы настоящего изобретения нуждающемуся в этом субъекту.

Заболевание, связанное с экспрессией WT1, может быть пролиферативным нарушением. Предпочтительно пролиферативное нарушение может быть выбрано из группы, состоящей из гемобластозов, таких как острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), лимфообластный лейкоз, миелодиспластические синдромы, множественная миелома, неходжкинская лимфома, лимфома Ходжкина. Проллиферативное нарушение может быть выбрано из группы солидных опухолей, таких как рак легкого, рак молочной железы, рак пищевода, рак желудка, рак толстой кишки, холангиокарцинома, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак головы и шеи, синовиальная саркома, ангиосаркома, остеогенная саркома, рак щитовидной железы, рак эндометрия, нейробластома, рабдомиосаркома, рак печени, меланома, рак предстательной железы, рак почки, саркома мягких тканей, уротелиальный рак, рак желчных протоков, глиобластома, мезотелиома, рак шейки матки и рак толстой и прямой кишки.

В предпочтительном варианте осуществления заболевание, связанное с экспрессией WT1, является острым миелоидным лейкозом (ОМЛ).

В другом предпочтительном варианте осуществления заболевание, связанное с экспрессией WT1, является хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ).

В другом аспекте настоящего изобретения предложен выделенный иммуногенный пептид WT1, включающий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из

EPASQHTLRSG (SEQ ID NO: 123),
YESDNHTTPIL (SEQ ID NO: 126),
NHTTPILCGAQYRIH (SEQ ID NO: 127),
QCLSAFTVHFSGQFT (SEQ ID NO: 118),
EDPMGQQGSLGEQQY (SEQ ID NO: 119),
SQLECMTWNQMNLGA (SEQ ID NO: 120),
APVLDFAFPPGA (SEQ ID NO: 117),
NQMNLGATLKG (SEQ ID NO: 250),
DPGGIWAKLGAAEAS (SEQ ID NO: 251),
NHTTPILCGAQYRIH (SEQ ID NO: 252),
KRHQRRHTGVKPFQC (SEQ ID NO: 253),
PSCQKKFARSDELVR (SEQ ID NO: 254) и их вариантов, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций.

Описание чертежей

Фиг. 1. Графики, на которых показаны результаты *in vitro* размножения функциональных WT1-специфичных Т-клеток из периферической крови десяти здоровых доноров.

Мононуклеарные клетки периферической крови десяти здоровых доноров (HD) стимулировали пулами перекрывающихся 15-мерных пептидов WT1 в течение 26-30 ч, обогащали CD137+ клетками и размножали в течение 9-19 дней. Размноженные Т-клетки повторно стимулировали в течение 6 часов с аутологичными антигенпрезентирующими клетками (АПК), нагруженными пулом нерелевантных пептидов или пулом пептидов WT1. Кроме того, отрицательный (нестимулированные Т-клетки) и положительный (Т-клетки, культивируемые в присутствии ФМА и иономицина) контроли были включены в условия эксперимента (не показаны). На точечных диаграммах показаны результаты внутриклеточного окрашивания на продукцию IFN γ и экспонирование CD107a на поверхности клеток. После нескольких повторных стимуляций аутологичными АПК, нагруженными пулами пептидов WT1, специфичность Т-клеток исследовали с помощью внутриклеточного окрашивания, как описано ранее. Результаты показали обогащение WT1-специфичных Т-клеток в категории CD8 Т-клеток на HD1 (a), HD3 (c), HD4 (d), HD5 (e), HD6 (f), HD7 (g) и HD10 (j) и в категории CD4 Т-клеток на HD2 (b), HD8 (h) и HD9 (i). WT1, белок опухоли Вильямса 1; ФМА, форбол-12-миристан 13-ацетат; IFN γ , интерферон- γ ; S, стимуляция.

Фиг. 2. Таблица и диаграммы, на которых показана идентификация WT1-иммуногенных пептидов с применением стратегии сетки картирования.

Эпитопы, распознаваемые Т-клетками, стимулированными *in vitro* при повторной стимуляции пулом перекрывающихся пептидов WT1, идентифицировали с помощью внутриклеточного окрашивания. В частности, оценивали процент специфичных Т-клеток, отвечающих на сетку картирования субпулов пентадекапептидов WT1, нагруженных на АПК. Кроме того, отрицательный (нестимулированные Т-клетки и Т-клетки, совместно культивируемые с АПК, нагруженными пулом нерелевантных пептидов) и положительный (Т-клетки, культивируемые в присутствии ФМА и иономицина) контроли включали в условия эксперимента (нестимулированные Т-клетки и условия ФМА/ионо не показаны).

(а) Сетка деконволюции указывает процент Т-клеток, экспрессирующих IFN γ и CD107a после сокультивирования с АПК, нагруженными различными субпулами (обозначенные SP1-24). Значения IFN γ и CD107a, выделенные жирным шрифтом, обозначают субпулы, которые содержат эпитоп WT1, распознаваемый Т-клетками. Представлены репрезентативные точечные диаграммы для сокультуры Т-клеток с АПК, нагруженными положительными субпулами, и показывающие экспрессию IFN γ и CD107a. Доминантные ответы наблюдали для: субпулов 4, 5, 16 у HD1 (b), HD3 (d), HD6 (g), HD7 (h), HD10 (k); субпулов 6, 16, 17, 20, 23 у HD2 (c); субпулов 4, 5, 6, 14, 18, 21 у HD4 (e); субпулов 5, 11, 12, 21, 22 у HD5 (f); субпулов 12, 14 у HD8 (i); субпулов 5, 13, 21 у HD9 (j). Для HD7 также наблюдали повышенную секрецию IFN γ и экспрессию CD107a в ответ на субпулы 7, 8, 20, хотя и с более низкими процентами по сравнению с ответом, наблюдаемым с субпулами 4, 5, 16. SP, субпулы; WT1, белок опухоли Вильмса 1; АПК, антигенпрезентирующие клетки; ФМА, форбол-12-миристан-13-ацетат; IFN γ , интерферон- γ .

Фиг. 3. Эпитопная специфичность WT1-специфичных Т-клеток, полученных при сенсibilизации пулами пептидов.

Для проверки WT1 иммуногенных пептидов Т-клетки, размноженные от каждого HD, совместно культивировали в течение 6 часов в присутствии АПК, нагруженных пептидами, идентифицированными после деконволюции сетки картирования, и по меньшей мере одним нерелевантным пептидом в качестве отрицательного контроля. Кроме того, отрицательный (нестимулированные Т-клетки) и положительный (Т-клетки, культивируемые в присутствии ФМА и иономицина) контроли включали в условия эксперимента (не показаны). На точечных диаграммах для каждого HD показаны результаты внутриклеточного окрашивания на IFN γ и/или поверхностный CD107a. Обогащение CD107a и/или IFN γ -положительными клетками, соответственно, наблюдали для Т-клеток, совместно культивированных с пептидами 40 и 41, у HD1 (a), но не с пептидами 42 и 43 (нерелевантные пептиды); пептидами 54, 77, 90 у HD2 (b), но не с пептидами 42 и 138 (нерелевантные пептиды); пептидом VLDFAPPGA (SEQ ID NO: 157, VLD, который является нонамером пептида, представленного SEQ ID NO: 117 (обозначен как "11-мер" на фиг. 3c)) у HD3 (c) и низкий ответ с пептидами PVLDFAPPG (SEQ ID NO: 158, PVL, который является другим нонамером пептида, представленного SEQ ID NO: 117), и LDFAPPGAS (SEQ ID NO: 159, LDF, который является нонамером пептида, представленного SEQ ID NO: 116, ранее описанного как иммуногенный пептид (Dobrovina, E. et al. (2012) Blood 120: 1633-1646)); пептидами 17, 18, 99, 100 у HD4 (d, e), а не для нерелевантных пептидов (15, 16, 63-66, 101, 102 и 132); пептид 101 для HD5 (f), но не с нерелевантными пептидами (63, 107, 108, 113, 119 и 120); пептидом VLDFAPPGA (SEQ ID NO: 157, VLD, который является нонамером пептида, представленного SEQ ID NO: 117 (обозначенного как "11-мер" на фиг. 3c)) у HD6 (g) и пептидом PVLDFAPPG (SEQ ID NO: 158, PVL, который является другим неамером пептида, представленного SEQ ID NO: 117), но не с пептидом LDFAPPGAS (SEQ ID NO: 159, LDF, который является нонамером пептида, представленного SEQ ID NO: 116, ранее описанного как иммуногенный пептид (Dobrovina, E. et al. (2012) Blood 120: 1633-1646)); пептидами 101, 125, 137 у HD9 (h); пептидом VLDFAPPGA (SEQ ID NO: 157, VLD, который является нонамером пептида, представленного SEQ ID NO: 117 (обозначенного как "11-мер" на фиг. 3c)) у HD10 (i), но не с нерелевантным пептидом. У HD7 и HD8 из-за недостаточного соответствия Т-клеток было невозможно выполнить функциональные тесты для проверки пептида, предсказанного при деконволюции сетки картирования, т.е. пептидов 40, 41, 91, 92 у HD7 и пептида 24 у HD8.

Для определения HLA-рестрикции эпитопов WT1, идентифицированных для HD4, HD5 и HD10 Т-клеток, ДНК доноров секвенировали для определения HLA-типирования. После этого WT1-специфичные Т-клетки совместно культивировали с различными антигенпрезентирующими клеточными линиями EBV-BLCL, каждая из которых несет специфический HLA аллель, представляющий интерес, который идентифицировали путем секвенирования ДНК HD4, HD5 или HD10. Клетки EBV-BLCL сенсibilизировали пептидом 17 для HD4, пептидом 101 для HD5 и пептидом VLDFAPPGA (SEQ ID NO: 157) или нерелевантным контрольным пептидом. После совместного культивирования в течение 6 часов наблюдали значимый ответ на WT1 WT1-специфичных Т-клеток, которые совместно культивировали с клетками EBV-BLCL, экспрессирующими аллель HLA-B*3502 и сенсibilизированными пептидом 17 для HD4 (j), клетками EBV-BLCL, экспрессирующими аллель HLA-B*3501 и сенсibilизированными пептидом 101 для HD5 (k), и клетками EBV-BLCL, экспрессирующими аллель HLA-A*0201 и сенсibilизированными пептидом VLDFAPPGA (SEQ ID NO: 157) для HD10 (l). (m) Таблица, в которой показаны пептиды, распознаваемые размноженными Т-клетками от HD1-HD10. Для HD3, HD6 и HD10 показаны специфические нонамерные перекрывающиеся пептиды 40 и 41, вызывающие иммунный ответ. WT1,

белок опухоли Вильмса 1; АПК, антигенпрезентирующие клетки; ФМА, 2, форбол-12-миристан-13-ацетат; IFN γ , интерферон- γ ; S, стимуляция.

Фиг. 4. Графики и диаграммы, на которых показано, что размноженные Т-клетки HD1, HD3 и HD4 распознают природно процессированный эпитоп WT1

(а) График, на котором показана экспрессия CD107 CD8⁺ Т-клетками, размноженными от HD1 после совместного культивирования с клетками T2, сенсibilизированными пулом WT1, клетками K562, генетически модифицированными для экспрессии аллеля HLA-A*0201 и оверэкспрессии белка WT1, или клетками T2, сенсibilизированными неспецифичным контрольным пулом MelanA/MART1 в качестве отрицательного контроля.

(б) График, на котором показаны результаты экспериментов по определению способности HD3 размножившихся Т-клеток направленно взаимодействовать с WT1-экспрессирующими клетками. Результаты представлены как индекс элиминации, который вычисляли как общее количество клеток-мишеней, оставшихся в культуре после совместно культивирования с WT1-специфичными Т-клетками, деленное на общее количество клеток-мишеней в отдельности. Т-клетки HD3 совместно культивировали с клетками T2, сенсibilизированными субпулом 16 (SP16), содержащим иммуногенный пептид, вызывающий иммунный ответ; клетками T2, сенсibilизированными пулом MelanA/MART1 (Melan A) в качестве отрицательного контроля; клетками K562 дикого типа (K562) или генетически модифицированными для экспрессии аллеля HLA-A*0201 и оверэкспрессии белка WT1 (K562 A2+WT1+).

(с) Диаграммы, на которых представлены результаты экспериментов по определению способности WT1-специфичных Т-клеток от HD4 элиминировать клетки-мишени. Т-клетки HD4 совместно культивировали с первичными CD33⁺ бластами, полученными от HLA-B*3502 пациента в соотношении 10:1, или, в качестве контроля, с лейкозными клетками пациента, не несущего аллель HLA-B*3502. После 3 дней сокультивирования результаты показывают почти полное устранение CD33⁺ HLA-B*3502 бластов при посеве с WT1-специфичными Т-клетками (CD3⁺ клетками). Е, эффектор; Т, мишень.

Фиг. 5. График, на котором показаны результаты V β профилирования WT1-специфичных Т-клеток WT1-специфичные Т-клетки, полученные от разных HD после нескольких стимуляций пулом WT1, окрашивали с помощью набора для V β иммунопрофилирования, для определения клональности популяции. В частности, экспрессию генов варибельных доменов (V) β -цепи определяли с помощью FACS анализа. Результаты указывают на экспрессию высокодоминантного гена V β у HD1 (TRBV12-3; 12-4), HD2 (TRBV11-2), HD3 (TRBV4-3), HD5 (TRBV20-1), тогда как у HD4, HD6, HD10 четкого обогащения определенными V β не было обнаружено. SP14 HD4 указывает на Т-клетки, стимулированные субпулом 14, который содержит пептиды 17-18, вызывающие наиболее сильный иммунный ответ; SP18+21 HD4 указывает на Т-клетки, стимулированные субпулами 18 и 21, которые содержат пептиды 63-64-65-66 и 99-100-101-102, соответственно, вызывающие минимальный иммунный ответ, как показано на фиг. 3. Для HD7, HD8 и HD9 не удалось выполнить анализ V β иммунопрофилирования из-за недостаточного качества клеток.

Фиг. 6. Графики, на которых показаны результаты секвенирования TCR обогащенных WT1-специфичных Т-клеток в зависимости от времени Т-клетки, полученные от каждого здорового донора, включенного в условия эксперимента, исследовали путем секвенирования $\alpha\beta$ TCR после нескольких стимуляций пулом WT1. Результаты секвенирования показали присутствие преобладающих клонотипов для HD1 (а), HD2 (б) и HD3 (с), HD4 (д), HD5 (е), HD6 (ф), HD7 (г), HD8 (х), HD9 (и), HD10 (j). На гистограммах показаны десять преобладающих аминокислотных последовательностей CDR3, идентифицированных в каждой точке времени (например, S9 соответствует результатам секвенирования, полученным после 9-го раунда стимуляции). Для каждого столбца, от оси X, нижний сегмент представляет наиболее преобладающую CDR-последовательность. Следующие девять наиболее преобладающих последовательностей расположены над нижним сегментом и упорядочены по уменьшению частоты снизу вверх. Остальные последовательности сгруппированы в верхнем сегменте. WT1, белок опухоли Вильмса 1; CDR3, определяющая комплементарность область 3; S, стимуляция.

Фиг. 7. Функциональная активность генетически модифицированных Т-лимфоцитов.

Т-клетки, выделенные из МКПК здоровых лиц, трансдуцировали двунаправленным лентивирусным вектором, кодирующим α и β -цепь TCR-рецепторов, выделенных у HD1 и HD3. В качестве контроля трансдуцировали Т-клетки с ранее опубликованным TCR, распознающим пептид 126-134 WT1 (RMFPNAPYL; SEQ ID NO: 255), презентированный аллелем HLA-A*0201. Т-лимфоциты для переноса (TR) совместно культивировали в течение 3 дней с (а) клетками T2, сенсibilизированными или не сенсibilизированными пептидом WT1 126-134 или пептидом VLDFAPPGA (SEQ ID NO: 157) (соотношение эффектор:мишень=1:1); (б) клетками K562 дикого типа (K562) или генетически модифицированными для экспрессии аллеля HLA-A*0201 (соотношение эффектор:мишень=1:1); (с) 3 различными первичными ОМЛ бластами, отобранными по экспрессии аллеля HLA-A*0201 и антигена WT1 (соотношение эффектор:мишень=5:1). В качестве контроля для совместного культивирования с линиями клеток T2 и K562 включали нетрансдуцированные Т-клетки. Результаты продемонстрировали способность каждого TCR распознавать пептид-мишень, презентированный аллелем HLA-A*0201 (фиг. 7а) и более высокий

потенциал HD1 TCR-трансдуцированных Т-клеток в опосредовании специфичной и почти полной элиминации клеток K562, несущих аллель HLA*A0201 по сравнению с HD3-TR Т-клетками. Следует отметить, что не наблюдали никакого значимого киллинга клеток-мишеней при совместном культивировании клеток K562 HLA*A0201 с WT1 126-134 TR Т-клетками (фиг. 7b). Эти результаты также подтверждались данными, полученными в эксперименте по совместному культивированию, который проводили при использовании в качестве клеток-мишеней первичных ОМЛ бластов, полученных от 3 различных пациентов с ОМЛ (бласты рAML1: WT1-/HLA-A*0201+; бласты рAML2 и рAML3: WT1+/HLA-A*0201+). В этом эксперименте каждую отдельную популяцию Т-клеток сортировали с определенными декстрамерами перед совместным культивированием с мишенями с целью обогащения чистоты эффекторных клеток. Наблюдали более сильную элиминацию обоих рAML бластов, несущих аллель HLA-A*0201, при совместном культивировании с HD1 TR Т-клетками, тогда как HD3 Т и WT1 126-134 Т-клетки распознавали только бласты рAML3. UT, нетрансдуцированный, рAML, первичный острый миелоидный лейкоз; TR, перенос; Dx, декстрамер.

Подробное описание

Термины "включающий", "включает" и "включает в себя" при использовании в настоящем документе синонимичны терминам "содержащий" или "содержит" и являются включительными или открытым и не исключают дополнительные, неуказанные элементы или этапы. Термины "включающий", "включает" и "включает в себя" также включают термин "состоящий из".

Т-клеточный рецептор.

В ходе процессинга антигенов антигены расщепляются в клетках и затем переносятся на поверхность клеток молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС). Т-клетки способны распознавать такой комплекс пептида:МНС на поверхности антигенпрезентирующей клетки. Существует два разных класса молекул МНС: МНС I и МНС II, каждый класс доставляет пептиды из различных клеточных компартментов на поверхность клеток.

Т-клеточный рецептор (TCR) представляет собой молекулу, которая может быть обнаружена на поверхности Т-клеток и отвечает за распознавание антигенов, связанных с молекулами МНС. Природный гетеродимер TCR состоит из альфа (α) и бета (β) цепи приблизительно у 95% Т-клеток, тогда как приблизительно 5% Т-клеток имеют TCR-рецепторы, состоящие из гамма (γ) и дельта (δ) цепи.

Связывание TCR с антигеном и МНС приводит к активации Т-лимфоцита, на котором экспрессирован TCR, посредством последовательности биохимических событий, опосредуемых соответствующими ферментами, корецепторами и специализированными вспомогательными молекулами.

Каждая цепь природного TCR является членом супер семейства иммуноглобулинов и обладает одним N-концевым иммуноглобулиновым (Ig)-варибельным (V) доменом, одним Ig-константным (C) доменом, трансмембранной/проходящей через клеточную мембрану областью и коротким цитоплазматическим хвостом на C-конце.

Варибельный домен и α -цепи и β -цепи TCR содержит три гиперварибельных или определяющих комплементарность области (CDRs). α -Цепь или β -цепь TCR, например, включает CDR1, CDR2 и CDR3 в порядке от N-конца к C-концу. Как правило, CDR3 является главной CDR, которая отвечает за распознавание процессированного антигена, хотя CDR1 альфа-цепи, как было также показано, взаимодействует с N-концевой частью антигенного пептида, тогда как CDR1 бета-цепи взаимодействует с C-концевой частью пептида. Предполагают, что CDR2 распознает молекулу МНС.

Константный домен TCR может состоять из коротких соединительных последовательностей, в которых остаток цистеина образует дисульфидную связь, соединяя две цепи.

α -Цепь TCR настоящего изобретения может иметь константный домен, кодируемый геном TRAC. Примерная аминокислотная последовательность константного домена α -цепи, кодируемая геном TRAC, показана ниже:

```
IQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVQSQKSDSVYITDKTVLDMRSM
DFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESCDVKLVEKSFETDTNLFQNLNLS
VIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS
(SEQ ID NO: 128)
```

TCR настоящего изобретения может включать α -цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 128 или ее вариант, обладающий по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с ней, предпочтительно по меньшей мере 75% идентичностью последовательности с ней.

β -Цепь TCR настоящего изобретения может иметь константный домен, кодируемый геном TRBC1 или TRBC2. Примерная аминокислотная последовательность константного домена β -цепи, кодируемая геном TRBC1, показана ниже:

```
DLNKVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWVWNGKEVHSG
VSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNP RNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDR
AKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAM
```

VKRKDF
(SEQ ID NO: 129)

Примерная аминокислотная последовательность константного домена β -цепи, кодируемая геном TRBC2, показана ниже:

DLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELSWVWNGKEVHSG
VSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDR
AKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSAVLMMAM
VKRKDSRG
(SEQ ID NO: 130)

TCR настоящего изобретения может включать β -цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130 или варианты SEQ ID NO: 129 и 130, обладающие по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с ними, предпочтительно по меньшей мере 75% идентичностью последовательности с ними.

TCR настоящего изобретения может иметь один или более дополнительных остатков цистеина в каждой из α и β -цепей, в результате чего TCR может включать две или более дисульфидных связи в константных доменах.

Структура позволяет TCR связываться с другими молекулами, такими как CD3, которые обладают тремя разными цепями (γ , δ и ϵ) у млекопитающих и ζ -цепью. Эти вспомогательные молекулы имеют отрицательно заряженные трансмембранные области и жизненно важны для передачи сигнала от TCR в клетку. CD3- и ζ -цепи вместе с TCR, образуют комплекс, известный как комплекс T-клеточного рецептора.

Сигнал от T-клеточного комплекса усиливается при одновременном связывании молекул МНС специфичным корецептором. У Т-хелперов этим корецептором является CD4 (специфический для МНС класса II); тогда как у цитотоксических Т-клеток этим корецептором является CD8 (специфический для МНС класса I). Корецептор обеспечивает более длительное связывание между антигенпрезентирующей клеткой и Т-клеткой и рекрутирует необходимые молекулы (например, LCK) в клетке, участвующие в передаче сигналов активированного Т-лимфоцита.

Таким образом, при использовании в настоящем документе термин "Т-клеточный рецептор" (TCR) относится к молекуле, способной к распознаванию пептида, презентируемого молекулой МНС. Молекула может быть гетеродимером из двух α и β -цепей (или, необязательно, γ и δ), или она может быть одноцепочечной TCR конструкцией. TCR настоящего изобретения может быть растворимым TCR, например, не содержащим или содержащим измененные один или более константных доменов. TCR настоящего изобретения может включать константный домен.

В настоящем изобретении также предложена α -цепь или β -цепь из такого Т-клеточного рецептора.

TCR настоящего изобретения может быть гибридным TCR, включающим последовательности, полученные больше чем из одного биологического вида. Например, было неожиданно обнаружено, что мышинные TCR-рецепторы более эффективно экспрессируются в человеческих Т-клетках, чем человеческие TCR-рецепторы. Таким образом, TCR может включать человеческую варибельную область и мышинные последовательности в константной области.

Недостаток этого подхода заключается в том, что мышинные константные последовательности могут вызывать иммунный ответ, который приводит к отторжению Т-клеток после их переноса. Однако схемы кондиционирования, используемые для подготовки пациентов к адоптивной Т-клеточной терапии, могут приводить к достаточной иммуносупрессии, что дает возможность приживания Т-клеток, экспрессирующих мышинные последовательности.

Определяющие комплементарность (CDR) области.

Фрагмент TCR, который формирует большую часть контактов с антигенным пептидом, связанным с главным комплексом гистосовместимости (МНС), является определяющей комплементарностью областью 3 (CDR3), которая уникальна для каждого Т-клеточного клона. Область CDR3 образуется в ходе событий соматической перестройки, происходящих в тимусе, в которых участвуют несмежные гены, принадлежащие к варибельным (V), формирующим разнообразие (D, для β и δ цепей) и соединительным (J) генам. Кроме того, случайные нуклеотиды, вставленные/удаленные в перестраиваемых локусах гена каждой цепи TCR, значительно увеличивают разнообразие высоковарибельной последовательности CDR3. Таким образом, частота специфической последовательности CDR3 в биологическом образце указывает на представленность определенной популяции Т-клеток. Большое разнообразие репертуара TCR у здоровых людей обеспечивает защиту широкого спектра против различных чужеродных антигенов, презентируемых молекулами МНС на поверхности антигенпрезентирующих клеток. В этом отношении следует отметить, что теоретически в тимусе может образовываться до 10^{15} различных TCR-рецепторов.

Разнообразие Т-клеточных рецепторов основано на CDR3, и эта область главным образом ответственна за распознавание антигена.

Последовательности CDR3 областей TCR настоящего изобретения могут быть выбраны из последо-

вательностей, приведенных в табл. 1 ниже. TCR может включать CDR-области, которые включают или состоят из пары CDR3 α и CDR3 β , описанной ниже.

CDR-области могут, например, включать одну, две или три замены, вставки или делеции в данной последовательности, при условии, что TCR сохраняет возможность связывать пептид WT1, презентированный молекулой MHC.

При использовании в настоящем документе термин "белок" включает одноцепочечные полипептидные молекулы, а также комплексы из множества полипептидов, где отдельные полипептиды, входящие в их состав, связаны ковалентными или нековалентными способами. При использовании в настоящем документе термин "полипептид" относится к полимеру, в котором мономерами являются аминокислоты, соединенные дисульфидными или пептидными связями.

Варианты, производные, аналоги, гомологи и фрагменты.

В дополнение к конкретным белкам и полинуклеотидам, указанным в настоящем документе, настоящее изобретение также охватывает применение их вариантов, производных, аналогов, гомологов и фрагментов.

В рамках настоящего изобретения вариант любой последовательности является последовательностью, в которой определенная последовательность остатков (аминокислотных остатков или остатков нуклеиновых кислот) была изменена таким образом, что рассматриваемый полипептид или полинуклеотид по существу сохраняет по меньшей мере одну из своих эндогенных функций. Вариантная последовательность может быть получена в результате вставки, делеции, замены, модификации и/или изменения по меньшей мере одного остатка, присутствующего в природном белке.

Вариантная аминокислотная последовательность настоящего изобретения, указанная как имеющая до трех аминокислотных замен, вставок или делеции, может иметь, например, одну, две или три аминокислотных замены, вставки или делеции.

Термин "производное" при использовании в настоящем документе в отношении белков или полипептидов настоящего изобретения включает любую замену, изменение, модификацию, делецию и/или добавление одного (или более) аминокислотного остатка в или из последовательности при условии, что получаемый в результате белок или полипептид по существу сохраняет по меньшей мере одну из своих эндогенных функций.

Термин "аналог" при использовании в настоящем документе в отношении полипептидов или полинуклеотидов включает любой миметик, то есть химическое соединение, которое обладает по меньшей мере одной из эндогенных функций полипептидов или полинуклеотидов, аналогом которых он является.

Белки, используемые в настоящем изобретении, также могут иметь делеции, вставки или замены аминокислотных остатков, которые вызывают молчащее изменение и приводят к функционально эквивалентному белку. Преднамеренные аминокислотные замены могут быть сделаны на основе подобию полярности, заряда, растворимости, гидрофобности, гидрофильности и/или амфипатической природы остатков при условии сохранения эндогенной функции. Например, отрицательно заряженные аминокислоты включают аспарагиновую кислоту и глутаминовую кислоту; положительно заряженные аминокислоты включают лизин и аргинин; и аминокислоты с незаряженными полярными концевыми группами, имеющими подобные значения гидрофильности, включают аспарагин, глутамин, серин, треонин и тирозин.

Замена может включать замену аминокислоты подобной аминокислотой (консервативную замену). Подобная аминокислота является аминокислотой, которая имеет боковую цепь со сходными свойствами, которые можно объединить в группы, например, как показано ниже:

- (i) основные боковые цепи: лизин (K), аргинин (R), гистидин (H);
- (ii) кислотные боковые цепи: аспарагиновая кислота (D) и глутаминовая кислота (E);
- (iii) незаряженные полярные боковые цепи: аспарагин (N), глутамин (Q), серин (S), треонин (T) и тирозин (Y); или
- (iv) неполярные боковые цепи: глицин (G), аланин (A), валин (V), лейцин (L), изолейцин (I), пролин (P), фенилаланин (F), метионин (M), триптофан (W) и цистеин (C).

Любые изменения аминокислот должны сохранять возможность TCR связывать пептид WT1, презентированный молекулами MHC.

Вариантные последовательности могут включать аминокислотные замены, дополнения, делеции и/или вставки. Вариация может быть сконцентрирована в одной или более областях, таких как константные области, линкер или каркасные области α или β -цепей, или они могут быть распределены по всей молекуле TCR.

Консервативные замены, дополнения или делеции могут быть сделаны, например, согласно приведенной ниже таблице. Аминокислоты в одном блоке во втором столбце и предпочтительно в одной строке третьего столбца можно заменить друг другом:

АЛИФАТИЧЕСКИЕ	Неполярные	G A P
		I L V
	Полярные – незаряженные	C S T M
		N Q
	Полярные – заряженные	D E
		K R
АРОМАТИЧЕСКИЕ		H F W Y

Настоящее изобретение также охватывает гомологичную замену (замена и замещение используются в настоящем документе для обозначения обмена существующего аминокислотного остатка на альтернативный остаток), например, равноценную замену, такую как основная на основную, кислотная на кислотную, полярная на полярную и т.д. Негомологичная замена также может присутствовать, например, остатка из одного класса другим или, альтернативно, включающая введение неприродных аминокислот, таких как орнитин.

Термин "вариантный" при использовании в настоящем документе может означать единицу, обладающую некоторой гомологией с аминокислотной последовательностью дикого типа или нуклеотидной последовательностью дикого типа. Термин "гомология" может быть приравнен к "идентичности".

Вариантная последовательность может включать аминокислотную последовательность, которая может быть по меньшей мере на 50%, 55%, 65%, 75%, 85% или 90% идентичной, предпочтительно по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97% или по меньшей мере на 99% идентичной рассматриваемой последовательности. Как правило, варианты будут включать такие же активные сайты и т.д., как и рассматриваемая аминокислотная последовательность. Хотя гомологию также можно рассматривать с точки зрения подобия (т.е. аминокислотные остатки, обладающие подобными химическими свойствами/функциями), в рамках настоящего изобретения предпочтительно выражать гомологию с точки зрения идентичности последовательности.

Вариантная последовательность может включать нуклеотидную последовательность, которая может быть по меньшей мере на 40%, 45%, 50%, 55%, 65%, 75%, 85% или на 90% идентичной, предпочтительно по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97% или по меньшей мере на 99% идентичной рассматриваемой последовательности. Хотя гомологию также можно рассматривать с точки зрения подобия, в рамках настоящего изобретения предпочтительно выражать гомологию с точки зрения идентичности последовательности.

Предпочтительно, ссылка на последовательность, которая обладает некоторым процентом идентичности с любой из SEQ ID NO, подробно описанных в настоящем документе, относится к последовательности, которая обладает указанным процентом идентичности по всей протяженности указанной SEQ ID NO.

Сравнения идентичности можно проводить визуально или, как обычно практикуют, при помощи доступных программ сравнения последовательностей. Такие коммерчески доступные компьютерные программы могут вычислять процент гомологии или идентичности между двумя или более последовательностями.

Процент гомологии может быть вычислен для непрерывных последовательностей, т.е. одну последовательность выравнивают с другой последовательностью и каждую аминокислоту в одной последовательности непосредственно сравнивают с соответствующей аминокислотой в другой последовательности, один остаток в каждый отдельно взятый момент. Это называют "несодержащим пропуски" выравниванием. Как правило, такие выравнивания без пропусков выполняют только для относительно небольшого количества остатков.

Хотя это очень простой и надежный метод, он не учитывает, например, что в другой идентичной паре последовательностей одна вставка или делеция в нуклеотидной последовательности может привести к тому, что следующие кодоны выпадут из выравнивания, что потенциально может привести к значительному снижению процента гомологии при глобальном выравнивании. Следовательно, большинство методов сравнения последовательностей предназначены для получения оптимальных выравниваний, учитывающих возможные вставки и делеции, без введения необоснованных штрафов в общий показатель гомологии. Это достигается путем вставки "пропусков" в выравнивание последовательностей для получения максимально высокой локальной гомологии.

Однако эти более сложные методы назначают "штрафы за пропуски" для каждого пропуска, возникающего при выравнивании, в результате чего при одинаковом количестве идентичных аминокислот выравнивание последовательностей с как можно меньшим количеством пропусков, отражающее более высокое родство между двумя сравниваемыми последовательностями, будет получать более высокую оценку, чем выравнивание, в котором много пропусков. Обычно используются "суммируемые штрафы за пропуск", которые накладывают относительно высокий штраф за присутствие пропуска и меньший штраф за каждый последующий остаток в пропуске. Это наиболее часто используемая система оценки пропусков. Высокие штрафы за пропуски, конечно, приведут к оптимизированным выравниваниям с

меньшим количеством пропусков. Большинство программ выравнивания позволяют изменять штрафы за пропуски. Однако предпочтительно использовать значения по умолчанию при использовании таких программ для сравнения последовательностей. Например, при использовании пакета GCG Wisconsin Bestfit штраф за пропуск по умолчанию для аминокислотных последовательностей составляет -12 за пропуск и -4 за каждое продолжение пропуска.

Поэтому расчет максимального процента гомологии, во-первых, требует получения оптимального выравнивания с учетом штрафов за пропуски. Подходящей компьютерной программой для проведения такого выравнивания является пакет GCG Wisconsin Bestfit (University of Wisconsin, U.S.A.; Devereux et al. (1984) *Nucleic Acids Res.* 12: 387). Примеры других программ, которые могут выполнять сравнение последовательностей, включают, без ограничения перечисленным, пакет BLAST (см. Ausubel et al. (1999), там же - Гл. 18), FASTA (Atschul et al. (1990) *J. Mol. Biol.* 403-410) и пакет инструментов сравнения GENWORKS. BLAST и FASTA доступны для поиска в режиме офлайн и онлайн (см. Ausubel et al. (1999), там же, страницы с 7-58 по 7-60). Однако для некоторых приложений предпочтительно использовать программу GCG Bestfit. Другое средство, называемое BLAST 2 Sequence, также доступно для сравнения белковых и нуклеотидных последовательностей (см. FEMS *Microbiol. Lett.* (1999) 174: 247-50; FEMS *Microbiol. Lett.* (1999) 177: 187-8).

Хотя конечный процент гомологии может быть измерен в выражении идентичности, сам процесс выравнивания обычно не основан на сравнении пар по принципу "все или ничего". Вместо этого обычно используется масштабированная оценочная матрица подобия, которая присваивает баллы каждому парному сравнению на основе химического сходства или эволюционного расстояния. Примером такой широко используемой матрицы является матрица BLOSUM62 - матрица по умолчанию для пакета программ BLAST. В программах GCG Wisconsin обычно используются либо общедоступные значения по умолчанию, либо специализированная таблица сравнения символов, если таковая имеется (см. руководство пользователя для получения дополнительной информации). Для некоторых приложений предпочтительно использовать общедоступные значения по умолчанию для пакета GCG или, в случае другого программного обеспечения, матрицу по умолчанию, такую как BLOSUM62.

После получения программой оптимального выравнивания может быть вычислен процент гомологии, предпочтительно процент идентичности последовательности. Программа обычно выполняет это как часть сравнения последовательностей и генерирует числовой результат.

"Фрагменты" также являются вариантами, при этом данный термин, как правило, относится к выбранной области полипептида или полинуклеотида, которая представляет интерес функционально или, например, в анализе. "Фрагмент", таким образом, относится к аминокислотной последовательности или последовательности нуклеиновой кислоты, которая является частью полноразмерного полипептида или полинуклеотида.

Такие варианты могут быть получены при использовании стандартных технологий рекомбинантных ДНК, таких как сайт-направленный мутагенез. В случае, когда требуется сделать вставки, может быть получена синтетическая ДНК, кодирующая вставку вместе с 5' и 3' фланкирующими областями, соответствующими природной последовательности с любой стороны от участка вставки. Фланкирующие области содержат удобные сайты рестрикции, соответствующие сайтам в природной последовательности, чтобы последовательность можно было разрезать подходящим ферментом(ами) и лигировать синтетическую ДНК в разрез. Затем ДНК экспрессируется в соответствии с изобретением, с получением кодируемого белка. Эти способы являются лишь иллюстративными примерами многочисленных стандартных методик, известных в области манипуляции последовательностями ДНК, и также могут использоваться другие известные методики.

Молекулы главного комплекса гистосовместимости (МНС).

Как правило, TCR-рецепторы связываются с пептидами в качестве части комплекса пептида:МНС.

Молекула МНС может быть молекулой МНС класса I или II. Комплекс может находиться на поверхности антигенпрезентирующей клетки, такой как дендритная клетка или В-клетка или любая другая клетка, включая раковые клетки, или он может быть иммобилизован, например, путем покрытия сферы или планшета.

Система лейкоцитарных антигенов человека (HLA) является названием комплекса генов, который кодирует главный комплекс гистосовместимости (МНС) у людей и включает антигены HLA I класса (A, B и C) и антигены HLA II класса (DP, DQ и DR).

Аллели HLA A, B и C представляют собой пептиды, получаемые, главным образом, из внутриклеточных белков, например, белков, экспрессируемых в клетке. Это имеет особое значение, так как WT1 является внутриклеточным белком.

В ходе развития Т-клеток *in vivo*, Т-клетки проходят этап положительного отбора, гарантирующего распознавание своих МНС, с последующим этапом отрицательного отбора для удаления Т-клеток, которые слишком сильно связываются с МНС, которые представляют аутоантигены. В результате некоторые Т-клетки и TCR-рецепторы, которые они экспрессируют, распознают только пептиды, представленные некоторыми типами молекул МНС, т.е. пептиды, кодируемые определенными аллелями HLA. Это известно как HLA рестрикция.

Одним из представляющих интерес аллелей HLA является HLA-A*0201, который экспрессируется у подавляющего большинства (>50%) представителей европеоидной расы. Соответственно, TCR-рецепторы, которые связывают пептиды WT1, презентированные MHC, кодируемыми HLA-A*0201 (т.е. HLA-A*0201 рестриктированными), предпочтительны, так как иммунотерапия с применением таких TCR-рецепторов, будет подходить для лечения значительной доли представителей европеоидной расы.

Другими представляющими интерес аллелями HLA-A являются HLA-A*0101, HLA-A*2402, и HLA-A*0301.

Широко экспрессирующимися аллелями HLA-B, представляющими интерес, являются HLA-B*3501, HLA-B*0702 и HLA-B*3502.

TCR настоящего изобретения может быть HLA-A*0201-рестриктированным.

В одном аспекте, где TCR настоящего изобретения включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CGTAWINDYKLSF (SEQ ID NO: 3)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASRKTTGGYSNQPQHF (SEQ ID NO: 8)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, TCR является HLA-A*0201-рестриктированным.

В другом аспекте, где TCR настоящего изобретения включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CVVNLLSNQGGKLIF (SEQ ID NO: 36)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSQDYLVSNKLF (SEQ ID NO: 41)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, TCR является HLA-A*0201-рестриктированным.

В другом аспекте, где TCR настоящего изобретения включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAANNARLMF (SEQ ID NO: 92)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSDTRAREQFF (SEQ ID NO: 97)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, TCR является HLA-A*0201-рестриктированным.

В другом аспекте, где TCR настоящего изобретения включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAERLNTDKLIF (SEQ ID NO: 103)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CSARDSVSGNTIYF (SEQ ID NO: 163)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, TCR является HLA-A*0201-рестриктированным.

В другом аспекте, где TCR настоящего изобретения включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAASGGRDDKIF (SEQ ID NO: 214)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSYSRTESTDTQYF (SEQ ID NO: 219)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, TCR является HLA-A*0201-рестриктированным.

В другом аспекте, где TCR настоящего изобретения включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAANNARLMF (SEQ ID NO: 92)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSPGQHGLFF (SEQ ID NO: 271)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, TCR является HLA-A*0201-рестриктированным.

В другом аспекте, где TCR настоящего изобретения включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAASATGNQFYF (SEQ ID NO: 266)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSDTRAREQFF (SEQ ID NO: 97)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, TCR является HLA-A*0201-рестриктированным.

В другом аспекте, где TCR настоящего изобретения включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAASATGNQFYF (SEQ ID NO: 266)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSPGQHGEFF (SEQ ID NO: 271)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, TCR является HLA-A*0201-рестриктированным.

В другом аспекте, где TCR настоящего изобретения включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CATDGDSSYKLIF (SEQ ID NO: 277)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CSARDSVSGNTIYF (SEQ ID NO: 163)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, TCR является HLA-A*0201-рестриктированным.

В другом аспекте, где TCR настоящего изобретения включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CATDGDSSYKLIF (SEQ ID NO: 277)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CSARDVLTGDYGYTF (SEQ ID NO: 282)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, TCR является HLA-A*0201-рестриктированным.

В другом аспекте, где TCR настоящего изобретения включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAERLNTDKLIF (SEQ ID NO: 103)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CSARDVLTGDYGYTF (SEQ ID NO: 282)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, TCR является HLA-A*0201-рестриктированным.

В одном варианте осуществления TCR настоящего изобретения, который является HLA-A*0201-рестриктированным, связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

APVLDFAPPGA (SEQ ID NO: 117)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций.

В одном аспекте настоящего изобретения предложен TCR, который связывает пептид белка опухоли Вильмса 1 (WT1), презентированный главным комплексом гистосовместимости (МНС), где TCR включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CGTAWINDYKLSF (SEQ ID NO: 3)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASRKTGGYSNQPQHF (SEQ ID NO: 8)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, где TCR является HLA-A*0201-рестриктированным, и где пептид WT1 включает аминокислотную последовательность

APVLDFAPPGA (SEQ ID NO: 117)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен TCR, который связывает пептид белка опухоли Вильмса 1 (WT1), презентированный главным комплексом гистосовместимости (МНС), где TCR включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CVVNLLSNQGGKLIF (SEQ ID NO: 36)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSQDYLVSNKLF (SEQ ID NO: 41)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, где TCR является HLA-A*0201-рестриктированным, и где пептид WT1 включает аминокислотную последовательность

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSPGQHGELEFF (SEQ ID NO: 271)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, где TCR является HLA-A*0201-рестриктированным, и где пептид WT1 включает аминокислотную последовательность

APVLDFAPPGA (SEQ ID NO: 117)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен TCR, который связывает пептид белка опухоли Вильмса 1 (WT1), презентированный главным комплексом гистосовместимости (МНС), где TCR включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CATDGDSSYKLIF (SEQ ID NO: 277)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CSARDSVSGNTIYF (SEQ ID NO: 163)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, где TCR является HLA-A*0201-рестриктированным, и где пептид WT1 включает аминокислотную последовательность

APVLDFAPPGA (SEQ ID NO: 117)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен TCR, который связывает пептид белка опухоли Вильмса 1 (WT1), презентированный главным комплексом гистосовместимости (МНС), где TCR включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CATDGDSSYKLIF (SEQ ID NO: 277)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CSARDVLTGDYGYTF (SEQ ID NO: 282)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, где TCR является HLA-A*0201-рестриктированным, и где пептид WT1 включает аминокислотную последовательность

APVLDFAPPGA (SEQ ID NO: 117)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен TCR, который связывает пептид белка опухоли Вильмса 1 (WT1), презентированный главным комплексом гистосовместимости (МНС), где TCR включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAERLNTDKLIF (SEQ ID NO: 103)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CSARDVLTGDYGYTF (SEQ ID NO: 282)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, где TCR является HLA-A*0201-рестриктированным, и где пептид WT1 включает аминокислотную последовательность

APVLDFAPPGA (SEQ ID NO: 117)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций.

Другим широко экспрессируемым аллелем HLA, представляющим интерес, является HLA-B*3501. TCR настоящего изобретения может быть HLA-B*3501-рестриктированным.

В одном аспекте, где TCR настоящего изобретения включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAASMAGAGSYQLTF (SEQ ID NO: 75)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CAISVGQGALYEQYF (SEQ ID NO: 80)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, TCR является HLA-B*3501-рестриктированным.

Таким образом, в другом аспекте настоящего изобретения предложен TCR, который связывает пептид белка опухоли Вильмса 1 (WT1), презентированный главным комплексом гистосовместимости (МНС), где TCR включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAASMAGAGSYQLTF (SEQ ID NO: 75)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CAISVGQGALYEQYF (SEQ ID NO: 80)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, где TCR является HLA-B*3501-рестриктированным, и где пептид WT1 включает аминокислотную последовательность

NHTTPILCGAQYRIH (SEQ ID NO: 127)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций.

В одном аспекте, где TCR настоящего изобретения включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAASMAGAGSYQLTF (SEQ ID NO: 75)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSVARDRRNYGYTF (SEQ ID NO: 86)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, TCR является HLA-B*3501-рестриктированным.

Таким образом, в другом аспекте настоящего изобретения предложен TCR, который связывает пептид белка опухоли Вильмса 1 (WT1), презентированный главным комплексом гистосовместимости (MHC), где TCR включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAASMAGAGSYQLTF (SEQ ID NO: 75)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSVARDRRNYGYTF (SEQ ID NO: 86)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, где TCR является HLA-B*3501-рестриктированным, и где пептид WT1 включает аминокислотную последовательность

NHTTPILCGAQYRIH (SEQ ID NO: 127)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций.

Другим широко экспрессируемым аллелем HLA, представляющим интерес, является HLA-B*3502. TCR настоящего изобретения может быть HLA-B*3502-рестриктированным.

В одном аспекте, где TCR настоящего изобретения включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CATDAYSGNTPLVF (SEQ ID NO: 47)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASRAAGLDTEAFF (SEQ ID NO: 57)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, TCR является HLA-B*3502-рестриктированным.

Таким образом, в одном аспекте настоящего изобретения предложен TCR, который связывает пептид белка опухоли Вильмса 1 (WT1), презентированный главным комплексом гистосовместимости (MHC), где TCR включает CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CATDAYSGNTPLVF (SEQ ID NO: 47)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASRAAGLDTEAFF (SEQ ID NO: 57)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, где TCR является HLA-B*3502-рестриктированным, и где пептид WT1 включает аминокислотную последовательность

EPASQHTLRSG (SEQ ID NO: 123)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций.

Было продемонстрировано, что Т-клетки, экспрессирующие TCR-рецепторы настоящего изобретения, которые связываются с пептидами WT1, включающими аминокислотную последовательность

EPASQHTLRSG (SEQ ID NO: 123),

способны селективно элиминировать опухолевые (ОМЛ) клетки, экспрессирующие аллель HLA-B*3502, см. Пример 4 и фиг. 4с.

В одном аспекте, где TCR настоящего изобретения связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

EPASQHTLRSG (SEQ ID NO: 123)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, TCR является HLA-B*3502-рестриктированным.

В одном варианте осуществления, где TCR настоящего изобретения связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

APVLDFAAPGA (SEQ ID NO: 117)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, TCR является HLA-A*0201-рестриктированным.

В одном варианте осуществления, где TCR настоящего изобретения связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

NHTTPILCGAQYRIH (SEQ ID NO: 127)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, TCR является HLA-B*3501-рестриктированным.

Белок опухоли Вильмса 1 (WT1).

Белок опухоли Вильмса 1 (WT1) - внутриклеточный белок, кодирующий фактор транскрипции с цинк-пальцевым доменом, который играет важную роль в росте и дифференцировке клеток (Yang, L. et al. *Leukemia* 21, 868-876 (2007)). Он широко экспрессируется на различных гемобластных и солидных опухолях, но при этом демонстрирует ограниченную экспрессию на других тканях (гонады, матка, почка, мезотелий, клетки-предшественники в различных тканях). Последние данные свидетельствуют, что WT1 играет роль в лейкемогенезе и онкогенезе.

WT1 имеет несколько изоформ, некоторые из которых образуются в результате альтернативного сплайсинга мРНК транскриптов, кодирующих WT1. Полная аминокислотная последовательность изоформы WT1 была опубликована ранее (Gessler, M. et al. *Nature*; 343(6260):774-778; (1990)). Эта конкретная изоформа состоит из 575 аминокислот и включает первые 126 аминокислот на N-конце, которые отсутствуют в экзон 5+ и KTS+ изоформах WT1.

Примерный белок WT1 имеет аминокислотную последовательность, представленную в UniProt J3KNN9.

Другой примерный белок WT1 имеет аминокислотную последовательность, представленную ниже:

```
SRQRPHPGALRNPTACPLPHFPPSLPPTHSPTHPPRAGTAAQAPGPRRI.LAALIDF
LLLQDPASTCVPEPASQIITLRSGPGCLQQPEQQGVRDPGGIWAKLGAAEASAERLQGRR
SRGASGSEPPQQMGSDVDRDLNALLPAVPSLGGGGGCALPVSGAAQWAPVLDFAAPPGASA
YGSLLGGPAPPPAPPPPPPPPHSFHKQEPSWGGAEPEHEQCLSAFTVHFSGQFTGTAGACR
YGPFGPPPSQASSGQARMFPNAPYLPSCLEQPAIRNQGYSTVTFDGTSPSYGIITPSIIIA
AQFPNHSFKHEDPMGQQGSLGEQQYSVPPPVYGCHTPTDSC TGSQALLLRTPYSSDNLY
QMTSQLCMTWNQMNLGATLKGVAAGSSSSVVKWTEGQSNHSTGYESDNIITPILCGA
QYRIHTHGVERGIQDVRVPGVAPTLVRSASETSEKRPFMCAYPGCNKRYFKLSHLQMH
SRKHTGEEKPYQCDFKDCERRFSRSDQLKRHQRRHTGVKPFQCKTCQRKFSRSDHI.KTH
TRTITGKTSEKPFSCRWPSCQKKFARSDELVRHIINMIIQRNMTKLQAL
```

(SEQ ID NO: 131)

Пептиды WT1.

При использовании в настоящем документе термин пептид относится к множеству аминокислотных остатков, связанных пептидными связями. Как определено в настоящем документе, пептид может состоять из меньше чем приблизительно 30, меньше чем приблизительно 25, меньше чем приблизительно 20, меньше чем 19, меньше чем 18, меньше чем 17, меньше чем 16, меньше чем 15, меньше чем 14, меньше чем 13, меньше чем 12, меньше чем 11, меньше чем 10, меньше чем 9, меньше чем 8, меньше чем 7, меньше чем 6 или меньше чем 5 аминокислотных остатков. Предпочтительно пептид имеет длину приблизительно 5-20 аминокислот, более предпочтительно пептид имеет длину приблизительно 8-15 аминокислотных остатков.

TCR-рецепторы настоящего изобретения связываются с пептидом WT1, когда пептид WT1 презентируется МНС. При использовании в настоящем документе, термин пептид WT1 следует понимать как пептид, включающий аминокислотную последовательность, полученную из белка WT1.

Например, пептид WT1 может включать по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19, по меньшей мере 20 или по меньшей мере 25 непрерывных аминокислотных остатков аминокислотной последовательности белка WT1.

Пептид WT1 может включать или состоять из аминокислотной последовательности

APVLDFAAPPGA (SEQ ID NO: 117)

или ее варианта, содержащего до трех аминокислотных замен, вставок или делеций. Примерами пептидов WT1, включающих аминокислотную последовательность, являются

AAQWAPVLDFAAPPGA (SEQ ID NO: 115) и

APVLDFAAPPGASAYG (SEQ ID NO: 116).

Пептид WT1 может включать или состоять из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из

QCLSAFTVHFSGQFT (SEQ ID NO: 118),

EDPMGQQGSLGEQQY (SEQ ID NO: 119),

SQLECMTWNQMNLGA (SEQ ID NO: 120) и вариантов SEQ ID NO: 118-120, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций.

Пептид WT1 может включать или состоять из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из

EPASQHTLRSG (SEQ ID NO: 123),

YESDNHTTPIL (SEQ ID NO: 126)

и вариантов SEQ ID NO: 123 и 126, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций. Примерные пептиды WT1 могут иметь аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из

TCVPEPASQHTLRSG (SEQ ID NO: 121),
EPASQHTLRSGPGCL (SEQ ID NO: 122),
HSTGYESDNHTTPIL (SEQ ID NO: 124) и
YESDNHTTPILCGAQ (SEQ ID NO: 125).

Пептид WT1 может включать или состоять из аминокислотной последовательности NHTTPILCGAQYRIH (SEQ ID NO: 127) или ее варианта, содержащего до трех аминокислотных замен, вставок или делеций.

Пептид WT1 может включать или состоять из аминокислотной последовательности NQMNLGATLKG (SEQ ID NO: 250)

или ее варианта, содержащего до трех аминокислотных замен, вставок или делеций. Примерные пептиды WT1 могут иметь аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из

CMTWVNQMNLGATLKG (SEQ ID NO: 248) и
NQMNLGATLKGVAAG (SEQ ID NO: 249).

Пептид WT1 может включать или состоять из аминокислотной последовательности DPGGIWAKLGAAEAS (SEQ ID NO: 251)

или ее варианта, содержащего до трех аминокислотных замен, вставок или делеций.

Пептид WT1 может включать или состоять из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из

NHTTPILCGAQYRIH (SEQ ID NO: 252),
KRHQRRHTGVKPFQC (SEQ ID NO: 253),

PSCQKKFARSDELVR (SEQ ID NO: 254) и вариантов SEQ ID NO: 252, 253 и 254, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций.

В некоторых вариантах осуществления, для пептидов WT1, которые связываются с молекулами МНС, кодируемыми аллелем HLA-A*0201, может быть предпочтительно, что аминокислоты в положении 2 пептида (т.е. вторая аминокислота от N-конца) являются лейцином или метионином, хотя также могут быть предпочтительными изолейцин, валин, аланин и треонин. Также может быть предпочтительно, что аминокислотой в положении 9 или 10 является валин, лейцин или изолейцин, хотя также могут быть предпочтительными аланин, метионин и треонин. Предпочтительные МНС-связывающие мотивы других аллелей HLA раскрыты в Celis et al. (Molecular Immunology, Vol. 31,8, December 1994, стр. 1423-1430).

В настоящем изобретении предусмотрены различные применения пептидов WT1, описанных в настоящем документе. Например, пептиды WT1, описанные в настоящем документе, можно вводить субъекту, например, человеку, участвующему в исследовании. Введение пептидов WT1 настоящего изобретения может вызывать иммунный ответ против клеток, экспрессирующих или повышено экспрессирующих белок WT1, т.е. пептиды WT1 являются иммуногенными пептидами WT1.

Таким образом, в другом аспекте настоящего изобретения предложен выделенный иммуногенный пептид WT1, включающий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из

EPASQHTLRSG (SEQ ID NO: 123),
YESDNHTTPIL (SEQ ID NO: 126),
NHTTPILCGAQYRIH (SEQ ID NO: 127),
QCLSAFTVHFSGQFT (SEQ ID NO: 118),
EDPMGQQGSLGEQQY (SEQ ID NO: 119),
SQLECMTWNQMNLGA (SEQ ID NO: 120),
APVLDFAAPGA (SEQ ID NO: 117),
NQMNLGATLKG (SEQ ID NO: 250),
DPGGIWAKLGAAEAS (SEQ ID NO: 251),
NHTTPILCGAQYRIH (SEQ ID NO: 252),
KRHQRRHTGVKPFQC (SEQ ID NO: 253),
PSCQKKFARSDELVR (SEQ ID NO: 254) и их вариантов, каждый из которых содержит до трех

аминокислотных замен, вставок или делеций.

Пептиды WT1, описанные в настоящем документе, например, пептиды WT1, включающие аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из

EPASQHTLRSG (SEQ ID NO: 123) и
YESDNHTTPIL (SEQ ID NO: 126),
NHTTPILCGAQYRIH (SEQ ID NO: 127),
QCLSAFTVHFSGQFT (SEQ ID NO: 118),
EDPMGQQGSLGEQQY (SEQ ID NO: 119),
SQLECMTWNQMNLGA (SEQ ID NO: 120),
APVLDFAAPGA (SEQ ID NO: 117),
NQMNLGATLKG (SEQ ID NO: 250),

DPGGIWAKLGAAEAS (SEQ ID NO: 251),
 NHTTPILCGAQYRIH (SEQ ID NO: 252),
 KRHQRRHTGVKPFQC (SEQ ID NO: 253),
 PSCQKKFARSDELVR (SEQ ID NO: 254)

и их вариантов, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, могут применяться для скрининга на и/или идентификации новых последовательностей TCR, которые связываются с клетками WT1. Например, клетки T2 можно сенсibilизировать пептидом WT1, указанным в настоящем изобретении, и инкубировать с популяцией Т-клеток, выделенных у донора. В данном подходе экспрессия цитокинов, например, CD107a и IFN γ , может указывать на Т-клетки, которые распознают пептиды WT1.

Таким образом, в одном аспекте настоящего изобретения предложен Т-клеточный рецептор (TCR), который связывается с пептидом белка опухоли Вильмса 1 (WT1), презентируемый главным комплексом гистосовместимости (MHC), где пептид WT1 включает аминокислотную последовательность, выbranную из группы, состоящей из

EPASQHTLRSG (SEQ ID NO: 123),
 YESDNHTTPIL (SEQ ID NO: 126),
 NHTTPILCGAQYRIH (SEQ ID NO: 127),
 QCLSAFTVHFSGQFT (SEQ ID NO: 118),
 EDPMGQQGSLGEQQY (SEQ ID NO: 119),
 SQLECMTWNQMNLGA (SEQ ID NO: 120),
 APVLDFAPPGA (SEQ ID NO: 117),
 NQMNLGATLKG (SEQ ID NO: 250),
 DPGGIWAKLGAAEAS (SEQ ID NO: 251),
 NHTTPILCGAQYRIH (SEQ ID NO: 252),
 KRHQRRHTGVKPFQC (SEQ ID NO: 253),
 PSCQKKFARSDELVR (SEQ ID NO: 254)

и их вариантов, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций. Последовательности TCR.

Были определены аминокислотные последовательности TCR-рецепторов, которые связываются с пептидами WT1, описанными в настоящем документе. В частности были определены аминокислотные последовательности CDR-областей TCR, которые важны для распознавания и связывания пептида WT1.

Таким образом, в одном варианте осуществления настоящего изобретения предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CGTAWINDYKLSF (SEQ ID NO: 3)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASRKTGGYSNQPQHF (SEQ ID NO: 8)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

APVLDFAPPGA (SEQ ID NO: 117)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентируван MHC.

Таким образом, в одном варианте осуществления настоящего изобретения предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CVVNLLSNQGGKLIFF (SEQ ID NO: 36)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSQDYLVSNKLIFF (SEQ ID NO: 41)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

APVLDFAPPGA (SEQ ID NO: 117)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентируван MHC.

Таким образом, в одном варианте осуществления настоящего изобретения предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAANNARLMF (SEQ ID NO: 92)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSDTRAREQFF (SEQ ID NO: 97)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

APVLDFAPPGA (SEQ ID NO: 117)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован МНС.

Таким образом, в одном варианте осуществления настоящего изобретения предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAERLNTDKLIF (SEQ ID NO: 103)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CSARDSVSGNTIYF (SEQ ID NO: 163)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

APVLDFAPPGA (SEQ ID NO: 117)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован МНС.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAVEATDSWGKQLQF (SEQ ID NO: 108)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CSVGGSGSYNEQFF (SEQ ID NO: 169)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

NQMNLGATLKG (SEQ ID NO: 250)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован МНС.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAVRTSYDKVIF (SEQ ID NO: 113)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CSVGGSGSYNEQFF (SEQ ID NO: 169)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

NQMNLGATLKG (SEQ ID NO: 250)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован МНС.

Таким образом, в одном варианте осуществления настоящего изобретения предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAASGRDDKIF (SEQ ID NO: 214)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSYSRTESTDTQYF (SEQ ID NO: 219)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

APVLDFAPPGA (SEQ ID NO: 117)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован МНС.

В настоящем изобретении также предложен TCR, включающий:

CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAVRLSGSARQLTF (SEQ ID NO: 14)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASLLGDEQYF (SEQ ID NO: 24)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAVRLSGSARQLTF (SEQ ID NO: 14)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASLVALQGAGEQYF (SEQ ID NO: 30)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAYRSLKYGNKLVF (SEQ ID NO: 19)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASLLGDEQYF (SEQ ID NO: 24)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций; или

CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAYRSLKYGNKLVF (SEQ ID NO: 19)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASLVALQGAGEQYF (SEQ ID NO: 30)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций;

где TCR связывается с презентированным МНС пептидом WT1, включающим или состоящим из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из

QCLSAFTVHFSGQFT (SEQ ID NO: 118),

EDPMGQQGSLGEQQY (SEQ ID NO: 119) и

SQLECMTWNQMNLGA (SEQ ID NO: 120) или их вариантов, каждый из которых содержит до трех аминокислотных замен, вставок или делеций.

Таким образом, в одном варианте осуществления предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAVRLSGSARQLTF (SEQ ID NO: 14)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASLLGDEQYF (SEQ ID NO: 24)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим или состоящим из аминокислотной последовательности

QCLSAFTVHFSGQFT (SEQ ID NO: 118)

или ее варианта, содержащего до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован МНС.

В одном варианте осуществления предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAVRLSGSARQLTF (SEQ ID NO: 14)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASLLGDEQYF (SEQ ID NO: 24)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим или состоящим из аминокислотной последовательности

EDPMGQQGSLGEQQY (SEQ ID NO: 119)

или ее варианта, содержащего до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован МНС.

В одном варианте осуществления предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAVRLSGSARQLTF (SEQ ID NO: 14)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASLLGDEQYF (SEQ ID NO: 24)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим или состоящим из аминокислотной последовательности

SQLECMTWNQMNLGA (SEQ ID NO: 120)

или ее варианта, содержащего до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован МНС.

В одном варианте осуществления предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAVRLSGSARQLTF (SEQ ID NO: 14)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASLVALQGAGEQYF (SEQ ID NO: 30)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим или состоящим из аминокислотной последовательности

QCLSAFTVHFSGQFT (SEQ ID NO: 118)

или ее варианта, содержащего до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован МНС.

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим или состоящим из аминокислотной последовательности QCLSAFTVHFSGQFT (SEQ ID NO: 118)

или ее варианта, содержащего до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован МНС.

В одном варианте осуществления предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAYRSLKYGNKLVF (SEQ ID NO: 19)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSLVALQGAGEQYF (SEQ ID NO: 30)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим или состоящим из аминокислотной последовательности

EDPMGQQGSLGEQQY (SEQ ID NO: 119)

или ее варианта, содержащего до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован МНС.

В одном варианте осуществления предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAYRSLKYGNKLVF (SEQ ID NO: 19)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSLVALQGAGEQYF (SEQ ID NO: 30)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим или состоящим из аминокислотной последовательности

SQLECMTWNQMNLGA (SEQ ID NO: 120)

или ее варианта, содержащего до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован МНС.

Кроме того, в настоящем изобретении предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CATDAYSGNTPLVF (SEQ ID NO: 47)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASRAAGLDTEAFF (SEQ ID NO: 57)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим или состоящим из аминокислотной последовательности

EPASQHTLRSG (SEQ ID NO: 123)

или ее варианта, содержащего до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован МНС.

Кроме того, в настоящем изобретении предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAVRAEIYNQGGKLIF (SEQ ID NO: 52)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASTQTPYEQYF (SEQ ID NO: 63)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим или состоящим из аминокислотной последовательности

YESDNHTTPIL (SEQ ID NO: 126)

или ее варианта, содержащего до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован МНС.

Кроме того, в настоящем изобретении предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAVRAEIYNQGGKLIF (SEQ ID NO: 52)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSTVGGEDYGYTF (SEQ ID NO: 69)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим или состоящим из аминокислотной последовательности

YESDNHTTPIL (SEQ ID NO: 126)

или ее варианта, содержащего до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован МНС.

Кроме того, в настоящем изобретении предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокис-

кислотную последовательность

CAASMAGAGSYQLTF (SEQ ID NO: 75)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CAISVGQGALYEQYF (SEQ ID NO: 80)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

NHTTPILCGAQYRIH (SEQ ID NO: 127)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован MHC.

Кроме того, в настоящем изобретении предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAASMAGAGSYQLTF (SEQ ID NO: 75)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSVARDRRNYGYTF (SEQ ID NO: 86)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

NHTTPILCGAQYRIH (SEQ ID NO: 127)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован MHC.

Кроме того, в настоящем изобретении предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAVTVGNKLVF (SEQ ID NO: 175)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASRGWREQFF (SEQ ID NO: 180)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

DPGGIWAKLGAAEAS (SEQ ID NO: 251)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован MHC.

Кроме того, в настоящем изобретении предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAARSYNTDKLIF (SEQ ID NO: 186)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSWGYQETQYF (SEQ ID NO: 196)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

NHTTPILCGAQYRIH (SEQ ID NO: 252)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован MHC.

Кроме того, в настоящем изобретении предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAASYNNARLMF (SEQ ID NO: 191)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSPTGGEYGYTF (SEQ ID NO: 202)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

KRHQRRHTGVKPFQC (SEQ ID NO: 253)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован MHC.

Кроме того, в настоящем изобретении предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAASYNNARLMF (SEQ ID NO: 191)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSYPLRTGRYNSYNSPLHF (SEQ ID NO: 208)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

CAVEATDSWGKQLQF (SEQ ID NO: 108)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSLGLSISQETQYF (SEQ ID NO: 288)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

NQMNLGATLKG (SEQ ID NO: 250)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован МНС.

Кроме того, в настоящем изобретении предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAVRTSYDKVIF (SEQ ID NO: 113)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CASSLGLSISQETQYF (SEQ ID NO: 288)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

NQMNLGATLKG (SEQ ID NO: 250)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован МНС.

Кроме того, в настоящем изобретении предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CAERLNTDKLIF (SEQ ID NO: 103)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CSARDVLTGDYGYTF (SEQ ID NO: 282)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

APVLDFAPPGA (SEQ ID NO: 117)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован МНС.

Кроме того, в настоящем изобретении предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CATDGDSSYKLIF (SEQ ID NO: 277)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CSARDSVSGNTIYF (SEQ ID NO: 163)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

APVLDFAPPGA (SEQ ID NO: 117)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован МНС.

Кроме того, в настоящем изобретении предложен TCR, включающий CDR3 α , включающую аминокислотную последовательность

CATDGDSSYKLIF (SEQ ID NO: 277)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, и CDR3 β , включающую аминокислотную последовательность

CSARDVLTGDYGYTF (SEQ ID NO: 282)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, который связывается с пептидом WT1, включающим аминокислотную последовательность

APVLDFAPPGA (SEQ ID NO: 117)

или ее вариант, содержащий до трех аминокислотных замен, вставок или делеций, когда пептид WT1 презентирован МНС.

Примеры аминокислотных последовательностей TCR настоящего изобретения приведены в табл. 1.

Донор: HD1

Цепь	Область	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO
Альфа (α)	CDR1α	KALYS	SEQ ID NO: 1
	CDR2α	LLKGGEQ	SEQ ID NO: 2
	CDR3α	CGTAWINDYKLSF	SEQ ID NO: 3
	Варибельная	METLLKVLSGTLLWQLTWVRSQQPVQS PQAVILREGEDAVINCSSSKALYSVHWY RQKHGEAPVFLMILLKGGEQKGHEKISA SFNEKKQSSLYLTASQLSYSGTYFCGT AWINDYKLSFGAGTTVTVRAN	SEQ ID NO: 4
	Полноразмерная – с константным доменом TRAC	METLLKVLSGTLLWQLTWVRSQQPVQS PQAVILREGEDAVINCSSSKALYSVHWY RQKHGEAPVFLMILLKGGEQKGHEKISA SFNEKKQSSLYLTASQLSYSGTYFCGT AWINDYKLSFGAGTTVTVRANIQNPDPA VYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVVSQ SKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSN SAV AWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPE SSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLVIGFR ILLKLVAGFNLLMTRLRWSS	SEQ ID NO: 5
Бета (β)	CDR1β	SGHDY	SEQ ID NO: 6
	CDR2β	FNNNVP	SEQ ID NO: 7
	CDR3β	CASRKTGGYSNPQHF	SEQ ID NO: 8
	Варибельная	MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPR HEVTEMGQEVTLRCKPISGHDYLFWYR QTMMRGLELLIYFNNNVPIDDSGMPEDR FSAKMPNASFSTLKIQPSEPRDSAVYFCA SRKTGGYSNPQHFGDGTRLSILE	SEQ ID NO: 9
	Полноразмерная – с константным доменом TRBC1	MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPR HEVTEMGQEVTLRCKPISGHDYLFWYR QTMMRGLELLIYFNNNVPIDDSGMPEDR FSAKMPNASFSTLKIQPSEPRDSAVYFCA SRKTGGYSNPQHFGDGTRLSILEDLNK VFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLAT GFFPDHVELSWVWNGKEVHSGVSTDPQ PLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSAATFWQN PRNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKP VTQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLS ATILYEILLGKATLYAVLVSAVLMMAMV KRKDF	SEQ ID NO: 10
Полноразмерная – с константным доменом TRBC2	MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPR HEVTEMGQEVTLRCKPISGHDYLFWYR QTMMRGLELLIYFNNNVPIDDSGMPEDR FSAKMPNASFSTLKIQPSEPRDSAVYFCA SRKTGGYSNPQHFGDGTRLSILEDLKN VFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLAT GFYDPHVELSWVWNGKEVHSGVSTDPQ PLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSAATFWQN PRNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKP VTQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLS ATILYEILLGKATLYAVLVSAVLMMAMV KRKDSRG	SEQ ID NO: 11	

Донор: HD2

Клонотип	Цепь	Область	Последовательность	SEQ ID NO
HD2-1	Альфа (α)	CDR1α	SSVPPY	SEQ ID NO: 12
		CDR2α	Y TSAATLV	SEQ ID NO: 13
		CDR3α	CAVRLSGSARQLTF	SEQ ID NO: 14
		Варибельный домен	MLLLLVPVLEVI FTLGGTRAQSVT QLGSHVSVSEGALVLLRCNYSSS VPPYLFWYVQYPNQGLQLLLKYT SAATLVKGINGFEAEFKKSETSFH LTKPSAHMSDAEYFCAVRLSGS ARQLTFGSGTQLTVLPD	SEQ ID NO: 15

		Полноразмерная – с константным доменом TRAC	MLLLVPVLEVIFTLGGTRAQSVT QLGSHVSVSEALVLLRCNYSSS VPPYLFWYVQYPNQGLQLLKYT SAATLVKGINGFEAEFKKSETSFH LTKPSAHMSDAAEYFCAVRLSGS ARQLTFGSGTQLTVLPDIQNPDP VYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQT NVSQKSDSDVYITDKTVLDMRSM DFKSNSAVAWSNKSDFACANAFN NSIIPEDTFFPSPESCDVKLVEKSF ETDTNLFQNLVIGFRILLKVA GFNLLMTLRLWSS	SEQ ID NO: 16
HD2-2	Альфа (α)	CDR1α	TSESDYY	SEQ ID NO: 17
		CDR2α	QEAYKQQN	SEQ ID NO: 18
		CDR3α	CAYRSLKYGNKLVF	SEQ ID NO: 19
		Варибельный домен	MACPGFLWALVISTCLEFSMAQT VTQSQPEMSVQEAETVTLSTYD TSESDYYLFWYKQPPSRQMILVIR QEAYKQQNATENRFSVNFQKAA KSFSLKISDSQLGDAAMYFCAYRS LKYGNKLVFGAGTILRVKSY	SEQ ID NO: 20
		Полноразмерная – с константным доменом TRAC	MACPGFLWALVISTCLEFSMAQT VTQSQPEMSVQEAETVTLSTYD TSESDYYLFWYKQPPSRQMILVIR QEAYKQQNATENRFSVNFQKAA KSFSLKISDSQLGDAAMYFCAYRS LKYGNKLVFGAGTILRVKSYIQNP DPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDF DSQTNVSQKSDSDVYITDKTVLD MRSMDFKSNSAVAWSNKSDFAC ANAFNNSIIPEDTFFPSPESCDVK LVEKSFETDTNLFQNLVIGFRIL LLKVAGFNLLMTLRLWSS	SEQ ID NO: 21
HD2-1 β	Бета (β)	CDR1β	SGHAT	SEQ ID NO: 22
		CDR2β	FQNGV	SEQ ID NO: 23
		CDR3β	CASSLLGDEQYF	SEQ ID NO: 24
		Варибельный домен	MGTRLLCWAALCLLGAELTEAG VAQSPRYKIIIEKRQSVAFWCNPIS GHATLYWYQQILGQGPKLLIQFQ NNGVVDDSQLPKDRFSAERLKG DSTLKIQPAKLEDSAVYLCASSLL GDEQYFGPGTRTLVTE	SEQ ID NO: 25

		Полноразмерная – с константным доменом TRBC1	MGTRLLCWAALCLLGAELTEAG VAQSPRYKIIIEKRQSVAFWCNPIS GHATLYWYQQILGQGPKLLIQFQ NNGVVDDSQLPKDRFSAERLKGV DSTLKIQPAKLEDSA VYLCASSLL GDEQYFGPGTRLTVTEDLNKVF PEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCL ATGFFPDHVELSWWVNGKEVHS GVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSS RLRVSATFWQPNRNFRCQVQFY GLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAE AWGRADCGFTSVSYQQGVLSATI LYEILLGKATLYAVLVSALVMA MVKRKDF	SEQ ID NO: 26
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC2	MGTRLLCWAALCLLGAELTEAG VAQSPRYKIIIEKRQSVAFWCNPIS GHATLYWYQQILGQGPKLLIQFQ NNGVVDDSQLPKDRFSAERLKGV DSTLKIQPAKLEDSA VYLCASSLL GDEQYFGPGTRLTVTEDLNKVF PEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCL ATGFYPDHVELSWWVNGKEVHS GVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSS RLRVSATFWQPNRNFRCQVQFY GLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAE AWGRADCGFTSVSYQQGVLSATI LYEILLGKATLYAVLVSALVMA MVKRKDSRG	SEQ ID NO: 27
HD2-2β	Бета (β)	CDR1β	SGHTA	SEQ ID NO: 28
		CDR2β	FQNSA	SEQ ID NO: 29
		CDR3β	CASSLVALQGAGEQYF	SEQ ID NO: 30
		Вариабельный домен	MGTRLLFWVAFCLLGADHTGAG VSQSPSNKVTEKGKDVLCRDPIS GHTALYWYRQSLGQGLEFLIYFQ GNSAPDKSGLPSDRFSAERTGGSV STLTIQRTQQEDSA VYLCASSLVA LQGAGEQYFGPGTRLTVTE	SEQ ID NO: 31
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC1	MGTRLLFWVAFCLLGADHTGAG VSQSPSNKVTEKGKDVLCRDPIS GHTALYWYRQSLGQGLEFLIYFQ GNSAPDKSGLPSDRFSAERTGGSV STLTIQRTQQEDSA VYLCASSLVA LQGAGEQYFGPGTRLTVTEDLNK VFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATL VCLATGFFPDHVELSWWVNGKE VHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRY CLSSRLRVSATFWQPNRNFRCQ VQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQI VSAEAWGRADCGFTSVSYQQGV LSATILYEILLGKATLYAVLVSAL VLMAMVKRKDF	SEQ ID NO: 32
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC2	MGTRLLFWVAFCLLGADHTGAG VSQSPSNKVTEKGKDVLCRDPIS GHTALYWYRQSLGQGLEFLIYFQ GNSAPDKSGLPSDRFSAERTGGSV STLTIQRTQQEDSA VYLCASSLVA LQGAGEQYFGPGTRLTVTEDLKN VFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATL VCLATGFYPDHVELSWWVNGKE VHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRY CLSSRLRVSATFWQPNRNFRCQ VQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQI VSAEAWGRADCGFTSVSYQQGV SATILYEILLGKATLYAVLVSALV LMAMVKRKDSRG	SEQ ID NO: 33

Донор: HD3

Цепь	Тип	Последовательность	SEQ ID NO
Альфа (α)	CDR1α	NSASQS	SEQ ID NO: 34
	CDR2α	VYSSGN	SEQ ID NO: 35
	CDR3α	CVVNLLSNQGGKLIF	SEQ ID NO: 36
	Варибельный домен	MISLRVLLVILWLQLSWVWSQRKEVEQDPG PFNVPEGATVAFNCTYSNSASQSFFWYRQD CRKEPKLLMSVYSSGNEDGRFTAQLNRSQ YISLLIRDSKLSDSATYLCVVNLLSNQGGKLI FGQGTLSVKPN	SEQ ID NO: 37
	Полноразмерная – с константным доменом TRAC	MISLRVLLVILWLQLSWVWSQRKEVEQDPG PFNVPEGATVAFNCTYSNSASQSFFWYRQD CRKEPKLLMSVYSSGNEDGRFTAQLNRSQ YISLLIRDSKLSDSATYLCVVNLLSNQGGKLI FGQGTLSVKPNIQNPDPVYQLRDSKSSDK SVCLFTDFDSQTNVSQSKSDVYITDKTVLD MRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSI IPEDTFPSPSSCDVKLVEKSFETDTNLFQ NLSVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS	SEQ ID NO: 38
Бета (β)	CDR1β	LGHNA	SEQ ID NO: 39
	CDR2β	YSLEER	SEQ ID NO: 40
	CDR3β	CASSQDYLVSNEKLFF	SEQ ID NO: 41
	Варибельный домен	MGCRLCCAVLCLLGAGELVPMETGVTQTP RHLVMGMTNKKSLKCEQHLGHNAMYWYK QSAKKPLELMFVYSLEERVENNSVPSRFSPE CPNSSHLFHLHTLQPEDSALYLCASSQDYL VSNEKLFFGSGTQLSVLE	SEQ ID NO: 42
	Полноразмерная – с константным доменом TRBC1	MGCRLCCAVLCLLGAGELVPMETGVTQTP RHLVMGMTNKKSLKCEQHLGHNAMYWYK QSAKKPLELMFVYSLEERVENNSVPSRFSPE CPNSSHLFHLHTLQPEDSALYLCASSQDYL VSNEKLFFGSGTQLSVLEDLNKFVFPPEVAVF EPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSW WVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYC LSSRLRVSATFWQNPРНHFRСQVQFYGLSE NDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTS VSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSAL VLMAMVKRKDF	SEQ ID NO: 43
	Полноразмерная – с константным доменом TRBC2	MGCRLCCAVLCLLGAGELVPMETGVTQTP RHLVMGMTNKKSLKCEQHLGHNAMYWYK QSAKKPLELMFVYSLEERVENNSVPSRFSPE CPNSSHLFHLHTLQPEDSALYLCASSQDYL VSNEKLFFGSGTQLSVLEDLKNVFPPEVAVF EPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPHVELSW WVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYC LSSRLRVSATFWQNPРНHFRСQVQFYGLSE NDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTS ESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSAL VLMAMVKRKDSRG	SEQ ID NO: 44

Донор: HD4

Клоноти п	Цепь	Область	Последовательность	SEQ ID NO
HD4-1	Alpha (α)	CDR1 α	TSINN	SEQ ID NO: 45
		CDR2 α	IRSNERE	SEQ ID NO: 46
		CDR3 α	CATDAYSGNTPLVF	SEQ ID NO: 47
		Варибельный домен	METLLGVSLVILWLQLARVNSQQ GEEDPQALSIQEGENATMNC SYKT SINNLQWYRQNSGRGLVHLILIRS NEREKHSGRLRVTLDTSKKSSLLI TASRAADTASYFCATDAYSGNTPL VFGKGTRLSVIAN	SEQ ID NO: 48
		Полноразмерная – с константным доменом TRAC	METLLGVSLVILWLQLARVNSQQ GEEDPQALSIQEGENATMNC SYKT SINNLQWYRQNSGRGLVHLILIRS NEREKHSGRLRVTLDTSKKSSLLI TASRAADTASYFCATDAYSGNTPL VFGKGTRLSVIANIQNPDAVYQL RDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQ SKDSVDVYITDKTVLDMRSMDFKS NSAVAVSNKSDFACANAFNNSIIP EDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDT NLNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLL MTRLRLWSS	SEQ ID NO: 49
HD4-2	Альфа (α)	CDR1 α	DSAIYN	SEQ ID NO: 50
		CDR2 α	IQSSQRE	SEQ ID NO: 51
		CDR3 α	CAVRAEIYNQGGKLIF	SEQ ID NO: 52
		Варибельный домен	METLLGLLILWLQLQWVSSKQEV TQIPAALS VPEGENLVNCSFTDSA IYNLQWFRQDPGKGLTSLLLIQSS QREQTSGRLNASLKDSSGRSTLYI AASQPGDSATYLCVRAEIYNQG GKLIFGQGTLSVKPN	SEQ ID NO: 53
		Полноразмерная – с константным доменом TRAC	METLLGLLILWLQLQWVSSKQEV TQIPAALS VPEGENLVNCSFTDSA IYNLQWFRQDPGKGLTSLLLIQSS QREQTSGRLNASLKDSSGRSTLYI AASQPGDSATYLCVRAEIYNQG GKLIFGQGTLSVKPNIQNPDAV YQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTN VSQSKDSVDVYITDKTVLDMRSMD FKSNSAVAVSNKSDFACANAFN SIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSF TDTNLNLFQNLVIGFRILLKLVAGF NLLMTRLRLWSS	SEQ ID NO: 54
HD4-1	Бета (β)	CDR1 β	MNHNS	SEQ ID NO: 55
		CDR2 β	SASEGT	SEQ ID NO: 56
		CDR3 β	CASRAAGLDTEAFF	SEQ ID NO: 57
		Варибельный домен	MSIGLLCCVAFSLLWASPVNAGVT QTPKFQVLKTGQSMTLQCAQDMN HNSMYWYRQDPGMGLRLIYYSAS EGTTDKGEVPNGYNVSRNLNCREFS LRLESAAPSQTSVYFCASRAAGLD TEAFFGQGTRLTVE	SEQ ID NO: 58

		Полноразмерная – с константным доменом TRBC1	MSIGLLCCVAFSLLWASPVNAGVT QTPKFQVLKTGQSMTLQCAQDMN HNSMYWYRQDPGMGLRLIYYSAS EGTTDKGEVPNGYNVSRLNKREFS LRLESAAPSQTSVYFCASRAAGLD TEAFFGQGTRLTVVEDLNKVPPE VAVFEPSEAEISHTQKATLVCLAT GFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVS TDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLR VSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLS ENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWG RADCGFTSVSYQQGVLSATILYEIL LGKATLYAVLVSALVLMAMVKR KDF	SEQ ID NO: 59
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC2	MSIGLLCCVAFSLLWASPVNAGVT QTPKFQVLKTGQSMTLQCAQDMN HNSMYWYRQDPGMGLRLIYYSAS EGTTDKGEVPNGYNVSRLNKREFS LRLESAAPSQTSVYFCASRAAGLD TEAFFGQGTRLTVVEDLNKVPPE VAVFEPSEAEISHTQKATLVCLAT GFYPDHVELSWWVNGKEVHSGVS TDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLR VSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLS ENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWG RADCGFTSESYQQGVLSATILYEIL LGKATLYAVLVSALVLMAMVKR KDSRG	SEQ ID NO: 60
HD4-2	Бета (β)	CDR1β	MNHNY	SEQ ID NO: 61
		CDR2β	SVGAGI	SEQ ID NO: 62
		CDR3β	CASTQTPYEQYF	SEQ ID NO: 63
		Варибельный домен	MSISLLCCAAFPLLWAGPVNAGVT QTPKFRILKIGQSMTLQCTQDMNH NYMYWYRQDPGMGLKLIYYSVG AGITDKGEVPNGYNVSRSTTEDFP LRLELAAPSQTSVYFCASTQTPYE QYFGPGTRLTVTE	SEQ ID NO: 64

		Полноразмерная – с константным доменом TRBC1	MSISLLCCAAFLLWAGPVNAGVT QTPKFRILKIGQSMTLQCTQDMNH NYMYWYRQDPGMGLKLIYYSVG AGITDKGEVPNGYNVSRSTTEDFP LRLELAAPSQTSVYFCASTQTPYE QYFGPGTRLTVTEDLNKVFPEVA VFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFF PDHVELSWVWNGKEVHSGVSTDP QPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSA TFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSEND EWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRAD CGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGK ATLYAVLVSALVLMAMVKKRDF	SEQ ID NO: 65
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC2	MSISLLCCAAFLLWAGPVNAGVT QTPKFRILKIGQSMTLQCTQDMNH NYMYWYRQDPGMGLKLIYYSVG AGITDKGEVPNGYNVSRSTTEDFP LRLELAAPSQTSVYFCASTQTPYE QYFGPGTRLTVTEDLNKVFPEVA VFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFY PDHVELSWVWNGKEVHSGVSTDP QPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSA TFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSEND EWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRAD CGFTSESYQQGVLSATILYEILLGK ATLYAVLVSALVLMAMVKKRDS RG	SEQ ID NO: 66
HD4-3	Бета (β)	CDR1β	SGHNS	SEQ ID NO: 67
		CDR2β	FNNNVP	SEQ ID NO: 68
		CDR3β	CASSTVGGEDYGYTF	SEQ ID NO: 69
		Вариабельный домен	MDSWTFCCVSLCILVAKHTDAGVI QSPRHEVTEMGQEVTLRCKPISGH NSLFWYRQTMMRGLELLIYFNNN VPIDDSGMPEDRFSAKMPNASFST LKIQPSEPRDSA VYFCASSTVGGE DYG YTFGSGTRLTVVE	SEQ ID NO: 70
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC1	MDSWTFCCVSLCILVAKHTDAGVI QSPRHEVTEMGQEVTLRCKPISGH NSLFWYRQTMMRGLELLIYFNNN VPIDDSGMPEDRFSAKMPNASFST LKIQPSEPRDSA VYFCASSTVGGE DYG YTFGSGTRLTVVEDLNKVFPP EVA VFEPSEAEISHTQKATLVCLA TGFFPDHVELSWVWNGKEVHSGV STDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRL RVSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGL SENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAW GRADCGFTSVSYQQGVLSATILYE ILLGKATLYAVLVSALVLMAMVK RKDF	SEQ ID NO: 71
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC2	MDSWTFCCVSLCILVAKHTDAGVI QSPRHEVTEMGQEVTLRCKPISGH NSLFWYRQTMMRGLELLIYFNNN VPIDDSGMPEDRFSAKMPNASFST LKIQPSEPRDSA VYFCASSTVGGE DYG YTFGSGTRLTVVEDLNKVFPP EVA VFEPSEAEISHTQKATLVCLA TGFYPDHVELSWVWNGKEVHSG VSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSR LRVSATFWQNPRNHFRQCQVQFYG LSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEA WGRADCGFTSESYQQGVLSATILY EILLGKATLYAVLVSALVLMAMV KRKDSRG	SEQ ID NO: 72

Донор: HD5

Клонотип	Цепь	Область	Последовательность	SEQ ID NO
HD5-1	Альфа (α)	CDR1α	DSASNY	SEQ ID NO: 73
		CDR2α	IRSNVGE	SEQ ID NO: 74
		CDR3α	CAASMAGAGSYQLTF	SEQ ID NO: 75
		Варибельный домен	MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENVE QHPSTLSVQEGDSAVIKCTYSDSA SNYFPWYKQELGKRPQLIIDIRSNV GEKKDQRIAVTLNKTAKHFSLHIT ETQPEDSAVYFCAASMAGAGSYQ LTFGKGTKLSVIPN	SEQ ID NO: 76
		Полноразмерная – с константным доменом TRAC	MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENVE QHPSTLSVQEGDSAVIKCTYSDSA SNYFPWYKQELGKRPQLIIDIRSNV GEKKDQRIAVTLNKTAKHFSLHIT ETQPEDSAVYFCAASMAGAGSYQ LTFGKGTKLSVIPNIQNPDPVYQL RDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQ SKSDVYITDKTVLDMRSMDFKS NSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIP EDTFFPSESSCDVKLVEKSFETDT NLNFQNLVIGFRILLKLVAGFNLL MTRLRWSS	SEQ ID NO: 77
HD5-1	Бета (β)	CDR1β	ENHRY	SEQ ID NO: 78
		CDR2β	SYGVKD	SEQ ID NO: 79
		CDR3β	CAISVGQGALYEQYF	SEQ ID NO: 80
		Варибельный домен	MGTRLFFYVALCLLWTGHMDAGI TQSPRHKVTETGTPVTLRCHQTEN HRYMYWYRQDPGHGLRLIHYSYG VKDTDKGEVSDGYSVSRSKTEDFL LTLESATSSQTSVYFCAISVGQGAL YEQYFGPGTRTLVTE	SEQ ID NO: 81
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC1	MGTRLFFYVALCLLWTGHMDAGI TQSPRHKVTETGTPVTLRCHQTEN HRYMYWYRQDPGHGLRLIHYSYG VKDTDKGEVSDGYSVSRSKTEDFL LTLESATSSQTSVYFCAISVGQGAL YEQYFGPGTRTLVTE DLNKVFPPE VAVFEPSEAEISHTQKATLVCLAT GFFPDHVELSWVNGKEVHSGVS TDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLR VSATFWQNPRNHFRQVQFYGLS ENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWG RADCGFTSVSYQQGVLSATILYEIL LGKATLYAVLVSALVLMAMVKR KDF	SEQ ID NO: 82

		Полноразмерная – с константным доменом TRBC2	MGTRLFFYVALCLLWTGHMDAGI TQSPRHKVTETGTPVTLRCHQTEN HRMYWYWRQDPGHGLRLIHYSYG VKDTDKGEVSDGYSVRSKTEDFL LTLESATSSQTSVYFCAISVGQGal YEQYFGPGTRTLVTEDLKNVFPPE VAVFEPSEAEISHTQKATLVCLAT GFYDPDHVELSWWVNGKEVHSGVS TDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLR VSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLS ENDEWTQDRAKPVTVQIVSAEAWG RADCGFTSESYQQGVLSATILYEIL LGKATLYAVLVSALVLMAMVKR KDSRG	SEQ ID NO: 83
HD5-2	Бета (β)	CDR1β	SGDLS	SEQ ID NO: 84
		CDR2β	YYNGEE	SEQ ID NO: 85
		CDR3β	CASSVARDRRNYGYTF	SEQ ID NO: 86
		Варибельный домен	MGFRLCCVAFCLLGAGPVDSGV TQTPKHLITATGQRVTLRCSPRSG DLSVYWYQQSLDQGLQFLIQYYN GEERAKGNILERFSAQQFPDLHSE LNLSSLELGDSALYFCASSVARDR RNYGYTFGSGTRTLTVVE	SEQ ID NO: 87
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC1	MGFRLCCVAFCLLGAGPVDSGV TQTPKHLITATGQRVTLRCSPRSG DLSVYWYQQSLDQGLQFLIQYYN GEERAKGNILERFSAQQFPDLHSE LNLSSLELGDSALYFCASSVARDR RNYGYTFGSGTRTLTVVEDLNKVPF PEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLA TGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGV STDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRL RVSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGL SENDEWTQDRAKPVTVQIVSAEAW GRADCGFTSVSYQQGVLSATILYE ILLGKATLYAVLVSALVLMAMVK RKDF	SEQ ID NO: 88
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC2	MGFRLCCVAFCLLGAGPVDSGV TQTPKHLITATGQRVTLRCSPRSG DLSVYWYQQSLDQGLQFLIQYYN GEERAKGNILERFSAQQFPDLHSE LNLSSLELGDSALYFCASSVARDR RNYGYTFGSGTRTLTVVEDLKNVFP PEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLA TGFPDHVELSWWVNGKEVHSG VSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSR LRVSATFWQNPRNHFRQCQVQFYG LSENDEWTQDRAKPVTVQIVSAEA WGRADCGFTSESYQQGVLSATILY EILLGKATLYAVLVSALVLMAMV KRKDSRG	SEQ ID NO: 89

Донор: HD6

Клонотип	Цепь	Область	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO
HD6-1	Альфа (α)	CDR1α	NSMFDY	SEQ ID NO: 90
		CDR2α	ISSIKDK	SEQ ID NO: 91
		CDR3α	CAANNARLMF	SEQ ID NO: 92
		Вариабельный домен	MAMLLGASVLILWLQPDWVNSQ QKNDDQQVKQNSPSSVQEGRIS ILNCDYTNSMFDYFLWYKKYPA EGPTFLISSIKDKNEDGRFTVFL NKS AKHLSLHIVPSQPGDSAVYF CAANNARLMFGDGTQLVVKPN	SEQ ID NO: 93
		Полноразмерная – с константным доменом TRAC	MAMLLGASVLILWLQPDWVNSQ QKNDDQQVKQNSPSSVQEGRIS ILNCDYTNSMFDYFLWYKKYPA EGPTFLISSIKDKNEDGRFTVFL NKS AKHLSLHIVPSQPGDSAVYF CAANNARLMFGDGTQLVVKPN QNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLF TDFDSQTNVSQSKSDVYITDKT VLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSD FACANAFNNSIIPEDTFFPSPSSC DVKLVKSFETDTNLFQNL SVI GFRILLKVAGFNLLMTLRLWSS	SEQ ID NO: 94
HD6-2	Альфа (α)	CDR1α	NSMFDY	SEQ ID NO: 264
		CDR2α	ISSIKDK	SEQ ID NO: 265
		CDR3α	CAASATGNQFYF	SEQ ID NO: 266
		Вариабельный домен	MAMLLGASVLILWLQPDWVNSQ QKNDDQQVKQNSPSSVQEGRIS ILNCDYTNSMFDYFLWYKKYPA EGPTFLISSIKDKNEDGRFTVFL NKS AKHLSLHIVPSQPGDSAVYF CAASATGNQFYFGTGTSLTVIPN	SEQ ID NO: 267

		Полноразмерная – с константным доменом TRAC	MAMLLGASVLILWLQPDWVNSQ QKNDDQQVKQNSPQLSVQEGRIS ILNCDYTNMFDYFLWYKKYPA EGPTFLISSIKDKNEDGRFTVFL NKSALHLSLHIVPSQPGDSAVYF CAASATGNQFYFGTGTSLTVIPNI QNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLF TDFDSQTNVSQSKSDVYITDKT VLDMRSMDFKSN SAVAWSNKSD FACANAFNNSIIPEDTFFPSPSSC DVKLVEKSFETDTNLFQNLVI GFRILLK VAGFNLLMTLRLWSS	SEQ ID NO: 268
HD6-1	Бета (β)	CDR1β	SGHNS	SEQ ID NO: 95
		CDR2β	FNNNVP	SEQ ID NO: 96
		CDR3β	CASSDTRAREQFF	SEQ ID NO: 97
		Вариабельный домен	MDSWTFCCVSLCILVAKHTDAG VIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPIS GHNSLFWYRQTMMRGLELLIYF NNNVPIDDSGMPEDRFS AKMPNA SFSTLKIQPSEPRDSAVYFCASSD TRAREQFFGPGTRTLTVLE	SEQ ID NO: 98
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC1	MDSWTFCCVSLCILVAKHTDAG VIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPIS GHNSLFWYRQTMMRGLELLIYF NNNVPIDDSGMPEDRFS AKMPNA SFSTLKIQPSEPRDSAVYFCASSD TRAREQFFGPGTRTLTVLEDLNV FPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLV CLATGFFPDHVELSWWVNGKEV HSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYC LSSRLRVSAFWQNP RNHFRCQV QFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIV SAEAWGRADCGFTSVSYQQGV SATILYEILLGKATLYAVLV SALV LMAMVKKR KDF	SEQ ID NO: 99
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC2	MDSWTFCCVSLCILVAKHTDAG VIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPIS GHNSLFWYRQTMMRGLELLIYF NNNVPIDDSGMPEDRFS AKMPNA SFSTLKIQPSEPRDSAVYFCASSD TRAREQFFGPGTRTLTVLEDLNV FPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLV CLATGFYPDHVELSWWVNGKEV HSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYC LSSRLRVSAFWQNP RNHFRCQV QFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIV SAEAWGRADCGFTSESYQQGV SATILYEILLGKATLYAVLV SALV LMAMVKKR KDSRG	SEQ ID NO: 100

HD6-2	Бета (β)	CDR1β	SGHRS	SEQ ID NO: 269
		CDR2β	YFSETQ	SEQ ID NO: 270
		CDR3β	CASSPGQHGELEFF	SEQ ID NO: 271
		Варибельный домен	MGSRLLCWVLLCLLGAGPVKAG VTQTPRYLIKTRGQQVTI.SCSPIS GHRVSVSWYQQTPGQGLQFLFEYF SETQRNKGNFPRFSGRQFSNSRS EMNVSTLELGDSALYLCASSPGQ HGELFFGEGSRLTVLE	SEQ ID NO: 272
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC1	MGSRLLCWVLLCLLGAGPVKAG VTQTPRYLIKTRGQQVTI.SCSPIS GHRVSVSWYQQTPGQGLQFLFEYF SETQRNKGNFPRFSGRQFSNSRS EMNVSTLELGDSALYLCASSPGQ HGELFFGEGSRLTVLEDLNKVFPP EVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLA TGFFPDHVELSWVNGKEVHSG VSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSS RLRVSATFWQNPVNHFRQVQF YGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSA EAWGRADCGFTSVSYQQGVLSA TILYEILLGKATLYAVLVSA MAMVKRKDF	SEQ ID NO: 273
Полноразмерная – с константным доменом TRBC2	MGSRLLCWVLLCLLGAGPVKAG VTQTPRYLIKTRGQQVTI.SCSPIS GHRVSVSWYQQTPGQGLQFLFEYF SETQRNKGNFPRFSGRQFSNSRS EMNVSTLELGDSALYLCASSPGQ HGELFFGEGSRLTVLEDLKNVFPP EVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLA TGFFPDHVELSWVNGKEVHSG VSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSS RLRVSATFWQNPVNHFRQVQF YGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSA EAWGRADCGFTSESYQQGVLSA TILYEILLGKATLYAVLVSA MAMVKRKDSRG	SEQ ID NO: 274		

Донор: HD7

Клонотип	Цепь	Область	Последовательность	SEQ ID NO
HD7-1	Альфа (α)	CDR1α	DSSSTY	SEQ ID NO: 101
		CDR2α	IFSNMDM	SEQ ID NO: 102
		CDR3α	CAERLNTDKLIF	SEQ ID NO: 103

		Варибельный домен	MKTFAGFSFLFLWLQLDCMSRGE DVEQSLFLSVREGDSSVINCTYTD SSSTYLYWYKQEPGAGLQLLYI FSNMDMKQDQRLTVLLNKKDKH LSLRIADTQTGDSAIYFCAERLNT DKLIFGTGTRLQVFPN	SEQ ID NO: 104
		Полноразмерная – с константным доменом TRAC	MKTFAGFSFLFLWLQLDCMSRGE DVEQSLFLSVREGDSSVINCTYTD SSSTYLYWYKQEPGAGLQLLYI FSNMDMKQDQRLTVLLNKKDKH LSLRIADTQTGDSAIYFCAERLNT DKLIFGTGTRLQVFPNIQNPDP AVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQT NVSQSKSDVYITDKTVLDMRS MDFKNSAVAWSNKSDFACANA FNNSIIPEDTFFPSPESCDVKLVE KSFETDTNLNFQNLVIGFRILL KVAGFNLLMTLRLWSS	SEQ ID NO: 105
HD7-2	Альфа (α)	CDR1α	DSVNN	SEQ ID NO: 106
		CDR2α	IPSGT	SEQ ID NO: 107
		CDR3α	CAVEATDSWGKLF	SEQ ID NO: 108
		Варибельный домен	MKRILGALLGLLSAQVCCVRGIQ VEQSPDLILQEGANSTLRNFS D SVNQLQWFHQNPWGQLINLFYIP SGTKQNGRLSATTVATERYSLY ISSQT TDSGVYFCAVEATDSWG KLQFGAGTQVVVTPD	SEQ ID NO: 109
		Полноразмерная – с константным доменом TRAC	MKRILGALLGLLSAQVCCVRGIQ VEQSPDLILQEGANSTLRNFS D SVNQLQWFHQNPWGQLINLFYIP SGTKQNGRLSATTVATERYSLY ISSQT TDSGVYFCAVEATDSWG KLQFGAGTQVVVTPDIQNPDP AVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQT NVSQSKSDVYITDKTVLDMRS MDFKNSAVAWSNKSDFACANA FNNSIIPEDTFFPSPESCDVKLVE KSFETDTNLNFQNLVIGFRILL KVAGFNLLMTLRLWSS	SEQ ID NO: 110
HD7-3	Альфа (α)	CDR1α	DSASNY	SEQ ID NO: 111
		CDR2α	IRSNVGE	SEQ ID NO: 112
		CDR3α	CAVRTSYDKVIF	SEQ ID NO: 113

		Варибельный домен	MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENV EQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYSDS ASNYFPWYKQELGKRPQLIDIRS NVGEKKDQRIAVTLNKTAKHFSL HITETQPEDSAVYFCAVRTSYDK VIFGPGTSLSVIPN	SEQ ID NO: 114
		Полноразмерная – с константным доменом TRAC	MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENV EQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYSDS ASNYFPWYKQELGKRPQLIDIRS NVGEKKDQRIAVTLNKTAKHFSL HITETQPEDSAVYFCAVRTSYDK VIFGPGTSLSVIPNIQNPDPVYQL RDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVS QSKDSDVYITDKTVLDMRSMDF KNSAVAWSNKSDFACANAFNN SIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSF ETDTNLFQNLVIGFRILLKVA GFNLLMTRLRLWSS	SEQ ID NO: 160
HD7-4	Альфа (α)	CDR1α	TSINN	SEQ ID NO: 275
		CDR2α	IRSNERE	SEQ ID NO: 276
		CDR3α	CATDGDSSYKLIF	SEQ ID NO: 277
		Варибельный домен	METLLGVSLVILWLQLARVNSQQ GEEDPQALSIQEGENATMNCYSK TSINNLQWYRQNSGRGLVHLILIR SNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSL LITASRAADTASYFCATDGDSSY KLIFGSGTRLLVLRPD	SEQ ID NO: 278
		Полноразмерная – с константным доменом TRAC	METLLGVSLVILWLQLARVNSQQ GEEDPQALSIQEGENATMNCYSK TSINNLQWYRQNSGRGLVHLILIR SNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSL LITASRAADTASYFCATDGDSSY KLIFGSGTRLLVLRPDQNPDPVY QLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTN VSQSKDSDVYITDKTVLDMRSM DFKNSAVAWSNKSDFACANAF NNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEK SFETDTNLFQNLVIGFRILLK VAGFNLLMTRLRLWSS	SEQ ID NO: 279
HD7-1	Бета (β)	CDR1β	DFQATT	SEQ ID NO: 161
		CDR2β	SNEGSKA	SEQ ID NO: 162
		CDR3β	CSARDSVSGNTIYF	SEQ ID NO: 163

		Варибельный домен	MLLLLLLLGPGISLLLPGSLAGSG LGAVVSQHPSWVICKSGTSVKIE CRSLDFQATTMFWYRQFPKQSL MLMATSNEGSKATYEQGVEKDK FLINHASLTLSTLTVTSAHPEDSSF YICSARDSVSGNTIYFGECSWLT VE	SEQ ID NO: 164
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC1	MLLLLLLLGPGISLLLPGSLAGSG LGAVVSQHPSWVICKSGTSVKIE CRSLDFQATTMFWYRQFPKQSL MLMATSNEGSKATYEQGVEKDK FLINHASLTLSTLTVTSAHPEDSSF YICSARDSVSGNTIYFGECSWLT VEDLNKVPPEVAVFEPSEAEISH TQKATLVCLATGFFPDHVELSW WVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQP ALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNP RNHFRCQVQFYGLSENDEWTQD RAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTS VSYQQGVLSATILYEILLGKATLY AVLVSALVLMAMVKKRDF	SEQ ID NO: 165
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC2	MLLLLLLLGPGISLLLPGSLAGSG LGAVVSQHPSWVICKSGTSVKIE CRSLDFQATTMFWYRQFPKQSL MLMATSNEGSKATYEQGVEKDK FLINHASLTLSTLTVTSAHPEDSSF YICSARDSVSGNTIYFGECSWLT VEDLNKVPPEVAVFEPSEAEISH TQKATLVCLATGFYDPHVELSW WVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQP ALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNP RNHFRCQVQFYGLSENDEWTQD RAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTS ESYQQGVLSATILYEILLGKATLY AVLVSALVLMAMVKKRDSRG	SEQ ID NO: 166
HD7-2	Бета (β)	CDR1β	SQVTM	SEQ ID NO: 167
		CDR2β	ANQGSEA	SEQ ID NO: 168
		CDR3β	CSVGGSGSYNEQFF	SEQ ID NO: 169
		Варибельный домен	MLLLLLLLGLGSVFSAVISQKPS RDICQRGTSLTICQVDSQVTMM FWYRQPPGQSLTLIATANQGSEA TYESGFVIDKFPISRPNLTFSTLTV SNMSPEDSSIYLCVGGSGSYNEQ FFGPGTRTLTVLE	SEQ ID NO: 170

		Полноразмерная – с константным доменом TRBC1	MLSLLLLLGLGSVFSAVISQKPS RDICQRGTSLTICQVDSQVTMM FWYRQQPGQSLTLIATANQGSEA TYESGFVIDKFPISRPNLTFSTLTV SNMSPEDSSIYLCVGGSGSYNEQ FFGPGTRRLTVLEDLKNVFPPEVA VFEPSEAEISHTQKATLVCLATGF FPDHVELSWWVNGKEVHSGVST DPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLR VSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGL SENDEWTQDRAKPVTQIVSAEA WGRADCGFTSVSYQQGVLSATIL YEILLGKATLYAVLVSALVLMMA MVKRKDF	SEQ ID NO: 171
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC2	MLSLLLLLGLGSVFSAVISQKPS RDICQRGTSLTICQVDSQVTMM FWYRQQPGQSLTLIATANQGSEA TYESGFVIDKFPISRPNLTFSTLTV SNMSPEDSSIYLCVGGSGSYNEQ FFGPGTRRLTVLEDLKNVFPPEVA VFEPSEAEISHTQKATLVCLATGF YPDHVELSWWVNGKEVHSGVST DPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLR VSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGL SENDEWTQDRAKPVTQIVSAEA WGRADCGFTSESYQQGVLSATIL YEILLGKATLYAVLVSALVLMMA MVKRKDSRG	SEQ ID NO: 172
HD7-3	Бета (β)	CDR1β	DFQATT	SEQ ID NO: 280
		CDR2β	SNEGSKA	SEQ ID NO: 281
		CDR3β	CSARDVLTGDYGYTF	SEQ ID NO: 282
		Варибельный домен	MLLLLLLGPGISLLPGSLAGSG LGAVVSQHPSWVICKSGTSVKIE CRSLDFQATTMFWYRQFPKQSL MLMATSNEGSKATYEQGVEKDK FLINHASLTLSTLTVTSAHPEDSSF YICSARDVLTGDYGYTFGSGTRL TVV	SEQ ID NO: 283

		Полноразмерная – с константным доменом TRBC1	MLLLLLLPGGISLLLPGSLAGSGLGAVVSQHPSWVICKSGTSVKIECRSLDFQATTMFWYRQFPKQSLMLMATSNEGSKATYEQGVEKDKFLINHASLTLSTLTVTSAHPEDSSFYICSARDVLTGDYGYTFGSGTRLTVVEDLNKVPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPARNHFRCVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKKRDF	SEQ ID NO: 284
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC2	MLLLLLLPGGISLLLPGSLAGSGLGAVVSQHPSWVICKSGTSVKIECRSLDFQATTMFWYRQFPKQSLMLMATSNEGSKATYEQGVEKDKFLINHASLTLSTLTVTSAHPEDSSFYICSARDVLTGDYGYTFGSGTRLTVVEDLNKVPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPARNHFRCVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKKRDSRG	SEQ ID NO: 285
HD7-4	Бета (β)	CDR1β	SGHDY	SEQ ID NO: 286
		CDR2β	FNNNVP	SEQ ID NO: 287
		CDR3β	CASSLGLSISQETQYF	SEQ ID NO: 288
		Варибельный домен	MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPISGHDYLFWYRQTMMRGGLELLIYFNNNVPIDDSGMPEDRFS AKMPNASFSTLKIQPSEPRDSAVYFCASSLGLSISQETQYFGPGTRLLVLE	SEQ ID NO: 289
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC1	MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPISGHDYLFWYRQTMMRGGLELLIYFNNNVPIDDSGMPEDRFS AKMPNASFSTLKIQPSEPRDSAVYFCASSLGLSISQETQYFGPGTRLLVLEDLNKVPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPARNHFRCVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKKRDF	SEQ ID NO: 290
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC2	MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPISGHDYLFWYRQTMMRGGLELLIYFNNNVPIDDSGMPEDRFS AKMPNASFSTLKIQPSEPRDSAVYFCASSLGLSISQETQYFGPGTRLLVLEDLKNVPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPARNHFRCVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKKRDSRG	SEQ ID NO: 291

Донор: HD8

Цепь	Область	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO
Альфа (α)	CDR1α	VGISA	SEQ ID NO: 173
	CDR2α	LSSGK	SEQ ID NO: 174
	CDR3α	CAVTVGNKLVF	SEQ ID NO: 175
	Варибельный домен	MVKIRQFLAILWLQLSCVSAAKNEVEQSP QNLTAQEGEFITINCSYSVGISALHWLQQHP GGGIVSLFMLSSGKKKHGRLIATINIQEKHS SLHITASHPRDSAVYICAVTVGNKLVFGAG TILRVKSY	SEQ ID NO: 176
	Полноразмерная – с константным доменом TRAC	MVKIRQFLAILWLQLSCVSAAKNEVEQSP QNLTAQEGEFITINCSYSVGISALHWLQQHP GGGIVSLFMLSSGKKKHGRLIATINIQEKHS SLHITASHPRDSAVYICAVTVGNKLVFGAG TILRVKSYIQNPDPVAVYQLRDSKSSDKSVCL FTDFDSQTNVSQSKSDVYITDKTVLDMRS MDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIPE DTFFPSPESCDVKLVEKSFETDTNLFQNL SVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS	SEQ ID NO: 177

Бета (β)	CDR1β	MNHNS	SEQ ID NO: 178
	CDR2β	SASEGT	SEQ ID NO: 179
	CDR3β	CASRGWREQFF	SEQ ID NO: 180
	Варибельный домен	MSIGLLCCVAFSLLWASPVNAGVTQTPKFQ VLKTGQSM TLQCAQDMNHNSMYWYRQDP GMGLRLIYYSASEGTTDKGEVPNGYNVSR NKREFSLRLESAAPSQTSVYFCASRGWREQ FFGPGTRTLVLE	SEQ ID NO: 181
	Полноразмерная – с константным доменом TRBC1	MSIGLLCCVAFSLLWASPVNAGVTQTPKFQ VLKTGQSM TLQCAQDMNHNSMYWYRQDP GMGLRLIYYSASEGTTDKGEVPNGYNVSR NKREFSLRLESAAPSQTSVYFCASRGWREQ FFGPGTRTLVLEDLNKNVFPPEVAVFEPSEAE ISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWVNG KEVHSGVSTDPQLKEQPALNDSRYCLSSR LRVSATFWQNP RNHFRCQVQFYGLSENDE WTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVS YQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALV LMAMVKRKDF	SEQ ID NO: 182
	Полноразмерная – с константным доменом TRBC2	MSIGLLCCVAFSLLWASPVNAGVTQTPKFQ VLKTGQSM TLQCAQDMNHNSMYWYRQDP GMGLRLIYYSASEGTTDKGEVPNGYNVSR NKREFSLRLESAAPSQTSVYFCASRGWREQ FFGPGTRTLVLEDLNKNVFPPEVAVFEPSEAE ISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELSWWVNG KEVHSGVSTDPQLKEQPALNDSRYCLSSR LRVSATFWQNP RNHFRCQVQFYGLSENDE WTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSES YQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALV LMAMVKRKDSRG	SEQ ID NO: 183

Донор: HD9

Клонотип	Цепь	Область	Последовательность	SEQ ID NO
HD9-1	Альфа (α)	CDR1α	VGISA	SEQ ID NO: 184
		CDR2α	LSSGK	SEQ ID NO: 185
		CDR3α	CAARSYNTDKLIF	SEQ ID NO: 186
		Варибельный домен	MVKIRQFLAILWLQLSCVSAAKNEVEQSP QNLTAQEGEFITINCSYSVGISALHWLQQHP GGGIVSLFMLSSGKKKHGRLIATINIQEKHS SLHITASHPRDSAVYICAARSYNTDKLIF GTGTRLVQVFPN	SEQ ID NO: 187

		Полноразмерная – с константным доменом TRAC	MVKIRQFLAILWLQLSCVSAA KNEVEQSPQNLTAEQEGFITINC SYSVGISALHWLQQHPGGGIVSL FMLSSGKKKHGRLIATINIQEKH SSLHITASHPRDSA VYICAARSY NTDKLIFGTGTRLQVFPNIQNP PAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDF DSQTNVSQSKSDVYITDKTVL DMRSMDFKSNSAVAWSNKSD ACANAFNNSIIPEDTFFPSP DVKLVKSFETDTNLFQNL SVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS	SEQ ID NO: 188
HD9–2	Альфа (α)	CDR1α	NSMFDY	SEQ ID NO: 189
		CDR2α	ISSIKDK	SEQ ID NO: 190
		CDR3α	CAASYNNARLMF	SEQ ID NO: 191
		Вариабельный домен	MAMLLGASVLILWLQPDWVNS QQKNDDQQVKQNSP SLSVQEGRISILNCDY TNSMFDYFLWYK KYP AEGPTFLISSIK DKNEDGRFTVFLN KSAKHLHLHIVPS QPGDSA VYFCAAS YNNARLMFGDGT QLVVKPN	SEQ ID NO: 192
		Полноразмерная – с константным доменом TRAC	MAMLLGASVLILWLQPDWVNS QQKNDDQQVKQNSP SLSVQEGRISILNCDY TNSMFDYFLWYK KYP AEGPTFLISSIK DKNEDGRFTVFLN KSAKHLHLHIVPS QPGDSA VYFCAAS YNNARLMFGDGT QLVVKPNIQNP DPAVYQLRDSKSS DKSVCLFTDFDSQ TNVSQSKDS DVYIT DKTVLDMRSMDF KSNSAVAWSNKSD FACANAFNNSIIP EDTFFPSP SCDVKLVKSFETDT NLFQNL SVIGFRILLKLVAG FNLLMTLRLWSS	SEQ ID NO: 193
HD9–1	Бета (β)	CDR1β	SGHTS	SEQ ID NO: 194
		CDR2β	YDEGEE	SEQ ID NO: 195
		CDR3β	CASSWGYQETQYF	SEQ ID NO: 196
		Вариабельный домен	MGPRLFWALLCLLGT GPVEAGVTQSP THLIKTRGQATLRC SPISGHTSVY WYQQALGLGLQFL LWYDEGEERNR GNFPPRFSGRQFP NYSSELNVNALE LEDSALYLCASS WGYQETQYFGP GTRLLVLE	SEQ ID NO: 197

		Полноразмерная – с константным доменом TRBC1	MGPRLFWALLCLLGTGPVEAG VTQSPHLLIKTRGQATLRCSPIS GHTSVYWYQQALGLGLQFLW YDEGEERNRGNFPPRFSGRQFPN YSSELNVNALELEDSALYLCASS WGYQETQYFGPGTRLLVLEDLN KVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKA TLVCLATGFFPDHVELSWVNG KEVHSGVSTDPQPLKEQPALND SRYCLSSRLRVSAATFWQNPRNH FRCVQVQFYGLSENDEWTQDRA KPVTQIVSAEAWGRADCGFTSV SYQQGVLSATILYEILLGKATLY AVLVSALVLMAMVKKRDF	SEQ ID NO: 198
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC2	MGPRLFWALLCLLGTGPVEAG VTQSPHLLIKTRGQATLRCSPIS GHTSVYWYQQALGLGLQFLW YDEGEERNRGNFPPRFSGRQFPN YSSELNVNALELEDSALYLCASS WGYQETQYFGPGTRLLVLEDLK NVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKA TLVCLATGFYPDHVELSWVNG GKEVHSGVSTDPQPLKEQPALN DSRYCLSSRLRVSAATFWQNPRN HFRCVQVQFYGLSENDEWTQDR AKPVTQIVSAEAWGRADCGFTS ESYQQGVLSATILYEILLGKATL YAVLVSALVLMAMVKKRDSRG	SEQ ID NO: 199
HD9-2	Бета (β)	CDR1β	KGHSH	SEQ ID NO: 200
		CDR2β	LQKENI	SEQ ID NO: 201
		CDR3β	CASSPTGGEYYGYTF	SEQ ID NO: 202
		Вариабельный домен	MDTRVLCCAVICLLGAGLSNAG VMQNPRHLVRRRGQEARLRCSP MKGHSHVYWYRQLPEEGLKFM VYLQKENIIDESGMPKERFSAEF PKEGPSILRIQQVVRGDSAAAYFC ASSPTGGEYYGYTFGSGTRLTV VE	SEQ ID NO: 203

		Полноразмерная – с константным доменом TRBC1	MDTRVLCCA VICLLGAGLSNAG VMQNPRHLVRRRGQEARLRCSP MKGHSHVYWYRQLPEEGLKFM VYLQKENIIDESGMPKERFSAEF PKEGPSILRIQQVVRGDSAA YFC ASSPTGGEY YGYTFGSGTRLTV VEDLNKVFPEVA VFEPSEAEIS HTQKATLVCLATGFFPDHVELS WWVNGKEVHSGVSTDPQLKE QPALNDSRYCLSSRLRV SATFW QNPRNHFR CQVQFYGLSENDEW TQDRAKPVTQIVSAEAWGRADC GFTSVSYQQGVLSATILYEILLG KATLYAVLVSALVLMAMVKRK DF	SEQ ID NO: 204
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC2	MDTRVLCCA VICLLGAGLSNAG VMQNPRHLVRRRGQEARLRCSP MKGHSHVYWYRQLPEEGLKFM VYLQKENIIDESGMPKERFSAEF PKEGPSILRIQQVVRGDSAA YFC ASSPTGGEY YGYTFGSGTRLTV VEDLNKVFPEVA VFEPSEAEIS HTQKATLVCLATGFYPDHVELS WWVNGKEVHSGVSTDPQLKE QPALNDSRYCLSSRLRV SATFW QNPRNHFR CQVQFYGLSENDEW TQDRAKPVTQIVSAEAWGRADC GFTSESYQQGVLSATILYEILLG KATLYAVLVSALVLMAMVKRK DSRG	SEQ ID NO: 205
HD9-3	Бета (β)	CDR1β	MNHEY	SEQ ID NO: 206
		CDR2β	SVGAGI	SEQ ID NO: 207
		CDR3β	CASSYPLRTGRYNSYNSPLHF	SEQ ID NO: 208
		Вариабельный домен	MSIGLLCCAALSLLWAGPVNAG VTQTPKFQVLKTGQSMTLQCAQ DMNHEYMSWYRQDPGMGLRLI HYSVGAGITDQGEV PNGYNVSR STTEDFPLRLLSAAPSQTSVYFC ASSSYPLRTGRYNSYNSPLHFGN GTRLTVTE	SEQ ID NO: 209

		Полноразмерная – с константным доменом TRBC1	MSIGLLCCAALSLLWAGPVNAG VTQTPKFQVLKGTGQSM TLQCAQ DMNHEYMSWYRQDPGMGLRLI HYSVGAGITDQGEV PNGYNVSR STTEDFPLRLLSAAPSQTSVYFC ASSSYPLRTGRYNSYNSPLHFGN GTRLTVTEDLNKVPPEVA VFEP SEAEISHTQKATLVCLATGFFPD HVELSWWWNGKEVHSGVSTDP QPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVS ATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSE NDEWTQDRAKPVTVQIVSAEAW GRADCGFTSVSYQQGVLSATIL YEILLGKATLYAVLVSALV LMA MVKRKDF	SEQ ID NO: 210
		Полноразмерная – с константным доменом TRBC2	MSIGLLCCAALSLLWAGPVNAG VTQTPKFQVLKGTGQSM TLQCAQ DMNHEYMSWYRQDPGMGLRLI HYSVGAGITDQGEV PNGYNVSR STTEDFPLRLLSAAPSQTSVYFC ASSSYPLRTGRYNSYNSPLHFGN GTRLTVTEDLNKVPPEVA VFEP SEAEISHTQKATLVCLATGFYPD HVELSWWWNGKEVHSGVSTDP QPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVS ATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSE NDEWTQDRAKPVTVQIVSAEAW GRADCGFTSESYQQGVLSATILY EILLGKATLYAVLVSALV L MAM VKRKDSRG	SEQ ID NO: 211

Донор: HD10

Цепь	Область	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO
Альфа (α)	CDR1α	NSMFDY	SEQ ID NO: 212
	CDR2α	ISSIKDK	SEQ ID NO: 213
	CDR3α	CAASGGRDDKIIF	SEQ ID NO: 214
	Варибельный домен	MAMLLGASVLILWLQPDWVNSQQKNDD QQVKQNSP SLSVQEGRISILNCDYTN SMF DYFLWYKKYPAEGPTFLISSIKDKNEDG RFTVFLNKS AKHLSLHIVPSQPGDSAVYF CAASGGRDDKIIFGKGTRLHILPN	SEQ ID NO: 215
	Полноразмерная – с константным доменом TRAC	MAMLLGASVLILWLQPDWVNSQQKNDD QQVKQNSP SLSVQEGRISILNCDYTN SMF DYFLWYKKYPAEGPTFLISSIKDKNEDG RFTVFLNKS AKHLSLHIVPSQPGDSAVYF CAASGGRDDKIIFGKGTRLHILPNIQNPDP AVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQ SKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSN SAVA WSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSP ESS CDVKLVEKSFETDTNLFQNL SVIGFRILL LKVAGFNLLMTLRLWSS	SEQ ID NO: 216

Бета (β)	CDR1β	MNHEY	SEQ ID NO: 217
	CDR2β	SVGAGI	SEQ ID NO: 218
	CDR3β	CASSYRTESTDTQYF	SEQ ID NO: 219
	Вариабельный домен	MSIGLLCCAALSLLWAGPVNAGVTQTPK FQVLKTGQSMTLQCAQDMNHEYMSWYR QDPGMGLRLLIHYSVGAGITDQGEVPNGY NVSRTTEDFPLRLLSAAPSQTSVYFCASS YSRTESTDTQYFGPGTRTLTVLE	SEQ ID NO: 220
	Полноразмерная – с константным доменом TRBC1	MSIGLLCCAALSLLWAGPVNAGVTQTPK FQVLKTGQSMTLQCAQDMNHEYMSWYR QDPGMGLRLLIHYSVGAGITDQGEVPNGY NVSRTTEDFPLRLLSAAPSQTSVYFCASS YSRTESTDTQYFGPGTRTLTVLEDLKNVFP PEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFP DHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQ PALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNP RNHFR CQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTVQIVSA EAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEIL LGKATLYAVLVSALVLMAMVVKRKDF	SEQ ID NO: 221
Полноразмерная – с константным доменом TRBC2	MSIGLLCCAALSLLWAGPVNAGVTQTPK FQVLKTGQSMTLQCAQDMNHEYMSWYR QDPGMGLRLLIHYSVGAGITDQGEVPNGY NVSRTTEDFPLRLLSAAPSQTSVYFCASS YSRTESTDTQYFGPGTRTLTVLEDLKNVFP PEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYP DHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQ PALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNP RNHFR CQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTVQIVSA EAWGRADCGFTSES YQQGVLSATILYEIL LGKATLYAVLVSALVLMAMVVKRKDSRG	SEQ ID NO: 222	

Таким образом, в настоящем изобретении предложены выделенные полипептиды, включающие одну или более аминокислотных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-114 и 160-222, их фрагменты, варианты и гомологи.

В одном аспекте изобретения предложен TCR, включающий последовательность альфа-цепи TCR, выбранные из группы, состоящей из последовательностей альфа-цепи HD1-HD10 в табл. 1, и последовательность бета-цепи TCR, независимо выбранную из группы, состоящей из последовательностей бета-цепи HD1-HD10 в табл. 1.

Уменьшение ошибочного спаривания и повышение экспрессии TCR.

TCR согласно изобретению может экспрессироваться в Т-клетке с изменением антигенной специфичности Т-клетки. TCR-трансдуцированные Т-клетки могут экспрессировать по меньшей мере две альфа-цепи TCR и две бета-цепи TCR. Хотя эндогенные альфа/бета-цепи TCR формируют рецептор, который является аутоотолерантным, введенные альфа/бета-цепи TCR формируют рецептор с определенной специфичностью в отношении данного антигена-мишени.

Однако TCR-генотерапия требует достаточной экспрессии перенесенных TCR-рецепторов. Перенесенный TCR может быть разбавлен присутствием эндогенного TCR, что приводит к недостаточной экспрессии опухолеспецифичного TCR. Кроме того, может происходить ошибочное спаривание между эндогенными и введенными цепями с образованием новых рецепторов, которые могут проявлять неожиданную специфичность в отношении аутоантигенов и вызывать аутоиммунное повреждение при переносе пациентам.

Следовательно, исследовали несколько стратегий для снижения риска ошибочного спаривания между эндогенными и введенными цепями TCR. Мутации в альфа/бета-интерфейсе TCR являются одной из стратегий, используемых в настоящее время для уменьшения нежелательного ошибочного спаривания. Например, введение цистеина в константные домены альфа и бета-цепи позволяет образовывать дисульфидную связь и улучшает спаривание введенных цепей, уменьшая при этом ошибочное спаривание с цепями дикого типа.

Таким образом, TCR-рецепторы настоящего изобретения могут включать одну или более мутаций в области соединения α-цепи/β-цепи, такие, что при экспрессии α-цепи и β-цепи в Т-клетке частота ошибочного спаривания между указанными цепями и эндогенными α и β-цепями TCR снижается. В одном варианте осуществления одна или более мутаций вводят остаток цистеина в домен константной области каждой α-цепи и β-цепи, где остатки цистеина способны образовывать дисульфидную связь между α-цепью и β-цепью.

Другая стратегия уменьшения ошибочного спаривания основана на введении полинуклеотидных последовательностей, кодирующих миРНК, добавляемых к генам, кодирующим опухолеспецифичные α и или β-цепи TCR, и созданных с возможностью ограничивать экспрессию эндогенных генов TCR (Okamoto S. Cancer research 69, 9003-9011, 2009).

Таким образом, вектор или полинуклеотид, кодирующий TCR-рецепторы настоящего изобретения, может включать один или более мРНК или других средств, направленных на ограничение или устранение экспрессии эндогенных генов TCR.

Также можно комбинировать искусственные нуклеазы, такие как цинк-пальцевые нуклеазы (ZFN), подобные активаторам транскрипции эффекторные нуклеазы (TALEN) или CRISPR/Cas системы, предназначенные для адресного воздействия на константные области эндогенных генов, например генов TCR (TRAC и/или TRBC), с получением постоянного прерывания эндогенных генов альфа и/или бета-цепи TCR, обеспечивая в результате полную экспрессию опухолеспецифичного TCR и, таким образом, уменьшая или устраняя риск ошибочного спаривания TCR. Этот процесс, известный как редактирование гена TCR, превзошел перенос гена TCR *in vitro* и *in vivo* (Provasi E., Genovese P., Nature Medicine May; 18(5):807-15; 2012).

Таким образом, TCR-рецепторы настоящего изобретения могут применяться для редактирования специфичности Т-клеток путем прерывания TCR и генетического введения опухолеспецифичного TCR.

Кроме того, технология редактирования генома обеспечивает возможность направленной интеграции кассеты экспрессии, содержащей полинуклеотид, кодирующий TCR настоящего изобретения, и, обязательно, одну или более промоторных областей и/или другие последовательности контроля экспрессии, в эндогенный ген, прерванный с помощью искусственных нуклеаз (Lombardo A., Nature biotechnology 25, 1298-1306; 2007).

Таким образом, TCR-рецепторы настоящего изобретения могут применяться для редактирования специфичности Т-клеток путем направленной интеграции полинуклеотида, кодирующего TCR настоящего изобретения, в геномную область. Интеграция может направляться искусственной нуклеазой.

Другая стратегия, разработанная для повышения экспрессии перенесенного TCR и уменьшения ошибочного спаривания TCR, заключается в "муринизации", при которой заменяют человеческие TCR α и TCR β константные области (например, области TRAC, TRBC1 и TRBC2) их мышинными аналогами. Муринизация константных областей TCR описана, например, в публикации Sommermeyer and Uckert, J Immunol; 2010 (184:6223-6231). Таким образом, TCR-рецепторы настоящего изобретения могут быть муринизированными.

Выделенный полинуклеотид.

Настоящее изобретение относится к выделенному полинуклеотиду, кодирующему TCR рецептор изобретения или его часть, такую как α -цепь и/или β -цепь, переменный домен или его часть.

Выделенный полинуклеотид может быть двухцепочечным или одноцепочечным и может быть РНК или ДНК.

Специалисту будет очевидно, что множество различных полинуклеотидов могут кодировать один и тот же полипептид в результате вырожденности генетического кода. Кроме того, следует понимать, что специалист при использовании стандартных методов сумеет сделать замены, вставки или делеции нуклеотидов, которые не повлияют на полипептидную последовательность, кодируемую полинуклеотидами согласно изобретению, отражая использование кодонов какого-либо конкретного организма-хозяина, в котором требуется экспрессировать полипептиды согласно изобретению.

Полинуклеотиды, описанные в настоящем документе, могут быть модифицированы с помощью любого способа, доступного в уровне техники. Такие модификации могут быть выполнены с целью повышения активности *in vivo* или продолжительность действия полинуклеотидов изобретения.

Полинуклеотиды, такие как ДНК полинуклеотиды, могут быть получены рекомбинантно, искусственно или любыми способами, доступными специалистам в данной области. Они могут быть также клонированы стандартными методами.

Более протяженные полинуклеотиды обычно получают с применением рекомбинантных способов, например, при использовании технологий клонирования методом полимеразной цепной реакции (PCR). Это включает получение пары праймеров (например, длиной приблизительно 15-30 нуклеотидов), фланкирующих целевую последовательность, которую требуется клонировать, приведение праймеров в контакт с мРНК или кДНК полученной из клетки животного или клетки человека, проведение полимеразной цепной реакции при условиях, которые вызывают амплификацию нужной области, выделение амплифицированного фрагмента (например, путем очистки реакционной смеси из агарозного геля) и получение амплифицированной ДНК. Могут быть созданы праймеры, содержащие подходящие сайты рестрикции, чтобы амплифицированную ДНК можно было клонировать в подходящий вектор.

Примеры нуклеотидных последовательностей, кодирующих TCR-рецепторы согласно настоящему изобретению, приведены в табл. 2.

Таблица 2

Донор	Цепь	Нуклеотидная последовательность	SEQ ID NO
HD1	α (с TRAC)	ATGGAGACTCTCCTGAAAGTGCTTTCAGGCA CCTTGTGTGGCAGTTGACCTGGGTGAGAAG CCAACAACCAGTGCAGAGTCTCAAGCCGTG ATCCTCCGAGAAGGGGAAGATGCTGTCATCA ACTGCAGTTCCTCCAAGGCTTTATATTCTGTA CACTGGTACAGGCAGAAGCATGGTGAAGCAC CCGTCTCCTGATGATTAATGAAAGGTGGA GAACAGAAGGGTCATGAAAAAATATCTGCTT CATTTAATGAAAAAAGCAGCAAAGCTCCCT GTACCTTACGGCCTCCAGCTCAGTACTCAG GAACCTACTTCTGCGGCACAGCTTGGATTAA CGACTACAAGCTCAGCTTTGGAGCCGGAACC ACAGTAACTGTAAGAGCAAATATCCAGAACC CTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTC TAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCA CCGATTTTGATTCTCAAACAATGTGTCACAA AGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACAGACA AAACTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTT CAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTGGAGCAAC AAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTCAA CAACAGCATTATCCAGAAGACACCTTCTTCC CCAGCCCAGAAAAGTTCTGTGATGTCAAGCT GGTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAAC CTAAACTTTCAAAACCTGTCAAGTATTGGGTT CCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGGCCGGGTTTA ATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGGTCCAGC	SEQ ID NO: 132
	β (с TRBC1)	ATGGGCTCCTGGACCCTCTGCTGTGTGTCCT TTGCATCCTGGTAGCAAAGCACACAGATGCT GGAGTTATCCAGTCACCCCGGCACGAGGTGA CAGAGATGGGACAAGAAGTGAAGTCTGAGATG TAAACCAATTTCAAGGACACGACTACCTTTTCT GGTACAGACAGACCATGATGCGGGGACTGGA GTTGCTCATTTACTTTAACAACAACGTTCCGA TAGATGATTCAGGGATGCCCGAGGATCGATT CTCAGCTAAGATGCCTAATGCATCATTCTCCA CTCTGAAGATCCAGCCCTCAGAACCCAGGGA CTCAGCTGTGTAATTCTGTGCCAGCAGAAAA ACCGGGGATATAGCAATCAGCCCCAGCATT TTGGTGATGGGACTCGACTCTCCATCCTAGAG GACCTGAACAAGGTGTTCCACCCGAGGTGCG CTGTGTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTC	SEQ ID NO: 133

		CCACACCCAAAAGGCCACACTGGTGTGCCTG GCCACAGGCTTCTCCCGACCACGTGGAGC TGAGCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCA CAGTGGGGTCAGCACAGACCCGAGCCCCTC AAGGAGCAGCCCCGCCCTCAATGACTCCAGAT ACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGGC CACCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCC GCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGA GAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAA ACCCGTCACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGCC TGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTTACCTCGG TGTCCTACCAGCAAGGGGTCTGTCTGCCACC ATCCTCTATGAGATCCTGCTAGGGAAGGCCA CCCTGTATGCTGTGCTGGTCAGCGCCCTGTG TTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTTC	
	β (c TRBC2)	ATGGGCTCCTGGACCCTCTGCTGTGTGCCCT TTGCATCCTGGTAGCAAAGCACACAGATGCT GGAGTTATCCAGTCACCCCGCACGAGGTGA CAGAGATGGGACAAGAAGTACTCTGAGATG TAAACCAATTTCAAGACACGACTACCTTTTCT GGTACAGACAGACCATGATGCGGGGACTGGA GTTGCTCATTTACTTTAACAACAACGTTCCGA TAGATGATTCAGGGATGCCCGAGGATCGATT CTCAGCTAAGATGCCTAATGCATCATTCTCCA CTCTGAAGATCCAGCCCTCAGAACCCAGGGA CTCAGCTGTGTACTTCTGTGCCAGCAGAAAA ACCGGGGATATAGCAATCAGCCCCAGCATT TTGGTGATGGGACTCGACTCTCCATCCTAGAG GACCTGAAAAACGTGTTCCACCCGAGGTGCG CTGTGTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTC CCACACCCAAAAGGCCACACTGGTGTGCCTG GCCACAGGCTTCTACCCCGACCACGTGGAGC TGAGCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCA CAGTGGGGTCAGCACAGACCCGAGCCCCTC AAGGAGCAGCCCCGCCCTCAATGACTCCAGAT ACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGGC CACCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCC GCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGA GAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAA ACCTGTCACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGCC TGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTACCTCCG AGTCTTACCAGCAAGGGGTCTGTCTGCCAC CATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAAGGCC ACCTTGATGCCGTGCTGGTCAGTGCCCTCGT GCTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTCC AGAGGC	SEQ ID NO: 134
HD2-1	α (c TRAC)	ATGCTCCTGCTGCTCGTCCCAGTCTCGAGGT GATTTTTACCCTGGGAGGAACCAGAGCCCAG TCGGTGACCCAGCTTGGCAGCCACGTCTCTGT CTCTGAAGGAGCCCTGGTTCTGCTGAGGTGC AACTACTCATCGTCTGTTCCACCATATCTCTT	SEQ ID NO: 135

	<p>CTGGTATGTGCAATACCCCAACCAAGGACTC CAGCTTCTCCTGAAGTACACATCAGCGGCCA CCCTGGTTAAAGGCATCAACGGTTTTGAGGC TGAATTTAAGAAGAGTGAAACCTCCTCCAC CTGACGAAACCCTCAGCCCATATGAGCGACG CGGCTGAGTACTTCTGTGCTGTGAGATTATCT GGTTCTGCAAGGCAACTGACCTTTGGATCTG GGACACAATTGACTGTTTTACCTGATATCCAG AACCTGACCTGCCGTGTACCAGCTGAGAG ACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTA TTCACCGATTTTGATTCTCAAACAAATGTGTC ACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACA GACAAAAGTGTGCTAGACATGAGGTCTATGG ACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTGGAG CAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCC TTCAACAACAGCATTATCCAGAAGACACCT TCTTCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTC AAGCTGGTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATA CGAACCTAAACTTTCAAACCTGTCAGTGATT GGGTTCCGAATCCTCCTCTGAAAGTGGCCG GGTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGG TCCAGC</p>	
<p>β (c TRBC1)</p>	<p>ATGGGCACCAGGCTCCTCTGCTGGGCGGCC TCTGTCTCCTGGGAGCAGAACTCACAGAAGC TGGAGTTGCCAGTCTCCAGATATAAGATT ATAGAGAAAAGGCAGAGTGTGGCTTTTTGGT GCAATCCTATATCTGGCCATGCTACCCTTAC TGGTACCAGCAGATCCTGGGACAGGGCCAA AGCTTCTGATTCAGTTTCAGAATAACGGTGTA GTGGATGATTCACAGTTGCCTAAGGATCGAT TTTCTGCAGAGAGGCTCAAAGGAGTAGACTC CACTCTCAAGATCCAGCCTGCAAAGCTTGAG GACTCGGCCGTGTATCTCTGTGCCAGCAGCTT ACTGGGAGACGAGCAGTACTTCGGGCCGGGC ACCAGGTCACGGTCACAGAGGACCTGAACA AGGTGTTCCACCCGAGGTCTGCTGTGTTGAG CCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAA AGGCCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTT CTCCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGG GTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCA GCACGGACCCGCAGCCCCTCAAGGAGCAGCC CGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGC AGCCGCCTGAGGGTCTCGGCCACCTTCTGGC AGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGT CCAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAATGACGAG TGGACCCAGGATAGGGCCAAACCCGTCACCC AGATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGC AGACTGTGGCTTTACCTCGGTGTCCTACCAGC AAGGGTCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAG ATCCTGCTAGGGAAGGCCACCCTGTATGCTG TGCTGGTCAGCGCCCTTGTGTTGATGGCCATG GTCAAGAGAAAGGATTC</p>	<p>SEQ ID NO: 136</p>

	β (c TRBC2)	ATGGGCACCAGGCTCCTCTGCTGGGCGGCC TCTGTCTCCTGGGAGCAGAACTCACAGAAGC TGGAGTTGCCAGTCTCCAGATATAAGATT ATAGAGAAAAGGCAGAGTGTGGCTTTTGGT GCAATCCTATATCTGGCCATGCTACCTTTAC TGGTACCAGCAGATCCTGGGACAGGGCCAA AGCTTCTGATTCAGTTTCAGAATAACGGTGTA GTGGATGATTCACAGTTGCCTAAGGATCGAT TTTCTGCAGAGAGGCTCAAAGGAGTAGACTC CACTCTCAAGATCCAGCCTGCAAAGCTTGAG GACTCGGCCGTGTATCTCTGTGCCAGCAGCTT ACTGGGAGACGAGCAGTACTTCGGGCCGGGC ACCAGGCTCACGGTCACAGAGGACCTGAAAA ACGTGTTCCCACCCGAGGTGCTGTGTTGAG CCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAA AGGCCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTT CTACCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGG GTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCA GCACAGACCCGCAGCCCCTCAAGGAGCAGCC CGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGC AGCCGCCTGAGGGTCTCGGCCACCTTCTGGC AGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGT CCAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAATGACGAG TGGACCCAGGATAGGGCCAAACCTGTCACCC AGATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGC AGACTGTGGCTTCACCTCCGAGTCTTACCAGC AAGGGGTCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAG ATCTTGCTAGGGAAGGCCACCTTGTATGCCGT GCTGGTCAGTGCCCTCGTGCTGATGGCCATG GTCAAGAGAAAGGATTCCAGAGGC	SEQ ID NO: 137
HD2-2	α (c TRAC)	ATGGCATGCCCTGGCTTCCTGTGGGCACTTGT GATCTCCACCTGTCTTGAATTTAGCATGGCTC AGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTC TGTGCAGGAGGCAGAGACCGTGACCCTGAGC TGCACATATGACACCAGTGAGAGTGATTATT ATTTATTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAG GCAGATGATTCTCGTTATTCGCCAAGAAGCTT ATAAGCAACAGAATGCAACAGAGAATCGTTT CTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCC TTCAGTCTCAAGATCTCAGACTCACAGCTGG GGGATGCCGCGATGTATTTCTGTGCTTATAGG AGTCTAAAATATGGAACAACAACTGGTCTTTG GCGCAGGAACCACTTCTGAGAGTCAAGTCCTA TATCCAGAACCCTGACCCTGCCGTGTACCAG CTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTG TCTGCCTATTCACCGATTTTGATTCTCAAACA AATGTGTACAAAAGTAAGGATTCTGATGTGT ATATCACAGACAAAACCTGTGCTAGACATGAG GTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTG GCCTGGAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTG CAAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCCAGA	SEQ ID NO: 138

	AGACACCTTCTTCCCAGCCAGAAAGTTCCT GTGATGTCAAGCTGGTCGAGAAAAGCTTTGA AACAGATACGAACCTAAACTTTCAAAACCTG TCAGTGATTGGGTTCCGAATCCTCCTCCTGAA AGTGGCCGGGTTAATCTGCTCATGACGCTGC GGCTGTGGTCCAGC	
β (c TRBC1)	ATGGGCACCAGGCTCCTCTTCTGGGTGGCCTT CTGTCTCCTGGGGGCAGATCACACAGGAGCT GGAGTCTCCAGTCCCCAGTAACAAGGTCA CAGAGAAGGGAAAGGATGTAGAGCTCAGGT GTGATCCAATTCAGGTCATACTGCCCTTAC TGGTACCGACAGAGCCTGGGGCAGGGCCTGG AGTTTTTAATTTACTTCCAAGGCAACAGTGCA CCAGACAAATCAGGGCTGCCAGTGATCGCT TCTCTGCAGAGAGGACTGGGGGATCCGTCTC CACTCTGACGATCCAGCGCACACAGCAGGAG GACTCGGCCGTGTATCTCTGTGCCAGCAGCTT GGTAGCTTACAGGGTGCGGGCGAGCAGTAC TTCGGGCCGGGCACCAGGCTCACGGTCACAG AGGACCTGAACAAGGTGTTCCACCCGAGGT CGCTGTGTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATC TCCCACACCCAAAAGGCCACACTGGTGTGCC TGGCCACAGGCTTCTCCCCGACCACGTGGA GCTGAGCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTG CACAGTGGGGTCAGCACGGACCCGAGCCCC TCAAGGAGCAGCCC GCCCTCAATGACTCCAG ATACTGCCTGAGCAGCCGCTGAGGGTCTCG GCCACCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACT TCCGCTGTCAAGTCCAGTCTACGGGCTCTCG GAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCC AAACCCGTCACCCAGATCGTCAGCGCCGAGG CCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTTACCTC GGTGTCTTACCAGCAAGGGGTCTGTCTGCC ACCATCCTCTATGAGATCCTGCTAGGGAAGG CCACCCTGTATGCTGTGCTGGTCAGCGCCCTT GTGTTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATT TC	SEQ ID NO: 139
β (c TRBC2)	ATGGGCACCAGGCTCCTCTTCTGGGTGGCCTT CTGTCTCCTGGGGGCAGATCACACAGGAGCT GGAGTCTCCAGTCCCCAGTAACAAGGTCA CAGAGAAGGGAAAGGATGTAGAGCTCAGGT GTGATCCAATTCAGGTCATACTGCCCTTAC TGGTACCGACAGAGCCTGGGGCAGGGCCTGG AGTTTTTAATTTACTTCCAAGGCAACAGTGCA CCAGACAAATCAGGGCTGCCAGTGATCGCT TCTCTGCAGAGAGGACTGGGGGATCCGTCTC CACTCTGACGATCCAGCGCACACAGCAGGAG GACTCGGCCGTGTATCTCTGTGCCAGCAGCTT GGTAGCTTACAGGGTGCGGGCGAGCAGTAC TTCGGGCCGGGCACCAGGCTCACGGTCACAG AGGACCTGAAAACGTGTTCCACCCGAGGT CGCTGTGTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATC	SEQ ID NO: 140

		TCCCACACCCAAAAGGCCACACTGGTGTGCC TGGCCACAGGCTTCTACCCCGACCACGTGGA GCTGAGCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTG CACAGTGGGGTCAGCACAGACCCGCAGCCCC TCAAGGAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAG ATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCG GCCACCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACT TCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCG GAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCC AAACCTGTCACCCAGATCGTCAGCGCCGAGG CCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTACCTC CGAGTCTTACCAGCAAGGGGTCCTGTCTGCC ACCATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAAGG CCACCTTGTATGCCGTGCTGGTCAAGTGCCTC GTGCTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATT CCAGAGGC	
HD3	α (c TRAC)	ATGATATCCTTGAGAGTTTTACTGGTGATCCT GTGGCTTCAGTTAAGCTGGGTTTGGAGCCAA CGGAAGGAGGTGGAGCAGGATCCTGGACCCT TCAATGTTCCAGAGGGAGCCACTGTCGCTTTC AACTGTACTTACAGCAACAGTGCTTCTCAGTC TTTCTTCTGGTACAGACAGGATTGCAGGAAA GAACCTAAGTTGCTGATGTCCGTATACTCCAG TGGTAATGAAGATGGAAGGTTTACAGCACAG CTCAATAGAGCCAGCCAGTATATTTCCCTGCT CATCAGAGACTCCAAGCTCAGTGATTCAGCC ACCTACCTCTGTGTGGTGAACCTCCTGTCTAA CCAGGGAGGAAAAGCTTATCTTCGGACAGGGA ACGGAGTTATCTGTGAAACCCAATATCCAGA ACCCTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGA CTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTAT TCACCGATTTTGATTCTCAAACAAATGTGTCA CAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACAG ACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGA CTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTGGAGC AACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTT CAACAACAGCATTATTCCAGAAGACACCTTC TTCCCAGCCCAGAAAAGTTCCCTGTGATGTCAA GCTGGTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACG AACCTAAACTTTCAAAACCTGTCAGTGATTG GGTTCCGAATCCTCCTCCTGAAAAGTGGCCGG GTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGGT CCAGC	SEQ ID NO: 141
	β (c TRBC1)	ATGGGCTGCAGGCTGCTCTGCTGTGCGGTCT CTGTCTCCTGGGAGCGGGTGTGAGTTGGTCCC ATGGAACGGGAGTTACGCAGACACCAAGAC ACCTGGTCATGGGAATGACAAATAAGAAGTC TTGAAATGTGAACAACATCTGGGTCATAAC GCTATGTATTGGTACAAGCAAAGTGCTAAGA AGCCACTGGAGCTCATGTTTGTCTACAGTCTT GAAGAACGGGTTGAAAACAACAGTGTGCCAA	SEQ ID NO: 142

	<p>GTCGCTTCTCACCTGAATGCCCAACAGCTCT CACTTATTCCTTACCTACACACCCTGCAGCC AGAAGACTCGGCCCTGTATCTCTGCGCCAGC AGCCAAGATTACTTGGTTTCTAATGAAAAAC TGTTTTTTGGCAGTGGAACCCAGCTCTCTGTC TTGGAGGACCTGAACAAGGTGTTCCACCCG AGGTCGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGA GATCTCCACACCCAAAAGGCCACACTGGTG TGCCTGGCCACAGGCTTCTACCCGACCACGT GGAGCTGAGCTGGTGGGTGAATGGGAAGGA GGTGCACAGTGGGGTCAGCACGACCCGCAG CCCTCAAGGAGCAGCCCGCCCTCAATGACT CCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGT CTCGGCCACCTTCTGGCAGAACCCCGCAAC CACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCT CTCGGAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGG GCCAAACCCGTCACCCAGATCGTCAGCGCCG AGGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTTAC CTCGGTGTCCTACCAGCAAGGGGTCCTGTCTG CCACCATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAA GGCCACCCTGTATGCTGTGCTGGTCAGCGCCC TTGTGTTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGA TTTC</p>	
β (c TRBC2)	<p>ATGGGCTGCAGGCTGCTCTGCTGTGCGGTTCT CTGTCTCCTGGGAGCGGGTGAGTTGGTCCCC ATGGAAACGGGAGTTACGCAGACACCAAGAC ACCTGGTCATGGGAATGACAAATAAGAAGTC TTTGAAATGTGAACAACATCTGGGTCATAAC GCTATGTATTGGTACAAGCAAAGTGCTAAGA AGCCACTGGAGCTCATGTTTGTCTACAGTCTT GAAGAACGGGTTGAAAACAACAGTGTGCCAA GTCGCTTCTCACCTGAATGCCCAACAGCTCT CACTTATTCCTTACCTACACACCCTGCAGCC AGAAGACTCGGCCCTGTATCTCTGCGCCAGC AGCCAAGATTACTTGGTTTCTAATGAAAAAC TGTTTTTTGGCAGTGGAACCCAGCTCTCTGTC TTGGAGGACCTGAAAAACGTGTTCCACCCG AGGTCGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGA GATCTCCACACCCAAAAGGCCACACTGGTG TGCCTGGCCACAGGCTTCTACCCGACCACGT GGAGCTGAGCTGGTGGGTGAATGGGAAGGA GGTGCACAGTGGGGTCAGCACAGACCCGCAG CCCTCAAGGAGCAGCCCGCCCTCAATGACT CCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGT CTCGGCCACCTTCTGGCAGAACCCCGCAAC CACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCT CTCGGAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGG GCCAAACCTGTCACCCAGATCGTCAGCGCCG AGGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTAC CTCCGAGTCTTACCAGCAAGGGGTCCTGTCTG CCACCATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAA GGCCACCCTGTATGCCGTGCTGGTCAGTGCCC</p>	SEQ ID NO: 143

		TCGTGCTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGA TTCCAGAGGC	
HD4-1	$\alpha 1$ (c TRAC)	ATGGAAACTCTCCTGGGAGTGTCTTTGGTGAT TCTATGGCTTCAACTGGCTAGGGTGAACAGT CAACAGGGAGAAGAGGATCCTCAGGCCTTGA GCATCCAGGAGGGTGAAAATGCCACCATGAA CTGCAGTTACAAAAGTAGTATAAACAATTTA CAGTGGTATAGACAAAATTCAGGTAGAGGCC TTGTCCACCTAATTTTAATACGTTCAAATGAA AGAGAGAAACACAGTGGAAAGATTAAGAGTC ACGCTTGACACTTCCAAGAAAAGCAGTTCCT TGTTGATCACGGCTTCCCGGCAGCAGACAC TGCTTCTTACTTCTGTGCTACGGACGCGTATT CAGGAAACACACCTCTTGTCTTTGGAAAGGG CACAAGACTTTCTGTGATTGCAAATATCCAG AACCTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAG ACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTA TTCACCGATTTTGATTCTCAAACAAATGTGTC ACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACA GACAAAAGTGTGCTAGACATGAGGTCTATGG ACTTCAAGAGCAACAGTGTGTGGCCTGGAG CAACAAATCTGACTTTCATGTGCAAACGCC TTCAACAACAGCATTATTCCAGAAGACACCT TCTTCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTC AAGCTGGTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATA CGAACCTAAACTTTCAAACCTGTCAAGTATT GGGTTCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGCCG GGTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGG TCCAGC	SEQ ID NO: 144
	$\beta 1$ (c TRBC1)	ATGAGCATCGGGCTCCTGTGCTGTGTGGCCTT TTCTCTCCTGTGGGCAAGTCCAGTGAATGCTG GTGTCACCTCAGACCCCAAATTCAGGTCCT GAAGACAGGACAGAGCATGACACTGCAGTGT GCCAGGATATGAACCATAACTCCATGTACT GGTATCGACAAGACCCAGGCATGGGACTGAG GCTGATTTACTCAGCTTCTGAGGGTACCA CTGACAAAGGAGAAGTCCCAATGGCTACAA TGCTCCAGATTAACAAACGGGAGTTCTCG CTCAGGCTGGAGTCGGCTGCTCCCTCCAGA CATCTGTGACTTCTGTGCCAGCAGGGCAGC AGGGTTGGACACTGAAGCTTTCTTTGGACAA GGCACCAGACTCACAGTTGTAGAGGACCTGA ACAAGGTGTTCCACCCGAGGTCGCTGTGTTT GAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCC AAAAGGCCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGG CTTCTTCCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGT GGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGG TCAGCACGGACCCGACGCCCTCAAGGAGCA GCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTG AGCAGCCGCTGAGGGTCTCGGCCACCTTCT GGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCA	SEQ ID NO: 145

		AGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAATGAC GAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCCGTCA CCCAGATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGGTAG AGCAGACTGTGGCTTTACCTCGGTGTCCTACC AGCAAGGGGTCTGTCTGCCACCATCCTCTAT GAGATCCTGCTAGGGAAGGCCACCCTGTATG CTGTGCTGGTCAGCGCCCTTGTGTTGATGGCC ATGGTCAAGAGAAAGGATTTTC	
	β1 (c TRBC2)	ATGAGCATCGGGCTCCTGTGCTGTGTGGCCTT TTCTCTCCTGTGGGCAAGTCCAGTGAATGCTG GTGTCACTCAGACCCCAAATTCAGGTCCT GAAGACAGGACAGAGCATGACACTGCAGTGT GCCCAGGATATGAACCATAACTCCATGTACT GGTATCGACAAGACCCAGGCATGGGACTGAG GCTGATTATTACTCAGCTTCTGAGGGTACCA CTGACAAAGGAGAAGTCCCAATGGCTACAA TGTCTCCAGATTAACAACGGGAGTTCTCG CTCAGGCTGGAGTCGGCTGCTCCCTCCAGA CATCTGTGTACTTCTGTGCCAGCAGGGCAGC AGGGTTGGACACTGAAGCTTTCTTTGGACAA GGCACCAGACTCACAGTTGTAGAGGACCTGA AAAACGTGTTCCACCCGAGGTCGCTGTGTTT GAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCC AAAAGGCCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGG CTTCTACCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGG TGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGG GTCAGCACAGACCCGCAGCCCCTCAAGGAGC AGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCT GAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGGCCACCTTC TGGCAGAACCCCGCAACCACTCCGCTGTC AAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAATGA CGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCTGTC ACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGGTA GAGCAGACTGTGGCTTACCTCCGAGTCTTAC CAGCAAGGGGTCTGTCTGCCACCATCCTCTA TGAGATCTTGCTAGGGAAGGCCACCTGTAT GCCGTGCTGGTCAGTGCCCTCGTGTGATGGC CATGGTCAAGAGAAAGGATTCCAGAGGC	SEQ ID NO: 146
HD4- 2	α2 (c TRAC)	ATGGAGACCCTCTTGGGCCTGCTTATCCTTTG GCTGCAGCTGCAATGGGTGAGCAGCAAACAG GAGGTGACGCAGATTCTGCAGCTCTGAGTG TCCCAGAAGGAGAAAACCTTGGTTCTCAACTG CAGTTTCACTGATAGCGCTATTTACAACCTCC AGTGGTTTAGGCAGGACCCTGGGAAAGGTCT CACATCTCTGTTGCTTATTCAGTCAAGTCAGA GAGAGCAAACAAGTGGAAAGCTTAATGCCTC GCTGGATAAATCATCAGGACGTAGTACTTTA TACATTGCAGCTTCTCAGCCTGGTGACTCAGC CACCTACCTCTGTGCTGTCCGGGCAGAGATTT ATAACCAGGGAGGAAAGCTTATCTTCGGACA GGGAACGGAGTTATCTGTGAAACCCAATATC CAGAACCCTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGA	SEQ ID NO: 147

	GAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTG CCTATTCACCGATTTTGATTCTCAAACAAATG TGTCACAAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATC ACAGACAAAAGTGTGCTAGACATGAGGTCTA TGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTG GAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAAC GCCTTCAACAACAGCATTATTCCAGAAGACA CCTTCTTCCCAGCCCAGAAAGTTTCTGTGAT GTCAAGCTGGTCGAGAAAAGCTTTGAAACAG ATACGAACCTAAACTTTCAAACCTGTCAGT GATTGGGTCCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGG CCGGGTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTG TGGTCCAGC	
β2 (c TRBC1)	ATGAGCATCAGCCTCCTGTGCTGTGCAGCCTT TCCTCTCCTGTGGGCAGGTCCAGTGAATGCTG GTGTCACCTCAGACCCCAAATCCGCATCCTG AAGATAGGACAGAGCATGACACTGCAGTGTA CCCAGGATATGAACCATAACTACATGTA GTATCGACAAGACCCAGGCATGGGGCTGAAG CTGATTTATTATTTCAGTTGGTGCTGGTATCAC TGATAAAGGAGAAGTCCCGAATGGCTACAAC GTCTCCAGATCAACCACAGAGGATTTCCCGC TCAGGCTGGAGTTGGCTGCTCCCTCCCAGAC ATCTGTGTA TCTGTGCCAGTACCCAAACTC CCTACGAGCAGTACTTCGGGCCGGGCACCAG GCTCACGGTCACAGAGGACCTGAACAAGGTG TTCCCACCCGAGGTGCGTGTGTTGAGCCATC AGAAGCAGAGATCTCCCACACCCAAAAGGCC ACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTTCCC CGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGGGTGAAT GGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACG GACCCGCAGCCCCTAAGGAGCAGCCCGCC TCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCG CCTGAGGGTCTCGGCCACCTTCTGGCAGAAC CCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGT CTACGGGCTCTCGGAGAATGACGAGTGGACC CAGGATAGGGCCAAACCCGTCACCCAGATCG TCAGCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCAGACTG TGGCTTTACCTCGGTGTCCTACCAGCAAGGG GTCCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCCT GCTAGGGAAGGCCACCCTGTATGCTGTGCTG GTCAGCGCCCTTGTGTTGATGGCCATGGTCAA GAGAAAGGATTC	SEQ ID NO: 148
β2 (c TRBC2)	ATGAGCATCAGCCTCCTGTGCTGTGCAGCCTT TCCTCTCCTGTGGGCAGGTCCAGTGAATGCTG GTGTCACCTCAGACCCCAAATCCGCATCCTG AAGATAGGACAGAGCATGACACTGCAGTGTA CCCAGGATATGAACCATAACTACATGTA GTATCGACAAGACCCAGGCATGGGGCTGAAG CTGATTTATTATTTCAGTTGGTGCTGGTATCAC TGATAAAGGAGAAGTCCCGAATGGCTACAAC GTCTCCAGATCAACCACAGAGGATTTCCCGC	SEQ ID NO: 149

		TCAGGCTGGAGTTGGCTGCTCCCTCCCAGAC ATCTGTGTACTTCTGTGCCAGTACCCAAACTC CCTACGAGCAGTACTTCGGGCCGGGCACCCAG GCTCACGGTCACAGAGGACCTGAAAAACGTG TTCCCACCCGAGGTGCGTGTGTTTGAGCCATC AGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAAAAGGCC ACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTACCC CGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGGGTGAAT GGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACA GACCCGCAGCCCCCTCAAGGAGCAGCCCGCC TCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCG CCTGAGGGTCTCGGCCACCTTCTGGCAGAAC CCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTT CTACGGGCTCTCGGAGAATGACGAGTGGACC CAGGATAGGGCCAAACCTGTACCCAGATCG TCAGCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCAGACTG TGGCTTACCTCCGAGTCTTACCAGCAAGGG GTCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCTT GCTAGGGAAGGCCACCTTGTATGCCGTGCTG GTCAGTGCCCTCGTGCTGATGGCCATGGTCA AGAGAAAGGATTCCAGAGGC	
	β3 (c TRBC1)	ATGGACTCCTGGACCTTCTGCTGTGTGTCCCT TTGCATCCTGGTAGCGAAGCATAACAGATGCT GGAGTTATCCAGTCACCCCGCCATGAGGTGA CAGAGATGGGACAAGAAGTACTCTGAGATG TAAACCAATTTACAGGCCACAACCTCCCTTTTCT GGTACAGACAGACCATGATGCGGGGACTGGA GTTGCTCATTTACTTTAACAACAACGTTCCGA TAGATGATTCAGGGATGCCCGAGGATCGATT CTCAGCTAAGATGCCTAATGCATCATTCTCCA CTCTGAAGATCCAGCCCTCAGAACCCAGGGA CTCAGCTGTGTACTTCTGTGCCAGCAGCACAG TGGGAGGGGAGGATTATGGCTACACCTTCGG TTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTAGAGGAC CTGAACAAGGTGTTCCACCCGAGGTGCTG TGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCA CACCCAAAAGGCCACACTGGTGTGCCTGGCC ACAGGCTTCTTCCCCGACCACGTGGAGCTGA GCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAG TGGGGTCAGCACGGACCCGCAGCCCTCAAG GAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACT GCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGGCCAC CTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCT GTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAA TGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCC GTCACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGG GTAGAGCAGACTGTGGCTTTACCTCGGTGTCC TACCAGCAAGGGTCTGTCTGCCACCATCCT CTATGAGATCCTGCTAGGGAAGGCCACCCTG TATGCTGTGCTGGTCAGCGCCCTTGTGTTGAT GGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTTC	SEQ ID NO: 150
	β3 (c TRBC2)	ATGGACTCCTGGACCTTCTGCTGTGTGTCCCT	SEQ ID NO: 151

		<p>TTGCATCCTGGTAGCGAAGCATAACAGATGCT GGAGTTATCCAGTCACCCCGCCATGAGGTGA CAGAGATGGGACAAGAAGTGACTCTGAGATG TAAACCAATTCAGGCCACAACCTCCCTTTCT GGTACAGACAGACCATGATGCGGGGACTGGA GTTGCTCATTTACTTTAACAACAACGTTCCGA TAGATGATTCAGGGATGCCCCGAGGATCGATT CTCAGCTAAGATGCCTAATGCATCATTCTCCA CTCTGAAGATCCAGCCCTCAGAACCCAGGGA CTCAGCTGTGTACTTCTGTGCCAGCAGCACAG TGGGAGGGGAGGATTATGGCTACACCTTCGG TTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTAGAGGAC CTGAAAAACGTGTTCCACCCGAGGTCGCTG TGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCA CACCCAAAAGGCCACACTGGTGTGCCTGGCC ACAGGCTTCTACCCCGACCACGTGGAGCTGA GCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAG TGGGGTCAGCACAGACCCGCAGCCCCTCAAG GAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACT GCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGGCCAC CTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCT GTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAA TGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCT GTCACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGG GTAGAGCAGACTGTGGCTTACCTCCGAGTC TTACCAGCAAGGGGTCTGTCTGCCACCATCC TCTATGAGATCTTGCTAGGGAAGGCCACCTT GTATGCCGTGCTGGTCAGTGCCCTCGTGCTGA TGCCATGGTCAAGAGAAAAGGATTCCAGAGG C</p>	
HD5	<i>α</i> (c TRAC)	<p>ATGACATCCATTCGAGCTGTATTTATATTCCT GTGGCTGCAGCTGGACTTGGTGAATGGAGAG AATGTGGAGCAGCATCCTTCAACCCTGAGTG TCCAGGAGGGAGACAGCGCTGTTATCAAGTG TACTTATTCAGACAGTGCCCTCAAACACTTCC CTTGGTATAAGCAAGAACTTGGAAAAAGACC TCAGCTTATTATAGACATTCGTTCAAATGTGG GCGAAAAGAAAAGACCAACGAATTGCTGTTAC ATTGAACAAGACAGCCAAACATTTCTCCCTG CACATCACAGAGACCCAACCTGAAGACTCGG CTGTCTACTTCTGTGCAGCAAGTATGGCTGGG GCTGGGAGTTACCAACTACTTTCGGGAAGG GGACCAAACCTCTCGGTCATACCAAATATCCA GAACCCTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGA GACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCT ATTCACCGATTTTGATTCTCAAACAAATGTGT CACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCAC AGACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATG GACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTGGA GCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGC CTTCAACAACAGCATTATTCCAGAAGACACC</p>	SEQ ID NO: 152

	TTCTTCCCCAGCCCAGAAAAGTTCCTGTGATGT CAAGCTGGTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGAT ACGAACCTAAACTTTCAAAACCTGTCAGTGA TTGGGTTCCGAATCCTCCTCTGAAAGTGGCC GGTTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTG GTCCAGC	
β1 (c TRBC1)	ATGGGCACAAGGTTGTTCTTCTATGTGGCCCT TTGTCTCCTGTGGACAGGACACATGGATGCT GGAATCACCCAGAGCCCAAGACACAAGGTCA CAGAGACAGGAACACCAGTACTCTGAGATG TCACCAGACTGAGAACCACCGCTATATGTAC TGGTATCGACAAGACCCGGGGCATGGGCTGA GGCTGATCCATTACTCATATGGTGTTAAAGAT ACTGACAAAGGAGAAGTCTCAGATGGCTATA GTGTCTTAGATCAAAGACAGAGGATTTCCCT CCTCACTCTGGAGTCCGCTACCAGTCCCAGA CATCTGTGTA TTTCTGTGCCATCTCGGTGGGA CAGGGGGCCCTCTACGAGCAGTACTTCGGGC CGGGCACCAGGCTCACGGTCACAGAGGACCT GAACAAGGTGTTCCACCCGAGGTCTGCTGTG TTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACA CCAAAAGGCCACACTGGTGTGCCTGGCCAC AGGCTTCTTCCCCGACCACGTGGAGCTGAGC TGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTG GGTTCAGCACGACCCGACGCCCTCAAGGA GCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGC CTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGGCCACCT TCTGGCAGAACCCCCGCAACCACTCCGCTGT CAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAATG ACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCCGT CACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGCTGGGGT AGAGCAGACTGTGGCTTTACCTCGGTGTCCTA CCAGCAAGGGTCTCTGTCTGCCACCATCCTCT ATGAGATCCTGCTAGGGAAGGCCACCCTGTA TGCTGTGCTGGTCAGCGCCCTTGTGTTGATGG CCATGGTCAAGAGAAAAGGATTC	SEQ ID NO: 153
β1 (c TRBC2)	ATGGGCACAAGGTTGTTCTTCTATGTGGCCCT TTGTCTCCTGTGGACAGGACACATGGATGCT GGAATCACCCAGAGCCCAAGACACAAGGTCA CAGAGACAGGAACACCAGTACTCTGAGATG TCACCAGACTGAGAACCACCGCTATATGTAC TGGTATCGACAAGACCCGGGGCATGGGCTGA GGCTGATCCATTACTCATATGGTGTTAAAGAT ACTGACAAAGGAGAAGTCTCAGATGGCTATA GTGTCTTAGATCAAAGACAGAGGATTTCCCT CCTCACTCTGGAGTCCGCTACCAGTCCCAGA CATCTGTGTA TTTCTGTGCCATCTCGGTGGGA CAGGGGGCCCTCTACGAGCAGTACTTCGGGC CGGGCACCAGGCTCACGGTCACAGAGGACCT GAAAAACGTGTTCCACCCGAGGTCTGCTGTG TTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACA CCAAAAGGCCACACTGGTGTGCCTGGCCAC	SEQ ID NO: 154

		<p>AGGCTTCTACCCCGACCACGTGGAGCTGAGC TGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTG GGGTGAGCAGACAGACCCCGAGCCCCTCAAGGA GCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGC CTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGGCCACCT TCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGT CAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAATG ACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCTGT CACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGGT AGAGCAGACTGTGGCTTACCTCCGAGTCTT ACCAGCAAGGGTCTGTCTGCCACCATCCT CTATGAGATCTTGCTAGGGAAGGCCACCTTG TATGCCGTGCTGGTCAGTGCCCTCGTGCTGAT GGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTCCAGAGGC</p>	
	β2 (c TRBC1)	<p>ATGGGCTTCAGGCTCCTCTGCTGTGTGGCCTT TTGTCTCCTGGGAGCAGGCCAGTGGATTCTG GAGTCACACAAACCCCAAAGCACCTGATCAC AGCAACTGGACAGCGAGTGACGCTGAGATGC TCCCCTAGGTCTGGAGACCTCTCTGTGTA GTACCAACAGAGCCTGGACCAGGGCCTCCAG TTCTCATTTCAGTATTATAATGGAGAAGAGA GAGCAAAAGGAAACATTCTTGAACGATTCTC CGCACAAACAGTTCCTGACTTGCCTCTGAAC TAAACCTGAGCTCTCTGGAGCTGGGGGACTC AGCTTTGTATTTCTGTGCCAGCAGCGTAGCTC GGGACAGGCGGAACTATGGCTACACCTTCGG TTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTAGAGGAC CTGAACAAGGTGTTCCACCCGAGGTCGCTG TGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCCA CACCCAAAAGGCCACACTGGTGTGCCTGGCC ACAGGCTTCTTCCCGACCACTGGAGCTGA GCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAG TGGGGTCAGCACGGACCCCGAGCCCCTCAAG GAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACT GCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGGCCAC CTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCT GTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAA TGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCC GTCACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGG GTAGAGCAGACTGTGGCTTACCTCGGTGTCC TACCAGCAAGGGTCTGTCTGCCACCATCCT CTATGAGATCCTGCTAGGGAAGGCCACCCTG TATGCTGTGCTGGTCAGCGCCCTTGTGTTGAT GGCCATGGTCAAGAGAAAAGGATTTC</p>	SEQ ID NO: 155
	β2 (c TRBC2)	<p>ATGGGCTTCAGGCTCCTCTGCTGTGTGGCCTT TTGTCTCCTGGGAGCAGGCCAGTGGATTCTG GAGTCACACAAACCCCAAAGCACCTGATCAC AGCAACTGGACAGCGAGTGACGCTGAGATGC TCCCCTAGGTCTGGAGACCTCTCTGTGTA GTACCAACAGAGCCTGGACCAGGGCCTCCAG TTCTCATTTCAGTATTATAATGGAGAAGAGA GAGCAAAAGGAAACATTCTTGAACGATTCTC</p>	SEQ ID NO: 156

		CGCACAAACAGTTCCTGACTTGCACTCTGAAC TAAACCTGAGCTCTCTGGAGCTGGGGGACTC AGCTTTGTATTTCTGTGCCAGCAGCGTAGCTC GGGACAGGCGGAACATATGGCTACACCTTCGG TTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTAGAGGAC CTGAAAAACGTGTTCCACCCGAGGTCGCTG TGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCCA CACCCAAAAGGCCACACTGGTGTGCCTGGCC ACAGGCTTCTACCCCGACCACGTGGAGCTGA GCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAG TGGGGTCAGCACAGACCCGACCCCTCAAG GAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACT GCCTGAGCAGCCGCTGAGGGTCTCGGCCAC CTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCT GTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAA TGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCT GTCACCAGATCGTCAGCGCCGAGGCTGGG GTAGAGCAGACTGTGGCTTACCTCCGAGTC TTACCAGCAAGGGGTCCTGTCTGCCACCATCC TCTATGAGATCTTGCTAGGGAAGGCCACCTT GTATGCCGTGCTGGTCAAGTCCCTCGTGCTGA TGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTCCAGAGG C	
HD6	α1 (c TRAC)	atggccatgctcctggggcatcagtgctgattctgtggcttcagccagact gggtaaacagtcacaagaagaatgatgaccagcaagtaagcaaaattca ccatccctgagcgtccaggaaggaatftctattctgaactgtactata ctaacagcatgttgatttctctatggtacaaaaatacctgctgaaggctc ctacattcctgatatctataagttccattaaggataaaaaatgaagatggaaga ttcactgtcttctaacaagaatgccaagcactctctctgcacattgtgccc tccagcctggagactctcagtgcttctgtgagcaacaatgccaga ctcatgttgagatggaactcagctggtggaagcccaatccagaac cctgacctgccgtgaccagctgagagactctaaatccagtgacaagctc gtctgcctattcaccgatttggattctcaaaaaatgtcacaaagtaaggat tctgatgttatatcacagacaaaactgtctagacatgaggtctatggaactt caagagcaacagtctgtggcctggagcaacaatctgactttgcatgtgc aaagccttcaacaacagcatttccagaagacaccttctccccagccca gaaagtctctgatgcaagctgctgagaaaagctttgaaacagatacg aacctaaacttcaaacctgctgattgggtccgaatcctcctctgaa agtggccgggttaactgctcatgacgctgcggctgtggtccagc	SEQ ID NO: 223
	α2 (c TRAC)	ATGGCCATGCTCCTGGGGGCATCAGTGCTGA TTCTGTGGCTTCAGCCAGACTGGGTAAACAG TCAACAGAAGAATGATGACCAGCAAGTTAAG CAAAATTCACCATCCCTGAGCGTCCAGGAAG GAAGAATTTCTATTCTGAACTGTGACTATACT AACAGCATGTTTGATTATTTCCATGGTACAA AAAAATACCCTGCTGAAGGTCCTACATTCCCTG ATATCTATAAGTTCCATTAAGGATAAAAAATG AAGATGGAAGATTCAGTGTCTTCTTAAACAA AAGTGCCAAGCACCTCTCTGACATTGTGC CCTCCCAGCCTGGAGACTCTGCAGTGTACTTC TGTGCAGCAAGCGCTACCGGTAACCAGTTCT	SEQ ID NO: 292

	<p>ATTTTGGGACAGGGACAAGTTTGACGGTCAT TCCAAATATCCAGAACCCTGACCCTGCCGTGT ACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAA GTCTGTCTGCCTATTCACCGATTTTGATTCTC AAACAAATGTGTCACAAAAGTAAGGATTCTGA TGTGTATATCACAGACAAAACCTGTGCTAGAC ATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTG CTGTGGCCTGGAGCAACAAATCTGACTTTGC ATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATTATT CCAGAAGACACCTTCTCCCCAGCCCAGAAA GTTCTGTGATGTCAAGCTGGTCGAGAAAAG CTTTGAAACAGATACGAACCTAAACTTTCAA AACCTGTCAGTGATTGGGTTCGAAATCCTCCT CCTGAAAGTGGCCGGGTTAATCTGCTCATG ACGCTGCGGCTGTGGTCCAGCTGA</p>	
<p>β1 (c TRBC1)</p>	<p>atggactcctggaccttctgctgtgtgtcccttgcacatcctggtagcgaagca tacagatgctggagttatccagtcaccccgccatgaggtgacagagatgg gacaagaagtgactctgagatgtaaccaatttcaggccacaactccctttt ctggtacagacagaccatgatcggggactggagttgctcatttactttaac aacacgttccgatagatgattcaggatgcccaggatcattctcagct aagatgcctaatgcatattctccactctgaagatccagccctcagaaccca gggactcagctgtgacttctgtccagcagtgataccaggcccccgggag cagttctcggccaggacacggctcaccgtgctagaggacctgaacaa ggtgttcccaccgaggtcgtgtgttgagccatcagaagcagagatctc ccacacccaaaaggccacactggtgtgctggccacaggttcttccccg accacgtggagctgagctggtgggtgaatgggaaggaggtgcacagt gggtcagcacagaccgcagcccctcaaggagcagcccgcctcaatg actccagatactgctgagcagccctgagggtctcggccaccttctgg cagaaccccccaaccacttccgtgtcaagtccagttctacgggtctcg gagaatgacgagtgagaccagataggccaaacctgcaccagatc gtcagcggcagcctgggtagagcagactgtgcttacctcgggtctc ctaccagcaagggtcctgtctgccaccatcctctatgagatcctgtagg gaaggccacctgtatgctgtgtgtcagcgccttgtgtgatggccat ggtcaagagaaaaggatttc</p>	<p>SEQ ID NO: 224</p>
<p>β1 (c TRBC2)</p>	<p>atggactcctggaccttctgctgtgtgtcccttgcacatcctggtagcgaagca tacagatgctggagttatccagtcaccccgccatgaggtgacagagatgg gacaagaagtgactctgagatgtaaccaatttcaggccacaactccctttt ctggtacagacagaccatgatcggggactggagttgctcatttactttaac aacacgttccgatagatgattcaggatgcccaggatcattctcagct aagatgcctaatgcatattctccactctgaagatccagccctcagaaccca gggactcagctgtgacttctgtccagcagtgataccaggcccccgggag cagttctcggccaggacacggctcaccgtgctagaggacctgaaaaa cgtgttcccaccgaggtcgtgtgttgagccatcagaagcagagatctc ccacacccaaaaggccacactggtgtgctggccacaggttcttccccg accacgtggagctgagctggtgggtgaatgggaaggaggtgcacagt gggtcagcacagaccgcagcccctcaaggagcagcccgcctcaatg actccagatactgctgagcagccctgagggtctcggccaccttctgg cagaaccccccaaccacttccgtgtcaagtccagttctacgggtctcg gagaatgacgagtgagaccagataggccaaacctgcaccagatc tcagcggcagcctgggtagagcagactgtgcttacctccaggtct taccagcaagggtcctgtctgccaccatcctctatgagatctgtaggga aggccacctgtatgccgtgctgtcagtcgcccctgtgctgatggccatgg</p>	<p>SEQ ID NO: 225</p>

		tcaagagaaaggattccagaggc	
	β2 (c TRBC1)	ATGGGCTCCAGGCTGCTCTGTTGGGTGCTGCT TTGTCTCCTGGGAGCAGGCCAGTAAAGGCT GGAGTCACTCAAACCTCCAAGATATCTGATCA AAACGAGAGGACAGCAAGTGACACTGAGCT GCTCCCCTATCTCTGGGCATAGGAGTGTATCC TGGTACCAACAGACCCCAGGACAGGGCCTTC AGTTCCTCTTTGAATACTTCAGTGAGACACAG AGAAACAAAGGAAACTTCCCTGGTCGATTCT CAGGGCGCCAGTTCTCTAACTCTCGCTCTGAG ATGAATGTGAGCACCTTGGAGCTGGGGGACT CGGCCCTTATCTTTGCGCCAGCAGCCCTGGA CAGCACGGGGAGCTGTTTTTTGGAGAAGGCT CTAGGCTGACCGTACTGGAGGACCTGAACAA GGTGTCCCACCCGAGGTCGCTGTGTTGAGC CATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAAA GGCCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTC TTCCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGGG TGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAG CACGGACCCGCAGCCCCTCAAGGAGCAGCCC GCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCA GCCGCCTGAGGGTCTCGGCCACCTTCTGGCA GAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTC CAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAATGACGAGT GGACCCAGGATAGGGCCAAACCCGTCACCCA GATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCA GACTGTGGCTTACCTCGGTGTCCTACCAGCA AGGGGTCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGA TCCTGCTAGGGAAGGCCACCCTGTATGCTGT GCTGGTCAGCGCCCTTGTGTTGATGGCCATGG TCAAGAGAAAGGATTTC	SEQ ID NO: 293
	β2 (c TRBC2)	ATGGGCTCCAGGCTGCTCTGTTGGGTGCTGCT TTGTCTCCTGGGAGCAGGCCAGTAAAGGCT GGAGTCACTCAAACCTCCAAGATATCTGATCA AAACGAGAGGACAGCAAGTGACACTGAGCT GCTCCCCTATCTCTGGGCATAGGAGTGTATCC TGGTACCAACAGACCCCAGGACAGGGCCTTC AGTTCCTCTTTGAATACTTCAGTGAGACACAG AGAAACAAAGGAAACTTCCCTGGTCGATTCT CAGGGCGCCAGTTCTCTAACTCTCGCTCTGAG ATGAATGTGAGCACCTTGGAGCTGGGGGACT CGGCCCTTATCTTTGCGCCAGCAGCCCTGGA CAGCACGGGGAGCTGTTTTTTGGAGAAGGCT CTAGGCTGACCGTACTGGAGGACCTGAAAAA CGTGTCCCACCCGAGGTCGCTGTGTTGAGC CATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAAA GGCCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTC TACCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGGG TGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAG CACAGACCCGCAGCCCCTCAAGGAGCAGCCC GCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCA GCCGCCTGAGGGTCTCGGCCACCTTCTGGCA	SEQ ID NO: 294

		GAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTC CAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAATGACGAGT GGACCCAGGATAGGGCCAAACCTGTACCCA GATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCA GACTGTGGCTTACCTCCGAGTCTTACCAGCA AGGGGTCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGA TCTTGCTAGGGAAGGCCACCTTGTATGCCGTG CTGGTCAGTGCCCTCGTGCTGATGGCCATGGT CAAGAGAAAGGATTCCAGAGGC	
HD7	α1 (c TRAC)	atgaagacattgctggatttctgctctgttttggctgcagctggactgta tgagtagaggagaggatgtggagcagagcttttctgagtgccgagag ggagacagctccgtataaactgcacttacacagacagctcctccactact tatactggtataagcaaacctggagcaggtctcagttgctgacgtatata ttttcaaatatggacatgaacaagaccaagactactgttctattgaataa aaaggataaacatctgtctctgctgcatgacagacaccagactggggactc agctatctacttctgtcagagaggcttaacaccgacaagctcatcttggg actgggaccagattacaagctttccaaatatecagaacctgacctgcc gtgtaccagctgagagacttaaatccagtgacaagctgtctgcctattca ccgattttgattcaacaagtgtgcacaaagtaaggattctgatgtgata tcacagacaaaactgtgtagacatgaggtctatggactcaagagcaaca gtctgtggcctggagcaacaatctgactttgcatgtgcaaacgcctcaa caacagcattattccagaagacaccttctcccagcccagaagttcctgt gatgtcaagctgtgcgagaaaagctttgaaacagatacgaacctaaacttc aaaacctgtcagtgattgggtccgaatcctcctcctgaaagtggccgggt taactgctcatgacgctgctggctgtgtccagc	SEQ ID NO: 226
	α2 (c TRAC)	atgaagaggatattgggagctctgctgggctcttgagtgcccaggttct gtgtgagagggaatacaagtggagcagagctcctccagacctgatttccag gaggagccaattccacgctgctgcaattttctgactctggaacaatt gcagtggttcataaaaccttggggacagctcatcaacctgtttacattc cctcagggacaaaacagaatggaagattaagcgccacgactgtcgtctac ggaacgctacagctattgtacatttctctcccagaccacagactcaggc gtttattctgtctgtggaggcaactgacagctgggggaaattgcagttg gagcagggacccaggttgggtcacccagatatacagaacctgacct gccgtgtaccagctgagagacttaaatccagtgacaagctgtctgctctat tcaccgattttgattcacaacaagtgtgcacaaagtaaggattctgatgtg atatcacagacaaaactgtgtagacatgaggtctatggactcaagagca acagtgctgtggcctggagcaacaatctgactttgcatgtgcaaacgcct caacaacagcattattccagaagacaccttctcccagcccagaagttc ctgtgatgtcaagctgtgcgagaaaagctttgaaacagatacgaacctaaa cttcaaacctgtcagtgattgggtccgaatcctcctcctgaaagtggccg ggttaactgctcatgacgctgctggctgtgtccagc	SEQ ID NO: 227
	α3 (c TRAC)	atgacatccattcgagctgtattatattcctgtgctgctgagctggactgggtg aatggagagaatgtggagcagcatcctcaacctgagtgccaggagg agacagcgtgttatcaagtgtacttattcagacagtgccctcaactactcc ctgtgtataagcaagaactggaaaaagacctcagcttattatagacattctg tcaaatgtggcgaaaaaagaagaccaacgaattgctgttacttgaacaag acagccaaacatttccctgcacatcacagagaccacctgaagactg gctgtctacttctgtgcagtacgaacctctacgacaaggtgatatttgggc cagggacaagctatcagcttcaaatccagatcaaacctgacctgccc gtaccagctgagagacttaaatccagtgacaagctgtctgctctattcac cgattttgattcacaacaagtgtgcacaaagtaaggattctgatgtgatat	SEQ ID NO: 228

		cacagacaaaactgtgctagacatgaggtctatggactcaagagcaaca gfgctggcctggagcaaaaactgactttgcatgtgcaaacgcctcaa caacagcattatccagaagacaccttctccccagcccagaagtctctgt gatgcaagctggcagaaaaagcttgaacagatacgaacctaaacttc aaaactgtcagtgattgggtccgaatcctcctcctgaaagtggccgggtt taatctgctcatgacgctcggctgtggtccagc	
	α-4 (c TRAC)	ATGGAAACTCTCCTGGGAGTGTCTTTGGTGAT TCTATGGCTTCAACTGGCTAGGGTGAACAGT CAACAGGGAGAAGAGGATCCTCAGGCCTTGA GCATCCAGGAGGGTGAAAATGCCACCATGAA CTGCAGTTACAAAAGTAGTATAAACAATTTA CAGTGGTATAGACAAAATTCAGGTAGAGGCC TTGTCCACCTAATTTTAATACGTTCAAATGAA AGAGAGAAACACAGTGGAAAGATTAAGAGTC ACGCTTGACACTTCCAAGAAAAGCAGTTCCT TGTGATCACGGCTTCCCGGGCAGCAGACAC TGCTTCTTACTTCTGTGCTACGGACGGGGATA GCAGCATAAAAATGATCTTCGGGAGTGGGAC CAGACTGCTGGTCAGGCCTGATATCCAGAAC CCTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACT CAAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTC ACCGATTTTGATTCTCAAACAAATGTGTGACA AAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACAGAC AAAACTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACT TCAAGAGCAACAGTGTGTGGCCTGGAGCAA CAAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCA ACAACAGCATTATCCAGAAGACACCTTCTTC CCCAGCCCAGAAAAGTTCCTGTGATGTCAAGC TGGTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAA CCTAAACTTTCAAACCTGTCAAGTATTGGGT TCCGAATCCTCCTCTGAAAGTGGCCGGGTTT AATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGGTCCA GC	SEQ ID NO: 295
	β1 (c TRBC1)	atgctgctgctctgctgctctggggccaggataagcctccttctacctgg gacttggcaggctccggcttggctgtcgtctctcaacatccgactg ggtatctgtaagagtggaacctctggaagatcagtgccgttccctggac tttcaggccacaactatggttggatcgtcagttcccgaacagagtctcat gctgatggcaactccaatgaggctccaaggccacatacagcaaggc gtcgagaaggacaagtttctcatcaacctgcaagcctgaccttgcactc tgacagtgaccagtgccatcctgaagacagcagcttctacatctgcagtg ctagggacagtgtctggaaacaccatattttggagagggaagttggc tcactgtgtagaggacctgaacaaggtgtcccaccaggctcgtgtgtt tgagccatcagaagcagagatctccacacccaaaaggccacactggtgt gcctggccacaggcttctcccaccacgtggagctgagctggtgggtg aatgggaaggaggtgcacagtgggtcagcacggaccgcagcccctc aaggagcagcccctcaatgactccagatactgctgagcagccgct gagggtctcgccacctctggcagaacccccgaaccacttccgctgtc aagtcaggtctacggctctcggagaatgacagtggaaccaggatagg gccaaaccgtaccagatctcagcgcagccaggcctgggtgagagca gactgtgctttacctcgtgtctaccagcaagggtcctgtctgccacca tctctatgagatcctgtaggaaggccacctgtatctgtgtgtcag cgcccttgttggatggccatggtcaagagaaggatttc	SEQ ID NO: 229

	<p>β1 (c TRBC2) atgctgctgcttctgctgcttctggggccagggtataagcctccttctacctgg gagcttggcagcctccgggcttggctgctgctctcaacatccgagctg ggttatctgtaagagtggaaacctctgfgaagatcagtgccgttccctggac ttcaggcccaactatgtttggtatcgtcagttcccgaacagagcttcat gctgatggcaactccaatgagggctccaaggccacatacagcaagc gtcgagaaggacaagtttctcatcaacctgcaagcctgacctgtccactc tgacagtaccagtcccacctgaagacagcagcttctacatctgcagtg ctagggacagtgtgctggaaacacatatatfttggagagggaagttggc tactgtttagagacctgaaaacgtgttccaccagggtcgtgctgtt tgagccatcagaagcagagatctcccaccccaaaaggccacactggtgt gcctggccacaggttctaccccaccacgtggagctgagctggtgggt gaatgggaaggaggtgcacagtggggcagcagaccgagccct caaggagcagcccgcctcaatgactccagatactgctgagcagccgc ctgagggtctcggccacttctgcagaaaccccgcaaccacttccgctgt caagtccagttctacgggctcggagaatgacagtgaggccaggatag ggccaaacctgtcaccagatcgtcagcggcagcctgggtagagca gactgtggcttaccctcagcttaccagcaagggtcctgctgcccacc atcctctatgagatcttctagggaaaggccacttctatgctgctggtca gtgccctcgtgctgagccatggtcaagagaaggattccagaggc</p>	<p>SEQ ID NO: 230</p>
	<p>β2 (c TRBC1) atgctgagcttctgctccttctcctgggactaggctctgtgttcagtctgtc atctctcaaaagccaagcagggatctgtcaacgtggaacctcctgacg atccagtgtcaagtcgatagccaagtaccatgatgttctggtagctgacg aacctggacagagcctgacactgatcgaactgcaaatcagggtctgag gccacatatgagagtggaattgtcattgacaagttcccatcagccgccc acctaacttcaactctgactgtgagcaacatgagccctgaagacagca gcatatatctgcaagcttggggtagcgggagttacaatgagcagttctt cgggccaggacacggctcaccgtgtagaggacctgaaacaaggtgttc ccaccgaggtcgtgtgtttagccatcagaagcagagatctcccacac ccaaaaggccacactggtgtgcctggccacagcttctccccgaccacg tggagctgagctggtgggtgaatgggaaggaggtgcacagtggggtcag cacggaccgcagcccctcaaggagcagcccgcctcaatgactccaga tactgcctgagcagccgcctgagggtctcggccaccttctgcaagaacc ccgcaaccacttccgtgtcaagtccagttctacgggctctcgagaatga cgagtggaccagatagggccaaaccgtcaccagatcgtcagcggc gagcctgggtagagcagactgtgcttacctcgggtctctaccagca aggggtcctgtctgccaccatcctctatgagatcctgtagggaaggccac cctgatgctgtgctgtagcagccccttgtgtgtagccatggtcaagaga aaggatttc</p>	<p>SEQ ID NO: 231</p>
	<p>β2 (c TRBC2) atgctgagcttctgctccttctcctgggactaggctctgtgttcagtctgtc atctctcaaaagccaagcagggatctgtcaacgtggaacctcctgacg atccagtgtcaagtcgatagccaagtaccatgatgttctggtagctgacg aacctggacagagcctgacactgatcgaactgcaaatcagggtctgag gccacatatgagagtggaattgtcattgacaagttcccatcagccgccc acctaacttcaactctgactgtgagcaacatgagccctgaagacagca gcatatatctgcaagcttggggtagcgggagttacaatgagcagttctt cgggccaggacacggctcaccgtgtagaggacctgaaaaacgtgttc ccaccgaggtcgtgtgtttagccatcagaagcagagatctcccacac ccaaaaggccacactggtgtgcctggccacagcttctccccgaccacg tggagctgagctggtgggtgaatgggaaggaggtgcacagtggggtcag cacagaccgcagcccctcaaggagcagcccgcctcaatgactccaga tactgcctgagcagccgcctgagggtctcggccaccttctgcaagaacc ccgcaaccacttccgtgtcaagtccagttctacgggctctcgagaatga cgagtggaccagatagggccaaaccgtcaccagatcgtcagcggc gagcctgggtagagcagactgtgcttacctcgggtctctaccagca aggggtcctgtctgccaccatcctctatgagatcctgtagggaaggccac cctgatgctgtgctgtagcagccccttgtgtgtagccatggtcaagaga aaggatttc</p>	<p>SEQ ID NO: 232</p>

		cgagtggaccagataggccaaacctgtcaccagatcgcagegcc gaggcctgggtagacagactgtggctcacctccgagcttaccagca agggctcctgtctgccaccatcctctatgagatcttctagggaggccac ctgtatgcccgtgctggtcagtccctcgtgctgatggccatggtcaagag aaaggattccaaggc	
	β-3 (c TRBC1)	ATGCTGCTGCTTCTGCTGCTTCTGCGGCCAGG TATAAGCCTCCTTCTACCTGGGAGCTTGGCAG GCTCCGGGCTTGGTGTGCTGCTCTCAACAT CCGAGCTGGGTTATCTGTAAGAGTGGAACCT CTGTGAAGATCGAGTGCCGTTCCCTGGACTTT CAGGCCACAACATGTTTTGGTATCGTCAGTT CCGAAACAGAGTCTCATGCTGATGGCAACT TCCAATGAGGGCTCCAAGGCCACATACGAGC AAGGCGTCGAGAAGGACAAGTTTCTCATCAA CCATGCAAGCCTGACCTTGTCCACTCTGACAG TGACCAGTGCCCATCCTGAAGACAGCAGCTT CTACATCTGCAGTGCTAGAGACGTAAGTACA GGGACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGA CCAGGTTAACCGTTGTAGAGGACCTGAACAA GGTGTTCACCCGAGGTCGCTGTGTTTGAGC CATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAAA GGCCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTC TTCCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGGG TGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAG CACGGACCCGCAGCCCCTCAAGGAGCAGCCC GCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCA GCCGCTGAGGGTCTCGGCCACCTTCTGGCA GAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTC CAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAATGACGAGT GGACCCAGGATAGGGCCAAACCCGTCACCCA GATCGTCAGCGCCGAGGCTGGGGTAGAGCA GACTGTGGCTTTACCTCGGTGTCTACCAGCA AGGGGTCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGA TCTTGCTAGGGAAGGCCACCCTGTATGCTGT GCTGGTCAGCGCCCTTGTGTTGATGGCCATGG TCAAGAGAAAGGATTTTC	SEQ ID NO: 296
	β-3 (c TRBC2)	ATGCTGCTGCTTCTGCTGCTTCTGCGGCCAGG TATAAGCCTCCTTCTACCTGGGAGCTTGGCAG GCTCCGGGCTTGGTGTGCTGCTCTCAACAT CCGAGCTGGGTTATCTGTAAGAGTGGAACCT CTGTGAAGATCGAGTGCCGTTCCCTGGACTTT CAGGCCACAACATGTTTTGGTATCGTCAGTT CCGAAACAGAGTCTCATGCTGATGGCAACT TCCAATGAGGGCTCCAAGGCCACATACGAGC AAGGCGTCGAGAAGGACAAGTTTCTCATCAA CCATGCAAGCCTGACCTTGTCCACTCTGACAG TGACCAGTGCCCATCCTGAAGACAGCAGCTT CTACATCTGCAGTGCTAGAGACGTAAGTACA GGGACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGA CCAGGTTAACCGTTGTAGAGGACCTGAAAAA CGTGTTCACCCGAGGTCGCTGTGTTTGAGC CATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAAA	SEQ ID NO: 297

		GGCCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTC TACCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGGG TGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCA CACAGACCCGCAGCCCCTCAAGGAGCAGCCC GCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCA GCCGCCTGAGGGTCTCGGCCACCTTCTGGCA GAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTC CAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAATGACGAGT GGACCCAGGATAGGGCCAAACCTGTCACCCA GATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCA GACTGTGGCTTACCTCCGAGTCTTACCAGCA AGGGGTCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGA TCTTGCTAGGGAAGGCCACCTTGTATGCCGTG CTGGTCAGTGCCTCGTGTGATGGCCATGGT CAAGAGAAAGGATTCCAGAGGC	
	β-4 (c TRBC1)	ATGGGCTCCTGGACCCTCTGCTGTGTGTCCCT TTGCATCCTGGTAGCAAAGCACACAGATGCT GGAGTTATCCAGTCACCCCGGCACGAGGTGA CAGAGATGGGACAAGAAGTACTCTGAGATG TAAACCAATTTTCAGGACACGACTACCTTTTCT GGTACAGACAGACCATGATGCGGGGACTGGA GTTGCTCATTTACTTTAACAACAACGTTCCGA TAGATGATTCAGGGATGCCCGAGGATCGATT CTCAGCTAAGATGCCTAATGCATCATTCTCCA CTCTGAAGATCCAGCCCTCAGAACCCAGGGA CTCAGCTGTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTTAG GACTGAGCATTTCCTCAAGAGACCCAGTACTT CGGGCCAGGCACGCGGCTCCTGGTGTCTCGAG GACCTGAACAAGGTGTTCCACCCGAGGTCTG CTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTC CCACACCCAAAAGGCCACACTGGTGTGCCTG GCCACAGGCTTCTTCCCGACCACGTGGAGC TGAGCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCA CAGTGGGGTCAGCACGGACCCGCAGCCCCTC AAGGAGCAGCCC GCCCTCAATGACTCCAGAT ACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGGC CACCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCC GCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGA GAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAA ACCCGTCACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGCC TGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTTACCTCGG TGTCTTACCAGCAAAGGGTCTGTCTGCCACC ATCCTCTATGAGATCCTGCTAGGGAAGGCCA CCCTGTATGCTGTGCTGGTCAGCGCCCTTGTG TTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTTT	SEQ ID NO: 298
	β-4 (c TRBC2)	ATGGGCTCCTGGACCCTCTGCTGTGTGTCCCT TTGCATCCTGGTAGCAAAGCACACAGATGCT GGAGTTATCCAGTCACCCCGGCACGAGGTGA CAGAGATGGGACAAGAAGTACTCTGAGATG TAAACCAATTTTCAGGACACGACTACCTTTTCT GGTACAGACAGACCATGATGCGGGGACTGGA GTTGCTCATTTACTTTAACAACAACGTTCCGA	SEQ ID NO: 299

		TAGATGATTCAGGGATGCCCCGAGGATCGATT CTCAGCTAAGATGCCTAATGCATCATTCTCCA CTCTGAAGATCCAGCCCTCAGAACCCAGGGA CTCAGCTGTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTTAG GACTGAGCATTTCCTCAAGAGACCCAGTACTT CGGGCCAGGCACGCGGCTCCTGGTGCTCGAG GACCTGAAAAACGTGTTCCACCCGAGGTCG CTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTC CCACACCCAAAAGGCCACACTGGTGTGCCTG GCCACAGGCTTCTACCCCGACCACGTGGAGC TGAGCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCA CAGTGGGGTCAGCACAGACCCGAGCCCTC AAGGAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGAT ACTGCCTGAGCAGCCGCTGAGGGTCTCGGC CACCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCC GCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGA GAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAA ACCTGTCACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGCC TGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTACCTCCG AGTCTTACCAGCAAGGGGTCTGTCTGCCAC CATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAAGGCC ACCTTGATGCCGTGCTGGTCAGTGCCCTCGT GCTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTCC AGAGGC	
HD8	α (c TRAC)	atggtgaagatccggcaatttttggctattttggcttcagctaagctgt gtaagtgccccaataatgaagtggagcagagtcctcagaacctgactgc ccaggaaaggagaatttatacaatcaactgcagttactcggtaggaataag tgccttacactggctgcaacagcatccaggaggcattgttcttgttta tgctgagctcagggaagaagaagcatggaagattaattgccacaataaac atacaggaagcagcagctcctgcacatcacagcctccatccacagaga ctctccgtctacatctgtgctgcacagtcgaaacaaactggttttggc gcaggaaccattctgagagtcaagtcctatatccagaacctgacctgcc gtgtaccagctgagagacttaaatccagtgacaagtctgtctgcctattca ccgattttgatttcaaacaaatgtgtcacaagtaaggattctgatgtgata tcacagacaaaactgtgctagacatgaggtctatggactcaagagcaaca gtgctgtggcctggagcaacaaatctgacttgcagtgcaaacgccttcaa caacagcattatccagaagacaccttctccccagcccagaagttcctgt gatgtcaagctggtcagaaaaactttgaacagatacgaacataaactttc aaaacctgtcagtgattgggttccgaatcctcctcctgaaagtggccgggtt taatctgctcatgacgctgaggctgtgtccagc	SEQ ID NO: 233
	β (c TRBC1)	atgagcatcgggctcctgtgctgtgtgacctttctctctgtggcaagtc agtgaatgctggtgctactcagaccccaaatccaggtcctgaagacagg acagagcatgacactgagtggtccaggatgaaccataactccatgta ctggtatcgacaagaccaggcatgggactgaggtgatttactcagct ctgagggtagcactgacaaaaggagaagtcccaatggctacaatgtctcc agattaaacaacggagttctcgtcaggtggagtcggctgctcctcc cagacatctgtacttctgtgccagcaggggtggcgtgagcagttctc ggccaggacacggctaccgtgctagaggacctgaacaaggtgtcc caccaggtcgtgtgtttgagccatcagaagcagagatctcccacacc caaaaggccacactggtgtcctggccacaggtcttccccaccacgt ggagctgagctggtgggtgaatgggaaggaggtgcacagtggtgtag	SEQ ID NO: 234

		cacggacccgcagcccctcaaggagcagcccgccctcaatgactccaga tactcctgagcagccgcctgagggtctcgccacctctggcagaaccc ccgcaaccactccgctgtcaagtcagttctacgggctctcgagaatga cgagtggaccagataggccaaccgtcaccagatcgtcagcgc gaggcctgggtagagcagactgtgctttacctcgggtcctaccagca agggctcctgtctgccaccatcctctatgagatcctgtagggaaggccac cctgtatgctgtgctggtcagcgccttgtttgatggccatggcaagaga aaggatttc	
	β (c TRBC2)	atgagcatcgggctcctgtgctgtggtgcccctttctcctgtggcaagtcc agtgaatgctggtgtcactcagaccccaaaatccaggctcctgaagacagg acagagcatgacactgcagtggtcccagatagaaccataactcatgta ctggtatcgacaagaccagggcatgggactgaggctgatttactcagct ctgagggtaccactgacaaaggagaagtcceaatggctacaatgtctcc agattaaacaacgggagttctcgtcagcctggagtcggctgctcctcc cagacatctgttactctgtgccagcaggggtggcgtgagcagttcttc gggcccaggacacggctcaccgtctagaggacctgaaaaactgttcc caccgaggtcctgtgtttgagccatcagaagcagagatcctccacacc caaaaggccacactggtgtcctggccacaggcttaccgccaccacgt ggagctgagctggtgggtgaatgggaaggaggtcacagtggtgctcag cacagaccgcagcccctcaaggagcagcccgccctcaatgactccaga tactcctgagcagccgcctgagggtctcgccacctctggcagaaccc ccgcaaccactccgctgtcaagtcagttctacgggctctcgagaatga cgagtggaccagataggccaaccgtcaccagatcgtcagcgc gaggcctgggtagagcagactgtgctttacctccagcttaccagca agggctcctgtctgccaccatcctctatgagatcctgtagggaaggccac cctgtatgccgtgctggtcagtcctctgtctgatggccatggcaagaga aaaggattccagaggc	SEQ ID NO: 235
HD9	α1 (c TRAC)	atggtgaagatccggcaatfttggctatfttggcttcagctaagctgt gtaagtccgcaaaaatgaatggagcagagctcctcagaacctgactgc ccaggaaggagaatftatcaaalcaactgcagttactcggtaggaataag tgcttacactggctgcaacagcatccaggaggagcaltgtttcctgttta tgctgagctcagggaagaaagcatggaagtaattgccacaataaac atacaggaaaagcacagctcctgcacatcacagcctccateccagaga ctctgccgtctacatctgtgctgcccgatctataaacccgacaagctcatct ttgggactgggaccagattacaagtcttccaaatatacagaacctgacc tgccgtgtaccagctgagagactctaaatccagtgacaagtctgtctgcta ttaccgattttgattcacaacaaatgtgtcacaagaatgattctgatgtg tatatcacagacaaaactgtgctagacatgaggctctatggactcaagagca acagtgctgtggcctggagcaacaatctgactttgcatgtgcaaacgctt caacaacagcaltatccagaagacaccttctcccagcccagaaagtctc ctgtgatgcaagctggtcagaaaaagcttgaaacagatagaaacctaaa cttcaaaactgtcagtgattgggtccgaatcctcctcctgaaagtggccc ggtttaatctgctcatgacgctgggctgtgtccagc	SEQ ID NO: 236
	α2 (c TRAC)	atggccatgctcctggggcaltcagtgctgattctgtggcttcagccagact gggtaaacagtcaacagaagaatgatgaccagcaagftaagcaaaatca ccatccctgagcgtccaggaaggagaatttctattctgaactgtgactata ctaacagcatgtttgattttcctatggtacaaaaataccctgctgaaggctc ctacatcctgatactataagttccattaggaataaaatgaagatggaaga ttactgtctttaaacaagaatgccaagcactctctgacatgtgccc tccagcctggagactctcagtgactctgtgcagcaagttacaacaatg ccagactcatgttggagatggaactcagctggtggtgaagcccaatatcc	SEQ ID NO: 237

		agaacctgacctgccgtgtaccagctgagagactctaaatccagtgac aagtctgtctgcctattcaccgattttgattctcaaacaaatgtgcacaaagt aaggattctgatgtatatacacagacaaaactgtgctagacatgaggtctat ggactcaagagcaacagtgctgtggcctggagcaacaaatctgactttgc atgtgcaaacgcttcaacaacagcattattccagaagacaccttctcccc agcccagaaagtctctgtgatgtcaagctggcgcgagaaaagctttgaaaca gatacgaacctaaactttcaaacctgtcagtgattgggtccgaatcctct cctgaaagtggccgggttaactgtctcatgacgctgaggctgtgtccag c	
	α3 (c TRAC)	atggccatgctcctggggcactcagtgctgattctgtggcttcagccagact gggtaaacagtcacagaagaatgatgaccagcaagftaagcaaaatca ccatccctgagcgtccaggaaggaaatftctattctgaactfgactata ctaacagcatgttgattattctctatggtaaaaaataccctgctgaagtc ctacattctgatactataagttccattaagataaaaaatgaagatggaaga ttcactgtcttctaaacaaaagtccaagcactctctctgcacattgtgccc tcccagctggagactctgcagtgacttctgtgcagcaagftacaacaatg ccagactcatgttgagatggaactcagctgtgtggaagcccaatcc agaacctgacctgccgtgtaccagctgagagactctaaatccagtgac aagtctgtctgcctattcaccgattttgattctcaaacaaatgtgcacaaagt aaggattctgatgtatatacacagacaaaactgtgctagacatgaggtctat ggactcaagagcaacagtgctgtggcctggagcaacaaatctgactttgc atgtgcaaacgcttcaacaacagcattattccagaagacaccttctcccc agcccagaaagtctctgtgatgtcaagctggcgcgagaaaagctttgaaaca gatacgaacctaaactttcaaacctgtcagtgattgggtccgaatcctct cctgaaagtggccgggttaactgtctcatgacgctgaggctgtgtccag c	SEQ ID NO: 238
	β1 (c TRBC1)	atgggaccaggtcctcttctgggactgctttgtctcctcggaacaggcc cagtgaggctggagtcacacaaagtcccacacacctgatcaaacagag aggacagcaagcagactctgagatgctctctatctctgggcacaccagtg gtactggfaccacagggccctgggtctgggctccagttcctctttggat gacgagggtgaagagagaaacagaggaaaactccctctagatttcagg tcgccagttcccaattatagctctgagctgaatgtgaacgccttgagctg gaggactggccctgatctctgtgccagcagctgggggtaccaagagac ccagttactgggcccagcagcggctcctggtgctgaggacctgaac aaggtgttcccaccgaggtcgtgtgtttgagccatcagaaagcagagatc tcccaccccaaaaggccacactggtgtgctggccacaggtcttctcccc gaccactggagctgagctgtgtgggtgaatgggaaaggaggtgcacagt ggggtcagcagcagccgcagccctcaaggagcagcccgcctcaat gactccagatactgcctgagcagccgcctgaggtctcggccacctctg gcagaaccccccaaccactccgctcaagtcagttctacgggctctc ggagaatgacgagtgagccagataggccaaaccgtcaccagat cgtcagcggcagggcctgggtgagcagactgtggctttacctcgtgt cctaccagcaaggggtcctgtctgccaccatcctctatgagatcctgctag ggaagccaccctgtatgtgtgtgtgagcagccctgtgtgatggcca tggfcaagagaaggtttc	SEQ ID NO: 239
	β1 (c TRBC2)	atgggaccaggtcctcttctgggactgctttgtctcctcggaacaggcc cagtgaggctggagtcacacaaagtcccacacacctgatcaaacagag aggacagcaagcagactctgagatgctctctatctctgggcacaccagtg gtactggfaccacagggccctgggtctgggctccagttcctctttggat gacgagggtgaagagagaaacagaggaaaactccctctagatttcagg tcgccagttcccaattatagctctgagctgaatgtgaacgccttgagctg gaggactggccctgatctctgtgccagcagctgggggtaccaagagac ccagttactgggcccagcagcggctcctggtgctgaggacctgaac aaggtgttcccaccgaggtcgtgtgtttgagccatcagaaagcagagatc tcccaccccaaaaggccacactggtgtgctggccacaggtcttctcccc gaccactggagctgagctgtgtgggtgaatgggaaaggaggtgcacagt ggggtcagcagcagccgcagccctcaaggagcagcccgcctcaat gactccagatactgcctgagcagccgcctgaggtctcggccacctctg gcagaaccccccaaccactccgctcaagtcagttctacgggctctc ggagaatgacgagtgagccagataggccaaaccgtcaccagat cgtcagcggcagggcctgggtgagcagactgtggctttacctcgtgt cctaccagcaaggggtcctgtctgccaccatcctctatgagatcctgctag ggaagccaccctgtatgtgtgtgtgagcagccctgtgtgatggcca tggfcaagagaaggtttc	SEQ ID NO: 240

		ccagtaactcgggccaggcacgcggctcctggctcagagacctgaaa aacgtgttcccaccgaggtcgtgtgtttgagccatcagaaacagagatc tcccacacccaaaaaggccacactggtgtgcctggccacaggcttctacc cgaccacgtggagctgagctgggtggtgaatgggaaggaggtgcacagt ggggtcagcacagaccgcagcccctcaaggagcagcccgccctcaat gactccagatactgcctgagcagccgcctgagggtctcggccaccttctg gcagaaccccccaaccacttccgtgtcaagtcagttctacgggctctc ggagaatgacgagtgaccagataggccaaacctgtcaccagatc gtcagcggcaggcctgggtagagcagactgtgcttcacctccgagt ctaccagcaagggtcctgtctgccaccatcctctatgagatcttgtagg gaaggccacctgtatgccgtgtgctgctgcctcgtgctgatggccat ggtcaagagaaaaggattccagaggc	
	β2 (c TRBC1)	atggacaccagagtactctgctgtgcggctcatctgtcttctggggcaggt ctctcaaatgccggcgtcatcagaacccaagacacctggtcaggagga ggggacaggaggcaagactgagatgcagcccaatgaaaggacacagtc atgttactgtatcggcagctcccagaggaggtctgaaattcatgtttat ctccagaaaagaaatatacagatgagtcaggaaatgccaaggaaacgatt tctgtgaafttccaaaaggggcccagatcctgaggatccagcaggtgta gtgcgaggagattcggcagcttattctgtccagctcaccacaggtggc gagtactatggctacacctcgggtcggggaccagggttaaccgtgtagag gacctgaacaagggtgttcccaccgaggtcgtgtttgagccatcagaa gcagagatctcccacccaaaaaggccacactggtgtgcctggccacag gcttctccccaccacgtggagctgagctggtgggtgaatgggaaggag gtgcacagtggggtcagcacggaccgcagcccctcaaggagcagccc gccctcaatgactccagatactgcctgagcagccgcctgagggtctcggc caccttctggcagaaccccccaaccactcctgtcaagtcagttctac gggctctcggagaatgacgagtgaccagataggccaaacctgtca cccagatcgtcagcggcaggcctgggtagagcagactgtgctttacc tcggtgtcctaccagcaagggtcctgtctgccaccatcctctatgagatcc tgctagggaaggccacctgtatgctgtgctgctcagcggcctgtgtgat ggccatggtcaagagaaaaggattc	SEQ ID NO: 241
	β2 (c TRBC2)	atggacaccagagtactctgctgtgcggctcatctgtcttctggggcaggt ctctcaaatgccggcgtcatcagaacccaagacacctggtcaggagga ggggacaggaggcaagactgagatgcagcccaatgaaaggacacagtc atgttactgtatcggcagctcccagaggaggtctgaaattcatgtttat ctccagaaaagaaatatacagatgagtcaggaaatgccaaggaaacgatt tctgtgaafttccaaaaggggcccagatcctgaggatccagcaggtgta gtgcgaggagattcggcagcttattctgtccagctcaccacaggtggc gagtactatggctacacctcgggtcggggaccagggttaaccgtgtagag gacctgaaaaacgtgttcccaccgaggtcgtgtttgagccatcagaa gcagagatctcccacccaaaaaggccacactggtgtgcctggccacag gcttctccccaccacgtggagctgagctggtgggtgaatgggaaggga gggtgcacagtggggtcagcacagaccgcagcccctcaaggagcagcc cgccctcaatgactccagatactgcctgagcagccgcctgagggtctcgg ccaccttctggcagaaccccccaaccactcctgtcaagtcagttctac cgggctctcggagaatgacgagtgaccagataggccaaacctgtc accagatcgtcagcggcaggcctgggtagagcagactgtgcttca cctccgagcttaccagcaagggtcctgtctgccaccatcctctatgagat ctgtctagggaaggccacctgtatgccgtgtgctgctcagtcgacctgtgt gatggccatggtcaagagaaaaggattccagaggc	SEQ ID NO: 242
	β3 (c TRBC1)	atgagcatcggcctcctgtgctgtgcagcctgtctctcctgtggcaggtc cagtgaaatgctggtgctcactcagaccccaaaatccaggctcgaagacag	SEQ ID NO: 243

		<p>gacagagcatgacactgcagtggtgccaggatgaacctgaatacatgt cctggtatgacaagaccaggcatggggctgaggctgattcattactcag ttggtgctggtatcactgaccaaggagaagtcccaatggctacaatgtctc cagatcaaccacagaggattfcccgtcaggctgctgtcggctgtccctc ccagacatctgtgacttctgtgccagcagttcalacccccctggacagg cgatacaactcctataaaltcacccctccactttggaaacgggaccaggctc actgtgacagaggacctgaacaagtggtccacccaggctcgtgtgtt gagccatcagaagcagagatctcccacccaaaaggccacactggtgt gcctggccacaggcttctccccaccacgtggagctgagctggtgggtg aatgggaaggagggtgcacagtgggtgacacggaccgcagccccctc aaggagcagcccgcctcaatgactccagatactgctgagcagccgct gagggctcggccacttctggcagaaccccccaaccactccgctgtc aagtccagttctacgggtctcggagaatgacgagtgaccagagatagg gccaaaacctgacccagatcgcagcggaggcctgggtagagca gactgtggctttacctgggtctaccagcaagggtcctgtctgccacca tctctatgagatcctgtagggaaggccacctgtatgctgtgctggcag cggcctgtgtgatggccatggtcaagagaaaggatttctga</p>	
	β3 (c TRBC2)	<p>atgagcatcggcctcctgtgctgtgcagcctgtctcctgtgggcaggctc cagtgaatgctggtgtcactcagaccceaaaaltccaggctcgaagacag gacagagcatgacactgcagtggtgccaggatgaacctgaatacatgt cctggtatgacaagaccaggcatggggctgaggctgattcattactcag ttggtgctggtatcactgaccaaggagaagtcccaatggctacaatgtctc cagatcaaccacagaggattfcccgtcaggctgctgtcggctgtccctc ccagacatctgtgacttctgtgccagcagttcalacccccctggacagg cgatacaactcctataaaltcacccctccactttggaaacgggaccaggctc actgtgacagaggacctgaaaaagtggtccacccaggctcgtgtgtt gagccatcagaagcagagatctcccacccaaaaggccacactggtgt gcctggccacaggcttctccccaccacgtggagctgagctggtgggt gaatgggaaggagggtgcacagtgggtgacacagaccgcagccccct caaggagcagcccgcctcaatgactccagatactgctgagcagccgc ctgagggctcggccacttctggcagaaccccccaaccactccgctgt caagtccagttctacgggtctcggagaatgacgagtgaccagagatagg ggccaaaacctgacccagatcgcagcggaggcctgggtagagca gactgtggctttacctccgagttaccagcaagggtcctgtctgccacc atcctctatgagatcctgtagggaaggccacctgtatgctgtgctgtca gtgccctcgtgctgatggccatggtcaagagaaaggattccagaggc</p>	SEQ ID NO: 244
HD10	α (c TRAC)	<p>atggccatgctcctggggcatcagtgctgattctgtggcttcagccagact gggtaaacagtcaacagaagaatgatgaccagcaagtaagcaaaatca ccatccctgagcgtccaggaaagaaatttctattctgaactgtactata ctaacagcatgttfgalttctctatggtacaaaaaataccctgctgaaggctc ctacattctgatactataaagttccalttaaggataaaaaatgaagatggaaga ttcactgtcttftaaacaaaagtccaagcactctctctgcattgtgccc tcccagcctggagactctgcagtgacttctgtgagcaagcggagggaag agatgacaagatcatcttggaaaaggacacgacttcatatttcccctaat atccagaacctgacctgccgtgaccagctgagagacttaaatccagt gacaagtctgtctgctattcaccgatttfgattctaaacaaatgttcacaa agtaaggattctgatgttatatcacagacaaaactgtgctagacatgaggt ctatggactcaagagcaacagtgctgtggcctggagcaacaaatctgact ttgcatgtgcaaacgcttcaacaacagcatttccagaagacaccttctc cccagcccagaaagtctctgatgtcaagctgtgcgagaaaagcttfgaa acagatacgaacctaaacttcaaacctgtcagtgattgggtccgaatcct</p>	SEQ ID NO: 245

		cctcctgaaagtggccgggttaactgctcatgacgctgcggctgtggccagc	
	β (с TRBC1)	atgagcatcggcctcctgtgctgtgacgacctgtctcctgtggcaggtc cagtgaatgctggtgtcactcagaccctccaaatccaggtcctgaagacag gacagagcatgacactgacgtgtgcccaggatgaacctgaatacatgt cctggtatcgacaagaccaggcatggggctgaggctgattcattactcag ttggtgctggtatcactgaccaaggagaagtcaccaatggctacaatgtctc cagatcaaccacagaggattcccgtcaggctgctgtcggctgctccctc ccagacatctgtgtacttctgtgccagcagctactcccggacagagagcac agatacgcagtatttggcccaggcaccggctgacagtgtcagggacc tgaacaaggtgtcccaccagggtcgtgtgtttgagccatcagaagcag agatctccacacccaaaaggccacactggtgtgctgtgccacaggcttc tccccgaccacgtggagctgagctggtgggtgaatgggaaggaggtgc acagtgggtcagcacagaccgcagcccctcaaggagcagcccgcc tcaatgactccagatactgctgagcagccgctgagggtctcggccact tctggcagaacccccgaaccactccgctgtcaagtccagttctacgggc tctcggagaatgacgagtgaccaggataggccaaccgtcaccca gatctcagcgcggaggcctgggtgtagcagactgtggcttacctcgg tgtctaccagcaagggtcctgtctgccaccatcctatgagatcctgt aggggaaggccacctgtatgctgtgctgctcagcgccttgtgtgatggc catggtcaagagaaaggattc	SEQ ID NO: 246
	β (с TRBC2)	atgagcatcggcctcctgtgctgtgacgacctgtctcctgtggcaggtc cagtgaatgctggtgtcactcagaccctccaaatccaggtcctgaagacag gacagagcatgacactgacgtgtgcccaggatgaacctgaatacatgt cctggtatcgacaagaccaggcatggggctgaggctgattcattactcag ttggtgctggtatcactgaccaaggagaagtcaccaatggctacaatgtctc cagatcaaccacagaggattcccgtcaggctgctgtcggctgctccctc ccagacatctgtgtacttctgtgccagcagctactcccggacagagagcac agatacgcagtatttggcccaggcaccggctgacagtgtcagggacc tgaaaaacgtgtcccaccagggtcgtgtgtttgagccatcagaagcag agatctccacacccaaaaggccacactggtgtgctgtgccacaggcttc taccggaccacgtggagctgagctggtgggtgaatgggaaggaggtgc acagtgggtcagcacagaccgcagcccctcaaggagcagcccgcc tcaatgactccagatactgctgagcagccgctgagggtctcggccact tctggcagaacccccgaaccactccgctgtcaagtccagttctacgggc tctcggagaatgacgagtgaccaggataggccaaccgtcaccca gatctcagcgcggaggcctgggtgtagcagactgtggcttacctcgg gagtctaccagcaagggtcctgtctgccaccatcctatgagatcctgt aggggaaggccacctgtatgccgtgctgctcagtcacctcgtgtgatggc catggtcaagagaaaggattccagaggc	SEQ ID NO: 247

Таким образом, в настоящем изобретении предложен выделенный полинуклеотид, включающий одну или более нуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 132-156, 223-247 и 292-299 или их вариантов, обладающих по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, 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% идентичностью последовательности с ними.

В настоящем изобретении также предложен TCR, включающий α-цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 132, 135, 138, 141, 144, 147, 152, 223, 226, 227, 228, 233, 236, 237, 238, 245, 292, 295 и их вариантов, обладающих по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, 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% идентичностью последовательности с ними.

В настоящем изобретении также предложен TCR, включающий β-цепь, кодируемую нуклеотидной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 133, 134, 136, 137, 139, 140, 142, 143, 145, 146, 148, 149, 150, 151, 153, 154, 155, 156, 224, 225, 229, 230, 231, 232, 234, 235, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 246, 247, 293, 294, 296-299 и их вариантов, обладающих по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, 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% идентичностью последовательности с ними.

Кроме того, в настоящем изобретении предложены выделенные полинуклеотидные последовательности, полученные из последовательностей, представленных в табл. 2. Например, в настоящем изобретении предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий вариабельную область TCR согласно настоящему изобретению, где выделенный полинуклеотид включает фрагмент нуклеотидов любой из последовательностей SEQ ID NO: 132-156, 223-247 и 292-299.

Вариантные последовательности могут иметь вставки, делеции или замены одного или более осно-

ваний. Если вариация включает вставку(и) или делецию(и), она может происходить по тройкам или может быть сбалансирована (т.е. вставкой на каждую делецию), чтобы вариация не вызывала сдвиг рамки считывания при трансляции остальной части последовательности.

Некоторые или все вариации могут быть "молчащими" в том смысле, что они не оказывают влияния на последовательность кодируемого белка вследствие вырожденности генетического кода.

Некоторые или все вариации могут давать консервативные аминокислотные замены, вставки или делеции, как объяснено выше. Вариация может быть сконцентрирована в одной или более областях, таких как области, кодирующие константные области, линкер или каркасные области α или β -цепей, или они могут быть распределены по всей протяженности молекулы.

Вариантная последовательность должна сохранять возможность кодировать всю или часть аминокислотной последовательности TCR, которая связывается с пептидом WT1.

Оптимизация кодонов.

Полинуклеотиды, используемые в настоящем изобретении, могут быть кодон-оптимизированными. Оптимизация кодона была ранее описана в WO 1999/41397 и WO 2001/79518. Различные клетки отличаются по своему использованию конкретных кодонов. Такое предпочтение кодонов соответствует различиям в относительной представленности конкретных тРНК в клетке определенного типа. Путем изменения кодонов в последовательности таким образом, чтобы они соответствовали относительной представленности соответствующих тРНК, можно повысить экспрессию. Подобным способом можно снизить экспрессию, специально подбирая такие кодоны, которым, как известно, соответствуют редкие в конкретном типе клетки тРНК. Таким образом, доступна дополнительная степень трансляционного контроля.

Многие вирусы, включая ВИЧ и другие лентивирусы, используют большое количество редких кодонов, и, путем их изменения в соответствии с обычно используемыми у млекопитающих кодонами, может быть достигнута повышенная экспрессия пакующих компонентов в клетках-продуцентах млекопитающих. В уровне техники известны таблицы использования кодонов в клетках млекопитающих, а также во множестве других организмов.

Оптимизация кодонов также может включать удаление мотивов нестабильности мРНК и скрытых сайтов сплайсинга.

Вектор.

В настоящем изобретении предложен вектор, включающий полинуклеотид, описанный в настоящем документе.

Вектор представляет собой инструмент, который обеспечивает или облегчает перенос единицы из одного окружения в другое. В соответствии с настоящим изобретением, и в качестве примера, некоторые векторы, используемые в технологиях рекомбинантных нуклеиновых кислот, позволяют осуществлять перенос таких единиц, как сегмент нуклеиновой кислоты (например, сегмент гетерологичной ДНК, такой как сегмент гетерологичной кДНК), в клетку-мишень. Вектор может служить для поддержания гетерологичной нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК) в клетке, облегчения репликации вектора, включающего сегмент нуклеиновой кислоты, или облегчения экспрессии белка, кодируемого сегментом нуклеиновой кислоты. Векторы могут быть невирусными или вирусными. Примеры векторов, используемых в технологиях рекомбинантных нуклеиновых кислот, включают, без ограничения перечисленными, плазмиды, хромосомы, искусственные хромосомы и вирусы. Вектор может быть одноцепочечным или двухцепочечным. Он может быть линейным, и, необязательно, вектор включает одно или более плеч гомологии. Вектор также может быть, например, голый нуклеиновой кислотой (например, ДНК). В своей простейшей форме сам вектор может быть представляющим интерес нуклеотидом.

Векторы, используемые в изобретении, могут быть, например, плазмидными или вирусными векторами и могут включать промотор для экспрессии полинуклеотида и, необязательно, регулятор промотора.

Векторы, включающие полинуклеотиды, используемые в изобретении, могут быть введены в клетки при использовании различных способов, известных в уровне техники, таких как трансформация, трансфекция и трансдукция. Несколько методов известны в уровне техники, например, трансдукция рекомбинантными вирусными векторами, такими как ретровирусные, лентивирусные, аденовирусные, на основе аденоассоциированного вируса, бакуловирусные и векторы на основе вируса простого герпеса, векторы с транспозоном "Спящая красавица"; прямая инъекция нуклеиновых кислот и биолистическая трансформация.

Невирусные системы доставки включают, без ограничения перечисленными, способы трансфекции ДНК. В настоящем документе, трансфекция включает процесс с использованием невирусного вектора для доставки гена в клетку-мишень. Типичные методы трансфекции включают электропорацию, ДНК биолистику, липид-опосредованную трансфекцию, трансфекция уплотненной ДНК, липосомы, иммунолипосомы, липофектин, трансфекцию с использованием катионных соединений, катионные поверхностные амфилилы (CFA) (Nature Biotechnology 1996 14; 556) и их комбинации.

Следует понимать, что термин "трансфекция" охватывает доставку полинуклеотидов в клетки путем вирусной и невирусной доставки.

Кроме того, в изобретении могут использоваться методики таргетинга генов, например, доставка ДНК-модифицирующих средств.

Термин "вектор" включает вектор экспрессии, т.е. конструкцию, способную к экспрессии *in vivo* или *in vitro/ex vivo*. Экспрессию может регулировать векторная последовательность, или, например, в случае вставки в целевой сайт, экспрессию может регулировать последовательность-мишень. Вектор может быть интегрирован в ДНК клетки или связан с ней.

Вирусные системы доставки включают, без ограничения перечисленными, аденовирусный вектор, вектор на основе адено-ассоциированного вируса (AAV), вектор на основе вируса герпеса, ретровирусный вектор, лентивирусный вектор и бакуловирусный вектор.

Ретровирусы представляют собой РНК-вирусы, жизненный цикл которых отличается от жизненного цикла литических вирусов. В этом отношении ретровирус является инфекционной единицей, которая реплицируется через промежуточную ДНК. Когда ретровирус заражает клетку, его геном превращается в ДНК-форму под действием фермента обратной транскриптазы. ДНК-копия служит матрицей для синтеза новых РНК-геномов и кодируемых вирусом белков, необходимых для сборки инфекционных вирусных частиц.

Существует множество ретровирусов, например, вирус лейкоза мышей (MLV), вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), вирус инфекционной анемии лошадей (EIAV), вирус опухоли молочной железы мышей (MMTV), вирус саркомы Рауса (RSV), вирус саркомы Фудзинами (FuSV), вирус лейкоза мышей Молони (Mo-MLV), вирус остеосаркомы FBR мышей (FBR MSV), вирус саркомы мышей Молони (Mo-MSV), вирус лейкоза мышей Абельсона (A-MLV), вирус миелоцитоматоза птиц 29 (MC29) и вирус эритробластома птиц (AEV), а также другие ретровирусы, включая лентивирусы.

Подробный список ретровирусов можно найти в публикации Coffin et al. ("Retroviruses" 1997 Cold Spring Harbour Laboratory Press Eds: JM Coffin, SM Hughes, HE Varmus pp 758-763).

Лентивирусы также принадлежат к семейству ретровирусов, но они могут инфицировать делящиеся и неделящиеся клетки (Lewis et al (1992) EMBO J. 3053-3058).

Вектор может быть способен к переносу нуклеотидной последовательности, кодирующей WT1-специфичный TCR, описанный в настоящем документе, в клетку, такую как Т-клетка, в результате чего клетка экспрессирует WT1-специфичный TCR. Предпочтительно вектор будет способен к длительной высокой экспрессии в Т-клетках, при этом введенный TCR может успешно конкурировать с эндогенным TCR за ограниченный пул молекул CD3.

Увеличение доступности молекул CD3 может повышать экспрессию TCR, например, в клетке, которая была модифицирована для экспрессии TCR настоящего изобретения. Таким образом, вектор согласно настоящему изобретению может дополнительно содержать один или более генов, кодирующих CD3-гамма, CD3-дельта, CD3-эпсилон и/или CD3-дзета. В одном варианте осуществления вектор согласно настоящему изобретению содержит ген, кодирующий CD3-дзета. Вектор может содержать ген, кодирующий CD8. Вектор может кодировать селективный маркер или суицидальный ген для повышения профиля безопасности генетически модифицированной клетки, например, клетки согласно настоящему изобретению или клетки, которая была модифицирована для экспрессии TCR настоящего изобретения (Bonini, Science 1997, Ciceri, Bonini Lancet Oncol. 2009, Oliveira et al., STM 2015). Гены, содержащиеся в векторе согласно настоящему изобретению, могут быть соединены с помощью саморасщепляющихся последовательностей, таких как саморасщепляющаяся последовательность 2A.

В альтернативе один или более отдельных векторов, кодирующих ген CD3, могут быть предоставлены для совместного переноса в клетку одновременно, последовательно или раздельно с одним или более векторами согласно настоящему изобретению, например, одним или более векторами, кодирующими TCR-рецепторы настоящего изобретения.

Клетка.

Настоящее изобретение относится к клетке, включающей полинуклеотид или вектор согласно настоящему изобретению.

Клетка может быть Т-клеткой, лимфоцитом или стволовой клеткой. Т-клетка, лимфоцит или стволовая клетка могут быть выбраны из группы, состоящей из CD4 клеток, CD8 клеток, наивных Т-клеток, стволовых Т-клеток памяти, Т-клеток центральной памяти, двойных отрицательных Т-клеток, эффекторных Т-клеток памяти, эффекторных Т-клеток, клеток Th0, клеток Tc0, клеток Th1, клеток Tc1, клеток Th2, клеток Tc2, клеток Th17, клеток Th22, гамма/дельта Т-клеток, естественных киллерных клеток (NK), естественных киллерных Т-клеток (NKT), гемопоэтических стволовых клеток и плюрипотентных стволовых клеток.

Тип клетки может быть выбран с возможностью обеспечивать требуемое и предпочтительное персистирование *in vivo* и обеспечивать требуемые и предпочтительные функции и свойства клеток настоящего изобретения.

Клетка может быть выделена у субъекта.

Клетка согласно настоящему изобретению может быть предложена для применения в адоптивном переносе клеток. При использовании в настоящем документе термин "адоптивный перенос клеток" относится к введению популяции клеток пациенту. Как правило, такие клетки являются Т-клетками, которые выделяют у субъекта, а затем генетически модифицируют и культивируют *in vitro* с целью экспрессии TCR настоящего изобретения, после чего вводят пациенту.

Адоптивный перенос клеток может быть аллогенным или аутологичным.

Под "аутологичным переносом клеток" следует понимать, что исходную популяцию клеток (которые затем трансдуцируют согласно способу изобретения или трансдуцируют вектором согласно настоящему изобретению) получают у того же субъекта, которому затем вводят популяцию трансдуцированных Т-клеток. Аутологичный перенос обладает преимуществами, поскольку он лишен недостатков, связанных с иммунологической несовместимостью, и доступен субъекта независимо от доступности генетически совместимого донора.

Под "аллогенным переносом клеток" следует понимать, что исходную популяцию клеток (которые затем трансдуцируют согласно способу изобретения или трансдуцируют вектором согласно настоящему изобретению) получают у субъекта, отличного от субъекта, которому затем вводят популяцию трансдуцированных клеток. Предпочтительно донор будет генетически совместим с субъектом, которому вводят клетки, чтобы свести к минимуму риск иммунологической несовместимости. В альтернативе донор может быть несовместимым и не являться родственником пациента.

Подходящие дозы популяций трансдуцированных клеток являются такими, которые являются терапевтически и/или профилактически эффективными. Вводимая доза может зависеть от субъекта и состояния, подвергаемого лечению, и может быть с легкостью определена специалистом.

Клетка может быть получена из Т-клетки, выделенной у субъекта. Т-клетка может быть частью смешанной популяции клеток, выделенной у субъекта, такой как популяция лимфоцитов периферической крови (ЛПК). Т-клетки в популяции ЛПК могут быть активированы с помощью способов, известных в уровне техники, например, при использовании антител против CD3 и/или против CD28, или совпадающих по размеру с клетками сфер, конъюгированных с антителами против CD3 и/или против CD28.

Т-клетка может быть CD4⁺ Т-хелпером или CD8⁺ цитотоксической Т-клеткой. Клетка может присутствовать в смешанной популяции CD4⁺ Т-хелперов/CD8⁺ цитотоксических Т-клеток. Поликлональная активация, например, с применением антител против CD3, необязательно в комбинации с антителами против CD28, будет вызывать пролиферацию CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток.

Клетка может быть выделена у субъекта, которому затем адоптивно переносят генетически модифицированную клетку. В этом отношении клетка может быть получена путем выделения Т-клетки у субъекта, необязательной активации Т-клетки, переноса гена TCR в клетку ex vivo. Последующую иммунотерапию субъекта можно затем осуществлять путем адоптивного переноса TCR-трансдуцированных клеток. При использовании в настоящем документе этот процесс относится к аутологичному переносу Т-клеток, то есть TCR-трансдуцированные клетки вводят тому же субъекту, у которого Т-клетки были первоначально получены.

В альтернативе Т-клетка может быть выделена у другого субъекта, таким образом, она является аллогенной. Т-клетка может быть выделена у субъекта-донора. Например, если субъект подвергается аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) или трансплантации паренхиматозных органов, или трансплантации клеток, или терапии стволовыми клетками, клетка может быть получена от донора, от которого получены органы, ткани или клетки. Донор и субъект, подвергающиеся лечению, могут быть прямыми родственниками.

В альтернативе клетка может быть, или может быть получена из стволовой клетки, такой как гемопоэтическая стволовая клетка (ГСК). Перенос генов в ГСК не приводит к экспрессии TCR на поверхности клеток, поскольку стволовые клетки не экспрессируют молекулы CD3. Однако когда стволовые клетки дифференцируются в лимфоидные клетки-предшественники, которые мигрируют в тимус, инициация экспрессии CD3 приводит к поверхностной экспрессии введенного TCR в тимоцитах.

Преимущество данного подхода состоит в том, что после своего формирования зрелые Т-клетки экспрессируют только введенный TCR и либо малые уровни эндогенных цепей TCR, либо не экспрессируют их, потому что экспрессия введенных цепей TCR подавляет перестройку эндогенных сегментов генов TCR с образованием функциональных альфа и бета-генов TCR. Дополнительное преимущество состоит в том, что генетически модифицированные стволовые клетки являются непрерывным источником зрелых Т-клеток с требуемой антигенной специфичностью. Таким образом, клетка может быть генетически модифицированной стволовой клеткой, предпочтительно генетически модифицированной гемопоэтической стволовой клеткой, которая после дифференцировки образует Т-клетку, экспрессирующую TCR согласно изобретению.

Другие методы, известные в уровне техники, могут использоваться для уменьшения, ограничения, предотвращения, сайленсинга или блокирования экспрессии эндогенных генов в клетках согласно настоящему изобретению или в клетках, полученных способами настоящего изобретения.

При использовании в настоящем документе термин "прерывание" относится к снижению, ограничению, предотвращению, сайленсингу или блокированию экспрессии гена. Специалист в данной области способен применить любой способ, известный в уровне техники, для прерывания эндогенного гена, например, любой подходящий способ редактирования генома, сайленсинга гена, нокдауна гена или нокаута гена.

Например, эндогенный ген может быть прерван искусственной нуклеазой. Искусственная нуклеаза, например, искусственная рестриктаза, сконструированная для направленного селективного воздействия

на определенную полинуклеотидную последовательность (например, кодирующую целевой ген) и создающая двухцепочечный разрыв в указанной полинуклеотидной последовательности. Как правило, двухцепочечный разрыв (DSB) восстанавливается в процессе допускающего ошибки негомологического соединения концов (NHEJ), в результате чего образуется нефункциональная полинуклеотидная последовательность, которая может быть неспособна экспрессировать эндогенный ген.

В некоторых вариантах осуществления искусственная нуклеаза выбрана из группы, состоящей из цинк-пальцевых нуклеаз (ZFN), подобных активаторам транскрипции эффекторных нуклеаз (TALEN) и CRISPR/Cas (например, CRISPR/Cas9).

Способы получения клетки (например, Т-клетки) согласно настоящему изобретению могут включать этап направленной интеграции кассеты экспрессии в эндогенный ген (например, эндогенный ген α -цепи TCR и/или эндогенный ген β -цепи TCR). При использовании в настоящем документе термин "кассета экспрессии" относится к полинуклеотидной последовательности (например, ДНК полинуклеотидной последовательности), включающей одну или более полинуклеотидных последовательностей, кодирующих один или более генов, представляющих интерес, таким образом, указанные представляющие интерес гены способны экспрессироваться. Эндогенные последовательности могут способствовать экспрессии кассеты экспрессии, и/или транскрипция контрольных последовательностей в кассете экспрессии может способствовать экспрессии. Например, кассета экспрессии может содержать полинуклеотидную последовательность согласно настоящему изобретению или полинуклеотидную последовательность, кодирующую TCR согласно настоящему изобретению, функционально связанную с последовательностью регуляции экспрессии, например, промоторной или энхансерной последовательностью. Один или более генов, представляющих интерес, могут быть расположены между одним или более наборами сайтов рестрикции. Предпочтительно сайты рестрикции могут облегчать интеграцию кассеты экспрессии, например, в вектор, плазмиду или геномную ДНК (например, геномную ДНК клетки-хозяина).

Например, кассета экспрессии настоящего изобретения может быть перенесена из первой полинуклеотидной последовательности, например, в векторе, в другую путем 'разреза', например вырезания, кассеты экспрессии с использованием одной или нескольких подходящих рестриктаз и 'вставки', например интеграции, кассеты экспрессии во вторую полинуклеотидную последовательность.

Кассета экспрессии может включать полинуклеотид настоящего изобретения. Кассета экспрессии может включать полинуклеотид, кодирующий один или более TCR-рецепторов настоящего изобретения. Кассета экспрессии может дополнительно включать ген устойчивости к антибиотикам или другой селективный маркерный ген, который позволяет идентифицировать клетки, которые успешно интегрировали кассету экспрессии в свою ДНК. Полинуклеотидные последовательности, содержащиеся в кассете экспрессии, могут быть функционально связаны с последовательностями регуляции экспрессии, например, подходящей промоторной или энхансерной последовательностью. Специалист в данной области сумеет выбрать подходящие последовательности регуляции экспрессии.

В настоящем изобретении также предусмотрена клетка, экспрессирующая TCR настоящего изобретения, которая была генетически модифицирована с целью прерывания одного или более эндогенных генов МНС. Прерывание эндогенного гена МНС может снижать или предотвращать экспрессию МНС на поверхности генетически модифицированных клеток. Таким образом, такая генетически модифицированная клетка со сниженной или отсутствующей экспрессией МНС будет обладать ограниченной или не будет обладать способностью презентировать антигены на своей клеточной поверхности. Такая клетка особенно предпочтительна для адоптивного переноса клеток, поскольку такая клетка не будет аллореактивной, например, клетка не будет презентировать антигены, которые могут распознаваться иммунной системой субъекта, получающего адоптивно переносимую клетку. В результате перенесенная клетка не будет распознаваться как 'чужая', и можно будет избежать нежелательного иммунного ответа против клетки. Такую клетку называют 'универсальной клеткой', так как она подходит для адоптивного переноса во множество различных хозяев независимо от типа HLA.

Таким образом, в настоящем изобретении предложен способ получения неаллореактивной универсальной Т-клетки, которая экспрессирует TCR настоящего изобретения. Кроме того, в настоящем изобретении предложена неаллореактивная универсальная Т-клетка, которая экспрессирует TCR настоящего изобретения.

В настоящем изобретении также предусмотрены клетки, которые были генетически модифицированы с целью прерывания еще одного из эндогенных генов для модификации клетки с целью улучшения выгодных свойств, характеристик или функций клетки и/или уменьшения нежелательных свойств, характеристик или функций. Например, путем прерывания эндогенного гена клетки можно изменять персистенцию, размножение, активность, устойчивость к сигналам истощения/старения/ингибирования, хоуминг-способность или другие функции клетки. При использовании в данном контексте термин 'модифицировать' относится к изменению одной или более характеристик по сравнению с эквивалентной немодифицированной клеткой, например, клеткой, в которой не был прерван эндогенный ген. Например, изменение может быть увеличением, улучшением или введением характеристики или функции клетки по сравнению с эквивалентной немодифицированной клеткой. В альтернативе изменение может быть

уменьшением, супрессией или устранением характеристики или функции клетки по сравнению с эквивалентной немодифицированной клеткой.

Полинуклеотиды и векторы настоящего изобретения можно переносить в определенные субпопуляции Т-клеток, включающие CD4 и/или CD8, наивные, стволовые Т-клетки памяти, центральной памяти, эффекторные клетки памяти или эффекторные клетки, или в другие клеточные субпопуляции, например, с получением другой продолжительности персистенции *in vivo* и функции в клетках настоящего изобретения.

Полинуклеотиды и векторы настоящего изобретения также можно переносить в субпопуляции Т-клеток, такие как наивные, стволовые Т-клетки памяти, клетки центральной памяти, эффекторные клетки памяти, эффекторы.

Полинуклеотиды и векторы настоящего изобретения также можно переносить в субпопуляции Т-клеток с разной поляризацией, такие как Th0/Tc0, Th1/Tc1, Th2/Tc2, Th17, Th22 или другие, в зависимости от цитокинового фона, наиболее подходящего для направленного воздействия на опухоль конкретного типа.

Кроме того, полинуклеотиды и векторы настоящего изобретения, кодирующие антигенспецифичные области TCR-рецепторов настоящего изобретения, можно переносить в другие клеточные субпопуляции, в том числе гамма/дельта Т-клетки, НК-клетки, НКТ-клетки, гемопоэтические стволовые клетки или другие клетки с целью получения терапевтического эффекта.

Кроме того, в настоящем изобретении предложен способ получения клетки, который включает этап трансдукции клетки *in vitro* или *ex vivo* вектором настоящего изобретения. Различные способы трансдукции клетки вектором известны в уровне техники (см., например, Sambrook et al.).

В настоящем изобретении также предложен способ получения Т-клетки, экспрессирующей TCR согласно изобретению, посредством индукции дифференцировки стволовой клетки, которая включает полинуклеотид или вектор настоящего изобретения.

Популяция клеток может быть селективно очищена с обогащением клетками, которые демонстрируют определенный фенотип или характеристику, и очищена от других клеток, которые не демонстрируют такой фенотип или характеристику, или демонстрируют его в меньшей степени. Например, популяция клеток, которая экспрессирует специфический маркер (например, CD3, CD4, CD8, CD25, CD127, CD152, CXCR3 или CCR4), может быть очищена из исходной популяции клеток. Альтернативно или дополнительно популяция клеток, которая не экспрессирует другой маркер, может быть очищена.

Под "обогащением" популяции клеток клетками определенного типа следует понимать, что концентрация клеток такого типа в популяции увеличивается. Концентрация других типов клеток может одновременно с этим уменьшаться.

Очистка или обогащение могут привести к получению популяции клеток, по существу не содержащей других типов клеток.

Очистка или обогащение популяции клеток, экспрессирующих специфический маркер (например, CD3, CD4, CD8, CD25, CD127, CD152, CXCR3 или CCR4), может быть выполнена при использовании средства, которое связывается с таким маркером, предпочтительно по существу специфично связывается с таким маркером. Средство, которое связывается с клеточным маркером, может быть антителом, например, антителом, которое связывается с CD3, CD4, CD8, CD25, CD127, CD152, CXCR3 или CCR4.

Термин "антитело" относится к полным антителам или фрагментам антител, способным связываться с выбранной мишенью и включающим Fv, ScFv, F(ab') и F(ab')₂, моноклональные и поликлональные антитела, рекомбинантные антитела, включая химерные, CDR-перивитые и гуманизированные антитела, а также искусственно отобранные антитела, полученные с применением фагового дисплея или альтернативных методов.

Кроме того, в изобретении также могут применяться альтернативы природным антителам, например "авитела", "авимеры", "антикалины", "нанотела" и "дарпины".

Средства, которые связываются со специфическими маркерами, могут быть помечены с возможностью идентификации с использованием любого из различных способов, известных в уровне техники. Средство может изначально содержать метку или может быть модифицировано путем конъюгирования метки с ним. Под "конъюгированием" следует понимать, что средство и метка функционально связаны. Это означает, что средство и метка соединены таким способом, который позволяет им выполнять свою функцию (например, связывание с маркером, обеспечение возможности флуоресцентной идентификации или разделения при помещении в магнитное поле) по существу беспрепятственно. Подходящие способы конъюгирования известны в данной области и могут быть с легкостью определены специалистом.

Метка может позволять детектировать и/или очищать из своего окружения, например, меченое средство и любую клетку, с которой оно связано (например, средство может быть помечено магнитной сферой или аффинной меткой, такой как авидин). Детектируемые маркеры, подходящие для применения в качестве метки, включают флуорофоры (например, зеленый, mCherry, голубой и оранжевый флуоресцентные белки) и пептидные метки (например, His-метки, Мус-метки, FLAG-метки и HA-метки).

В уровне техники известен ряд методов для разделения популяции клеток, экспрессирующих специфический маркер. К ним относятся технологии разделения на основе магнитных сфер (например, раз-

деление на основе магнитных сфер с замкнутым циклом), проточная цитометрия, сортировка клеток с активированной флуоресценцией (FACS), очистка с использованием аффинной метки (например, с использованием аффинных колонок или сфер, таких как биотиновые колонки, для разделения меченных авидином средств) и способы на основе микроскопии.

Также можно проводить разделение при использовании комбинации различных методов, таких как этап разделения на основе магнитных сфер с последующей сортировкой полученной популяции клеток на один или более дополнительных (положительных или отрицательных) маркеров с помощью проточной цитометрии.

Разделение для клинического применения может быть выполнено, например, при использовании системы CliniMACS® (Miltenyi). Она является примером технологии разделения на основе магнитных сфер с замкнутым циклом.

Также предусмотрено, что свойства вытеснения красителя (например, боковая популяция или мечение родамином) или ферментативная активность (например, активность ALDH) могут использоваться для обогащения ГСК.

Химерные молекулы

В другом аспекте настоящего изобретения предложена химерная молекула, включающая TCR настоящего изобретения, TCR, кодируемый полинуклеотидом настоящего изобретения или его частью, конъюгированная с неклеточным субстратом. Конъюгирование может быть ковалентным или нековалентным.

Неклеточный субстрат может быть наночастицей, экзосомой или любым неклеточным субстратом, известным в уровне техники.

Химерная молекула настоящего изобретения может быть растворимой.

В другом аспекте настоящего изобретения предложена химерная молекула, включающая TCR настоящего изобретения, TCR, кодируемый полинуклеотидом настоящего изобретения или его частью, конъюгированная с токсином или антителом.

Токсин или антитело могут быть цитотоксическими. Токсин может быть цитотоксической молекулой или соединением, например, радиоактивной молекулой или соединением. Компонент TCR химерной молекулы может придавать способность распознавать клетки, экспрессирующие белок или пептиды WT1. Таким образом, химерная молекула может специфично распознавать и/или связываться с WT1-экспрессирующими опухолевыми клетками. Таким образом, химерные молекулы настоящего изобретения могут обеспечивать WT1-направленную доставку цитотоксических токсинов, антител и/или соединений.

WT1-ассоциированные заболевания.

WT1 широко экспрессируется на различных гемобластных и солидных опухолях и при этом демонстрирует ограниченную экспрессию на различных здоровых тканях (например, гонадах, матке, почке, мезотелии, клетках-предшественниках в различных тканях). Авторы настоящего изобретения идентифицировали и определили аминокислотные последовательности TCR-рецепторов, которые распознают пептиды WT1. Кроме того, продемонстрировали, что T-клетки, экспрессирующие TCR-рецепторы согласно настоящему изобретению, направленно воздействуют и убивают клетки, которые презентуют пептид WT1 или экспрессируют белок WT1 на повышенных уровнях.

Таким образом, в настоящем изобретении предложен способ лечения и/или предотвращения заболевания, связанного с экспрессией WT1, который включает этап введения TCR, выделенного полинуклеотида, вектора или клетки согласно настоящему изобретению субъекту, нуждающемуся в этом. В настоящем изобретении также предложен способ лечения и/или предотвращения заболевания, связанного с экспрессией WT1, который включает этап введения клетки, полученной с применением способа настоящего изобретения, нуждающемуся в этом субъекту.

Кроме того, в настоящем изобретении предложен TCR настоящего изобретения, выделенный полинуклеотид настоящего изобретения, вектор настоящего изобретения, клетка согласно настоящему изобретению или клетка, полученная с применением способа настоящего изобретения, для применения в лечении и/или предотвращении заболевания, связанного с экспрессией WT1.

Термин 'предотвращение' служит для обозначения предупреждения, задержки, воспрепятствования или торможения развития заболевания. Лечение, например, может предотвратить или уменьшить вероятность развития или возникновения заболевания, связанного с экспрессией WT1.

'Лечение' при использовании в настоящем документе относится к уходу за больным субъектом с целью уменьшения тяжести, устранения или уменьшения симптомов заболевания, или для снижения, остановки или задержки развития заболевания.

Субъектом может быть человек, участвующий в исследовании. Участвующий в исследовании человек может быть ребенком. Например, возраст ребенка может составлять меньше 10 лет, меньше 9 лет, меньше 8 лет, меньше 7 лет, меньше 6 лет, меньше 5 лет, меньше 4 лет, меньше 3 лет или меньше 2 лет. Участвующий в исследовании человек может быть грудным ребенком.

Ранее могли определить, что субъект нуждается в TCR, выделенном полинуклеотиде, векторе или клетке согласно настоящему изобретению или клетке, полученной способом согласно настоящему изобретению.

бретению на основе экспрессии WT1. Например, субъект может иметь популяцию клеток, которая демонстрирует повышенную экспрессию WT1 по сравнению с популяцией здоровых контрольных клеток. Различные методы, известные в уровне техники, могут использоваться для определения экспрессии WT1, например, количественная ОТ-ПЦР может применяться для определения количества РНК-транскрипта WT1, которое указывает на экспрессию белка WT1. Специалисту в данной области также будет очевидно, что экспрессия белка WT1 может быть определена путем проведения вестерн-блоттинга с использованием доступных в продаже антител, специфичных к WT1.

У субъекта также может быть ранее выявлено наличие изменения (например, мутации или делеции) в гене WT1. Такое изменение может быть наследственным. Таким образом, заболевание, связанное с экспрессией WT1, может быть наследственным заболеванием. Примеры наследственных заболеваний, связанных с экспрессией WT1, включают, без ограничения перечисленными, синдром WAGR (опухоль Вильмса, аниридия, аномалии мочеполовой системы, задержка умственного развития), синдром Дениса-Драша (DDS), синдром Фрейзера (FS), синдром аномалий мочеполовой системы (аномалии репродуктивной функции и мочевыделительной системы).

Субъекты с наследственными заболеваниями, связанными с экспрессией WT1, могут подвергаться более высокому риску развития пролиферативного нарушения (например, рака).

Заболевание, связанное с экспрессией WT1, может быть пролиферативным нарушением.

Пролиферативное нарушение может быть гемобластомом или солидной опухолью. Гемобластом может быть выбран из группы, состоящей из острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ), лимфообластного лейкоза, миелодиспластических синдромов, лимфомы, множественной миеломы, неходжкинской лимфомы и лимфомы Ходжкина.

Солидная опухоль может быть выбрана из группы, состоящей из рака легкого, рака молочной железы, рака пищевода, рака желудка, рака толстой кишки, холангиокарциномы, рака поджелудочной железы, рака яичника, злокачественных опухолей головы и шеи, синовиальной саркомы, ангиосаркомы, остеогенной саркомы, рака щитовидной железы, рака эндометрия, нейробластомы, рабдомиосаркомы, рака печени, меланомы, рака предстательной железы, рака почки, саркомы мягких тканей, уротелиального рака, рака желчных протоков, глиобластомы, мезотелиомы, рака шейки матки и рака толстой и прямой кишки.

Заболевание, связанное с экспрессией WT1, может быть выбрано из группы, состоящей из острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ), лимфообластного лейкоза, миелодиспластических синдромов, лимфомы, множественной миеломы, неходжкинской лимфомы и лимфомы Ходжкина, рака легкого, рака молочной железы, рака пищевода, рака желудка, рака толстой кишки, холангиокарциномы, рака поджелудочной железы, рака яичника, злокачественных опухолей головы и шеи, синовиальной саркомы, ангиосаркомы, остеогенной саркомы, рака щитовидной железы, рака эндометрия, нейробластомы, рабдомиосаркомы, рака печени, меланомы, рака предстательной железы, рака почки, саркомы мягких тканей, уротелиального рака, рака желчных протоков, глиобластомы, мезотелиомы, рака шейки матки и рака толстой и прямой кишки.

Фармацевтическая композиция.

TCR-рецепторы настоящего изобретения, полинуклеотиды настоящего изобретения, векторы настоящего изобретения, клетки настоящего изобретения, клетки, полученные способами настоящего изобретения, химерные молекулы настоящего изобретения и смешанная популяция клеток настоящего изобретения могут быть включены в лекарственную форму для введения субъектам с фармацевтически приемлемым носителем, разбавителем или вспомогательным веществом. Подходящие носители и разбавители включают изотонические физиологические растворы, например фосфатно-солевой буферный раствор, и могут содержать человеческий сывороточный альбумин.

Обращение с продуктами для клеточной терапии предпочтительно осуществляют в соответствии с Международными стандартами FACT-JACIE для клеточной терапии.

Способ лечения.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен способ лечения и/или предотвращения заболевания, связанного с экспрессией WT1, который включает этап введения TCR настоящего изобретения, выделенного полинуклеотида настоящего изобретения, вектора настоящего изобретения, клетки настоящего изобретения, клетки, полученной с применением способа настоящего изобретения, химерной молекулы настоящего изобретения или смешанной популяции клеток настоящего изобретения нуждающемуся в этом субъекту.

Субъект может быть человеком, участвующим в исследовании. Субъект может быть не относящимся к человеку подопытным животным.

Субъект может иметь заболевание, связанное с экспрессией WT1. Субъект может подвергаться риску развития заболеваний, связанных с экспрессией WT1. Ранее могло быть определено, что субъект подвергается риску развития заболевания, связанного с экспрессией WT1. Субъект может иметь повышенный риск развития заболевания, связанного с WT1.

Повышенный риск может быть определен с помощью генетического исследования и/или изучения семейного анамнеза субъекта. У субъекта могут экспрессироваться генетические маркеры, указывающие

на повышенный риск развития заболевания, связанного с экспрессией WT1.

Таким образом, специалист в данной области будет осведомлен о генетических факторах риска (например, генетических маркерах), связанных с повышенным риском развития заболевания, связанного с WT1. Специалист сумеет применить любой подходящий способ или методику, известные в уровне техники, для определения, подвергается ли субъект повышенному риску развития заболевания, связанного с экспрессией WT1.

Субъект мог ранее проходить лечение от заболевания, связанного с экспрессией WT1. Субъект может находиться в состоянии ремиссии. Субъект может быть резистентным к химиотерапии. Субъект может быть резистентным к терапии антителами против WT1.

В одном варианте осуществления способ лечения и/или предотвращения заболевания, связанного с экспрессией WT1, включает этап введения субъекту химиотерапевтического средства. Химиотерапевтическое средство могут вводить субъекту одновременно, последовательно или отдельно с TCR настоящего изобретения, выделенным полинуклеотидом настоящего изобретения, вектором настоящего изобретения, клеткой согласно настоящему изобретению, клеткой, полученной способом настоящего изобретения, или химерной молекулой настоящего изобретения.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен способ лечения и/или предотвращения заболевания, связанного с экспрессией WT1, который включает этап введения смешанной популяции клеток, где смешанная популяция клеток включает множество популяций клеток, каждая из которых экспрессирует разные TCR согласно настоящему изобретению.

В другом аспекте настоящего изобретения предложена смешанная популяция клеток, включающая множество популяций клеток, каждая из которых экспрессирует разные TCR согласно настоящему изобретению.

В другом аспекте настоящего изобретения предложен способ получения смешанной популяции клеток, включающей множество популяций клеток, каждая из которых экспрессирует разные TCR согласно настоящему изобретению, где способ включает этап трансдукции клетки *in vitro* или *ex vivo* вектором настоящего изобретения.

В другом аспекте настоящего изобретения предложена смешанная популяция клеток для применения в лечении и/или предотвращении заболевания, связанного с экспрессией WT1, где смешанная популяция клеток включает множество популяций клеток, каждая из которых экспрессирует разные TCR согласно настоящему изобретению.

Например, смешанная популяция клеток может включать первую популяцию клеток, экспрессирующую первый TCR настоящего изобретения, и вторую популяцию клеток, экспрессирующую второй TCR настоящего изобретения. Например, смешанная популяция клеток может включать первую популяцию клеток, экспрессирующую первый TCR настоящего изобретения, вторую популяцию клеток, экспрессирующую второй TCR настоящего изобретения, и третью популяцию клеток, экспрессирующую третий TCR настоящего изобретения, и так далее.

Каждая популяция клеток смешанной популяции клеток может, например, экспрессировать только один TCR настоящего изобретения. Эндогенные гены TCR популяций клеток в смешанной популяции клеток могут быть прерваны или делетированы. Экспрессия эндогенных генов TCR клеток в смешанной популяции клеток может быть прервана, например, с помощью редактирования генов искусственной нуклеазой.

В другом аспекте настоящего изобретения предложено применение TCR настоящего изобретения, выделенного полинуклеотида настоящего изобретения, вектора настоящего изобретения, клетки настоящего изобретения, клетки, полученной с применением способа настоящего изобретения, химерной молекулы настоящего изобретения или смешанной популяции клетки настоящего изобретения для производства лекарственного средства для лечения заболевания, связанного с экспрессией WT1.

Лечение человека, как и ветеринарное лечение, входят в объем настоящего изобретения.

Если не указано иное, при практическом осуществлении настоящего изобретения будут использоваться стандартные методики клеточной биологии, молекулярной биологии, гистологии, иммунологии, онкологии, которые находятся в рамках квалификации специалиста в данной области. Такие методики описаны в литературе.

См., например, Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T. (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Ausubel, F.M. et al. (1995 and periodic supplements) *Current Protocols in Molecular Biology*, Ch. 9, 13 and 16, John Wiley & Sons; Roe, B., Crabtree, J. and Kahn, A. (1996) *DNA Isolation and Sequencing: Essential Techniques*, John Wiley & Sons; Polak, J.M. and McGee, J.O'D. (1990) *In Situ Hybridization: Principles and Practice*, Oxford University Press; Gait, M.J. (1984)

Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach, IRL Press; и Lilley, D.M. and Dahlberg, J.E. (1992) *Methods in Enzymology: DNA Structures Part A: Synthesis and Physical Analysis of DNA*, Academic Press. Каждый из этих общих текстов включен в настоящий документ посредством отсылки.

Различные предпочтительные признаки и варианты осуществления настоящего изобретения будут описаны далее посредством неограничивающих примеров.

Примеры

Пример 1. Получение функциональных WT1-специфичных цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ) от здоровых доноров (HD).

Для идентификации новых TCR-рецепторов, специфичных к эпитопам WT1, рестриктированным различными аллелями HLA, мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК) десяти разных ЗД стимулировали пулом пентадекапептидов (15-меров) с перекрывающимся участком из 11 аминокислот, охватывающих полную последовательность белка WT1 (см. материалы и методы). Такой дизайн пептидов обеспечивает оптимальную стимуляцию как CD4⁺, так и CD8⁺ Т-клеток.

После 26-30 ч стимуляции обогащали Т-клетки, экспрессирующие CD137. CD137 является молекулой, апрегулируемой при связывании Т-клеточного рецептора, и ранее было показано, что она является надежным маркером для быстрой идентификации, выделения и размножения *in vitro* антигенспецифичных CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток памяти и наивных Т-клеток. Затем из CD137-отрицательной фракции удаляли фракцию CD3, затем облучали при 30 Гр и использовали в качестве антигенпрезентирующих клеток (АПК) для фракции CD137⁺. Сортированные CD137⁺ клетки размножали *in vitro* в течение ~9 дней и повторно стимулировали аутологичными АПК, представленными CD3-элиминированными клетками, или иммортализованными аутологичными В-клетками, нагруженными пулом пептидов, каждые 7-14 дней. Эта процедура привела к обогащению WT1-специфических Т-лимфоцитов, как показывают результаты цитофлуориметрического анализа, представленные на фиг. 1 (а-ж). Функциональное исследование Т-клеток проводили в различные моменты времени. Более конкретно, Т-клетки совместно культивировали с аутологичными АПК, нагруженными пулом пептидов, и после 6 часов совместного культивирования экспрессию CD107a и IFN γ в популяции Т-клеток определяли путем внутриклеточного окрашивания. Экспрессия CD107a после контакта с антигеном указывает на антиген-индуцированную дегрануляцию и литический потенциал.

В качестве отрицательного контроля клетки стимулировали пулом нерелевантных пептидов. Контрольная стимуляция приводила к минимальной секреции IFN γ и CD107a Т-клетками, полученными от каждого здорового донора.

Пример 2. Картирование эпитопов WT1, вызывающих Т-клеточный ответ.

Для идентификации эпитопа WT1, распознаваемого Т-клетками, секрецию IFN γ определяли количественно после 6 часов совместного культивирования *in vitro* WT1-стимулированных/обогащенных Т-клеток с аутологичными АПК, нагруженными субпулами пептидов, каждый из которых содержал до 12 пептидов согласно сетке картирования. Сетка картирования состоит из 24 субпулов, причем каждый пептид содержится исключительно в двух пересекающихся субпулах (Dobrovina, E. et al. Blood 120, 1633-1646 (2012)). Результаты приведены на фиг. 2а.

FACS анализ показал значимую экспрессию IFN γ и CD107a Т-клетками, полученными от HD1, HD3, HD6, HD7, HD10, после стимуляции субпулами 4, 5 и 16 (Фиг. 2b, d, g, h, k). Значимую экспрессию IFN γ наблюдали в случае Т-клеток, полученных от HD2, стимулированных субпулами 6, 16, 17 и 20 (фиг. 2c), тогда как субпулы 4, 5, 6, 14, 18, 21 стимулировали экспрессию IFN γ и CD107a в Т-клетках, полученных от HD4 (фиг. 2e), и субпулы 5, 11, 12, 21, 22 стимулировали экспрессию IFN γ в HD5 (фиг. 2f). Что касается HD7, дополнительно наблюдали повышенную экспрессию IFN γ и CD107a, хотя и на более низком уровне по сравнению с уровнем, наблюдаемым для субпулов 4, 5 и 16, после стимуляции субпулами 7, 8, 20 (фиг. 2h). Кроме того, наблюдали повышенную экспрессию IFN γ и CD107a после стимуляции Т-клеток, полученных от HD8, субпулами 12 и 14 (Фиг. 2i), и Т-клеток, полученных от HD9, субпулами 5, 13, 21 (фиг. 2j).

После этого полученные от HD Т-клетки стимулировали в течение 6 часов АПК, сенсibilизированными одиночными пентадекапептидами, общими для субпулов, вызывающих самый сильный иммунный ответ, и по меньшей мере одним нерелевантным 15-мером. FACS анализ показал повышенную экспрессию CD107a и/или IFN γ для пептидов 40 и 41 в Т-клетках HD1 (Фиг. 3а), пептидов 54, 77, 90 для Т-клеток HD2 (фиг. 3b), пептида VLDFAPPGA (SEQ ID NO: 157; который является номером пептида, представленного в SEQ ID NO: 117) для Т-клеток HD3 (Фиг. 3c), пептидов 17, 18, 99, 100 для HD4 (фиг. 3d, e), пептида 101 для HD5 (фиг. 3f), пептида VLDFAPPGA (SEQ ID NO: 157; который является номером пептида, представленного в SEQ ID NO: 117) для Т-клеток HD6 (фиг. 3g), пептидов 101, 125 и 137 для Т-клеток HD9 (фиг. 3h), пептида VLDFAPPGA (SEQ ID NO: 157; который является номером пептида, представленного в SEQ ID NO: 117) для Т-клеток HD10 (фиг. 3i). Таким образом, идентифицировали доминантные иммуногенные последовательности. Никаких релевантных иммунных ответов (т.е. повышенной экспрессии CD107a и/или IFN γ) после совместного культивирования с нерелевантными контрольными пептидами не наблюдали. Для HD7 и HD8 из-за сниженного качества клеток было невозможно провести эксперименты по культивированию для идентификации иммуногенных пептидов. Тем не менее, можно было бы предсказать распознаваемый пептид путем деконволюции сетки картирования. Идентифицировали перекрывающуюся последовательность пептидов 41 и 42 (полученных из SP4, 5, 16) и перекрывающуюся последовательность пептидов 91 и 92 (полученных из SP7, 8, 20) для HD7 и пептида 24 для HD8.

Для определения HLA-рестрикции иммуногенного пептида WT1, распознаваемого Т-клетками, размноженными от HD4, HD5 и HD10, Т-клетки из них совместно культивировали в течение 6 часов с панелью различных клеток-мишеней EBV-BLCL, каждая из которых экспрессировала разный аллель HLA-A или HLA-B, которые сенсибилизировали соответствующим пептидом (пептидом 17 для HD4; пептидом 101 для HD5; пептидом

VLDFAPPGA (SEQ ID NO: 157)

для HD10) или нерелевантным контрольным пептидом. Результаты этого эксперимента показали, что пептид 17 презентируется аллелем HLA-B*3502 и распознается Т-клетками, полученными от HD4 (фиг. 3j), пептид 101 презентируется аллелем HLA-B*3501 и распознается Т-клетками, полученными от HD5 (фиг. 3k); пептид

VLDFAPPGA (SEQ ID NO: 157)

презентируется аллелем HLA-A*0201 и распознается Т-клетками, полученными от HD10 (фиг. 3l).

Последовательности пептидов WT1, распознаваемых WT1-специфичными Т-клетками, размноженными от HD1-HD10, показаны в табл. 3 ниже.

Таблица 3

Донор связывающего TCR	Пептид	Последовательность	SEQ ID NO
HD1/HD3/HD6/HD7/HD10	40	AAQWAPVLDFAPPG A	SEQ ID NO: 115
	41	APVLDFAPPGASAYG	SEQ ID NO: 116
	Перекрывающаяся последовательность ("11-мер" на Фигуре 3с)	APVLDFAPPGA	SEQ ID NO: 117
HD2	54	QCLSAFTVHFSGQFT	SEQ ID NO: 118
	77	EDPMGQQGSLGEQQ Y	SEQ ID NO: 119
	90	SQLECMTWNQMNL GA	SEQ ID NO: 120
HD4	17	TCVPEPASQHTLRSG	SEQ ID NO: 121
	18	EPASQHTLRSGPGCL	SEQ ID NO: 122
	Перекрывающаяся последовательность	EPASQHTLRSG	SEQ ID NO: 123
	99	HSTGYESDNHTTPIL	SEQ ID NO: 124
	100	YESDNHTTPILCGAQ	SEQ ID NO: 125
	Перекрывающаяся последовательность	YESDNHTTPIL	SEQ ID NO: 126
HD5	101	NHTTPILCGAQYRIH	SEQ ID NO: 127
HD7	91	CMTWNQMNLGATL KG	SEQ ID NO: 248
	92	NQMNLGATLKGVA G	SEQ ID NO: 249
	Перекрывающаяся последовательность	NQMNLGATLKG	SEQ ID NO: 250
HD8	24	DPGGIWAKLGAAEA S	SEQ ID NO: 251
HD9	101	NHTTPILCGAQYRIH	SEQ ID NO: 252
	125	KRHQRRHTGVKPFQ C	SEQ ID NO: 253
	137	PSCQKKFARSDELVR	SEQ ID NO: 254

Пример 3. WT1-специфичные Т-клетки селективно элиминируют клетки, экспрессирующие WT1

Для определения HLA рестрикции WT1-специфичных Т-клеток и их способности элиминировать WT1-экспрессирующие клетки, Т-клетки совместно культивировали с различными клетками-мишенями.

Т-клетки, полученные от HD1.

Зная, что HD1 несет аллель HLA-A*0201, обогащенные WT1-специфичные Т-клетки культивировали совместно с различными клетками-мишенями: клетками Т2, сенсibilизированными пулом перекрывающихся пептидов, содержащим пептиды 40 и 41 (см. табл. 3); клетками Т2, сенсibilизированными пулом MelanA/MART1 в качестве отрицательного контроля (пулом Т2 MelanA/MART1); или клетками K562, генетически модифицированными для экспрессии аллеля HLA-A*0201 и оверэкспрессией белка WT1 (K562 HLA-A*0201 WT1).

После 6 часов совместного культивирования экспрессию CD107a определяли с помощью FACS. Результаты для HD1 указывают на экспрессию CD107a в >60% CD8⁺ Т-клеток после совместного культивирования с клетками Т2, сенсibilизированными пулом WT1 (фиг. 4a). Аналогичным образом, совместное культивирование WT1-специфичных Т-клеток с генетически модифицированными клетками K562 (экспрессирующими аллель HLA-A*0201 и белок WT1) привело к экспрессии CD107a >60% CD8⁺ Т-клетками (фиг. 4a).

С другой стороны, экспрессия CD107a CD8⁺ Т-клетками, совместно культивируемыми с клетками Т2, сенсibilизированными пулом отрицательного контроля MelanA/MART1, была минимальной (фиг. 4a).

Эти результаты демонстрируют, что выделенные Т-клетки, полученные от HD1, специфично распознают пептид WT1, включающий последовательность

APVLDFAAPPGA (SEQ ID NO: 117),

когда он презентируется молекулами МНС, кодируемыми аллелем HLA-A*0201. Кроме того, результаты показывают, что полученные от HD1 Т-клетки способны специфично взаимодействовать с клетками-мишенями, повышенно экспрессирующими белок WT1. Таким образом, эти экспериментальные данные демонстрируют, что TCR-рецепторы, экспрессируемые полученными от HD1 Т-клетками, специфично связываются с пептидами, включающими аминокислотную последовательность

APVLDFAAPPGA (SEQ ID NO: 117),

и что такие TCR-рецепторы HLA-A*0201-рестриктированы.

Т-клетки, полученные от HD3.

Зная, что HD3 несет аллель HLA-A*0201, обогащенные WT1-специфичные Т-клетки культивировали совместно с различными клетками-мишенями: клетками Т2, сенсibilизированными субпулом 16, который, как было ранее определено, содержал иммуногенный пептид, вызывающий иммунный ответ (Т2-SP16); клетками Т2, сенсibilизированными пулом MelanA/MART1 в качестве отрицательного контроля (Т2-Melan A); клетками K562 дикого типа (K562) в качестве отрицательного контроля; или клетками K562, генетически модифицированными для экспрессии аллеля HLA-A*0201 и оверэкспрессии белка WT1 (K562 A2+WT1 +).

После 4 дней совместного культивирования способность полученных от HD3 Т-клеток убивать клетки-мишени выражали в виде индекса элиминации, вычисленного как общее количество клеток-мишеней, оставшихся после совместного культивирования с WT1-специфичными Т-клетками, деленное на общее количество отдельных клеток-мишеней.

Результаты демонстрируют способность WT1-специфичных Т-лимфоцитов элиминировать клетки-мишени, экспрессирующие идентифицированный WT1-специфичный эпитоп (Фиг. 4b). В частности, Т-клетки, полученные от HD3, элиминировали приблизительно 95% клеток Т2, сенсibilизированных пептидами WT1, включающими аминокислотную последовательность

APVLDFAAPPGA (SEQ ID NO: 117)

(субпул 16; SP16). Кроме того, полученные от HD3 Т-клетки элиминировали приблизительно 78% клеток K562, экспрессирующих молекулы МНС, кодируемые аллелем HLA-A*0201, и повышенно экспрессирующих белок WT1. С другой стороны, ни одна из сенсibilизированных пулом отрицательного контроля MelanA/MART1 клеток Т2 не была элиминирована полученными от HD3 Т-клетками. Аналогичным образом, было отмечено минимальная элиминация контрольных клеток дикого типа K562 (фиг. 4b).

Эти результаты демонстрируют, что выделенные Т-клетки, полученные от HD3, специфично распознают пептид WT1, включающий аминокислотную последовательность

APVLDFAAPPGA (SEQ ID NO: 117).

Кроме того, результаты показывают, что полученные от HD3 Т-клетки способны специфично взаимодействовать и убивать клетки, повышенно экспрессирующие белок WT1 посредством презентации пептида кодируемым HLA-A*0201 МНС. Таким образом, эти экспериментальные данные демонстрируют специфичность к пептиду WT1 TCR-рецепторов, экспрессируемых полученными от HD3 Т-клетками, и что полученные от HD3 TCR-рецепторы являются HLA-A*0201-рестриктированными.

Т-клетки, полученные от HD4.

Способность полученных от HD4 Т-клеток элиминировать клетки-мишени оценивали при совместном культивировании Т-клеток с первичными лейкозными бластами (CD33⁺ клетками), выделенными у пациента с острым миелодным лейкозом (ОМЛ), который был отобран по высокой экспрессии антигена WT1 и HLA-типированию (HLA-B*3502). В качестве отрицательного контроля Т-клетки, полученные от HD4, совместно культивировали с лейкозными бластами пациента с ОМЛ, у которого не экспрессировался аллель HLA-B*3502.

После трех дней совместного культивирования при соотношении эффектора:мишени 10 к 1, FACS анализ показал почти полный клиренс лейкозных бластов (CD33⁺), полученных у пациента с ОМЛ, экспрессирующего аллель HLA-B*3502, после совместно культивирования с WT1-специфичными Т-клетками HD4 (CD3⁺ клетками) (фиг. 4с, верхняя панель). Фактически только 0,54% оставшейся полной популяции клеток были положительными на экспрессию CD33.

С другой стороны, не наблюдали клиренса CD33⁺ клеток после совместного культивирования WT1-специфичных Т-клеток с нерелевантными контрольными ОМЛ бластами (Фиг. 4с, нижняя панель). Фактически в контрольном образце 7,9% полной популяции клеток были положительными на экспрессию CD33 после совместного культивирования с полученными от HD4 WT1-специфичными Т-клетками.

Важно отметить, что эти результаты демонстрируют способность WT1-специфичных Т-клеток, полученных от HD4, специфично воздействовать и убивать лейкозные бласты (раковые клетки ОМЛ) с оверэкспрессией WT1 и кодируемый HLA-B*3502 МНС. Таким образом, TCR-рецепторы, полученные от HD4, способны специфично воздействовать и HLA-B*3502-рестриктированно убивать раковые клетки.

Пример 4. Иммунопрофилирование последовательностей V β для WT1-специфичных Т-клеток.

Для лучшей идентификации TCR-рецепторов, участвующих в антигенном распознавании WT1-специфичными Т-клетками от HD1-6 и 10 (для HD7, HD8 и HD9 анализ V β иммунопрофилирования было невозможно выполнить из-за сниженного качества клеток) сначала проводили мультипараметрический FACS анализ с целью количественного определения репертуар TCR V β . Таким образом, с целью определения клональности размножившихся WT1-специфичных Т-клеток использовали набор 10 Test Beta Mark TCR V beta для определения V-бета репертуара согласно рекомендациям производителя. Этот набор позволяет обнаруживать экспрессию 24 различных V-бета генов в восьми отдельных пробирках. В частности, данный метод гарантирует охват 75% полного репертуара V-бета. Результаты FACS окрашивания показали преобладание специфических V β для HD1, HD2, HD3, HD5, см. фиг. 5. Для HD4, HD6 и HD10 полное определение преобладающих V β было невозможным, вероятно из-за внутреннего ограничения набора, который включает антитела, охватывающие 75% существующих белков V β .

Пример 5. Высокопроизводительное секвенирование TCR α - и β -цепей, выделенных из WT1-специфичных Т-клеток.

WT1-специфичные Т-клетки собирали в различные моменты времени в течение периода совместного культивирования и выделяли их РНК при использовании набора Arcturus Pico Pure для выделения РНК. Последовательности CDR3 WT1-специфичных Т-клеток амплифицировали при использовании модифицированного метода RACE, в который включали магнитный захват после синтеза кДНК для повышения специфичности реакции и удаления нежелательных матриц (Ruggiero et al. Nat. Commun. 6, 8081 (2015)). Образцы секвенировали при помощи секвенатора Illumina MiSeq и определяли клонотипы CDR3 при использовании программы MiXTCR (Bolotin, DA et al. Nature Methods 12, 380-381 (2015)). Кроме того, также определяли CDR1, CDR2 и CDR3 при использовании средства IMGT V-quest (Brochet, X. et al., Nucl. Acids Res. 36, W503-508 (2008). PMID: 18503082; Giudicelli, V., Brochet, X., Lefranc, M.-P., Cold Spring Harb Protoc. 2011 Jun 1; 2011(6). pii: pdb.prot5633. doi: 10.1101/pdb.prot5633. PMID: 21632778. Также см. реферат в буклете IMGT с подробным представлением из протокола Cold Spring Harbor (CSH)).

Результаты секвенирования продемонстрировали растущее в динамике преобладание специфического CDR3 клонотипа в популяции WT1-специфичных Т-клеток для обеих цепей TCR у HD1-10. Преобладающие генотипы α и β -цепей и последовательности CDR3 представлены на фиг. 6.

Кроме того, определяли полноразмерные аминокислотные последовательности α и β -цепи TCR-рецепторов, полученных от HD1-10, см. табл. 1. Также определяли соответствующие нуклеотидные последовательности, см. табл. 2.

Пример 6. Функциональная проверка недавно идентифицированных TCR-рецепторов.

α и β последовательности TCR-рецепторов, выделенных у HD1 и HD3 и распознающих пептид WT1

VLDFAPPGA (SEQ ID NO: 157),

презентированный аллелем HLA-A*0201, клонировали в лентивирусный вектор под контролем двунаправленного промотора для получения стабильной и скоординированной экспрессии обеих цепей TCR в трансдуцированных лимфоцитах. Т-клетки здорового донора трансдуцировали вирусным вектором, кодирующим TCR HD1 или TCR HD3. В качестве контроля клетки также трансдуцировали WT1 126-134 TCR. Трансдуцированные Т-клетки функционально проверяли при совместном культивировании с различными клетками-мишенями, представленными клетками T2, сенсibilизированными одним из 2 распознаваемых пептидов

(VLDFAPPGA (SEQ ID NO: 157)

для TCR HD1 и HD3;

RMFPNAPYL (SEQ ID NO: 255)

для WT1 126-134 TCR) (фиг. 7а), клетками K562 дикого типа или генетически модифицированными для экспрессии аллеля HLA-A*0201 (фиг. 7б), первичными бластами ОМЛ, полученными у 3 пациентов с ОМЛ и отобранными по экспрессии аллеля HLA-A*0201 и экспрессии WT1 (фиг. 7с). После 3 дней со-

вместного культивирования наблюдали способность каждой популяции трансдуцированных Т-клеток специфично распознавать пептид-мишень, презентированный аллелем HLA-A*0201 (фиг. 7а), и более высокий потенциал Т-клеток HD1 при опосредовании почти полной элиминации генетически модифицированных клеток K562. Более высокая способность TCR HD1 распознавать антиген-мишень также подтверждали результатами совместно культивирования с Pam1 кластерами. В данном случае наблюдали более полную элиминацию обоих кластеров rAML, несущих аллель HLA-A*0201, при совместном культивировании с Т-клетками TR HD1 по сравнению с условиями, при которых HD3 TR и WT1 126-134 TR Т-лимфоциты использовали в качестве эффекторных клеток.

Материалы и методы

Последовательность белка WT1, ранее опубликованную Гесслером с соавт. (Gessler, M. et al. (1990) Nature 343: 774-778), использовали для получения пептидов, используемых для стимуляции и выделения WT1-специфичных Т-клеток. Эта последовательность содержит 575 аминокислот и включает на N-конце первые 126 аминокислот, отсутствующие в изоформе WT1 (экзон 5+, KTS+). Создавали 141 пентадекапептид, охватывающий полную последовательность белка WT1, каждый из которых перекрывается с 11 аминокислотами следующей пептида.

Пептиды синтезировали с помощью PRIMM согласно спецификациям подтвержденной последовательности, с 70% чистотой, стерильностью и отсутствием эндотоксина. Эти пептиды смешивали в равных количествах в пул WT1 при концентрации 1 мкг/мл каждого пептида. Кроме того, получали 24 субпула, каждый из которых содержал до 12 пептидов (4,17 мкг/мл каждого пептида) согласно определенной матрице картирования, чтобы каждый пептид был включен только в два перекрывающихся субпула, как показано в табл. 4 (см. стратегию с использованием сетки картирования в публикации Doubrovina, E. et al. Blood 120, 1633-1646 (2012)).

Таблица 4

	SP1	SP2	SP3	SP4	SP5	SP6	SP7	SP8	SP9	SP10	SP11	SP12
SP13	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
SP14	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
SP15	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
SP16	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
SP17	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
SP18	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72
SP19	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84
SP20	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96
SP21	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108
SP22	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
SP23	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132
SP24	133	134	135	136	137	138	139	140	141			

Выделение мононуклеарных клеток периферической крови.

Периферическую кровь забирали у десяти здоровых доноров в клинике Сан-Раффаэле при получении информированного согласия. Мононуклеарные клетки периферической крови выделяли с помощью центрифугирования в градиенте плотности фиколл-гипака.

Иммортализованные В клетки.

Аутологичные В-клетки выделяли из МКПК здоровых доноров при использовании микросфер CD19 (Miltenyi Biotech). Клетки трансдуцировали лентивирусным вектором, несущим трансген BCL-6/BCL-XL (Kwakkenbos, M. J. et al. Nat. Med.16, 123 (2009)) и псевдотип H/F (Levy, C. et al. Molecular Therapy20 9, 1699-1712, (2012)), и культивировали в IMDM с добавкой 10% эмбриональной бычьей сыворотки (FBS), пенициллин-стрептомицина и 10 нг/мл IL21 (Miltenyi Biotech). В-клетки повторно стимулировали каждые 5 дней при совместном культивировании с облученными (50 Гр) мышинными L-фибробластами, экспрессирующими CD40L (3T3-CD40L), при соотношении В-клетки:3T3-CD40L 10:1.

Клеточные линии.

Клеточные линии T2 и K562 культивировали в 1640 RPMI (GIB CO-БАРРЕЛЬ) с добавкой пенициллина, стрептомицина, глутамина и 10% FBS (BioWhittaker).

Лейкозные клетки.

Первичные клетки ОМЛ были получены из биобанка лейкоза клиники Сан-Раффаэле (OSR) и отобраны по экспрессии WT1 с помощью количественной PCR и HLA типированию. Все EBV-BLCL и первичные лейкозные клетки типировали по аллелям HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR и HLA-DQ в высоком разрешении в HLA лаборатории OSR.

Проточная цитометрия.

Использовали конъюгированные с ФИТЦ, ФЭ, PerCP, АФЦ, ФЭ-CyChrome 7, АФЦ-CyChrome 7-Pacific Blue и Brilliant Violet антитела к CD3, CD4, CD8, CD107a, IFN γ , TNF α , CD33, CD117, CD34, CD14, V β 21.3, V β 8, V β 7.2 и HLA-A2 человека. Флуоресцентно меченный АФЦ WT1

VLDFAPPGA (SEQ ID NO: 157)

и флуоресцентно меченный ФЭ WT1

RMFPNAPYL (SEQ ID NO: 255)

декстрамеры использовали согласно инструкциям производителя. Клетки инкубировали с антите-

лами в течение 15 минут при 4°C и промывали фосфатно-солевым буферным раствором, содержащим 1% FBS. Образцы вводили в проточный цитофлуориметр для сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS) Canto II (BD Biosciences) и анализировали полученные данные с помощью программы Flow Jo (Tree star Inc). Для внутриклеточной оценки секреции цитокинов и экспрессии маркеров дегрануляции использовали набор Fix/Perm buffer set (Biolegend) согласно инструкциям производителя.

Стимуляция, выделение и размножение WT1-специфичных Т-клеток

Свежие выделенные МКПК ресуспендировали в X-VIVO с добавкой 5% АВ человеческой сыворотки, 2 мМ глутамин и 1 мкг/мл моноклонального антитела к CD28, сеяли при плотности 10^7 клеток/мл и стимулировали пулом перекрывающихся пептидов WT1, каждый пептид присутствовал в концентрации 1 мкг/мл.

Антигенспецифичные Т-клетки выделяли через 26-30 ч по экспрессии CD137. В частности, клетки окрашивали ФЭ-конъюгированным антителом к CD137 и сортировали с использованием микросфер против ФЭ (Miltenyi Biotech). Из фракции CD137⁺ клеток CD3⁺ клетки элиминировали при использовании CD3-микросфер (Miltenyi Biotech), облучали при 30 Гр и использовали в качестве нагруженных пептидами АПК при сокультуре с CD137⁺ фракцией в соотношении 100:1 по возможности, или по меньшей мере 20:1, и конечной плотности 5×10^5 клеток/мл. В качестве среды использовали X-VIVO с добавкой 5% АВ человеческой сыворотки, 5 нг/мл IL7, 5 нг/мл IL15 и 10 нг/мл IL21. Среда, содержащие цитокины, меняли каждые 2-3 дня.

Повторная стимуляция размноженных антигенспецифичных Т-клеток.

Клетки повторно стимулировали каждые 7-14 дней WT1-сенсibilizированными аутологичными АПК (МКПК без CD3-клеток; иммортализованные В-клетки). При первых рестимуляциях клетки промывали, и через 2 дня сеяли в среду без цитокинов. АПК облучали при 30 Гр, сенсibilizировали пулом пептидов в течение ночи и совместно культивировали с эффекторными клетками в X-VIVO с добавкой 5% АВ человеческой сывороткой, 1 мкг/мл моноклонального антитела к CD28 и IL7 (5 нг/мл), IL15 (5 нг/мл), IL21 (10 нг/мл).

Оценка Т-клеточного ответа.

Процент Т-клеток, отвечающих на пул пептидов WT1, измеряли путем 6-часового совместного культивирования эффекторных клеток с аутологичными АПК (при соотношении по меньшей мере 1:1), сенсibilizированными нужным антигеном (пул пептидов WT1, субпулы WT1, отдельные пептиды WT1, нерелевантный пул пептидов в качестве контроля). Сокультуры сеяли в X-VIVO с добавкой 5% АВ человеческой сыворотки и моноклонального антитела к CD28 (1 мкг/мл), Golgi Stop (BD) и ФИТЦ-антитела к CD107a для оценки дегрануляции. Затем клетки фиксировали, пермеабилizировали и окрашивали внутриклеточно для определения процента CD3⁺CD8⁺ или CD3⁺CD4⁺ клеток, экспрессирующих IFN γ и CD 107a.

Картирование иммуногенных пептидов.

Т-клетки, стимулированные пулом WT1, сеяли в разные лунки и совместно культивировали с аутологичными АПК, нагруженными одним из каждого субпула WT1 в соотношении по меньшей мере 1:1. Т-клеточные ответы против каждого субпула измеряли, как описано ранее, с помощью FACS анализа. Деконволюция сетки картирования была крайне важна для определения, какие из общих пептидов вызывали Т-клеточный ответ. После определения иммуногенных пептидов, Т-клетки дополнительно стимулировали АПК, нагруженными отдельными пептидами, чтобы подтвердить их иммуногенность.

Оценка способности Т-клеток распознавать WT1-экспрессирующие клетки.

WT1-специфичность и HLA-рестриктированную способность Т-клеток распознавать клетки-мишени измеряли с помощью различных экспериментальных процедур. Для Т-клеток, полученных от HD1, секрецию CD107a определяли с помощью FACS анализа после 6 часов совместного культивирования с клетками-мишенями; для Т-клеток, полученных от HD3, вычисляли индекс элиминации как общее количество клеток-мишеней, оставшихся после 4 дней совместного культивирования с WT1-специфичными Т-клетками, деленное на общее количество отдельных клеток-мишеней; для Т-клеток, полученных от HD4, процент CD33⁺ клеток-мишеней (первичные клетки ОМЛ, несущие представляющие интерес аллели HLA, и, в качестве контроля, первичные клетки ОМЛ, не несущие специфический аллель HLA), оставшихся после 3 дней совместного культивирования с CD3⁺ WT1-специфичными Т-клетками, оценивали с помощью цитофлуориметрического анализа.

Оценка клональности Т-клеток.

Для определения клональности размноженных WT1-специфичных Т-клеток использовали набор IO Test Beta Mark TCR V beta repertoire согласно рекомендациям производителя.

Секвенирование репертуара TCR.

WT1-специфичные Т-клетки собирали в различные точки времени в течение периода совместного культивирования и выделяли РНК с помощью набора для выделения РНК Arcturus PicoPure. Последовательности определяющей комплементарности области (CDR) 3 WT1-специфичных Т-клеток амплифицировали с помощью модифицированного метода RACE (Ruggiero, E. et al. Nat. Commun. 6,8081 (2015)). Образцы секвенировали при использовании секвенатора IlluminaMiSeq и определяли клонотипы CDR3 при использовании программы MiXCR (Bolotin, DA et al. Nature Methods 12, 380-381 (2015)).

Лентивирусные векторы.

Гены α - и β -цепи TCR, выделенные от HD1 и HD3, оптимизировали по кодонам, модифицировали остатками цистеина и клонировали в лентивирусный вектор (LV) под контролем двунаправленного промотора. Аминокислотные (ак) и нуклеотидные (нт) последовательности являлись следующими:

		SEQ ID NO:
HD1 α -цепь – нт посл-ть	ATGGAAACCCTGCTGAAGGTGCTGAGCGGCACACTGCTGTGGC AGCTGACATGGGTCCGATCTCAGCAGCCTGTGCAGTCTCCTCA GGCCGTGATTCTGAGAGAAGGCGAGGACGCCGTGATCAACTG CAGCAGCTCTAAGGCCCTGTACAGCGTGCCTGGTACAGACAG AAGCACGGCGAGGCCCTGTGTTCCTGATGATCCTGCTGAAAG GCGGCGAGCAGAAGGGCCACGAGAAGATCAGCGCCAGCTTCA ACGAGAAGAAGCAGCAGTCCAGCCTGTACCTGACAGCCAGCC AGCTGAGCTACAGCGGCACCTACTTTTGTGGCACCGCCTGGAT CAACGACTACAAGCTGTCTTTTCGGAGCCGGCACACAGTGACA GTGCGGGCCAATATTCAGAACCCCGATCCTGCCGTGTACCAGC TGAGAGACAGCAAGAGCAGCGACAAGAGCGTGTGCCTGTTCA CCGACTTCGACAGCCAGACCAACGTGTCCCAGAGCAAGGACA GCGACGTGTACATCACCGATAAGTGCGTGCTGGACATGCGGAG CATGGACTTCAAGAGCAACAGCGCCGTGGCCTGGTCCAACA GAGCGATTTTCGCTGCGCCAACGCCTTCAACAACAGCATTATC CCCGAGGACACATTCTTCCCAAGTCCTGAGAGCAGCTGCGACG TGAAGCTGGTGGAAAAGAGCTTCGAGACAGACACCAACCTGA ACTTCCAGAACCTGAGCGTGATCGGCTTCAGAATCCTGCTGCT CAAGGTGGCCGGCTTCAACCTGCTGATGACCCTGAGACTGTGG TCCAGC	256
HD1 α -цепь – ак посл-ть	METLLKVLSTLLWQLTWVRSQQPVQSPQAVILREGEDAVINCSS SKALYSVHWYRQKHGEAPVFLMILLKGGEQKGHEKISASFNEKK QQSSLYLTASQLSYSGTYFCGTAWINDYKLSFGAGTTVTVRANIQ NPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDVYITDKC VLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPSS CDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLW	257

	SS	
HD1 β-цепь – нт посл-ть	ATGGGATCTTGGACACTGTGTTGCGTGTCCCTGTGCATCCTGGT GGCCAAGCACACAGATGCCGGCGTGATCCAGTCTCCTAGACAC GAAGTGACCGAGATGGGCCAAGAAGTGACCCGCGCTGCAAG CCTATCAGCGGCCACGATTACCTGTTCTGGTACAGACAGACCA TGATGAGAGGCCTGGAAGTGTGATCTACTTCAACAACAACGT GCCCATCGACGACAGCGGCATGCCCGAGGATAGATTCAGCGC CAAGATGCCCAACGCCAGCTTCAGCACCCCTGAAGATCCAGCCT AGCGAGCCCAGAGATAGCGCCGTGACTTCTGCGCCAGCAGA AAGACAGGCGGCTACAGCAATCAGCCCCAGCACTTTGGAGAT GGCACCCGGCTGAGCATCCTGGAAGATCTGAAGAACGTGTTCC CACCTGAGGTGGCCGTGTTGAGCCCTTCTGAGGCCGAGATCAG CCACACACAGAAAGCCACACTCGTGTGTCTGGCCACCGGCTTC TATCCCGATCACGTGGAAGTGTCTTGGTGGGTCAACGGCAAAG AGGTGCACAGCGGCGTCTGTACCGATCCTCAGCCTCTGAAAGA GCAGCCCGCTCTGAACGACAGCAGATACTGCCTGAGCAGCAG ACTGAGAGTGTCCGCCACCTTCTGGCAGAACCCAGAAACCAC TTCAGATGCCAGGTGCAGTTCTACGGCCTGAGCGAGAACGATG AGTGGACCCAGGATAGAGCCAAGCCTGTGACACAGATCGTGT CTGCCGAAGCCTGGGGCAGAGCCGATTGTGGCTTTACCAGCGA GAGCTACCAGCAGGGCGTGTGTCTGCCACAATCCTGTACGAG ATCCTGCTGGGCAAAGCCACTCTGTACGCCGTGCTGGTGTCTG CCCTGGTGTGATGGCCATGGTCAAGCGGAAGGATAGCAGGG GC	258
HD1 β-цепь – ак посл-ть	MGSWTLCCVSLCILVAKHTDAGVIQSPRHEVTEMGQEVTLRCKPI SGHDYLFWYRQTMMRGLELLIYFNNNVPIDDSGMPEDRFSKMP NASFSTLKIQPSEPRDSAVYFCASRKTGGYSNQPQHFQDGTLSIL EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELSW WVNGKEVHSGVCTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQN PRNHFRCCVQFYGLSENDEWTQDRAKPVQIVSAEAWGRADCG FTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDS RG	259
HD3 α-цепь – нт посл-ть	ATGATCAGCCTGAGAGTGTGCTGCTGGTCACTCCTGTGGCTGCAGC TGTCTTGGGTCTGGTCCCAGCGAAAGAGGTGGAACAGGACCC CGGACCTTTCAATGTGCCCTGAAGGCGCCACCGTGGCCTTCAAC TGCACCTACAGCAATAGCGCCAGCCAGAGCTTCTTCTGGTACA GACAGGACTGCCGAAAGAACCCAAGCTGCTGATGAGCGTGT ACAGCAGCGGCAACGAGGACGGCAGATTACAGCCCAGCTGA ACAGAGCCAGCCAGTACATCAGCCTGCTGATCCGGGATAGCA AGCTGAGCGATAGCGCCACCTACCTGTGCGTGGTCAACCTGCT GTCTAATCAAGGCGGCAAGCTGATCTTCGGCCAGGGCACAGA GCTGAGCGTGAAGCCCAACATTCAGAACCCCGATCCTGCCGTG TACCAGCTGAGAGACAGCAAGAGCAGCGACAAGAGCGTGTGC CTGTTACCCGACTTCGACAGCCAGACCAACGTGTCCCAGAGCA AGGACAGCGACGTGTACATCACCATAAGTGCCTGCTGGACAT CGGAGCATGGACTTCAAGAGCAACAGCGCCGTTGGCCTGGTC CAACAAGAGCGATTTCGCTGCGCCAACGCCTTCAACAACAGC	260

	ATTATCCCCGAGGACACATTCTTCCCAAGTCCTGAGAGCAGCT GCGACGTGAAGCTGGTGGAAAAGAGCTTCGAGACAGACACCA ACCTGAACCTCCAGAACCTGTCCGTGATCGGCTTCCGGATCCT GCTGCTGAAAGTGGCCGGCTTCAACCTCCTGATGACCCTGAGA CTGTGGTCCAGC	
HD3 α-цепь – ак посл-ть	MISLRVLLVILWLQLSWVWSQRKEVEQDPGPFNVPEGATVAFNC TYSNSASQSFFWYRQDCRKEPKLLMSVYSSGNEDGRFTAQLNRA SQYISLLIRDSKLSDSATYLCVVNLLSNQGGKLIFGQGTLSVKPNI QNPDPVAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQKSDVYITDK CVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPE SSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMLRL WSS	261
HD3 β-цепь – нт посл-ть	ATGGGATGTAGACTTCTGTGTTGCGCCGTGCTGTGTCTGCTTGG AGCTGGCGAACTGGTGCCTATGGAAACCGGCGTGACCCAGAC ACCTAGACACCTGGTCATGGGCATGACAAACAAGAAAAGCCT GAAGTGCAGAGCAGCACCTGGGCCACAATGCCATGTACTGGTAC AAGCAGAGCGCCAAGAAACCCCTGGAAGTGTGTTCTGTTGAC AGCCTGGAAGAGAGGGTTCGAGAACAACAGCGTGCCAGCAGA TTCAGCCCTGAGTGCCTAATAGCAGCCACCTGTTTCTGCATCT GCACACCCTGCAGCCTGAGGACTCTGCCCTGTATCTGTGTGCC AGCAGCCAGGACTACCTGGTGTCCAACGAGAAGCTGTTCTTCG GCAGCGGCACACAGCTGAGCGTGTGGAAAGATCTGAAGAACG TGTCCACCTGAGGTGGCCGTGTTGAGCCTTCTGAGGCCGA GATCAGCCACACACAGAAAGCCACACTCGTGTGTCTGGCCACC GGCTTCTATCCCGATCACGTGGAAGTGTCTTGGTGGGTCAACG GCAAAGAGGTGCACAGCGGCGTCTGTACCGATCCTCAGCCTCT GAAAGAGCAGCCGCTCTGAACGACAGCAGATACTGCCTGAG CAGCAGACTGAGAGTGTCCGCCACCTTCTGGCAGAACCCGAGA AACCACTTCAGATGCCAGGTGCAGTTCTACGGCCTGAGCGAGA ACGATGAGTGGACCCAGGATAGAGCCAAGCCTGTGACACAGA TCGTGTCTGCCGAAGCCTGGGGCAGAGCCGATTGTGGCTTTAC CAGCGAGAGCTACCAGCAGGGCGTGTCTGCCACAATCCTG TACGAGATCCTGCTGGGAAAAGCCACTCTGTACGCTGTGCTGG TGTCGCTCTGGTGTGATGGCCATGGTCAAGCGGAAGGATAG CAGGGGC	262
HD3 β-цепь – ак посл-ть	MGCRLCCAVLCLLGGELVPMETGVTQTPRHLVMGMTNKKSL KCEQHLGHNAMEYWKQSAKKPLELMFVYSLEERVENNSVPSRF SPECPNSSHFLHLHTLQPEDSALYLCASSQDYLVSNKLFSGGT QLSVLEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDH VELSWWVNGKEVHSGVCTDPQLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSA TFWQNPRNHFRQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWG RADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSAVLMMAM VKRKDSRG	263

LV векторы упаковывали при использовании интеграз-компетентной конструкции третьего поколения и псевдотипировали с помощью оболочки вируса везикулярного стоматита (VSV). В качестве контроля включали LV, кодирующий WT1 126-134 TCR, распознающий пептид

RMFPNAPYL (SEQ ID NO: 255).

Векторные трансдукции.

Для трансдукции WT1-TCR лентивирусным вектором Т-клетки, выделенные у здорового лица, активировали и сортировали с использованием магнитных сфер, конъюгированных с антителами к CD3 и CD28 (ClinExVivo CD3/CD28; Invitrogen), согласно инструкциям производителя и культивировали в среде Дульбекко в модификации Искова (IMDM) (GIBCO-BRL) с добавкой пенициллина, стрептомицина, 10% FBS и по 5 нг/мл IL-7 и IL-15 (PeproTech). Для трансдукции Т-клетки сеяли при плотности $2,5 \times 10^6$ клеток/мл и заражали LV в течение 24 ч. Затем Т-клетки культивировали при плотности 10^6 клеток/мл и размножали. Эффективность трансдукции определяли путем измерения процента CD3 Т-клеток, экспрессирующих определенные декстримеры. Клетки сортировали при использовании флуоресцентно меченного АФЦ или ФЭ HLA-A*0201 декстримера, специфичного к пептиду

VLDFAPPGA (SEQ ID NO: 157) или

RMFPNAPYL (SEQ ID NO: 255) (Immudex)

при использовании микросфер против АФЦ или против ФЭ (Miltenyi Biotec) согласно инструкциям производителя.

Функциональные тесты.

Способность Т-клеток после переноса TCR HD1, HD3 и WT1 126-134 распознавать WT1-экспрессирующие клетки-мишени измеряли при совместном культивировании с: (а) клетками Т2, сенсibilизированными пептидом WT1 126-134 или пептидом

VLDFAPPGA (SEQ ID NO: 157)

(соотношение эффектор:мишень=1:1); (b) клетками K562 дикого типа (K562) или генетически модифицированными для экспрессии аллеля HLA-A*0201 (соотношение эффектор:мишень=1:1); (с) 3 разными первичными бластами ОМЛ, отобранными по экспрессии аллеля HLA-A*0201 и антигена WT1 (соотношение эффектор:мишень=5:1). Для совместного культивирования с клеточными линиями Т2 и K562 в качестве контроля включали нетрансдуцированные Т-клетки. После 3 дней культивирования процент клеток-мишеней оценивали с помощью цитофлуориметрического анализа. Индекс элиминации вычисляли следующим образом: 1-(общее количество клеток-мишеней, оставшихся после 3 дней совместного культивирования с WT1-специфичными Т-клетками/общее количество отдельных клеток-мишеней).

Все публикации, указанные в представленном выше описании, включены в него посредством отсылки. Различные модификации и вариации описанного настоящего изобретения будут очевидны для специалистов в данной области техники без отступления от объема и сущности настоящего изобретения. Хотя настоящее изобретение было описано в отношении конкретных предпочтительных вариантов осуществления, следует понимать, что заявленное изобретение не должно быть ненадлежащим образом ограничено такими конкретными вариантами осуществления. Фактически различные модификации описанных способов осуществления изобретения, которые очевидны для специалистов в области клеточной биологии, иммунологии, иммунотерапии, молекулярной биологии, онкологии или в смежных областях, предназначены для включения в объем следующей формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Т-клеточный рецептор (TCR), который связывается с пептидом белка опухоли Вильмса 1 (WT1), когда он презентируется главным комплексом гистосовместимости (МНС), где TCR содержит следующие CDR-последовательности:

CDR1 α - KALYS (SEQ ID NO: 1),

CDR2 α - LLKGGEQ (SEQ ID NO: 2),

CDR3 α - CGTAWINDYKLSF (SEQ ID NO: 3),

CDR1 β - SGHDY (SEQ ID NO: 6),

CDR2 β - FNNNVP (SEQ ID NO: 7), и

CDR3 β - CASRKTGGYSNQPQHF (SEQ ID NO: 8).

2. TCR по п.1, содержащий переменный домен α -цепи, включающий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 или ее вариант, обладающий по меньшей мере 75% идентичностью последовательности с ней; и переменный домен β -цепи, включающий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 или ее вариант, обладающий по меньшей мере 75% идентичностью последовательности с ней.

3. TCR по п.1 или 2, содержащий α -цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5 или ее вариант, обладающий по меньшей мере 75% идентичностью последовательности с ней; и β -цепь, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 и вариантов SEQ ID NO: 10 и 11, обладающих по меньшей мере 75% идентичностью последовательности с ними.

4. TCR по любому из предыдущих пунктов, который связывается с пептидным комплексом МНС I.

5. TCR по любому из предыдущих пунктов, который рестриктирован аллелем лейкоцитарного антигена человека (HLA).

6. TCR по любому из предыдущих пунктов, где TCR рестриктирован аллелем HLA-A*0201.

7. TCR по любому из предыдущих пунктов, включающий одну или более мутаций в области соединения α -цепи/ β -цепи, в результате чего при экспрессии такой α -цепи и β -цепи в Т-клетке частота ошибочного спаривания между указанными цепями и α и β -цепями эндогенного TCR снижается.

8. TCR по п.7, где одна или более мутаций вводят один или более остатков цистеина в домен константной области каждой из α -цепи и β -цепи, где один или более остатков цистеина способны образовывать дисульфидную связь между α -цепью и β -цепью.

9. TCR по любому из предыдущих пунктов, который включает мураинизированную константную область.

10. TCR по любому из предыдущих пунктов, где TCR является растворимым TCR.

11. Выделенный полинуклеотид, кодирующий α -цепь Т-клеточного рецептора (TCR) по любому из предыдущих пунктов и β -цепь TCR по любому из предыдущих пунктов.

12. Выделенный полинуклеотид по п.11, где полинуклеотид кодирует α -цепь, связанную с β -цепью.

13. Выделенный полинуклеотид по п.11 или 12, который дополнительно кодирует одну или более

коротких интерферирующих РНК (миРНК) или другие средства, способные снижать или предотвращать экспрессию одного или более эндогенных генов TCR.

14. Вектор, включающий полинуклеотид по любому из пп.11-13.

15. Вектор по п.14, включающий полинуклеотид, который кодирует одну или более цепей CD3, CD8, суицидальный ген и/или селективный маркер.

16. Клетка, включающая TCR по любому из пп.1-9, полинуклеотид по любому из пп.11-13 или вектор по п.14 или 15.

17. Клетка по п.16, где клетка является Т-клеткой, лимфоцитом или стволовой клеткой.

18. Клетка по п.17, где клетка является Т-клеткой, которая была выделена у субъекта.

19. Клетка по любому из пп.16-18, где эндогенный ген в клетке, кодирующий α -цепь TCR, и/или эндогенный ген в клетке, кодирующий β -цепь TCR, прерван.

20. Способ получения клетки, который включает этап введения вектора по п.14 и/или 15 в клетку *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo*, например, с помощью трансфекции или трансдукции.

21. Способ получения клетки по п.20, где клетка является Т-клеткой и где способ дополнительно включает этап редактирования Т-клетки, который включает прерывание эндогенного гена в Т-клетке, кодирующего α -цепь TCR, и/или эндогенного гена в Т-клетке, кодирующего β -цепь TCR, искусственной нуклеазой.

22. Способ получения клетки по п.21, который дополнительно включает этап направленной интеграции кассеты экспрессии в эндогенный ген, кодирующий α -цепь TCR, и/или эндогенный ген, кодирующий β -цепь TCR, прерванный искусственной нуклеазой, где кассета экспрессии включает полинуклеотидную последовательность, кодирующую TCR по любому из пп.1-11.

23. Способ получения клетки по любому из пп.20-22, который дополнительно включает этап прерывания одного или более эндогенных генов в клетке, кодирующих МНС.

24. Способ получения клетки по любому из пп.20-23, который дополнительно включает этап прерывания одного или более эндогенных генов в клетке с целью изменения персистенции, размножения, активности, устойчивости к сигналам истощения/старения/ингибирования, хоуминг-способности или других Т-клеточных функций.

25. Применение клетки по любому из пп.16-19 или клетки, полученной способом по любому из пп.20-24, для адоптивного переноса клеток.

26. Химерная молекула, включающая TCR по любому из пп.1-9, конъюгированная с неклеточным субстратом, токсином и/или антителом, где неклеточный субстрат выбран из группы, состоящей из наночастиц и экзосом.

27. Применение TCR по любому из пп.1-9, выделенного полинуклеотида по любому из пп.11-13, вектора по п.14 или 15, клетки по любому из пп.16-19, клетки, полученной способом по любому из пп.20-24, или химерной молекулы по п.26 для лечения или предотвращения заболевания, связанного с экспрессией WT1.

28. Способ лечения или предотвращения заболевания, связанного с экспрессией WT1, который включает этап введения TCR по любому из пп.1-9, выделенного полинуклеотида по любому из пп.11-13, вектора по п.14 или 15, клетки по любому из пп.16-19, клетки, полученной способом по любому из пп.20-24, или химерной молекулы по п.26 нуждающемуся в этом субъекту.

29. Применение по п.27, где заболевание, связанное с экспрессией WT1, является пролиферативным нарушением.

30. Применение по п.29, где пролиферативное нарушение является гемобластной или солидной опухолью.

31. Применение по п.30, где гемобластная опухоль является острым миелоидным лейкозом.

32. Применение по п.30, где пролиферативное нарушение является солидной опухолью.

33. Способ по п.28, где заболевание, связанное с экспрессией WT1, является пролиферативным нарушением.

34. Способ по п.33, где пролиферативное нарушение является гемобластной или солидной опухолью.

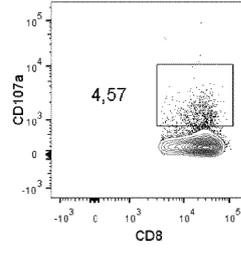
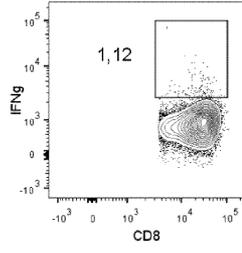
35. Способ по п.34, где гемобластная опухоль является острым миелоидным лейкозом.

36. Способ по п.34, где пролиферативное нарушение является солидной опухолью.

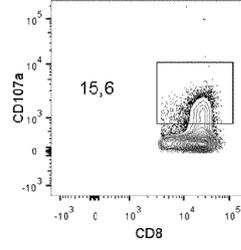
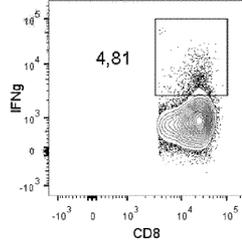
a

S2

Нерелевантный пул

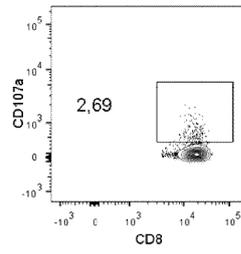
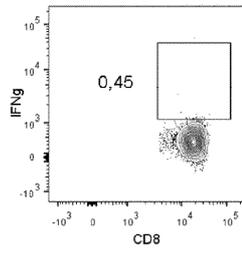


WT1

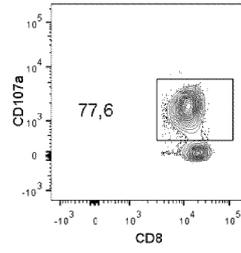
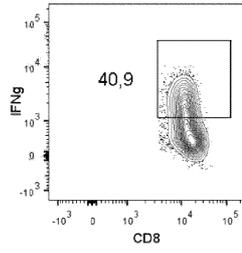


S6

Нерелевантный пул



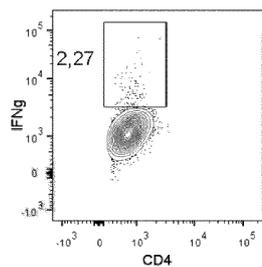
WT1



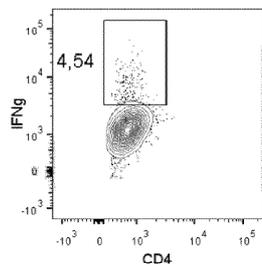
b

S2

Нерелевантный пул

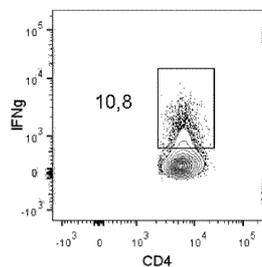


WT1

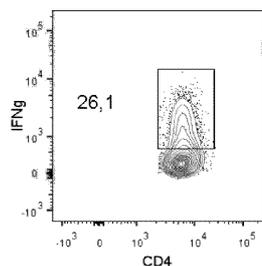


S7

Нерелевантный пул



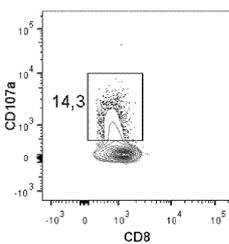
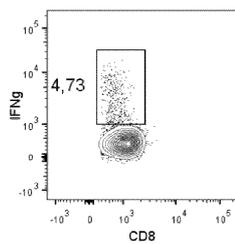
WT1



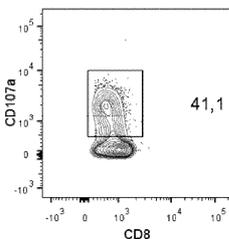
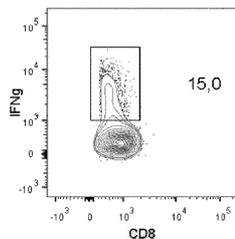
с

S3

Нерелевантный пул

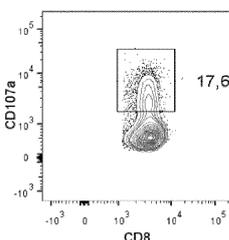
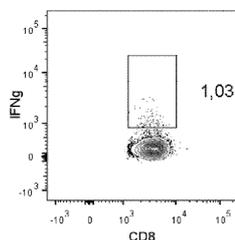


WT1

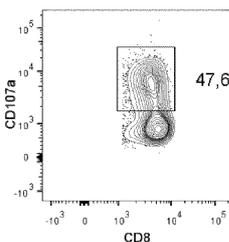
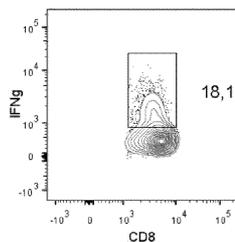


S4

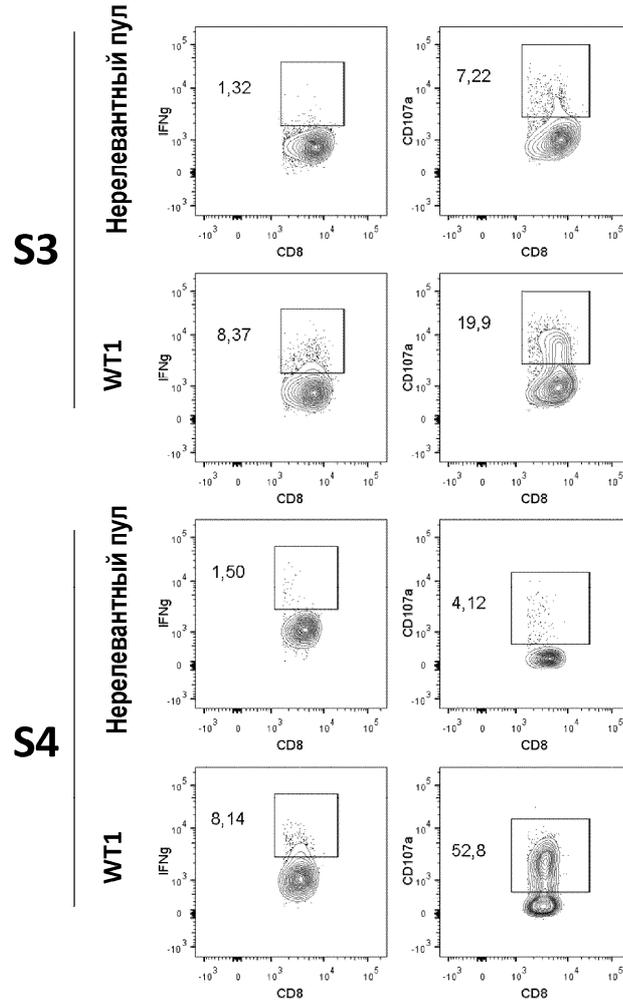
Нерелевантный пул



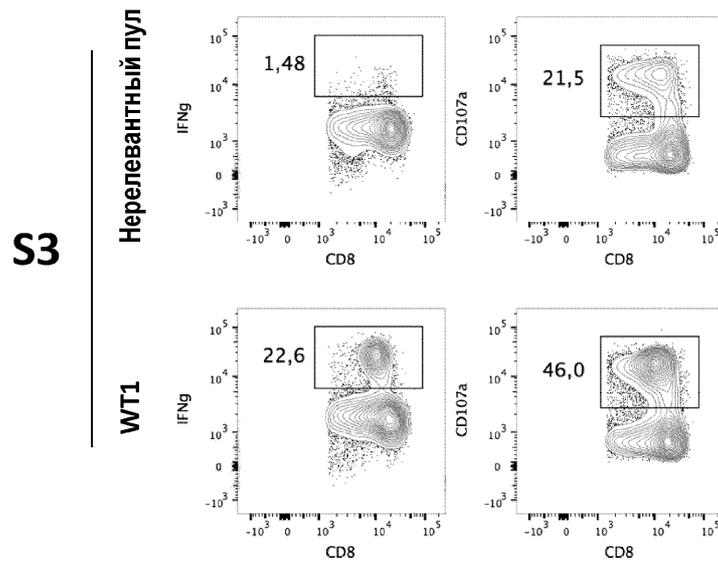
WT1



d



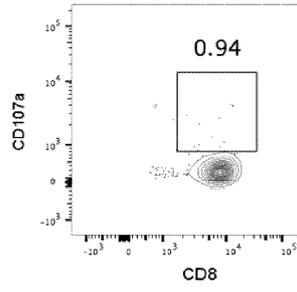
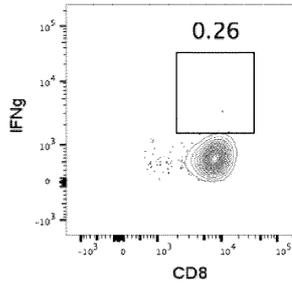
e



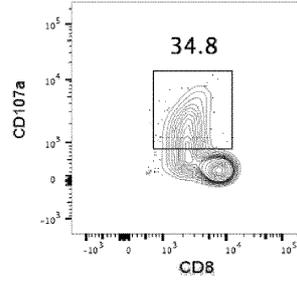
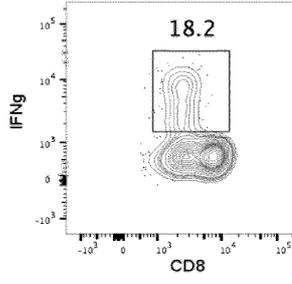
f

S3

Нерелевантный пул

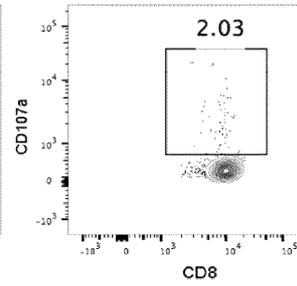
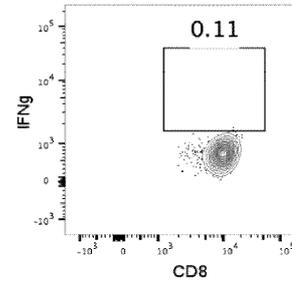


WT1

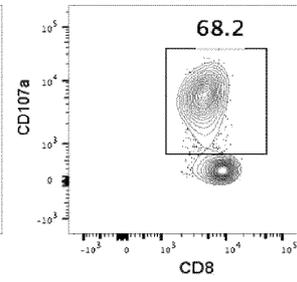
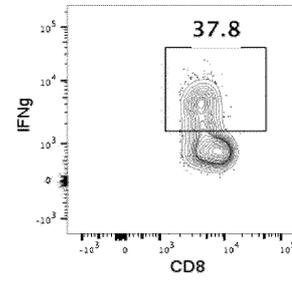


S4

Нерелевантный пул



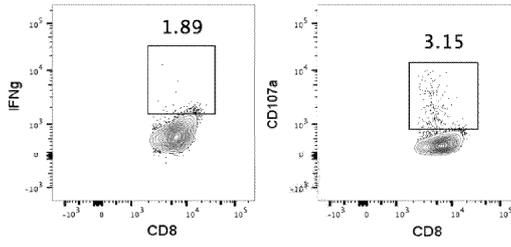
WT1



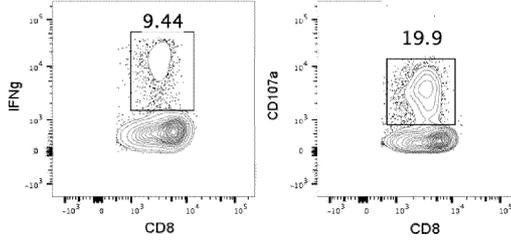
а

S3

Нерелевантный пул

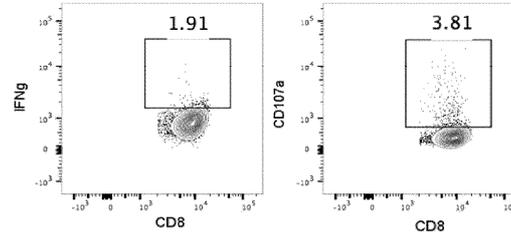


WT1

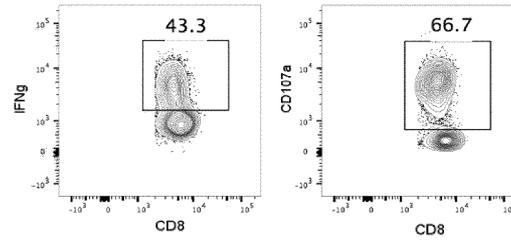


S4

Нерелевантный пул



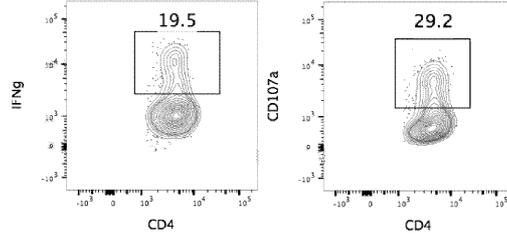
WT1



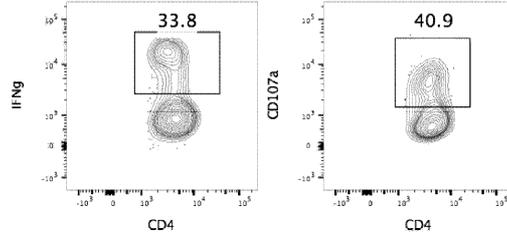
h

S4

Нерелевантный пул

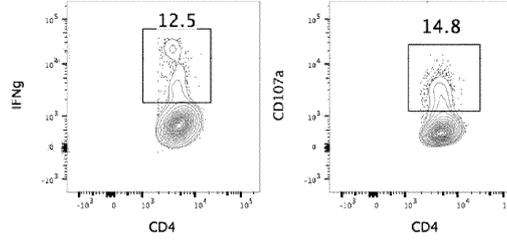


WT1

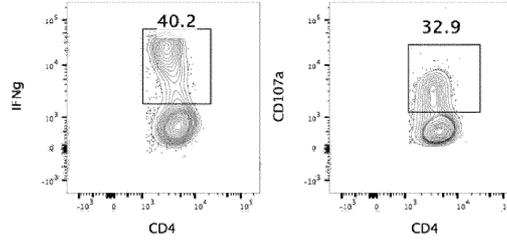


S5

Нерелевантный пул



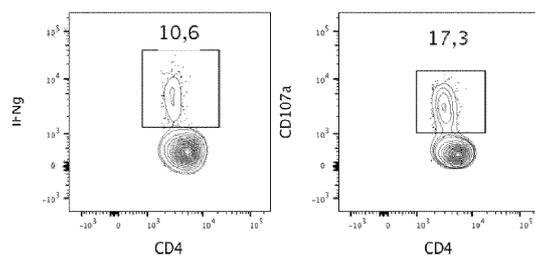
WT1



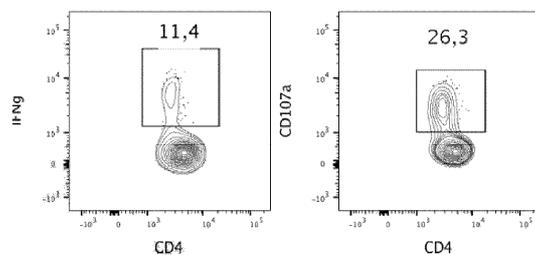
i

S4

Нерелевантный пул

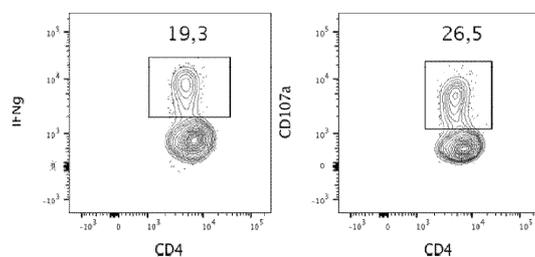


WT1

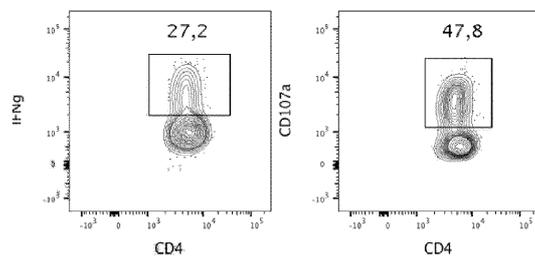


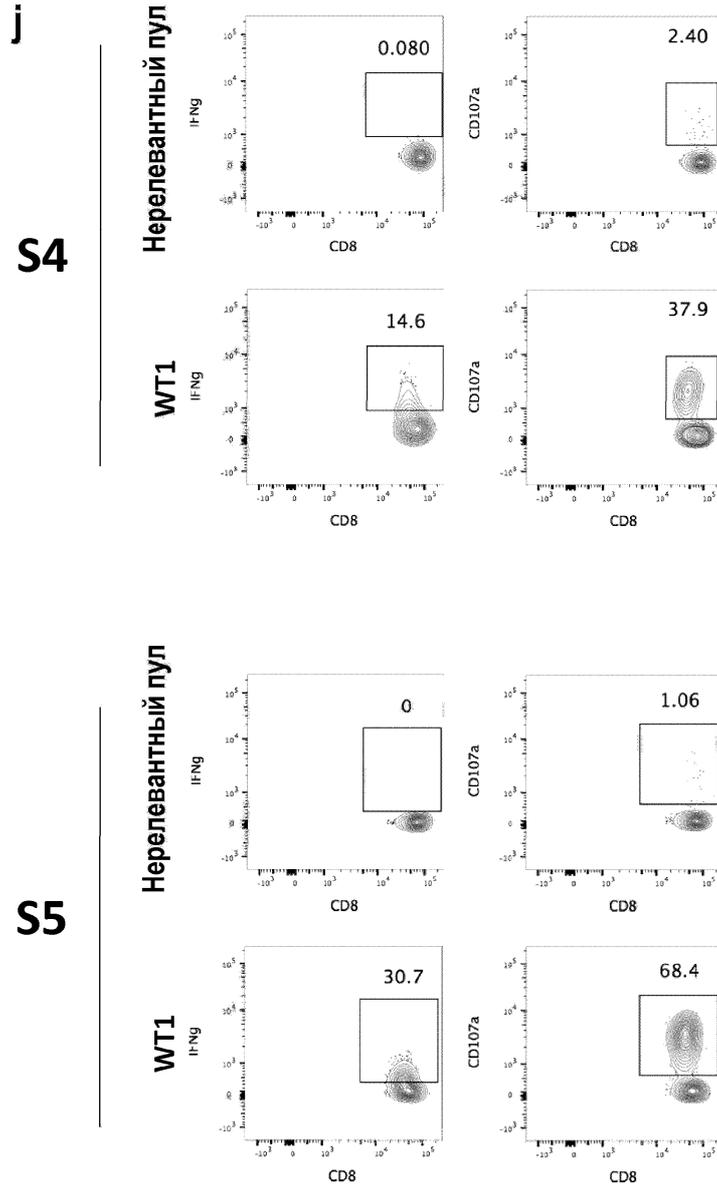
S5

Нерелевантный пул



WT1

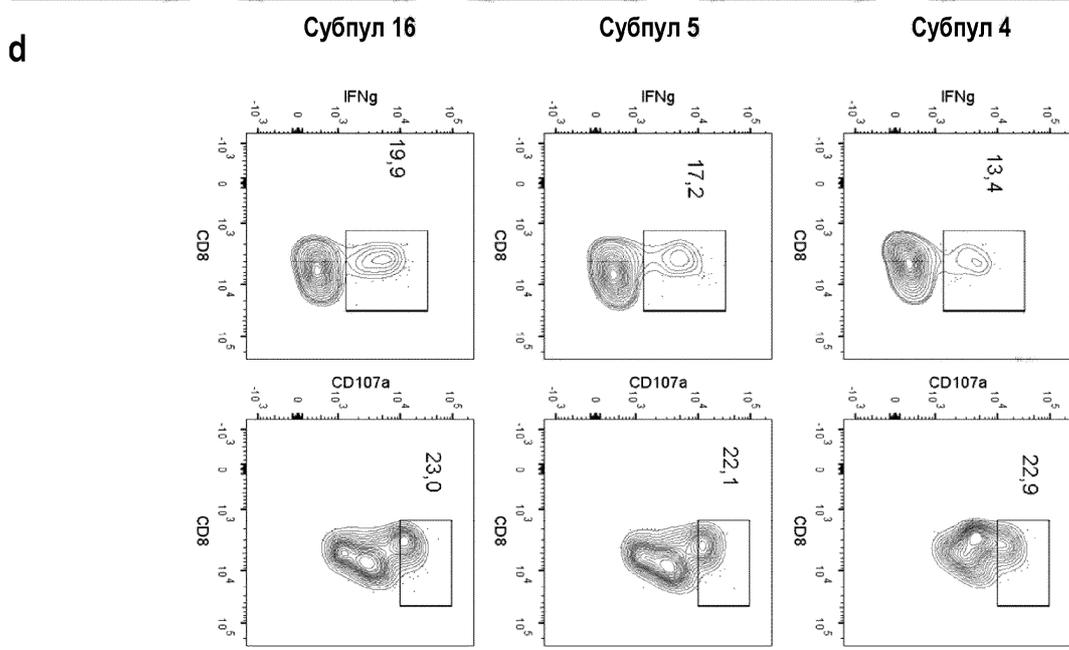
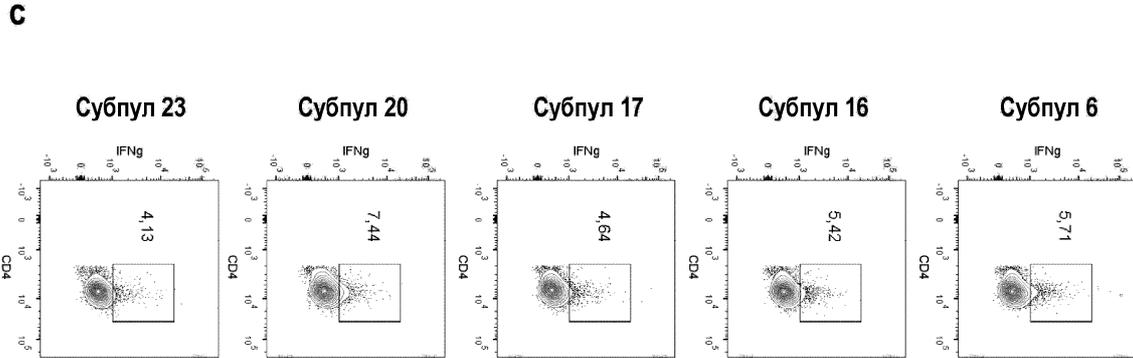
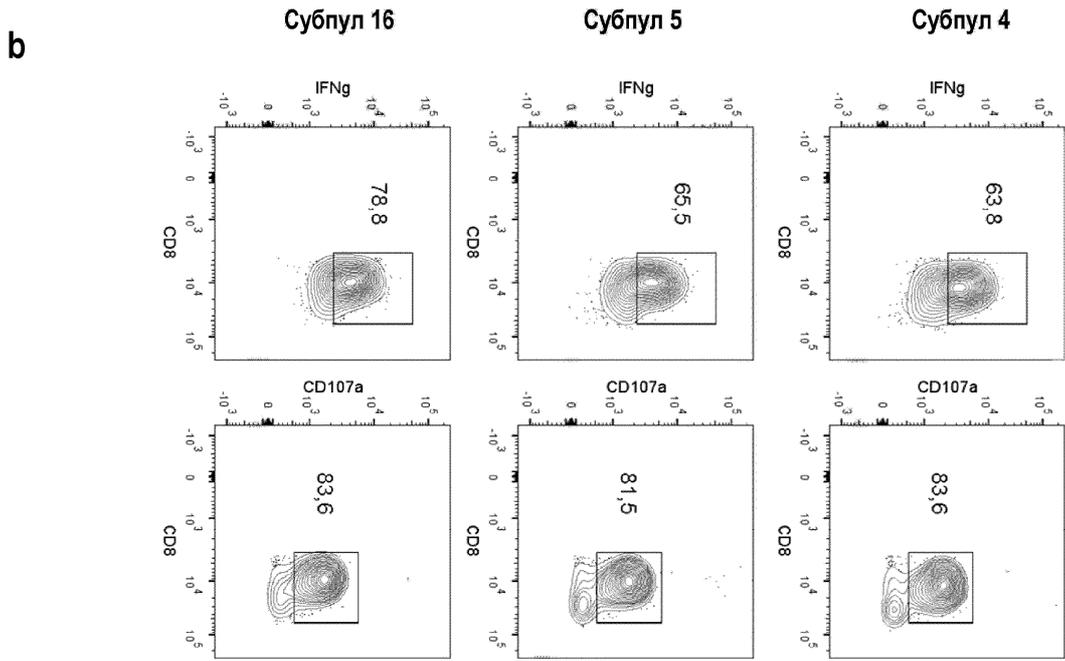




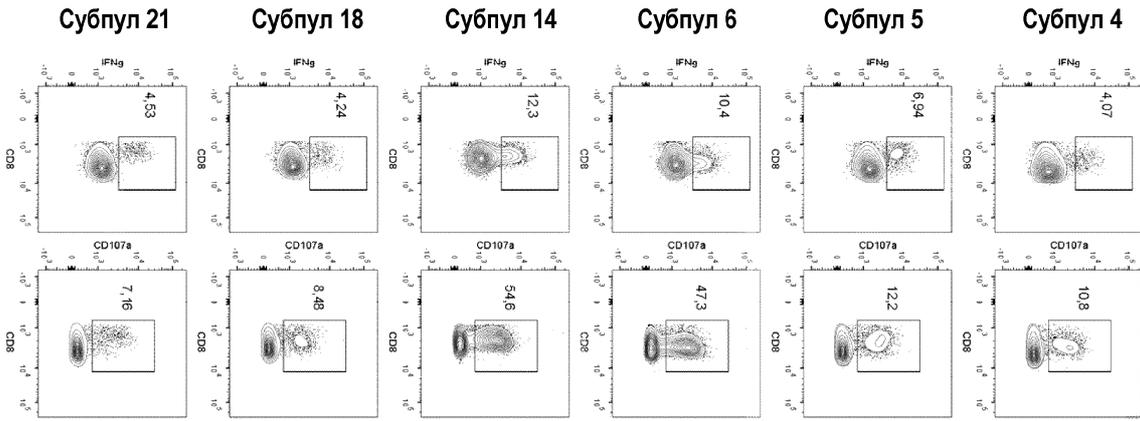
Фиг. 1

a

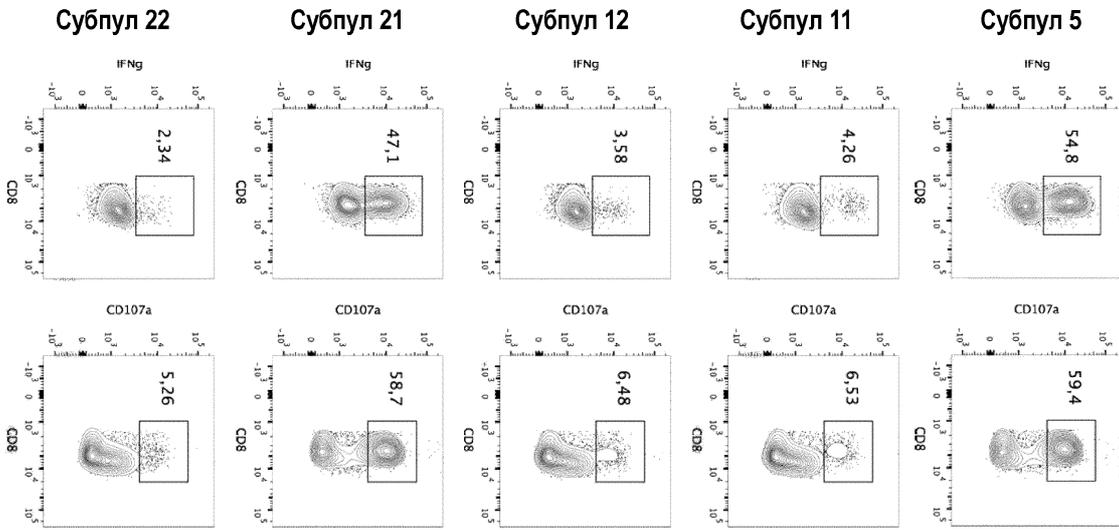
	Донор #1		Донор #2		Донор #3		Донор #4		Донор #5		Донор #6		Донор #7		Донор #8		Донор #9		Донор #10	
	IFNγ	CD107a	IFNγ	CD107a	IFNγ	CD107a	IFNγ	CD107a	IFNγ	CD107a	IFNγ	CD107a	IFNγ	CD107a	IFNγ	CD107a	IFNγ	CD107a	IFNγ	CD107a
SP1	19.3	8.1	1.4	ND	0.14	1.32	1.68	4.95	0.26	2.55	0.69	2.62	1.11	5.36	5.8	4.28	21.5	28.1	0.20	1.00
SP2	9.5	10.9	0.81	ND	0.2	0.98	1.73	4.95	0.37	3.06	0.83	2.39	1.25	5.31	6.24	6.00	21.3	26.2	0.10	0.30
SP3	7.04	9.17	1.48	ND	0.51	2.91	4.07	10.8	0.42	2.76	0.64	2.49	0.98	5.38	9.16	7.49	23.3	30.1	0.07	0.21
SP4	63.8	83.6	2.01	ND	13.4	22.9	6.94	12.2	0.45	2.29	47.5	65.3	38.4	50.3	6.04	4.67	24.2	29.6	20.4	49.4
SP5	65.5	81.5	1.24	ND	17.2	22.1	10.4	47.3	54.8	59.4	58.2	64.8	42.9	52.8	6.55	5.16	27.8	36.3	36.1	51.2
SP6	9.23	49.6	5.71	ND	0	1.23	11.6	49.7	0.62	6.55	0.91	2.68	1.22	7.55	6.37	5.84	22.3	32.4	0	0.94
SP7	9.81	12.1	2.39	ND	0.12	2.11	1.79	5.23	0.56	3.96	0.45	2.90	18.6	17.7	5.13	4.78	19.9	26.5	0	0.09
SP8	14.9	24.3	1.56	ND	0.25	3.08	1.45	4.57	0.29	2.77	0.78	1.78	13.6	16.9	7.19	5.81	18.2	26.3	0.12	0.84
SP9	9.91	61.9	0.84	ND	0.21	1.13	2.3	5.89	0.59	3.66	0.74	4.42	2.73	7.34	7.35	5.79	20.5	27.4	0.29	0.58
SP10	6.97	9.83	0.74	ND	0.73	1.91	1.63	4.54	0.44	2.53	0.55	2.36	1.27	4.26	6.17	5.89	18.3	30.1	0	0.20
SP11	10.9	9.54	1.91	ND	0.73	2.2	1.81	4.46	4.26	6.53	0.53	2.04	2.11	5.34	6.39	4.76	21.0	28.1	0.09	0.19
SP12	9.75	8.69	2.02	ND	0.3	1.79	2.13	5.32	3.58	6.48	0.54	2.25	1.54	5.85	16.70	15.80	22.8	28.0	0	0.92
SP13	5.98	8.54	1.44	ND	0	1.14	1.98	4.74	0.49	2.94	0.37	1.80	1.17	6.72	5.93	4.61	28.0	31.3	0.08	0.26
SP14	6.14	11.9	1.66	ND	0	1.17	12.3	54.6	0.34	2.95	0.48	2.57	1.96	7.52	14.60	13.30	25.4	31.1	0.43	0.69
SP15	12.8	58	0.9	ND	1.37	2.73	2.45	4.98	0.68	3.15	1.23	7.19	3.67	11.7	9.15	7.32	21.0	29.6	0.08	0.70
SP16	78.8	83.6	5.42	ND	19.9	23	1.73	4.66	0.32	2.69	56.5	65.9	48.2	54.6	7.30	5.80	25.7	31.5	27.7	56.7
SP17	8.08	8.55	4.64	ND	0.29	1.15	1.99	4.47	0.23	2.15	0.67	2.31	1.36	5.04	6.30	5.22	20.7	28.9	0	0.37
SP18	9.67	6.93	0.84	ND	0.37	2.01	4.24	8.48	0.51	2.23	0.83	1.79	1.20	5.26	7.57	4.95	14.8	22.2	0	0.57
SP19	9.6	7.26	1.14	ND	0	1.12	2.04	4.23	0.50	2.78	0.60	2.00	1.49	5.18	6.69	6.25	21.1	26.0	0	0.42
SP20	9.31	45.9	7.44	ND	0.85	2.67	1.92	4.18	0.42	2.95	0.33	3.02	2.00	13.00	7.17	4.86	22.9	28.3	0.44	0.89
SP21	9.97	6.84	0.85	ND	0.25	0.99	4.53	7.16	47.1	58.7	0.49	2.04	0.53	6.41	7.54	6.72	32.2	41.5	0	0.31
SP22	10.3	7.49	0.67	ND	0	0.78	1.6	3.62	2.34	5.26	0.50	2.82	0.81	5.86	9.62	5.97	20.4	25.5	0.19	0.45
SP23	8.25	5.18	4.13	ND	0.12	1.06	1.7	4.12	0.25	2.51	0.58	2.00	1.07	5.26	7.22	6.12	17.9	25.3	0.21	0.32
SP24	8.22	8.5	1.27	ND	0	1.72	1.98	4.37	0.50	2.54	0.73	2.83	0.66	5.42	7.37	5.70	15.1	25.7	0	0.17



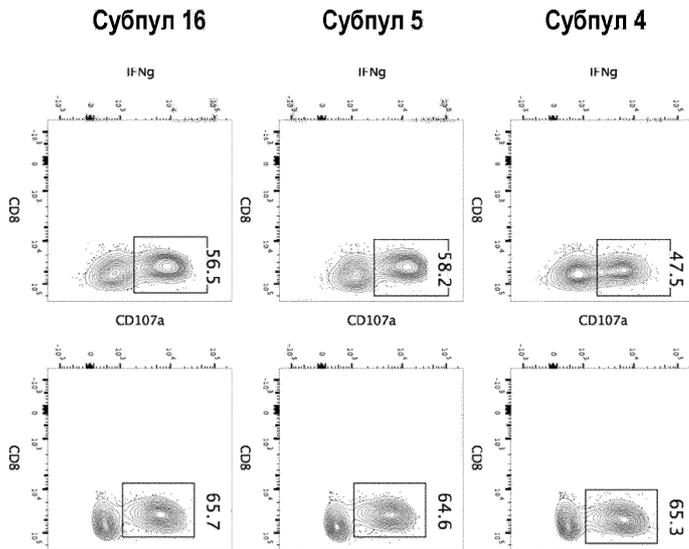
e



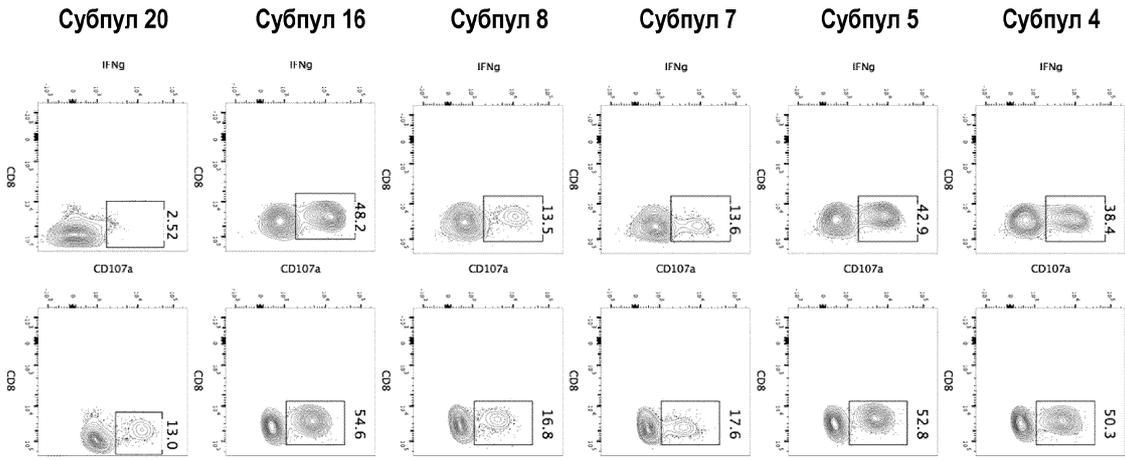
f



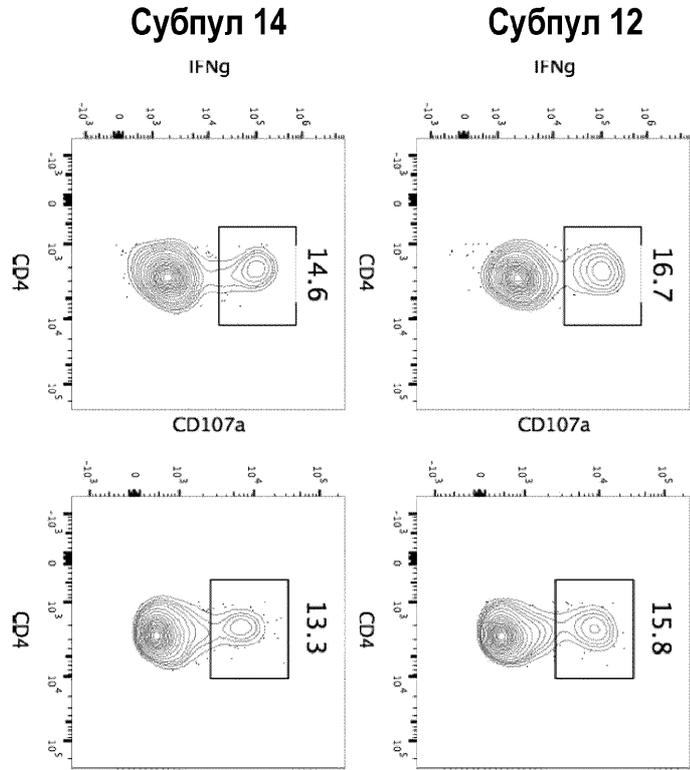
g



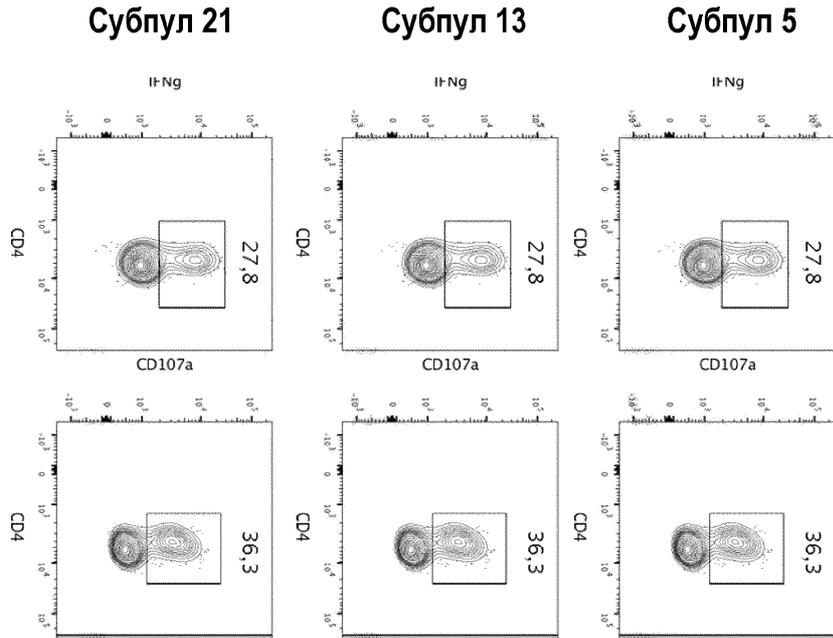
h



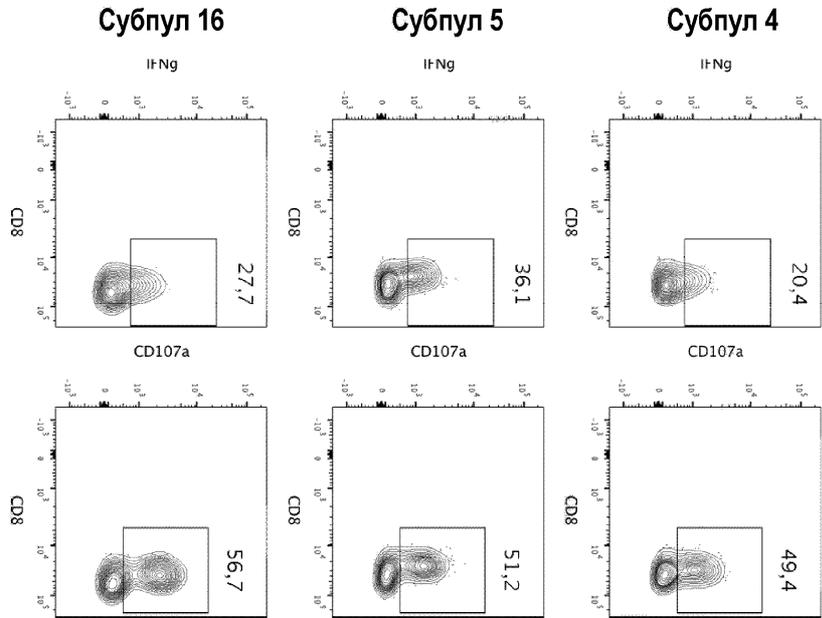
i



j

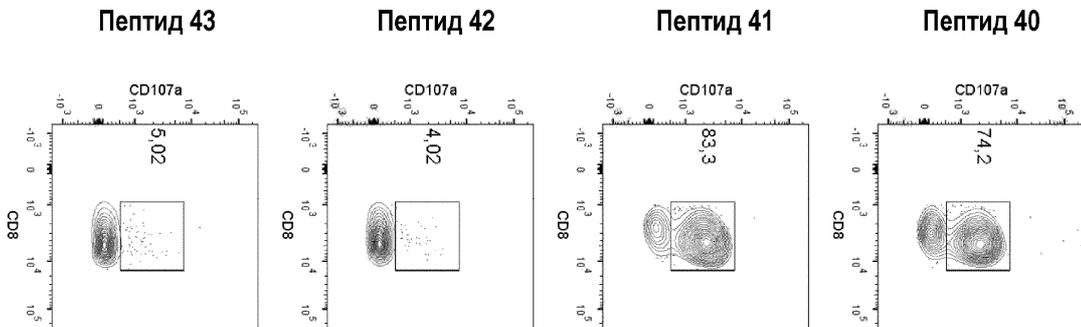


k

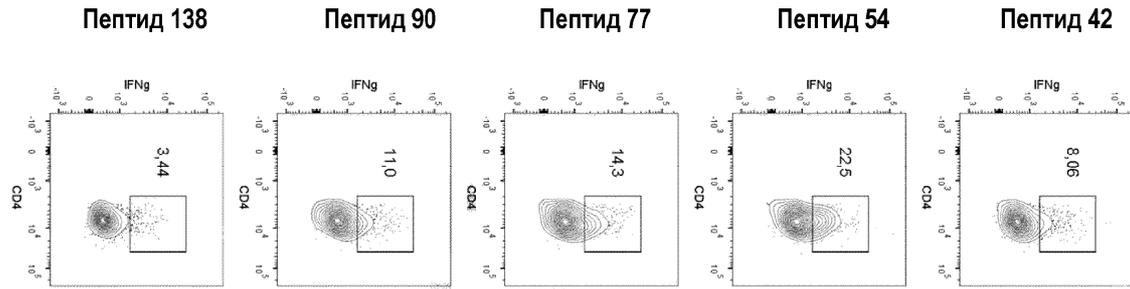


Фиг. 2

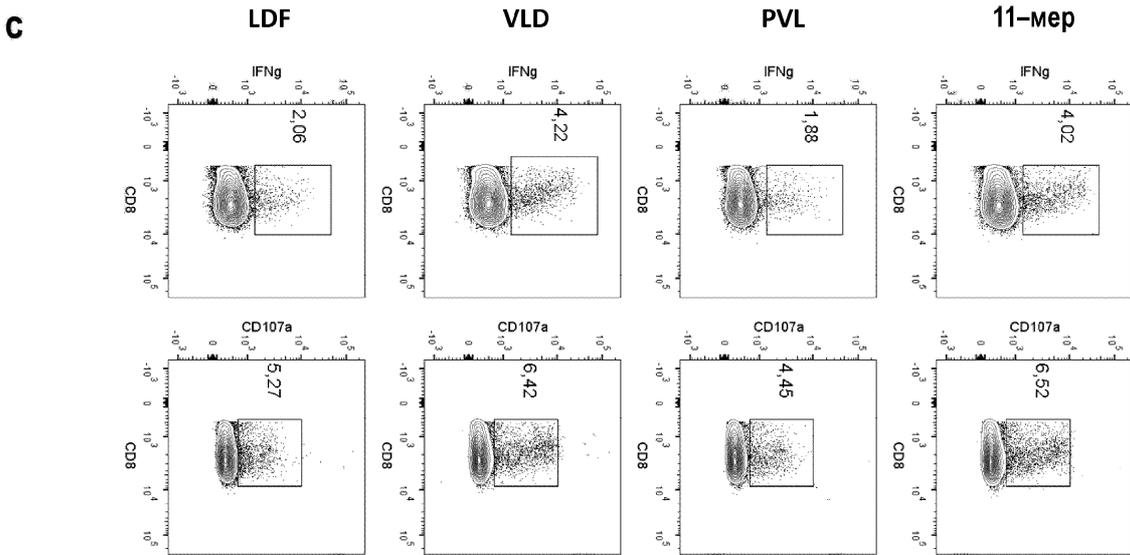
a



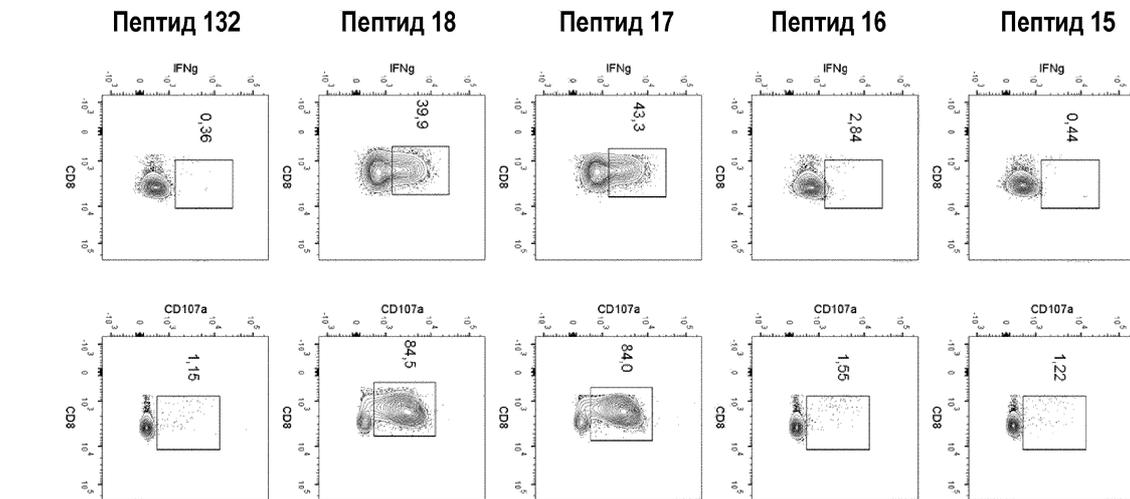
b

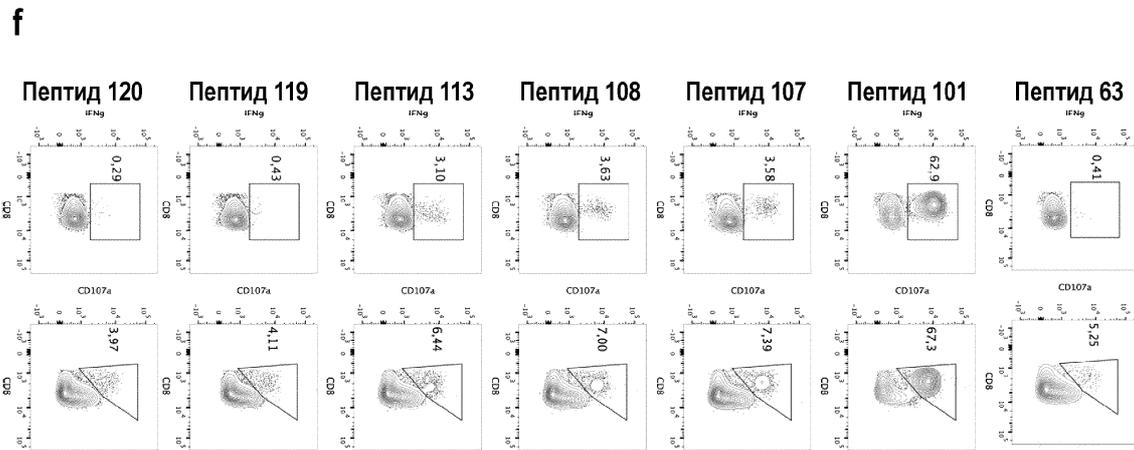
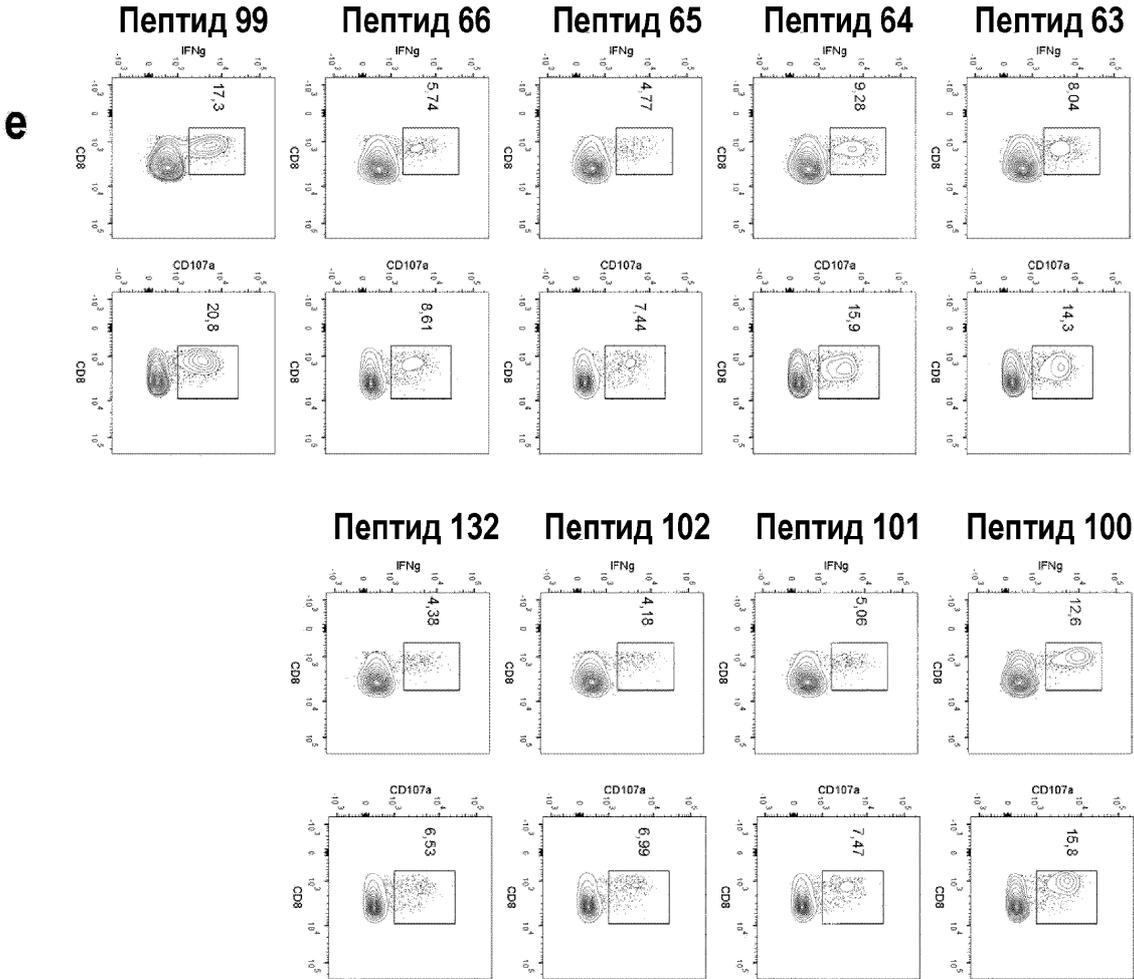


c

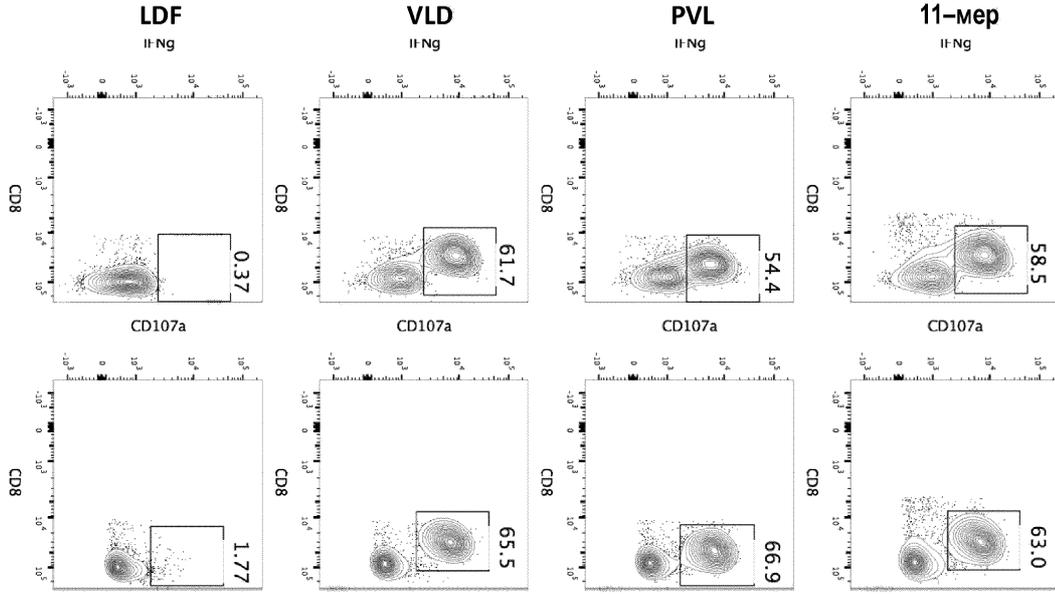


d

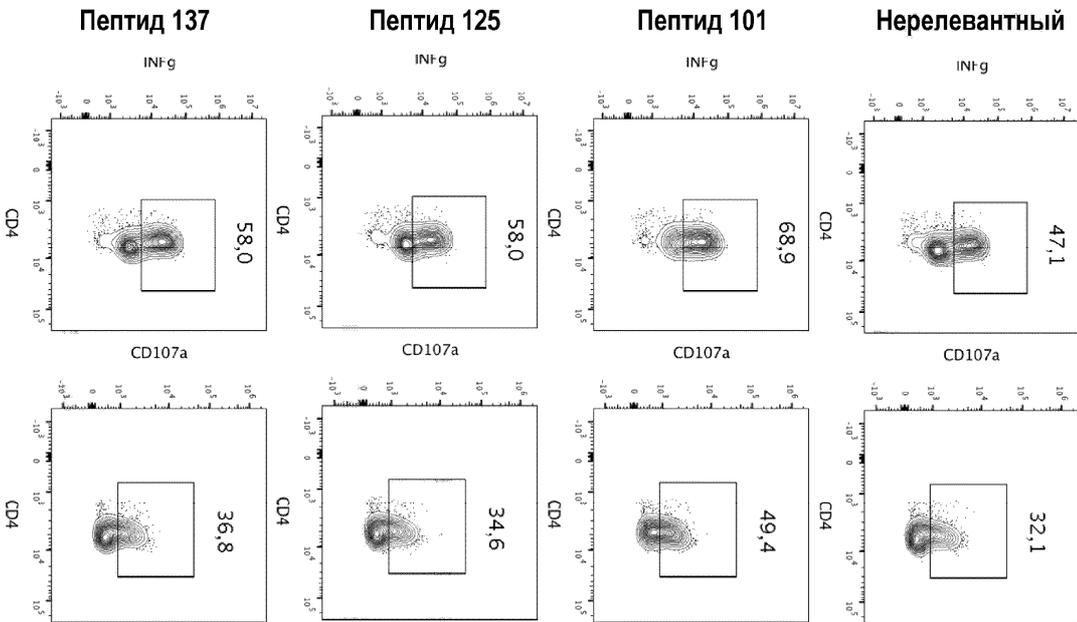


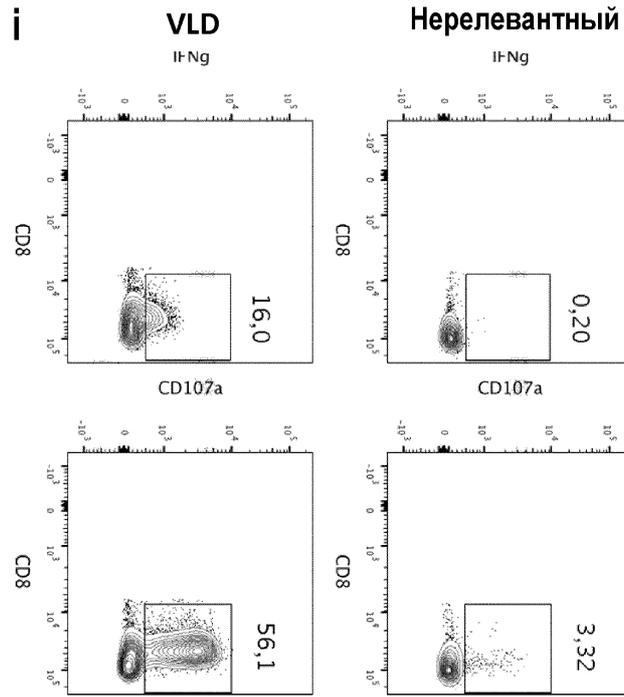


g



h

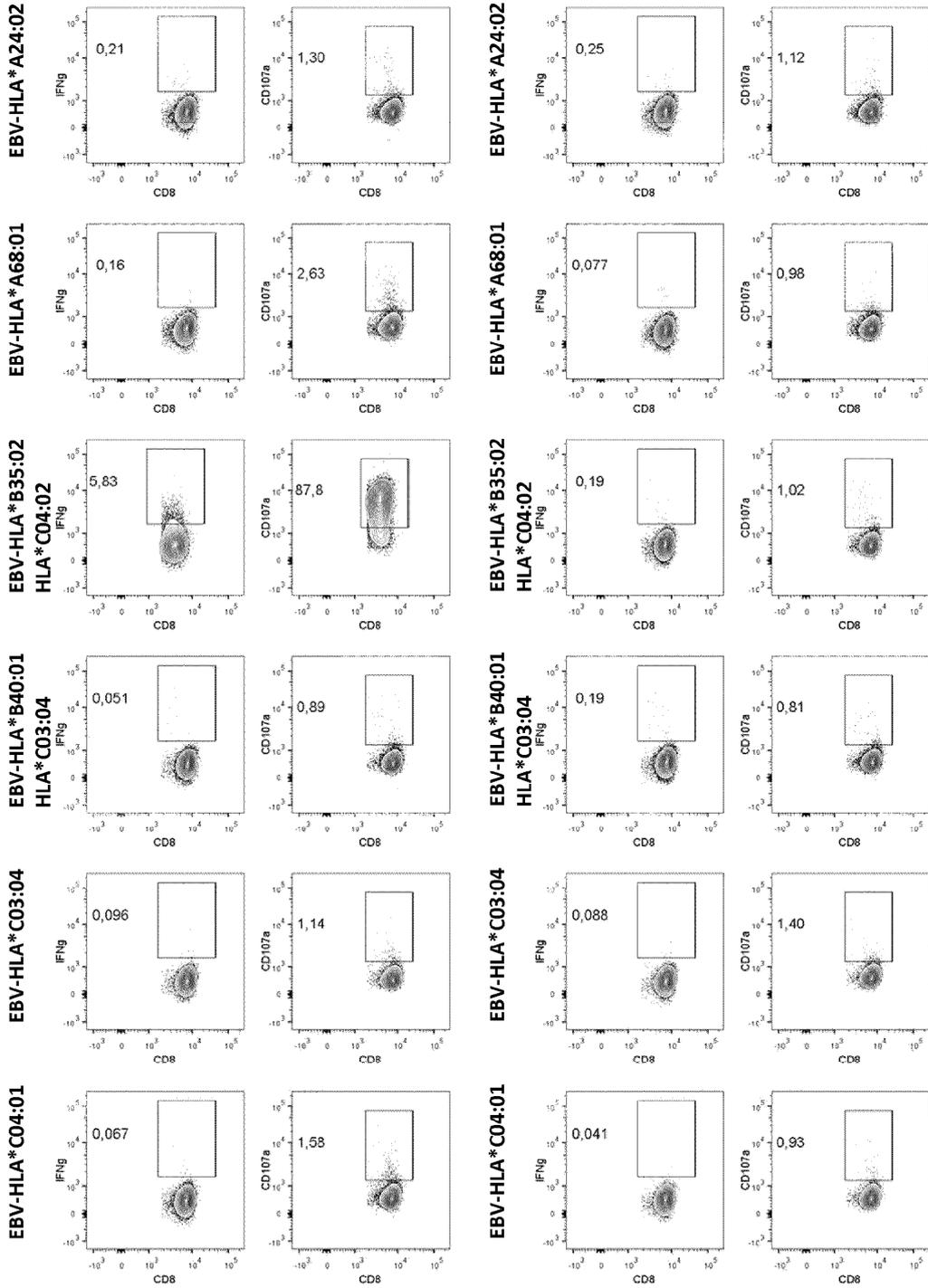




J

Пептид 17

Нерелевантный пептид

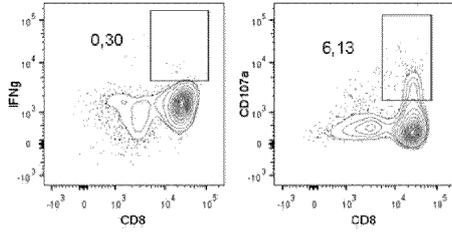


k

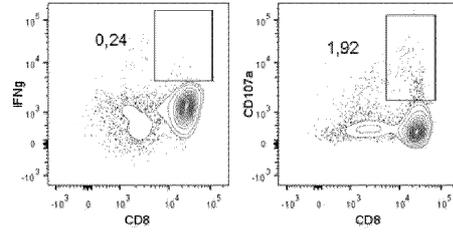
Пептид 101

Нерелевантный пептид

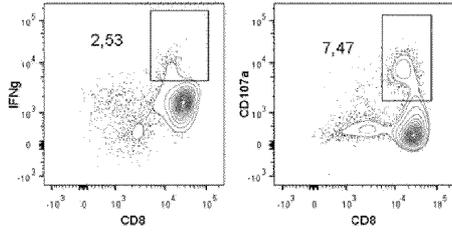
EBV-HLA*A11:01



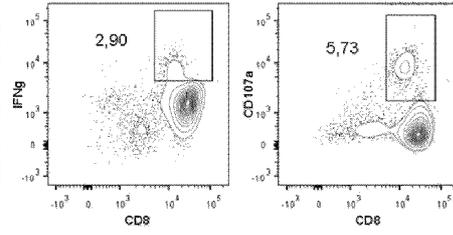
EBV-HLA*A11:01



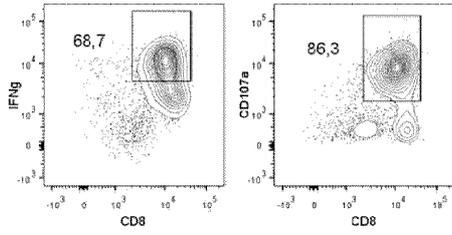
EBV-HLA*B50:01
EBV-HLA*C6:02



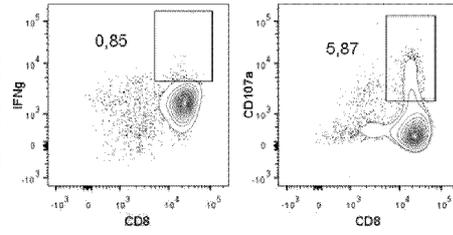
EBV-HLA*B50:01
EBV-HLA*C6:02



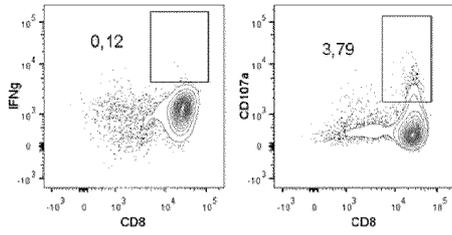
EBV-HLA*B35:01
HLA*C04:01



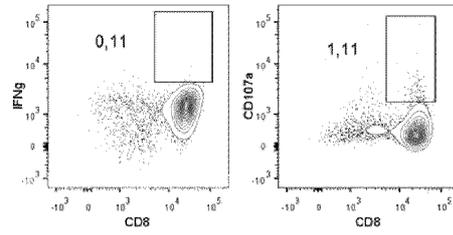
EBV-HLA*B35:01
HLA*C04:01



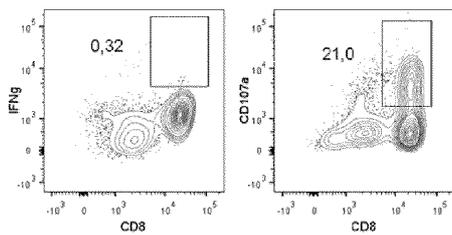
EBV-HLA*C04:01



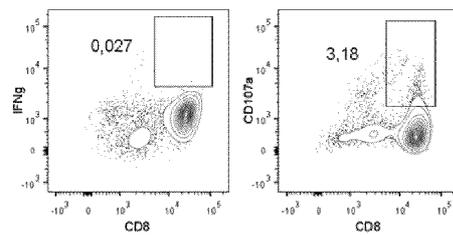
EBV-HLA*C04:01



EBV-HLA*C06:02



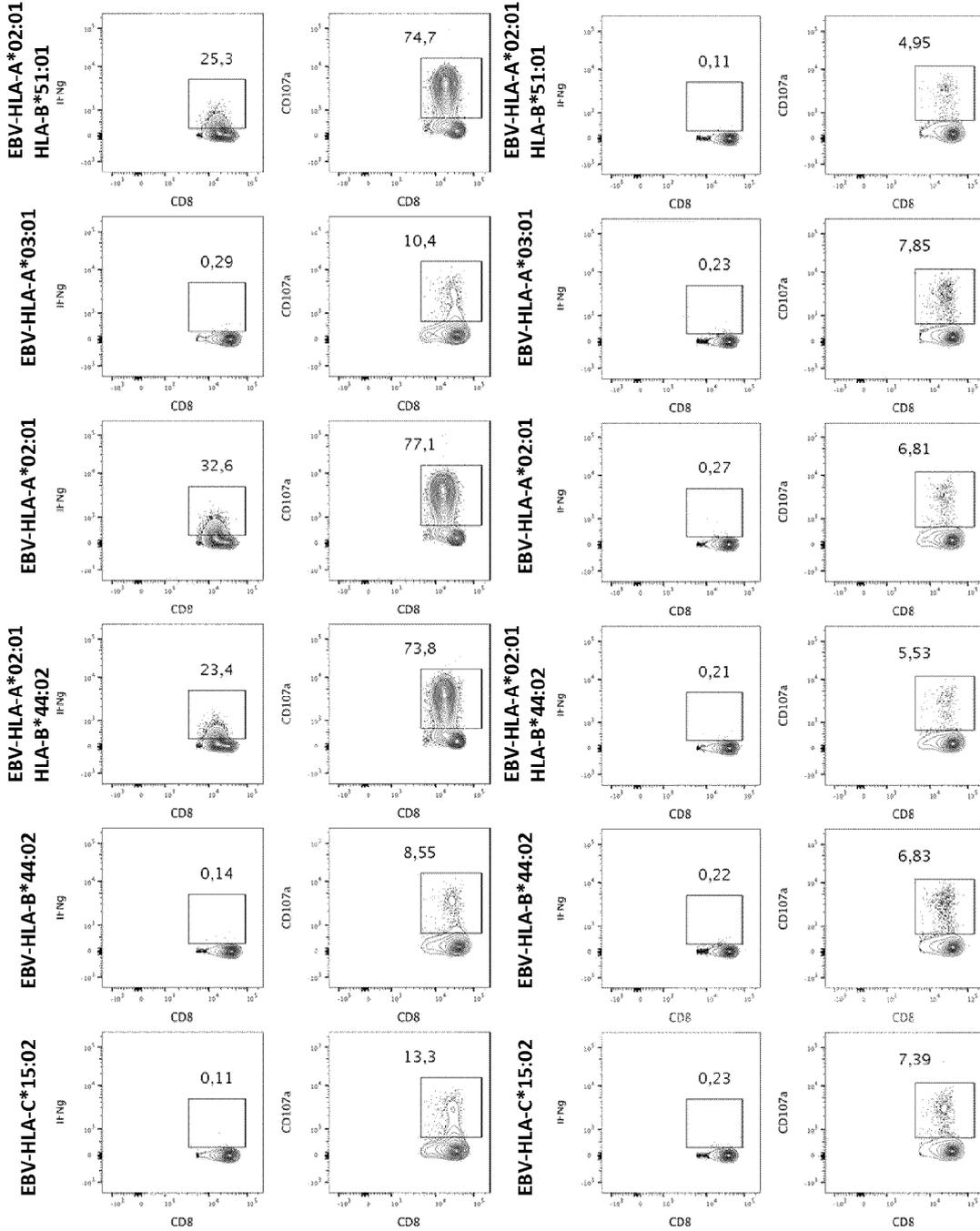
EBV-HLA*C06:02



I

9-мер VLD

Нерелевантный пептид

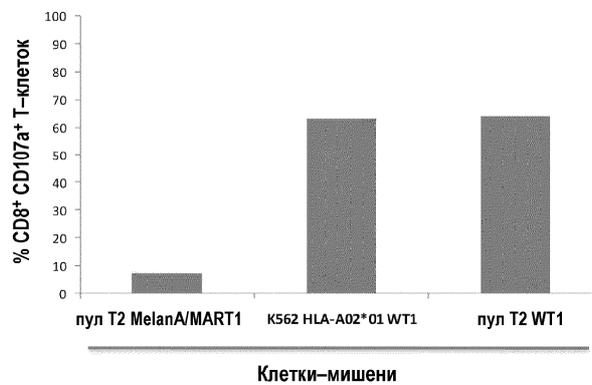


m

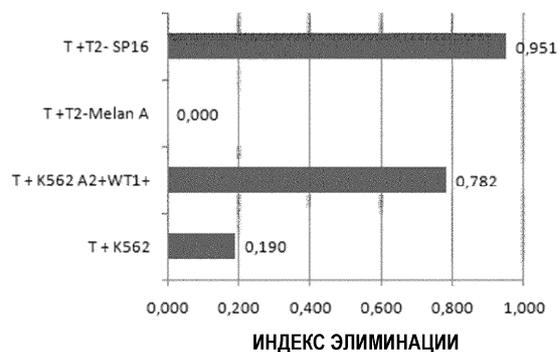
Донор	Пептид	Последовательность
HD1	40	AAQWAPVLDFAAPGA
	41	APVLDFAAPGASAYG
HD2	54	QCLSAFTVHFSGQFT
	77	EDPMGQQGSLGEQQY
	90	SQLECMTWNQMNLGA
HD3	40	AAQWAPVLDFAAPGA
	41	APVLDFAAPGASAYG
	Специфический нонамер	VLDFAPPGA
HD4	17	TCVPEPASQHTLRSG
	18	EPASQHTLRSGPGCL
	99	HSTGYESDNHTTPIL
	100	YESDNHTTPILCGAQ
HD5	101	NHTTPILCGAQYRIH
HD6	Специфический нонамер	VLDFAPPGA
HD7	40	AAQWAPVLDFAAPGA
	41	APVLDFAAPGASAYG
	91	CMTWNQMNLGATLKG
	92	NQMNLGATLKGVAAG
HD8	24	DPGGIWAKLGAAEAS
HD9	101	NHTTPILCGAQYRIH
	125	KRHQRRHTGVKPFQC
	137	PSCQKKFARSDLVLR
HD10	Специфический нонамер	VLDFAPPGA

Фиг. 3

a



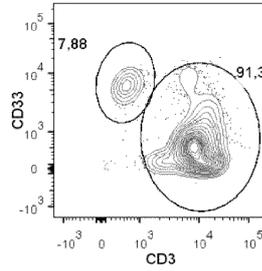
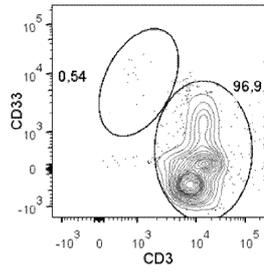
b



С

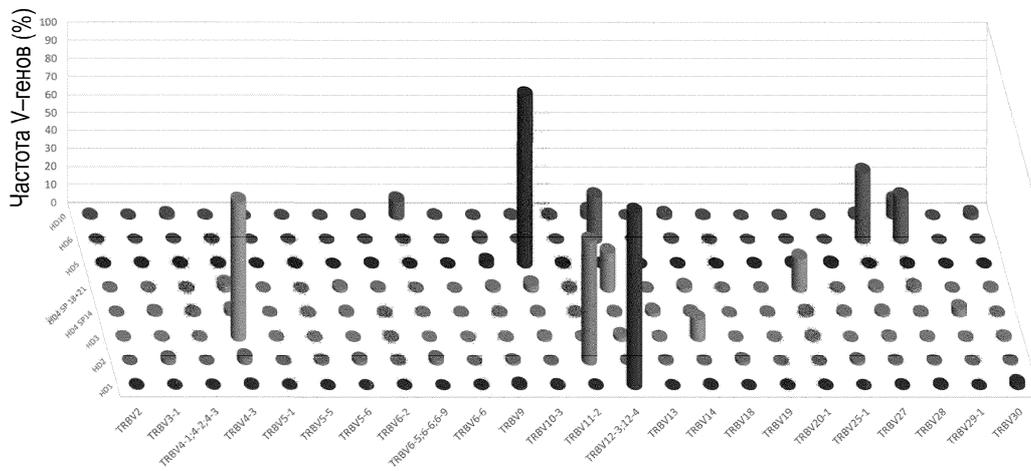
WT1-специфичные Т-клетки+
ОМЛ HLA-B35*02 бласты

WT1-специфичные Т-клетки+
нерелевантные бласты ОМЛ

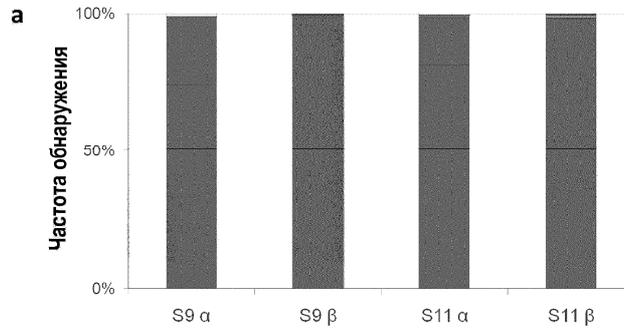


E:T=10:1

Фиг. 4



Фиг. 5



Доминантные клоны:

α-цепь:

TRAV30*01-TRAJ20*01

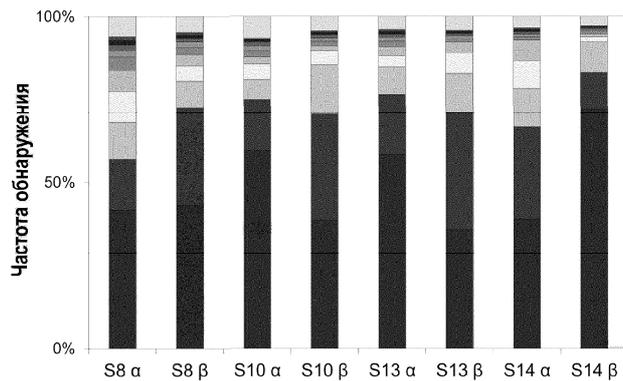
CDR3: CGTAWINDYKLSF

β-цепь:

TRBV12-4*01-TRBD2*01-TRBJ1-5*01

CDR3: CASRKTGGYSNPQHF

b



Доминантные клонотипы:

α -цепь:

TRAV8-4*01-TRAJ22*01
CDR3: CAVRLSGSARQLTF

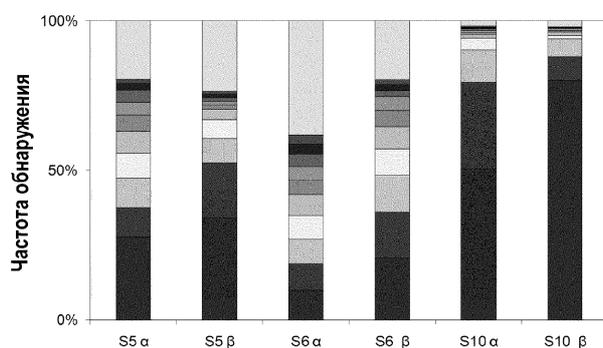
TRAV38-2/DV8*01-TRAJ47*01
CDR3: CAYRSLKYGNKLVF

β -цепь:

TRBV11-2*01- TRBD2*02-TRBJ2-7*01
CDR3: CASSLLGDEQYF

TRBV7-2- TRBD1*01- TRBJ2-7*01
CDR3: CASSLVALQGAGEQYF

c



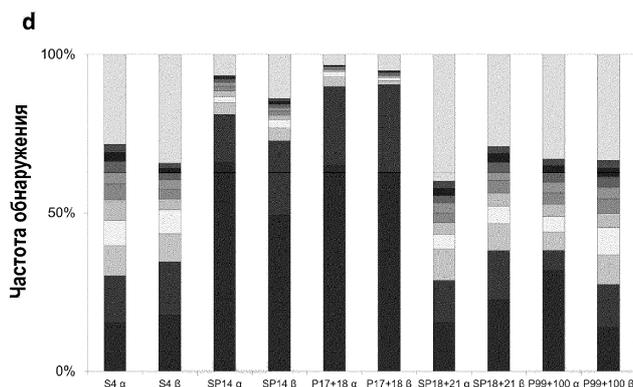
Доминантные клонотипы:

α -цепь:

TRAV12-1*01-TRAJ23*01
CDR3: CVVNLLSNQGGKLIF

β -цепь:

TRBV4-3*01- TRBD2- TRBJ1-4*01
CDR3: CASSQDYLVSNEKLFF



Доминантные клонотипы:

α-цепь (пептид 17):

TRAV17*01-TRAJ29*01

CDR3: CATDAYSGNTPLVF

α-цепь (пептид 9-100):

TRAV21*01-TRAJ23*01

CDR3: CAVRAEIYNQGGKLIF

β-цепь (пептид 17):

TRBV6-1*01-TRBD1*01-TRBJ1-1*01

CDR3: CASRAAGLDTEAFF

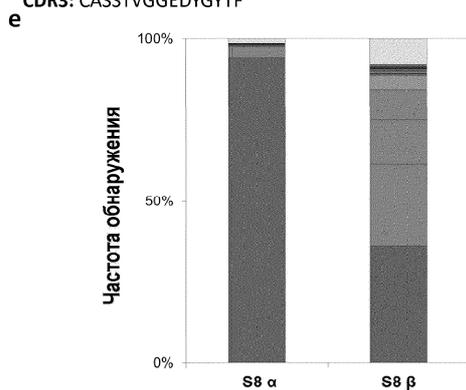
β-цепь (пептид 9-100):

TRBV6-6*01-TRBD1/TRBD2-TRBJ2-7*01

CDR3: CASTQTPYEQYF

TRBV12-3*01-TRBD2*02-TRBJ1-2*01

CDR3: CASSTVGGEDYGYTF



Доминантные клонотипы:

α-цепь:

TRAV13-1*02-TRAJ28*01

CDR3: CAASMAGAGSYQLTF

β-цепь:

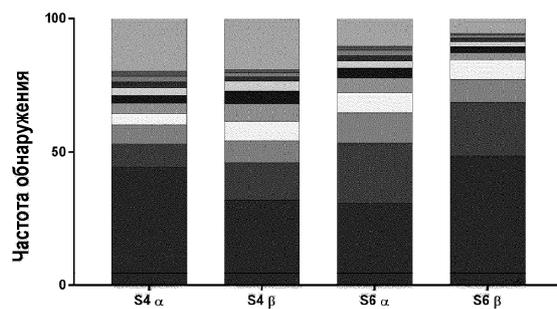
TRBV10-3*01-TRBD1*01-TRBJ2-7*01

CDR3: CAISVGQGALYEQYF

TRBV9*01-TRBD1*01-TRBJ1-2*01

CDR3: CASSVARRRNYGYTF

f

**Доминантные клонотипы:****α-цепь:**

TRAV29/DV5*01-TRA31*01

CDR3: CAANNARLMF

TRAV29/DV5*01-TRAJ49*01

CDR3: CAASATGNQFYF

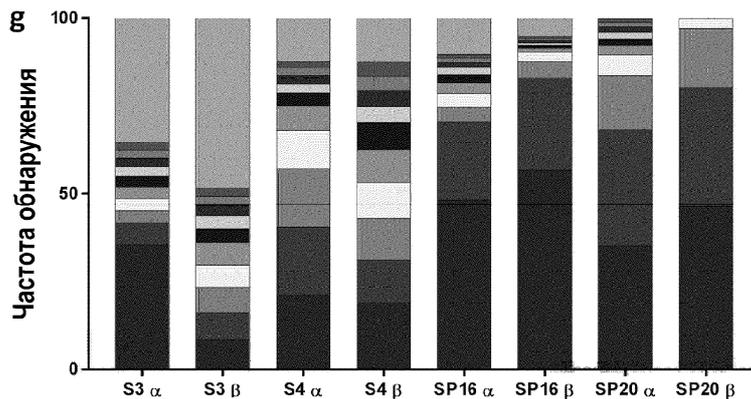
β-цепь:

TRBV12-3*01 - TRBD1*01 - TRBJ2-1*01

CDR3: CASSDTRAREQFF

TRBV5-1*01 - TRBD1*01 - TRBJ2-2*01

CDR3: CASSPGQHGELEFF

**Доминантные клонотипы:****α-цепь (перекрывающаяся часть пептида 40 и 41):**

TRAV5*01-TRAJ34*01

CDR3: CAERLNTDKLIF

TRAV17*01 -TRAJ12*01

CDR3: CATDGDSSYKLIFF

α-цепь (перекрывающаяся часть пептида 91 и 92):

TRAV22*01-TRAJ24*02

CDR3: CAVEATDSWGKIQF

TRAV13-1*02 -TRAJ50*01

CDR3: CAVRTSYDKVIF

β-цепь (перекрывающаяся часть пептида 40 и 41):

TRBV20-1*01 - TRBD1*01 - TRBJ1-3*01

CDR3: CSARDSVSGNTIYF

TRBV20-1*01 - TRBD1*01 - TRBJ1-2*01

CDR3: CSARDVLTGDYGYTF

β-цепь (перекрывающаяся часть пептида 91 и 92):

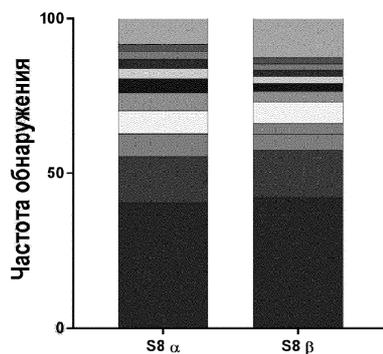
TRBV29-1*01 - TRBD2*02 - TRBJ2-1*01

CDR3: CSVGGSGSYNEQFF

TRBV12-4*01 - TRBD2- TRBJ2-5*01

CDR3: CASSLGLSISQETQYF

h



Доминантные клонотипы:

α -цепь:

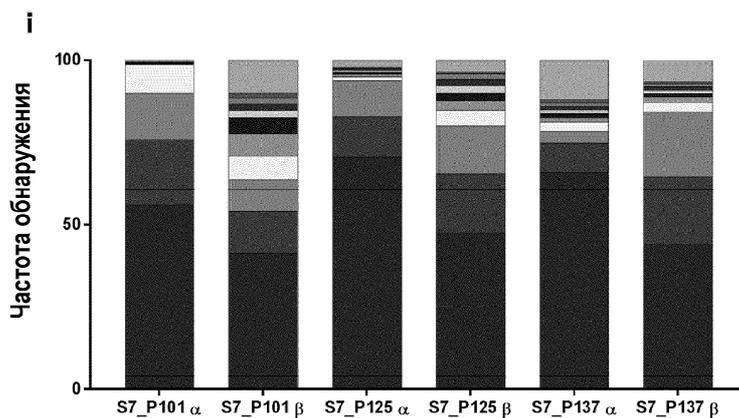
TRAV41*01-TRAJ47*01

CDR3: CAVTVGNKLVF

β -цепь:

TRBV6-1*01- TRBD1*01-TRBJ2-1*01

CDR3: CASRGWREQFF



Доминантные клонотипы:

α -цепь (пептид 101):

TRAV41*01-TRAJ34*01

CDR3: CAARSYNTDKLIF

α -цепь (пептид 125):

TRAV29/DV5*01-TRAJ31*01

CDR3: CAASYNNARLMF

α -цепь (пептид 137):

TRAV29/DV5*01-TRAJ31*01

CDR3: CAASYNNARLMF

β -цепь (пептид 101):

TRBV5-8*01- TRBD1*01-TRBJ2-5*01

CDR3: CASSWGYQETQYF

β -цепь (пептид 125):

TRBV18*01- TRBD1*01- TRBJ1-2*01

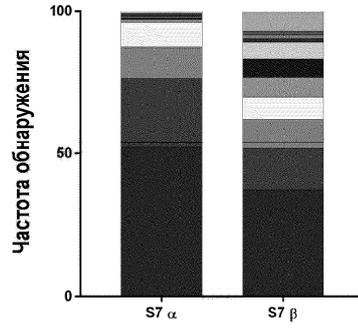
CDR3: CASSPTGGEYGYTF

β -цепь (пептид 137):

TRBV6-5*01- TRBD1*01- TRBJ1-6*01

CDR3: CASSYPLRTGRYNSYNSPLHF

j

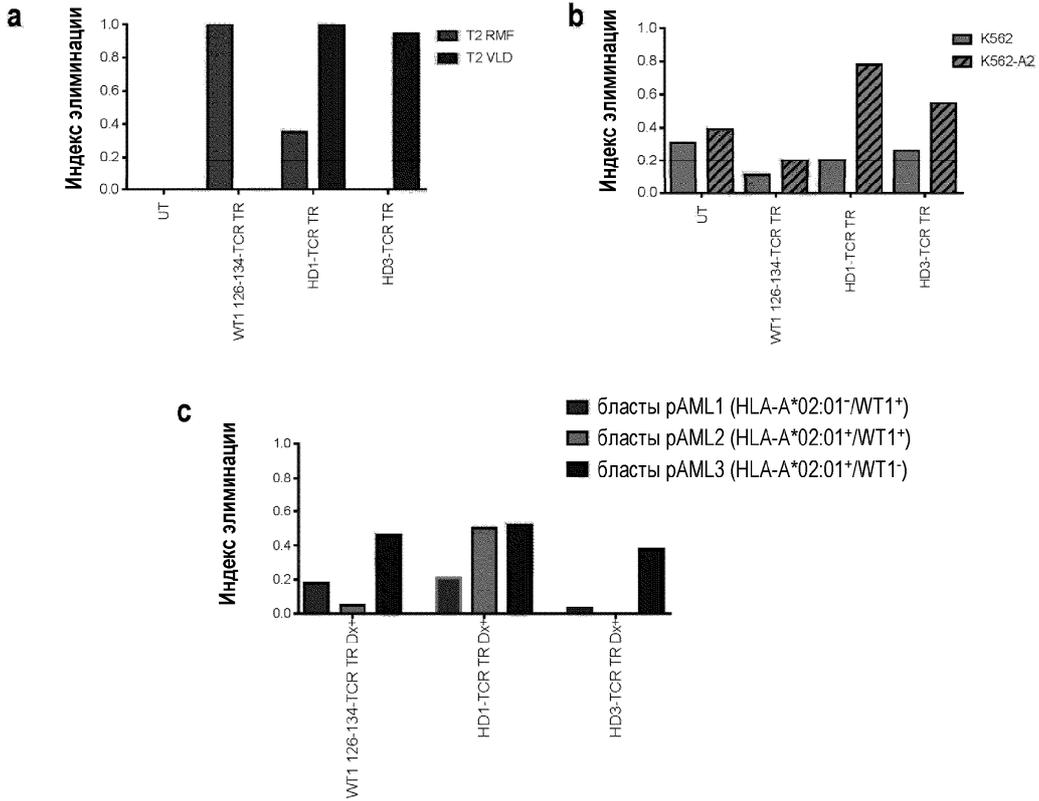


Доминантные клонотипы:

α -цепь:
 TRAV29/DV5*01-TRAJ30*01
 CDR3: CAASGGRDDKIIF

β -цепь:
 TRBV6-5*01-TRBD1*01-TRBJ2-3*01
 CDR3: CASSYRTESTDTQYF

Фиг. 6



Фиг. 7



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2