



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

**(45)** Дата публикации и выдачи патента  
**2024.11.08**

**(21)** Номер заявки  
**202292185**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2021.01.22**

**(51)** Int. Cl. **C07K 14/47** (2006.01)  
**A61K 35/17** (2015.01)  
**C07K 14/725** (2006.01)

**(54) Т-КЛЕТОЧНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ К ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНО ЭКСПРЕССИРУЕМОМУ АНТИГЕНУ МЕЛАНОМЫ (PRAME) И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

**(31)** 62/965,231

**(32)** 2020.01.24

**(33)** US

**(43)** 2022.10.11

**(86)** PCT/US2021/014490

**(87)** WO 2021/150804 2021.07.29

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**РИДЖЕНЕРОН  
ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)**

**(72)** Изобретатель:  
**Бауэрман Натали, Хансен Джоанна  
(US)**

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

**(56)** WO-A2-2016142783  
AMIR A. L. ET AL.: "PRAME-specific Allo-  
HLA-restricted T cells with potent antitumor reactivity  
useful for therapeutic T-cell receptor gene transfer",  
CLINICAL CANCER RESEARCH, AMERICAN  
ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, US,  
vol. 17, no. 17, 1 September 2011 (2011-09-01),  
pages 5615-5625, XP002760143, ISSN: 1078-0432,  
DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-1066 [retrieved on  
2011-07-19, abstract, page 5617, left-hand column,  
paragraph 1 page 5618; figures 1C, E  
DOMENICO ORLANDO ET AL.: "Adoptive  
immunotherapy using PRAME-specific T cells

in medulloblastoma", CANCER RESEARCH, 1  
January 2010 (2010-01-01), XP055498834, US, ISSN:  
0008-5472, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-3140,  
abstract, page 3337, right-hand column, last  
paragraph - page 3338, left-hand column, paragraph 1

MARIEKE GRIFFIOEN ET AL.: "Detection  
and functional analysis of CD8+ T cells specific  
for PRAME: a target for T-cell therapy",  
CLINICAL CANCER RESEARCH, AMERICAN  
ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, US,  
vol. 12, no. 10, 15 May 2006 (2006-05-15),  
pages 3130-3136, XP002674825, ISSN: 1078-0432,  
DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-2578, abstract,  
page 3132, left-hand column, paragraph 1

KESSLER H. ET AL.: "Efficient  
identification of novel HLA-A(\*0201-presented  
cytotoxic T lymphocyte epitopes in the widely  
expressed tumor antigen PRAME by proteasome-  
mediated digestion analysis", JOURNAL OF  
EXPERIMENTAL MEDICINE, ROCKEFELLER  
UNIVERSITY PRESS, US, vol. 193, no. 1, 1 January  
2001 (2001-01-01), pages 73-88, XP002339970,  
ISSN: 0022-1007, DOI: 10.1084/JEM.193.1.73,  
abstract, page 76; table 1 page 79; figure 1

KESSLER JH AND C. J. M. MELIEF:  
"Identification of T-cell epitopes for cancer  
immunotherapy", LEUKEMIA, STOCKTON PRESS,  
LONDON, vol. 21, no. 9, 1 September 2007  
(2007-09-01), pages 1859-1874, XP002663049,  
ISSN: 0887-6924, DOI: 10.1038/SJ.LEU.2404787  
[retrieved on 2007-07-05], abstract, page 1865; table  
2B page 1866; table 3

**(57)** В изобретении представлены выделенные Т-клеточные рецепторы (TCR), которые специфически связываются с пептидом презентруемого HLA предпочтительно экспрессируемого антигена меланомы (PRAME), а также терапевтические и диагностические способы применения этих выделенных TCR.

### Родственные заявки

Данная заявка заявляет приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/965231, поданной 24 января 2020 г., полное содержание которой включено в данный документ посредством ссылки.

### Перечень последовательностей

Настоящая заявка содержит перечень последовательностей, который был подан в электронном виде в формате с кодировкой ASCII и, таким образом, включен в данный документ посредством ссылки в полном объеме. Указанная копия в формате ASCII, созданная 20 января 2021 г., имеет название 118003-00520\_SL.txt и ее размер составляет 461085 байт.

### Уровень техники

T-клеточные рецепторы (TCR) представляют собой мембраносвязанные гетеродимеры, содержащие  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепи, напоминающие вариабельную (V) и константную (C) область иммуноглобулина.  $\alpha$ -Цепь TCR включает ковалентно связанную V- $\alpha$ -цепь и C- $\alpha$ -цепь, в то время как  $\beta$ -цепь включает V- $\beta$ -цепь, ковалентно связанную с C- $\beta$ -цепью. V- $\alpha$ -и V- $\beta$ -цепи образуют карман или щель, которые могут связывать антиген в контексте главного комплекса гистосовместимости (МНС) (известного у человека как комплекс HLA). (Davis Ann. Rev. of Immunology 3: 537 (1985); Fundamental Immunology 3rd Ed., W. Paul Ed. New York (1993)).

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

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

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

Предпочтительно экспрессируемый антиген меланомы, или PRAME, представляет собой хорошо известный раково-яичковый антиген (СТА), кодируемый на X-хромосоме. Впервые он был идентифицирован как опухолевый антиген, который может распознаваться рестриктированными по HLA-A\*24 цитотоксическими T-лимфоцитами при метастатической кожной меланоме (Ikeda H., et al. (1997) Immunity 6:199-208). Было показано, что PRAME выступает в качестве репрессора рецептора ретиноевой кислоты и, таким образом, может придавать раковым клеткам преимущество в росте посредством этого механизма (см., например, Epping M.T., et al. (2005) Cell 122:835-847).

PRAME в избытке реэкспрессируется многими опухолями различных гистологических типов, включая меланому, почечно-клеточный рак, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), нейробластому, рак молочной железы, множественную миелому, острый лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, многочисленные подтипы саркомы и первичную и метастатическую увеальную меланому, однако в нормальных здоровых тканях взрослого человека экспрессия PRAME ограничена яйцками.

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

### Краткое описание сущности изобретения

В настоящем изобретении представлены T-клеточные рецепторы (TCR), которые были разработаны против пептидного антигена PRAME в контексте МНС (HLA-A2). Идентифицированные уникальные

последовательности TCR продемонстрировали специфическое связывание с небольшим пептидом PRAME, презентуемым в бороздке молекулы HLA.

Соответственно, в одном аспекте в настоящем изобретении представлен T-клеточный рецептор (TCR) (например, выделенный TCR или TCR, экспрессируемый на выделенной клетке), который специфически связывается с пептидом презентуемого HLA-A2 антигена яичка рака, представляющего собой предпочтительно экспрессируемый антиген меланомы (PRAME), содержащим аминокислотную последовательность rldqllrhv (SEQ ID NO: 929) (PRAME 312-320), при этом TCR содержит переменный домен альфа-цепи, содержащий определяющую комплементарную область (CDR)3, при этом CDR3 содержит аминокислотную последовательность любой из аминокислотных последовательностей CDR3 переменного домена альфа-цепи, изложенных в табл. 3.

В другом аспекте в настоящем изобретении представлен T-клеточный рецептор (TCR) (например, выделенный TCR или TCR, экспрессируемый на выделенной клетке), который специфически связывается с пептидом презентуемого HLA-A2 антигена яичка рака, представляющего собой предпочтительно экспрессируемый антиген меланомы (PRAME), содержащим аминокислотную последовательность rldqllrhv (SEQ ID NO: 929) (PRAME 312-320), при этом TCR содержит переменный домен бета-цепи, содержащий определяющую комплементарную область (CDR)3, при этом CDR3 содержит аминокислотную последовательность любую из аминокислотных последовательностей CDR3 переменного домена бета-цепи, изложенных в табл. 3.

В некоторых вариантах осуществления переменный домен альфа-цепи дополнительно содержит CDR1 и CDR2, при этом CDR1 содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR1 переменного домена альфа-цепи, изложенных в табл. 3, а CDR2 независимо содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR2 переменного домена альфа-цепи, изложенных в табл. 3.

В некоторых вариантах осуществления переменный домен бета-цепи дополнительно содержит CDR1 и CDR2, при этом CDR1 содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR1 переменного домена бета-цепи, изложенных в табл. 3, а CDR2 независимо содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR2 переменного домена бета-цепи, изложенных в табл. 3.

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

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена альфа-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в табл. 5; и CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена бета-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей переменного домена бета-цепи, приведенных в табл. 5.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит переменный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в табл. 5.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит переменный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена бета-цепи, приведенных в табл. 5.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит: (а) переменный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в табл. 5; и (б) переменный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена бета-цепи, приведенных в табл. 5.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит: (а) CDR1 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 7, 13, 19, 25, 31, 37, 43, 49, 55, 61, 67, 73, 79, 85, 91, 97 и 103; (б) CDR2 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 8, 14, 20, 26, 32, 38, 44, 50, 56, 62, 68, 74, 80, 86, 92, 98 и 104; (с) CDR3 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3, 9, 15, 21, 27, 33, 39, 45, 51, 57, 63, 69, 75, 81, 87, 93, 99 и 105; (д) CDR1 переменного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4, 10, 16, 22, 28, 34, 40, 46, 52, 58, 64, 70, 76, 82, 88, 94, 100 и 106; (е) CDR2 переменного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5, 11, 17, 23, 29, 35, 41, 47, 53, 59, 65, 71, 77, 83, 89, 95, 101 и 107; и (ф) CDR3 переменного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54, 60, 66, 72, 78, 84, 90, 96, 102 и 108.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит пару аминокислотных последовательностей

вариабельного домена альфа-цепи/вариабельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 217/219, 229/231, 237/239, 241/243 и 285/287.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит пару аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи/вариабельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 217/219, 221/223, 225/227, 229/231, 233/235, 237/239, 241/243, 245/247, 249/251, 253/255, 257/259, 261/263, 265/267, 269/271, 273/275, 277/279, 281/283 и 285/287.

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

В одном аспекте в настоящем изобретении представлен Т-клеточный рецептор (TCR) (например, выделенный TCR или TCR, экспрессируемый на выделенной клетке), который специфически связывается с пептидом презентруемого HLA-A2 антигена яичка рака, представляющего собой предпочтительно экспрессируемый антиген меланомы (PRAME), содержащим аминокислотную последовательность SLLQHLIGL (SEQ ID NO: 930) (PRAME 425-433), при этом TCR содержит вариабельный домен альфа-цепи, содержащий определяющую комплементарность область (CDR)3, при этом CDR3 содержит аминокислотную последовательность любой из аминокислотных последовательностей CDR3 вариабельного домена альфа-цепи, изложенных в табл. 6.

В другом аспекте в настоящем изобретении представлен Т-клеточный рецептор (TCR) (например, выделенный TCR или TCR, экспрессируемый на выделенной клетке), который специфически связывается с пептидом презентруемого HLA-A2 предпочтительно экспрессируемого антигена меланомы (PRAME), содержащим аминокислотную последовательность SLLQHLIGL (SEQ ID NO: 930) (PRAME 425-433), при этом TCR содержит вариабельный домен бета-цепи, содержащий определяющую комплементарность область (CDR)3, при этом CDR3 содержит аминокислотную последовательность любую из аминокислотных последовательностей CDR3 вариабельного домена бета-цепи, изложенных в табл. 6.

В некоторых вариантах осуществления вариабельный домен альфа-цепи дополнительно содержит CDR1 и CDR2, при этом CDR1 содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR1 вариабельного домена альфа-цепи, изложенных в табл. 6, а CDR2 независимо содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR2 вариабельного домена альфа-цепи, изложенных в табл. 6.

В некоторых вариантах осуществления вариабельный домен бета-цепи дополнительно содержит CDR1 и CDR2, при этом CDR1 содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR1 вариабельного домена бета-цепи, изложенных в табл. 6, а CDR2 независимо содержит любую из аминокислотных последовательностей CDR2 вариабельного домена бета-цепи, изложенных в табл. 6.

TCR может содержать по меньшей мере один вариабельный домен альфа-цепи TCR и/или по меньшей мере один вариабельный домен бета-цепи; или TCR может содержать вариабельный домен альфа-цепи TCR и вариабельный домен бета-цепи TCR.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельного домена альфа-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей вариабельного домена альфа-цепи, приведенных в табл. 8; и CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельного домена бета-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей вариабельного домена бета-цепи, приведенных в табл. 8.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит вариабельный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи, приведенных в табл. 8.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит вариабельный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей вариабельного домена бета-цепи, приведенных в табл. 8.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит: (а) вариабельный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи, приведенных в табл. 8; и (б) вариабельный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей вариабельного домена бета-цепи, приведенных в табл. 8.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит: (а) CDR1 вариабельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 289, 295, 301, 307, 313, 319, 325, 331, 337, 343, 349, 355, 361, 367, 373, 379, 385, 391, 397, 403, 409, 415, 421, 427, 433, 439, 445, 451, 457, 463, 469, 475, 481, 487, 493, 499, 505, 511, 517 и 523; (б) CDR2 вариабельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 290, 296, 302, 308, 314, 320, 326, 332, 338, 344, 350, 356, 362, 368, 374, 380, 386, 392, 398, 404, 410, 416, 422, 428, 434, 440, 446, 452, 458, 464, 470, 476, 482, 488, 494, 500, 506, 512, 518 и 524; (с) CDR3 вариабельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность,

выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 291, 297, 303, 309, 315, 321, 327, 333, 339, 345, 351, 357, 363, 369, 375, 381, 387, 393, 399, 405, 411, 417, 423, 429, 435, 441, 447, 453, 459, 465, 471, 477, 483, 489, 495, 501, 507, 513, 519 и 525; (d) CDR1 варибельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 292, 298, 304, 310, 316, 322, 328, 334, 340, 346, 352, 358, 364, 370, 376, 382, 388, 394, 400, 406, 412, 418, 424, 430, 436, 442, 448, 454, 460, 466, 472, 478, 484, 490, 496, 502, 508, 514, 520 и 526; (e) CDR2 варибельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 293, 299, 305, 311, 317, 323, 329, 335, 341, 347, 353, 359, 365, 371, 377, 383, 389, 395, 401, 407, 413, 419, 425, 431, 437, 443, 449, 455, 461, 467, 473, 479, 485, 491, 497, 503, 509, 515, 521 и 527; и (f) CDR3 варибельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 294, 300, 306, 312, 318, 324, 330, 336, 342, 348, 354, 360, 366, 372, 378, 384, 390, 396, 402, 408, 414, 420, 426, 432, 438, 444, 450, 456, 462, 468, 474, 480, 486, 492, 498, 504, 510, 516, 522 и 528.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит пару аминокислотных последовательностей варибельного домена альфа-цепи/варибельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 825/827, 845/847, 853/855, 857/859, 865/867, 873/875, 885/887, 893/805, 897/899, 901/903, 913/915 и 925/927.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит пару аминокислотных последовательностей варибельного домена альфа-цепи/варибельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 769/771, 773/775, 777/779, 781/783, 785/787, 789/791, 793/795, 797/799, 801/803, 805/807, 809/811, 813/815, 817/819, 821/823, 825/827, 829/831, 833/835, 837/839, 841/843, 845/847, 849/851, 853/855, 857/859, 861/863, 865/867, 869/871, 873/875, 877/879, 881/883, 885/887, 889/891, 893/805, 897/899, 901/903, 905/907, 909/911, 913/915, 917/919, 921/923 и 925/927.

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

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

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

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

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

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

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

В некоторых вариантах осуществления ассоциированное с PRAME заболевание или нарушение представляет собой рак, ассоциированный с PRAME.

В некоторых вариантах осуществления ассоциированный с PRAME рак представляет собой липосаркому, нейробластому, миелому, меланому, метастатическую меланому, синовиальную саркому, рак мочевого пузыря, рак пищевода, плоскоклеточный рак пищевода, гепатоцеллюлярный рак, рак головы и шеи, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, эпителиальный рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, астроцитарную опухоль, мультиформную глиобластому, анапластическую астроцитому, опухоль головного мозга, рак маточной трубы, первичный рак брюшной полости, распространенные солидные опухоли, саркому мягких тканей, саркому, миелодиспластический синдром, острый миелоидный лейкоз, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, болезнь Ходжкина, множественную миелому, метастатические солидные опухоли, колоректальную карциному, рак желудка, рабдомиосаркому, миксоидную круглоклеточную липосаркому, рак эндометрия тела матки, карциносаркому матки, опухоль зародышевых клеток яичка, увеальную меланому, почечно-папиллярно-клеточную карциному, почечную почечно-светлоклеточную карциному, тимому, аденокарциному толстой кишки, плоскоклеточный рак шейки матки, опухоль шейки матки, аденокарциному поджелудочной железы, рак печени, гепатоцеллюлярную карциному, мезотелиому или рецидивирующий немелкоклеточный рак легкого.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения TCR (например, выделенный TCR или TCR, экспрессируемый на выделенной клетке), фармацевтическую композицию или множество кле-

ток по настоящему изобретению вводят субъекту в комбинации с вторым терапевтическим средством.

TCR, фармацевтическую композицию или множество клеток могут быть введены субъекту подкожно, внутривенно, внутривожно, внутривнутрибрюшинно, перорально, внутримышечно или внутривнутричерепно.

В одном аспекте в настоящем изобретении представлена выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая Т-клеточный рецептор (TCR), при этом TCR специфически связывается с пептидом презентруемого HLA-A2 антигена яичка рака, представляющего собой предпочтительно экспрессируемый антиген меланомы (PRAME), содержащим аминокислотную последовательность RLDQLLRHV (SEQ ID NO:929) (PRAME 312-320), при этом TCR содержит вариабельный домен альфа-цепи, содержащий определяющую комплементарность область (CDR)3, при этом CDR3 содержит аминокислотную последовательность любой из аминокислотных последовательностей CDR3 вариабельного домена альфа-цепи, изложенных в табл. 5.

В другом аспекте в настоящем изобретении представлена выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая Т-клеточный рецептор (TCR), при этом TCR специфически связывается с пептидом презентруемого HLA-A2 антигена яичка рака, представляющего собой предпочтительно экспрессируемый антиген меланомы (PRAME), содержащим аминокислотную последовательность RLDQLLRHV (SEQ ID NO:929) (PRAME 312-320), при этом TCR содержит вариабельный домен бета-цепи, содержащий определяющую комплементарность область (CDR)3, при этом CDR3 содержит аминокислотную последовательность любой из аминокислотных последовательностей CDR3 вариабельного домена бета-цепи, изложенных в табл. 5.

В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует по меньшей мере один вариабельный домен альфа-цепи и/или по меньшей мере один вариабельный домен бета-цепи TCR.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит определяющие комплементарность области (CDR) 1, CDR2 и CDR3 вариабельного домена альфа-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей вариабельного домена альфа-цепи, приведенных в табл. 5; и CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельного домена бета-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей вариабельного домена бета-цепи, приведенных в табл. 5.

В некоторых вариантах осуществления TCR (например, выделенный TCR или TCR, экспрессируемый на выделенной клетке) содержит вариабельный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи, приведенных в табл. 5.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит вариабельный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей вариабельного домена бета-цепи, приведенных в табл. 5.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит: (а) вариабельный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи, приведенных в табл. 5; и (b) вариабельный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей вариабельного домена бета-цепи, приведенных в табл. 5.

В некоторых вариантах осуществления выделенный антигенсвязывающий белок содержит: (а) CDR1 вариабельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 7, 13, 19, 25, 31, 37, 43, 49, 55, 61, 67, 73, 79, 85, 91, 97 и 103; (b) CDR2 вариабельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 8, 14, 20, 26, 32, 38, 44, 50, 56, 62, 68, 74, 80, 86, 92, 98 и 104; (c) CDR3 вариабельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3, 9, 15, 21, 27, 33, 39, 45, 51, 57, 63, 69, 75, 81, 87, 93, 99 и 105; (d) CDR1 вариабельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4, 10, 16, 22, 28, 34, 40, 46, 52, 58, 64, 70, 76, 82, 88, 94, 100 и 106; (e) CDR2 вариабельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5, 11, 17, 23, 29, 35, 41, 47, 53, 59, 65, 71, 77, 83, 89, 95, 101 и 107; и (f) CDR3 вариабельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54, 60, 66, 72, 78, 84, 90, 96, 102 и 108.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит пару аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи/вариабельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 217/219, 229/231, 237/239, 241/243 и 285/287.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит пару аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи/вариабельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из

SEQ ID NO: 217/219, 221/223, 225/227, 229/231, 233/235, 237/239, 241/243, 245/247, 249/251, 253/255, 257/259, 261/263, 265/267, 269/271, 273/275, 277/279, 281/283 и 285/287.

В некоторых вариантах осуществления выделенный антигенсвязывающий белок содержит: (a) CDR1 варибельного домена альфа-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 109, 115, 121, 127, 133, 139, 145, 151, 157, 163, 169, 175, 181, 187, 193, 199, 205 и 211; (b) CDR2 варибельного домена альфа-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 110, 116, 122, 128, 134, 140, 146, 152, 158, 164, 170, 176, 182, 188, 194, 200, 206 и 212; (c) CDR3 варибельного домена альфа-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 111, 117, 123, 129, 135, 141, 147, 153, 159, 165, 171, 177, 183, 189, 195, 201, 207 и 213; (d) CDR1 варибельного домена бета-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 112, 118, 124, 130, 136, 142, 148, 154, 160, 166, 172, 178, 184, 190, 196, 202, 208 и 214; (e) CDR2 варибельного домена бета-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 113, 119, 125, 131, 137, 143, 149, 155, 161, 167, 173, 179, 185, 191, 197, 203, 209 и 215; и (f) CDR3 варибельного домена бета-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 114, 120, 126, 132, 138, 144, 150, 156, 162, 168, 174, 180, 186, 192, 198, 204, 210 и 216.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит пару последовательностей нуклеиновой кислоты варибельного домена альфа-цепи/варибельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 218/220, 222/224, 226/228, 230/232, 234/236, 238/240, 242/244, 246/248, 250/252, 254/256, 258/260, 262/264, 266/268, 270/272, 274/276, 278/280, 282/284 и 286/288.

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

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

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

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

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

В некоторых вариантах осуществления ассоциированное с PRAME заболевание или нарушение представляет собой рак, ассоциированный с PRAME.

В некоторых вариантах осуществления ассоциированный с PRAME рак представляет собой липосаркому, нейробластому, миелому, меланому, метастатическую меланому, синовиальную саркому, рак мочевого пузыря, рак пищевода, плоскоклеточный рак пищевода, гепатоцеллюлярный рак, рак головы и шеи, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, эпителиальный рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, астроцитарную опухоль, мультиформную глиобластому, анапластическую астроцитому, опухоль головного мозга, рак маточной трубы, первичный рак брюшной полости, распространенные солидные опухоли, саркому мягких тканей, саркому, миелодиспластический синдром, острый миелоидный лейкоз, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, болезнь Ходжкина, множественную миелому, метастатические солидные опухоли, колоректальную карциному, рак желудка, рабдомиосаркому, миксоидную круглоклеточную липосаркому, рак эндометрия тела матки, карциносаркому матки, опухоль зародышевых клеток яичка, увеальную меланому, почечно-папиллярно-клеточную карциному, почечную почечно-светлоклеточную карциному, тимому, аденокарциному толстой кишки, плоскоклеточный рак шейки матки, опухоль шейки матки, аденокарциному поджелудочной железы, рак печени, гепатоцеллюлярную карциному, мезотелиому или рецидивирующий немелкоклеточный рак легкого.

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

TCR, фармацевтическую композицию или множество клеток могут быть введены субъекту подкожно, внутривенно, внутривожно, внутривнутрино, перорально, внутримышечно или внутривнутрино.

В одном аспекте в настоящем изобретении представлена выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая T-клеточный рецептор (TCR), при этом TCR специфически связывается с пептидом презентруемого HLA-A2 антигена яичка рака, представляющего собой предпочтительно экспрессируемый

антиген меланомы (PRAME), содержащим аминокислотную последовательность SLLQHLIGL (SEQ ID NO:930) (PRAME 425-433), при этом TCR содержит переменный домен альфа-цепи, содержащий определяющую комплементарность область (CDR)3, при этом CDR3 содержит аминокислотную последовательность любой из аминокислотных последовательностей CDR3 переменного домена альфа-цепи, изложенных в табл. 8.

В другом аспекте в настоящем изобретении представлена выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая Т-клеточный рецептор (TCR), при этом TCR специфически связывается с пептидом презентруемого HLA-A2 антигена яичка рака, представляющего собой предпочтительно экспрессируемый антиген меланомы (PRAME), содержащим аминокислотную последовательность SLLQHLIGL (SEQ ID NO: 930) (PRAME 425-433), при этом TCR содержит переменный домен бета-цепи, содержащий определяющую комплементарность область (CDR)3, при этом CDR3 содержит аминокислотную последовательность любой из аминокислотных последовательностей CDR3 переменного домена бета-цепи, изложенных в табл. 8.

В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула нуклеиновой кислоты кодирует по меньшей мере один переменный домен альфа-цепи и/или по меньшей мере один переменный домен бета-цепи TCR.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит определяющие комплементарность области (CDR) 1, CDR2 и CDR3 переменного домена альфа-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в табл. 8; и CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена бета-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей переменного домена бета-цепи, приведенных в табл. 8.

В некоторых вариантах осуществления TCR (например, выделенный TCR или TCR, экспрессируемый на выделенной клетке) содержит переменный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в табл. 8.

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

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит: (а) переменный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи, приведенных в табл. 8; и (b) переменный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей переменного домена бета-цепи, приведенных в табл. 8.

В некоторых вариантах осуществления выделенный антигенсвязывающий белок содержит: (а) CDR1 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 289, 295, 301, 307, 313, 319, 325, 331, 337, 343, 349, 355, 361, 367, 373, 379, 385, 391, 397, 403, 409, 415, 421, 427, 433, 439, 445, 451, 457, 463, 469, 475, 481, 487, 493, 499, 505, 511, 517 и 523; (b) CDR2 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 290, 296, 302, 308, 314, 320, 326, 332, 338, 344, 350, 356, 362, 368, 374, 380, 386, 392, 398, 404, 410, 416, 422, 428, 434, 440, 446, 452, 458, 464, 470, 476, 482, 488, 494, 500, 506, 512, 518 и 524; (c) CDR3 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 291, 297, 303, 309, 315, 321, 327, 333, 339, 345, 351, 357, 363, 369, 375, 381, 387, 393, 399, 405, 411, 417, 423, 429, 435, 441, 447, 453, 459, 465, 471, 477, 483, 489, 495, 501, 507, 513, 519 и 525; (d) CDR1 переменного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 292, 298, 304, 310, 316, 322, 328, 334, 340, 346, 352, 358, 364, 370, 376, 382, 388, 394, 400, 406, 412, 418, 424, 430, 436, 442, 448, 454, 460, 466, 472, 478, 484, 490, 496, 502, 508, 514, 520 и 526; (e) CDR2 переменного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 293, 299, 305, 311, 317, 323, 329, 335, 341, 347, 353, 359, 365, 371, 377, 383, 389, 395, 401, 407, 413, 419, 425, 431, 437, 443, 449, 455, 461, 467, 473, 479, 485, 491, 497, 503, 509, 515, 521 и 527; и (f) CDR3 переменного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 294, 300, 306, 312, 318, 324, 330, 336, 342, 348, 354, 360, 366, 372, 378, 384, 390, 396, 402, 408, 414, 420, 426, 432, 438, 444, 450, 456, 462, 468, 474, 480, 486, 492, 498, 504, 510, 516, 522 и 528.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит пару аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи/переменного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 825/827, 845/847, 853/855, 857/859, 865/867, 873/875, 885/887, 893/805, 897/899, 901/903, 913/915 и 925/927.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит пару аминокислотных последовательностей переменного домена альфа-цепи/переменного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 769/771, 773/775, 777/779, 781/783, 785/787, 789/791, 793/795, 797/799, 801/803, 805/807, 809/811, 813/815, 817/819, 821/823, 825/827, 829/831, 833/835, 837/839, 841/843, 845/847, 849/851, 853/855, 857/859, 861/863, 865/867, 869/871, 873/875, 877/879, 881/883, 885/887, 889/891, 893/895, 897/899, 901/903, 905/907, 909/911, 913/915, 917/919, 921/923 и 925/927.

В некоторых вариантах осуществления выделенный антигенсвязывающий белок содержит: (a) CDR1 переменного домена альфа-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 529, 535, 541, 547, 553, 559, 565, 571, 577, 583, 589, 595, 601, 607, 613, 619, 625, 631, 637, 643, 649, 655, 661, 667, 673, 679, 685, 691, 697, 703, 709, 715, 721, 727, 733, 739, 745, 751, 757 и 763; (b) CDR2 переменного домена альфа-цепи, кодируемой последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 530, 536, 542, 548, 554, 560, 566, 572, 578, 584, 590, 596, 602, 608, 614, 620, 626, 632, 638, 644, 650, 656, 662, 668, 674, 680, 686, 692, 698, 704, 710, 716, 722, 728, 734, 740, 746, 752, 758 и 764; (c) CDR3 переменного домена альфа-цепи, кодируемой последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 531, 537, 543, 549, 555, 561, 567, 573, 579, 585, 591, 597, 603, 609, 615, 621, 627, 633, 639, 645, 651, 657, 663, 669, 675, 681, 687, 693, 699, 705, 711, 717, 723, 729, 735, 741, 747, 753, 759 и 765; (d) CDR1 переменного домена бета-цепи, кодируемой последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 532, 538, 544, 550, 556, 562, 568, 574, 580, 586, 592, 598, 604, 610, 616, 622, 628, 634, 640, 646, 652, 658, 664, 670, 676, 682, 688, 694, 700, 706, 712, 718, 724, 730, 736, 742, 748, 754, 760 и 766; (e) CDR2 переменного домена бета-цепи, кодируемой последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 533, 539, 545, 551, 557, 563, 569, 575, 581, 587, 593, 599, 605, 611, 617, 623, 629, 635, 641, 647, 653, 659, 665, 671, 677, 683, 689, 695, 701, 707, 713, 719, 725, 731, 737, 743, 749, 755, 761 и 767; и (f) CDR3 переменного домена бета-цепи, кодируемой последовательностью нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 534, 540, 546, 552, 558, 564, 570, 576, 582, 588, 594, 600, 606, 612, 618, 624, 630, 636, 642, 648, 654, 660, 666, 672, 678, 684, 690, 696, 702, 708, 714, 720, 726, 732, 738, 744, 750, 756, 762 и 768.

В некоторых вариантах осуществления TCR содержит пару последовательностей нуклеиновой кислоты переменного домена альфа-цепи/переменного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 770/772, 774/776, 778/780, 782/784, 786/788, 790/792, 794/796, 798/800, 802/804, 806/808, 810/812, 814/816, 818/820, 822/824, 826/828, 830/832, 834/836, 838/840, 842/844, 846/848, 850/852, 854/856, 858/860, 862/864, 866/868, 870/872, 874/876, 878/880, 882/884, 886/888, 890/892, 894/896, 898/900, 902/904, 906/908, 910/912, 914/916, 918/920, 922/924 и 926/928.

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

В одном аспекте в данном изобретении представлен способ лечения субъекта, имеющего заболевание или нарушение, ассоциированное с PRAME, включающий введение субъекту множества клеток, содержащих вектор по настоящему изобретению, тем самым осуществляя лечение субъекта.

В некоторых вариантах осуществления ассоциированное с PRAME заболевание или нарушение представляет собой рак, ассоциированный с PRAME.

В некоторых вариантах осуществления ассоциированный с PRAME рак представляет собой липосаркому, нейробластому, миелому, меланому, метастатическую меланому, синовиальную саркому, рак мочевого пузыря, рак пищевода, плоскоклеточный рак пищевода, гепатоцеллюлярный рак, рак головы и шеи, мелкоклеточный рак легкого, рак яичников, эпителиальный рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, астроцитарную опухоль, мультиформную глиобластому, анапластическую астроцитому, опухоль головного мозга, рак маточной трубы, первичный рак брюшной полости, распространенные солидные опухоли, саркому мягких тканей, саркому, миелодиспластический синдром, острый миелоидный лейкоз, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, болезнь Ходжкина, множественную миелому, метастатические солидные опухоли, колоректальную карциному, рак желудка, рабдомиосаркому, миксоидную круглоклеточную липосаркому, рак эндометрия тела матки, карциносаркому матки, опухоль зародышевых клеток яичка, увеальную меланому, почечно-папиллярно-клеточную карциному, почечную почечно-светлоклеточную карциному, тимому, аденокарциному толстой кишки, плоскоклеточный рак шейки матки, опухоль шейки матки, аденокарциному поджелудочной железы, рак печени, гепатоцеллюлярную карциному, мезотелиому или рецидивирующий мелкоклеточный рак легкого.

В некоторых вариантах осуществления множество клеток вводят субъекту в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

Данное изобретение дополнительно проиллюстрировано следующим подробным описанием.

#### **Подробное описание сути изобретения**

В настоящем изобретении представлены Т-клеточные рецепторы (TCR), которые были разработаны против пептидного антигена PRAME в контексте МНС (HLA-A2). Идентифицированные уникальные

последовательности TCR продемонстрировали специфическое связывание с небольшим пептидом PRAME, презентуемым в бороздке молекулы HLA.

#### I. Определения

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

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

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

Термин "содержащий" или "содержит" используется в данном документе в отношении композиций, способов и их соответствующего (соответствующих) компонента (компонентов), которые необходимы для настоящего изобретения, однако он открыт для включения не указанных элементов, существенных или не существенных.

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

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

Термин "вариабельная область" (вариабельная область альфа-цепи (V $\alpha$ ), вариабельная область бета-цепи (V $\beta$ )), как используется в данном документе, обозначает каждую из альфа- и бета-цепей, которая непосредственно участвует в связывании TCR с антигеном.

"Константная область" альфа-цепи и бета-цепи не участвует непосредственно в связывании TCR с антигеном, но проявляет различные эффекторные функции.

Термин "антиген", как используется в данном документе, означает любое вещество, которое заставляет иммунную систему продуцировать антитела или специфические клеточно-опосредованные иммунные ответы в отношении его. Ассоциированный с заболеванием антиген представляет собой любое вещество, ассоциированное с любым заболеванием, которое заставляет иммунную систему продуцировать антитела или опосредованный специфическими клетками ответ в отношении его.

Термин "PRAME" или "предпочтительно экспрессируемый антиген меланомы" относится к хорошо известному антигену рака яичек (СТА), который повторно экспрессируется при многих типах рака.

Нуклеотидная последовательность PRAME известна и может быть найдена, например, в GenBank

под номерами доступа NM\_001291715.2 (SEQ ID NO: 931), NM\_001291716.2 (SEQ ID NO: 932), NM\_001291717.2 (SEQ ID NO: 933), NM\_001291719.2 (SEQ ID NO: 934), NM\_001318126.1 (SEQ ID NO: 935), NM\_001318127.1 (SEQ ID NO: 936), NM\_006115.5 (SEQ ID NO: 937), NM\_206956.3 (SEQ ID NO: 938), NM\_206955.2 (SEQ ID NO: 939), NM\_206954.3 (SEQ ID NO: 940) и NM\_206953.2 (SEQ ID NO: 941). Аминокислотная последовательность полноразмерного PRAME известна и может быть найдена, например, в GenBank под номерами доступа NP\_001278646.1 (SEQ ID NO: 942), NP\_006106.1 (SEQ ID NO: 943), NP\_996837.1 (SEQ ID NO: 944), NP\_996836.1 (SEQ ID NO: 945), NP\_996839.1 (SEQ ID NO: 946), NP\_996838.1 (SEQ ID NO: 947), NP\_001278644.1 (SEQ ID NO: 948), NP\_001305055.1 (SEQ ID NO: 949), NP\_001305056.1 (SEQ ID NO: 950), NP\_001278648.1 (SEQ ID NO: 951) и NP\_001278645.1 (SEQ ID NO: 952). Термин "PRAME" включает рекомбинантный PRAME или его фрагмент. Термин также включает PRAME или его фрагмент, связанный, например, с гистидиновой меткой, мышинным или человеческим Fc или сигнальной последовательностью, такой как ROR1. В определенных вариантах осуществления термин включает в себя PRAME или его фрагмент в контексте HLA-A2, связанного с HLA-A2 или экспонируемого HLA-A2. Используемая в данном документе нумерация определенных аминокислотных остатков PRAME в полноразмерной последовательности PRAME соответствует SEQ ID NO: 944.

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

Термин "HLA-A" относится к группе лейкоцитарных антигенов человека (HLA), которые кодируются локусом HLA-A. HLA-A представляет собой один из трех основных типов рецепторов клеточной поверхности МНС I класса человека. Рецептор представляет собой гетеродимер и состоит из тяжелой  $\alpha$ -цепи и меньшей  $\beta$ -цепи.  $\alpha$ -цепь кодируется вариантом гена HLA-A, а  $\beta$ -цепь ( $\beta$ 2-микроглобулин) представляет собой инвариантную молекулу  $\beta$ 2-микроглобулина.

Термин "HLA-A2" (который также может называться HLA-A2\*01 или HLA-A\*0201 или HLA-A\*02:01) представляет собой одну конкретную группу аллелей главного комплекса гистосовместимости (МНС) I класса в локусе HLA-A;  $\alpha$ -цепь кодируется геном HLA-A\*02, а  $\beta$ -цепь кодируется локусом  $\beta$ 2-микроглобулина или B2M.

Термин "специфически связывается" или "специфически связывается с" и т.п. означает, что TCR образует комплекс с антигеном, который относительно стабилен в физиологических условиях. Специфическое связывание можно охарактеризовать константой равновесной диссоциации, составляющей по меньшей мере приблизительно  $1 \times 10^{-6}$  М или меньше, например,  $1 \times 10^{-8}$  М или меньше (например, меньшее значение  $K_D$  означает более прочное связывание). Способы определения того, связываются ли две молекулы специфически, хорошо известны из уровня техники и включают, например, равновесный диализ, поверхностный плазмонный резонанс и т.п. Как описано в данном документе, TCR по настоящему изобретению специфически связываются с пептидом презентуемого HLA-A2 ракового антигена яичка, представляющего собой предпочтительно экспрессируемый антиген меланомы (PRAME), например, пептидом, содержащим аминокислотные остатки 312-320 или 425-433 PRAME (например, полноразмерной последовательности PRAME под SEQ ID NO: 944).

Термин "нецелевой пептид" относится к пептиду, который отличается на 1, 2, 3, 4, 5 или более аминокислот от целевого пептида (например, пептида PRAME 312-320 или пептида PRAME 425-433). В определенных вариантах осуществления термин включает в себя пептид, который отличается менее или 3 аминокислотами от целевого пептида. Например, для 9-мерного пептида, если 1, 2 или 3 аминокислоты не идентичны целевому пептиду, он считается "нецелевым" пептидом. В определенных вариантах осуществления идентичность аминокислот выражается в терминах "степени сходства" (DoS). Если 6 или более аминокислот в 9-мерном пептиде идентичны, DoS равна 6. В определенных вариантах осуществления пептид с  $\text{DoS} \leq 6$  считается "нецелевым" пептидом. Термин "нецелевой" пептид также относится к пептиду, который подобен целевому пептиду на основании гомологии последовательности, предположительно связывается с HLA-A2 и содержится в белке, который экспрессируется в основных нормальных тканях. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления TCR по данному раскрытию может связываться с презентуемым HLA-A2 пептидом PRAME (например, пептидом, содержащим аминокислотные остатки 312-320 или 425-433 PRAME) с аффинностью, соответствующей значению  $K_D$ , которое по меньшей мере в десять раз ниже, чем его аффинность связывания по отношению к нецелевому пептиду.

Термин "выделенный" относится к композиции, соединению, веществу или молекуле, измененным человеком по отношению к естественному состоянию. Например, композиция или вещество, встречающееся в природе, выделяется, если они были изменены или удалены из своей исходной среды, или и то, и другое. Например, полинуклеотид или полипептид, естественно присутствующий в живом животном, не является выделенным, но тот же полинуклеотид или полипептид, является выделенным из сосуществующих материалов в его естественном состоянии, как этот термин используется в данном документе. Более конкретно, выделенный TCR может относиться к TCR, который был удален из клетки, например, к

TCR, который был очищен. TCR также могут быть экспрессированы выделенной клеткой, например, клеткой, выделенной из животного, или клеткой из клеточной культуры. В этом контексте выделенная клетка может экспрессировать TCR на своей поверхности (т. е. клетка может "презентировать" TCR).

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

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

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

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

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

Термин "поверхностный плазмонный резонанс", как используется в данном документе, относится к оптическому явлению, которое позволяет анализировать биомолекулярные взаимодействия в реальном времени путем обнаружения изменений концентраций белка в матрице биосенсора, например, с использованием системы BIACORE™ (Pharmacia Biosensor AB, Упсала, Швеция, и Пискатауэй, Нью-Джерси).

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

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

кодируемый референтной молекулой нуклеиновой кислоты.

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

Применительно к полипептидам термин "значительное сходство" или "по сути сходный" означает, что две пептидные последовательности при оптимальном выравнивании, например, с применением программ GAP или BESTFIT с использованием штрафов за открытие гэпов по умолчанию, имеют по меньшей мере 90% идентичности последовательности, даже более предпочтительно по меньшей мере 95, 96, 97, 98 или 99% идентичности последовательности. Предпочтительно положения остатков, которые не являются идентичными, отличаются консервативными аминокислотными заменами. "Консервативная аминокислотная замена" представляет собой замену, при которой аминокислотный остаток заменяется другим аминокислотным остатком, имеющим боковую цепь (R-группу) с аналогичными химическими свойствами (например, зарядом или гидрофобностью). Как правило, консервативная аминокислотная замена значительно не изменит функциональные свойства белка. В случаях, когда две или более аминокислотные последовательности отличаются друг от друга консервативными заменами, процент или степень сходства можно корректировать в сторону повышения в целях коррекции консервативной природы замены. Специалистам в данной области техники хорошо известны средства для создания такой коррекции. См., например, Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331, которая включена в данный документ посредством ссылки. Примеры групп аминокислот, которые содержат боковые цепи с аналогичными химическими свойствами, включают 1) алифатические боковые цепи: глицин, аланин, валин, лейцин и изолейцин; 2) алифатические гидроксильные боковые цепи: серин и треонин; 3) амидсодержащие боковые цепи: аспарагин и глутамин; 4) ароматические боковые цепи: фенилаланин, тирозин и триптофан; 5) основные боковые цепи: лизин, аргинин и гистидин; 6) кислые боковые цепи: аспартат и глутамат и 7) серосодержащие боковые цепи представляют собой цистеин и метионин. Предпочтительными группами консервативных аминокислотных замен являются валин-лейцин-изолейцин, фенилаланин-тирозин, лизин-аргинин, аланин-валин, глутамин-аспартат и аспарагин-глутамин. В качестве альтернативы консервативная замена представляет собой любое изменение, имеющее положительное значение в логарифмической матрице правдоподобия PAM250, раскрываемой в работе Gonnet et al. (1992) *Science* 256: 1443-45, включенной в данный документ посредством ссылки. "Умеренно консервативная" замена представляет собой любое изменение, имеющее неотрицательное значение в логарифмической матрице правдоподобия PAM250.

Сходство последовательностей полипептидов обычно измеряется с применением программного обеспечения для анализа последовательностей. Компьютерная программа для анализа белков совмещает аналогичные последовательности с помощью показателей сходства, присваиваемых различным заменам, делециям и другим модификациям, в том числе консервативным аминокислотным заменам. Например, программное обеспечение GCG содержит программы, такие как GAP и BESTFIT, которые можно использовать с параметрами по умолчанию в целях определения гомологии последовательностей или идентичности последовательностей между тесно связанными полипептидами, такими как гомологичные полипептиды от различных видов организмов, или между белком дикого типа и его мутантом. См., например, GCG версии 6.1. Полипептидные последовательности также можно сравнивать с помощью FASTA с применением параметров по умолчанию или рекомендованных параметров, программного обеспечения в GCG версии 6.1. FASTA (например, FASTA2 и FASTA3) предусматривает выравнивания и процент идентичности участков наилучшего перекрытия между запрашиваемой и найденной последовательностями (Pearson (2000), выше). Последовательности также можно сравнивать с помощью алгоритма поиска гомологии Смита-Уотермана с использованием поиска аффинных гэпов, при этом штраф за открытие гэпа составляет 12 и штраф за продление гэпа составляет 2, матрица BLOSUM составляет 62. Другим предпочтительным алгоритмом при сравнении последовательности по настоящему изобретению с базой данных, содержащей большое число последовательностей от различных организмов, является компьютерная программа BLAST, особенно BLASTP или TBLASTN, с применением параметров по умолчанию. См., например, Altschul et al. (1990) *J. Mol. Biol.* 215: 403-410, и (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402, каждая из которых включена в данный документ посредством ссылки.

"TCR, происходящий от пациента" представляет собой TCR, который образуется путем выделения альфа- и бета-цепей реактивного в отношении PRAME TCR, выделенного из T-лимфоцитов, которые опосредуют регрессию опухоли *in vivo* у субъекта, у которого имеется ассоциированный с PRAME рак.

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

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

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

Как описано в данном документе, TCR по настоящему изобретению можно "вводить" субъекту. "Введение" TCR по настоящему изобретению включает без ограничения введение клетки, экспрессирующей TCR по настоящему изобретению (например, эффекторной клетки, такой как Т-клетка), введение нуклеиновой кислоты, экспрессирующей TCR по настоящему изобретению (например, вектор, экспрессирующий такой TCR), и введение полипептида, содержащего TCR по настоящему изобретению, при этом полипептид был выполнен в формате, соответствующему такому введению (например, биспецифический полипептид, содержащий цепь TCR и цепь CD3-связывающего антитела).

Как используется в данном документе, термин "субъект" относится к животному, предпочтительно млекопитающему, нуждающемуся в нормализации, предупреждении и/или лечении ассоциированного с PRAME заболевания или нарушения, такого как ассоциированный с PRAME рак (например, PRAME-положительный рак). Термин включает в себя субъектов, у которых имеется ассоциированное с PRAME заболевание или нарушение, или имеется риск его развития, такое как ассоциированный с PRAME рак.

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

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

## II. Т-клеточные рецепторы (TCR) к PRAME и композиции, содержащие TCR к PRAME

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

Т-клетки связывают эпитопы на малых антигенных детерминантах на поверхности антигенпрезентирующих клеток, которые ассоциированы с основным комплексом гистосовместимости (МНС; у мышей) или комплексом лейкоцитарного антигена человека (HLA; у человека). Т-клетки связывают эти

эпитопы посредством комплекса Т-клеточного рецептора (TCR) на поверхности Т-клетки. Т-клеточные рецепторы представляют собой гетеродимерные структуры, состоящие из цепей двух типов:  $\alpha$ - (альфа) и  $\beta$  (бета)-цепи или  $\gamma$ - (гамма) и  $\delta$  (дельта)-цепи.  $\alpha$ -цепь кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты, расположенной в  $\alpha$ -локусе (в хромосоме 14 человека или мыши), которая также охватывает весь  $\delta$ -локус, а  $\beta$ -цепь кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты, расположенной в  $\beta$ -локусе (в хромосоме 6 мыши или хромосоме 7 человека). Большинство Т-клеток содержат  $\alpha\beta$  TCR; в то время как меньшая часть Т-клеток несет  $\gamma\delta$  TCR.

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

Были раскрыты общая структура молекул TCR и способы получения и применения, включая связывание пептид:главный комплекс гистосовместимости. См., например, PCT/US 98/04274; PCT/US 98/20263; WO 99/60120.

Отличные от человека животные (например, грызуны, например, мыши или крысы) могут быть генетически сконструированы для экспрессии человеческого или гуманизированного Т-клеточного рецептора (TCR), содержащего переменный домен, кодируемый по меньшей мере одним сегментом гена переменной области человеческого TCR, как описано, например, в публикации PCT № WO 2016/164492, полное содержание которой включено в данный документ посредством ссылки. Например, технология мыши VelocIT® (Regeneron), генетически модифицированной мыши, которая позволяет продуцировать полностью человеческие терапевтические TCR против опухолевых и/или вирусных антигенов, может быть использована для получения TCR по настоящему изобретению. Специалисты в данной области техники с помощью стандартных методик мутагенеза в сочетании с анализами, описанными в данном документе, могут получить измененные последовательности TCR и исследовать их в отношении определенной аффинности и/или специфичности связывания. Пригодные методики мутагенеза, известные из уровня техники, включают без ограничения синтез гена *de novo*, олигонуклеотид-направленный мутагенез, сайт-специфический мутагенез, мутагенез со сканированием линкера и сайт-направленный мутагенез с помощью ПЦР (см., например, Sambrook et al. (1989), и Ausubel et al. (1999)).

Вкратце, в некоторых вариантах осуществления способы образования TCR к пептиду PRAME 312-320 или пептиду PRAME 425-433 могут включать иммунизацию отличного от человека животного (например, грызуна, например, мыши или крысы), такого как генно-инженерное отличное от человека животное, которое содержит в своем геноме ререаранжированный переменный локус гена TCR человека с пептидом PRAME 312-320 или пептидом PRAME 425-433; позволяя животному вызвать иммунный ответ в отношении пептида; выделение от животного Т-клетки, реактивной в отношении к пептиду; определение последовательности нуклеиновой кислоты переменной области человеческого TCR, экспрессируемой Т-клеткой; клонирование переменной области человеческого TCR в нуклеотидную конструкцию, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты константной области человеческого TCR, так что переменная область человеческого TCR функционально связана с константной областью человеческого TCR; и экспрессию из конструкции человеческого Т-клеточного рецептора, специфического в отношении пептида PRAME 312-320 или пептида PRAME 425-433 соответственно. В некоторых вариантах осуществления стадии выделения Т-клетки, определения последовательности нуклеиновой кислоты переменной области человеческого TCR, экспрессируемой Т-клеткой, клонирования переменной области человеческого TCR в нуклеотидную конструкцию, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты константной области человеческого TCR и экспрессии Т-клеточного рецептора человека осуществляют с использованием стандартных методик, известных специалистам в данной области техники.

В некоторых вариантах осуществления нуклеотидная последовательность, кодирующая Т-клеточный рецептор, специфичный для антигена, представляющего интерес, экспрессируется в клетке. В некоторых вариантах осуществления клетку, экспрессирующую TCR, выбирают из клетки CHO, COS, 293, HeLa, PERC.6™ и т.д.

При получении вариантов кодирующих последовательностей TCR специалистам в данной области техники будет понятно, что белки, происходящие от TCR, могут быть модифицированы с использованием определенных аминокислотных замен, добавлений, делеций и посттрансляционных модификаций без потери или снижения биологической активности. В частности, хорошо известно, что консервативные

аминокислотные замены, т.е., замена одной аминокислоты другой аминокислотой аналогичного размера, заряда, полярности и конформации, маловероятно существенно изменят функцию белка. 20 стандартных аминокислот, которые входят в состав белков, можно в общих чертах разделить на четыре группы консервативных аминокислот следующим образом: неполярная (гидрофобная) группа включает в себя аланин, изолейцин, лейцин, метионин, фенилаланин, пролин, триптофан и валин; полярная (незаряженная, нейтральная) группа включает в себя аспарагин, цистеин, глутамин, глицин, серин, треонин и тирозин; положительно заряженная (основная) группа содержит аргинин, гистидин и лизин; и отрицательно заряженная (кислая) группа содержит аспарагиновую кислоту и глутаминовую кислоту. Замена в белке одной аминокислоты другой в пределах одной и той же группы маловероятно окажет отрицательное влияние на биологическую активность белка.

В некоторых вариантах осуществления TCR по настоящему изобретению может содержать последовательность CDR (например, последовательность CDR3, такую как V $\alpha$  CDR3 или V $\beta$  CDR3) с 1 или более заменами по сравнению с последовательностью CDR (например, последовательностью CDR3, такой как CDR3 V $\alpha$  или CDR3 V $\beta$ ) из табл. 5 или 8. Например, TCR по настоящему изобретению может содержать последовательность CDR с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или больше заменами по сравнению с последовательностью CDR из табл. 5 или 8. Как правило, TCR по настоящему изобретению функционируют посредством связывания с презентуемым HLA-A2 пептидом PRAME 312-320 или презентуемым HLA-A2 пептидом PRAME 425-433. Как используется в данном документе, презентуемый HLA пептид (такой как презентуемый HLA-A2 пептид), может относиться к пептиду, который связан с белком лейкоцитарного антигена человека (HLA), например, белком HLA, экспрессируемым на поверхности клетки. Таким образом, TCR, который связывается с презентуемым HLA пептидом, связывается с пептидом, который связывается HLA и необязательно также связывается с самим HLA. Взаимодействие с HLA может придавать специфичность связывания с пептидом, презентуемым конкретным HLA. В некоторых вариантах осуществления TCR связывается с выделенным презентуемым HLA пептидом. В некоторых вариантах осуществления TCR связывается с презентуемым HLA пептидом на поверхности клетки.

Как правило, TCR по настоящему изобретению могут функционировать посредством связывания с презентуемым HLA-A2 пептидом PRAME (например, PRAME 312-320 или PRAME 425-433).

Настоящее изобретение включает в себя TCR к PRAME, которые связывают пептид PRAME 312-320 или пептид PRAME 425-433 в контексте HLA-A2 с высокой специфичностью. В некоторых вариантах осуществления TCR к PRAME не связываются с пептидом PRAME 312-320 или пептидом PRAME 425-433 в отсутствие HLA-A2, или такое связывание является минимальным. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления TCR к PRAME не связываются с нецелевым пептидом в контексте HLA-A2, или такое связывание является минимальным. Как используется в данном документе, термин "нецелевой пептид" может относиться к пептиду, который отличается от целевого пептида на 1, 2, 3, 4, 5 или больше аминокислот. В некоторых вариантах осуществления специфичность связывания может быть определена посредством а) измерения целевого связывания (например, связывания с презентуемым HLA-A2 пептидом PRAME (312-320) или связывания презентуемого HLA-A2 пептида PRAME (425-433)), б) измерения нецелевого связывания и с) количественной оценки разницы между ними, например, путем вычисления соотношения. Это соотношение может быть вычислено, например, путем деления значений, полученных в пунктах а) и б). Измерение целевого и нецелевого связывания может быть достигнуто, например, путем измерения % связывания с пептидом/тетрамерным реагентом HLA (например, тетрамерный реагент PRAME/HLA) или с применением других методик, известных из уровня техники. В некоторых вариантах осуществления значение соотношения целевое связывание/нецелевое связывание (например, значение, полученное путем деления значений, полученных в пунктах а) и б), описанных выше) TCR по настоящему изобретению может составлять более чем 5, более чем 6, более чем 7, более чем 8, более чем 9, более чем 10, более чем 11, более чем 12, более чем 13, более чем 14, более чем 15, более чем 16, более чем 17, более чем 18, более чем 19, более чем 20, более чем 21, более чем 22, более чем 23, более чем 24, более чем 25, более чем 26, более чем 27, более чем 28, более чем 29, более чем 30, более чем 35, более чем 40, более чем 45, более чем 50, более чем 55, более чем 60, более чем 65, более чем 70, более чем 75, более чем 80, более чем 85, более чем 90, более чем 95, более чем 100, более чем 110, более чем 120, более чем 130, более чем 140, более чем 150, более чем 160, более чем 170, более чем 180, более чем 190, более чем 200, более чем 225, более чем 250, более чем 275, более чем 300, более чем 325, более чем 350, более чем 375, более чем 400, более чем 425, более чем 450, более чем 475, более чем 500, более чем 550, более чем 600, более чем 650, более чем 700, более чем 750, более чем 800, более чем 850, более чем 900, более чем 950, более чем 1000, более чем 1100, более чем 1200, более чем 1300, более чем 1400, более чем 1500, более чем 1600, более чем 1700, более чем 1800, более чем 1900 или более 2000. В некоторых вариантах осуществления значение соотношения целевое связывание/нецелевое связывание (например, значение, полученное путем деления значений, полученных в пунктах а) и б), описанных выше) может составлять от приблизительно 5 до приблизительно 20, от приблизительно 10 до приблизительно 30, от приблизительно 20 до приблизительно 80, от приблизительно 30 до приблизительно 70, от приблизительно 40 до приблизительно 60, от приблизительно 50 до приблизительно 250, от приблизительно 100

до приблизительно 200, от приблизительно 100 до приблизительно 1000, от приблизительно 300 до приблизительно 700, от приблизительно 500 до приблизительно 1500, от приблизительно 800 до приблизительно 1200, от приблизительно 900 до приблизительно 1100, от приблизительно от 800 до приблизительно 1500, от приблизительно 1000 до приблизительно 1400 или от приблизительно 1100 до приблизительно 1300.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен рекомбинантный антигенсвязывающий белок (например, выделенный антигенсвязывающий белок), который специфически связывается с конформационным эпитопом презентуемого HLA-A2 пептида, представляющего собой PRAME человека (312-320), или с конформационным эпитопом презентуемого HLA-A2 пептида, представляющего собой PRAME человека (425-433), при этом антигенсвязывающий белок характеризуется свойством, выбранным из группы, состоящей из: (а) связывает мономерный пептид HLA-A2: PRAME (312-320) или мономерный пептид PRAME (312-320) с константой равновесия при диссоциации связывания ( $K_D$ ), составляющей менее приблизительно 20 нМ, как измерено в анализе поверхностного плазмонного резонанса при 25°C; (b) связывает мономерный пептид HLA-A2: PRAME (425-433) или мономерный пептид PRAME (425-433) с константой равновесия при диссоциации связывания ( $K_D$ ), составляющей менее приблизительно 25 нМ, как измерено в анализе поверхностного плазмонного резонанса при 25°C; (c) связывается с клетками, экспрессирующими пептид HLA-A2: PRAME (312-320), или клетками, экспрессирующими пептид PRAME (425-433), со значением  $EC_{50}$ , составляющим менее приблизительно 6 нМ, и не связываются с клетками, экспрессирующими предположительные нецелевые пептиды, как определено посредством люминесцентного анализа; (d) связывается с клетками, экспрессирующими пептид HLA-A2: PRAME (312-320), или клетками, экспрессирующими пептид PRAME (425-433), со значением  $EC_{50}$ , составляющим менее около 1 нМ, и по сути не связываются с клетками, экспрессирующими предположительные нецелевые пептиды, как определено посредством люминесцентного анализа; (e) связывается с клетками, экспрессирующими пептид HLA-A2: PRAME (312-320), или клетками, экспрессирующими пептид PRAME (425-433), со значением  $EC_{50}$ , составляющим менее около 30 нМ, как определено посредством проточно-цитометрического анализа; (f) связывается с клетками, экспрессирующими пептид HLA-A2: PRAME (312-320), или клетками, экспрессирующими пептид PRAME (425-433), с  $EC_{50}$  менее чем приблизительно 75 нМ, определенной с помощью проточно-цитометрического анализа; и (g) конформационный эпитоп содержит одну или несколько аминокислот SEQ ID NO: 944.

В некоторых вариантах осуществления TCR к PRAME по настоящему изобретению характеризуются специфической активностью или аффинностью в отношении PRAME (312-320) или в отношении PRAME (425-433), как измеряется посредством анализа *in vitro*. Например, клетки (такие как клетки T2), экспрессирующие HLA, могут быть активированы полипептидом PRAME (312-320) или PRAME (425-433) или нецелевым полипептидом, за счет чего осуществляется индукция клеток к презентации полипептида, связанного с HLA. В качестве альтернативы или в качестве дополнения к применению нецелевого полипептида в качестве контроля можно использовать нецелевой HLA (HLA, отличный от HLA, который распознается TCR, представляющим интерес).

Например, нецелевой HLA можно использовать для презентации пептида PRAME для исследования специфичности связывания с презентуемым HLA-A2 пептидом PRAME. Кроме того, контроль может представлять собой линию клеток, которая не экспрессирует ни PRAME, ни целевой HLA (например, HLA-A2). Клетки можно кокультивировать с популяцией T-клеток, экспрессирующих TCR, представляющий интерес, и измерять активность в виде функции количества цитокина (такого как интерферон гамма), продуцируемого клетками. В определенных вариантах осуществления анализ может включать кокультивирование популяции TCR-экспрессирующих T-клеток *in vitro* с нагруженными  $10^{-10}$  М пептида клетками T2 при соотношении эффекторная клетка:целевая клетка 1:1 ( $1 \times 10^5$  эффекторных клеток/96 лунок) и измерение интерферона гамма через 24 ч после кокультивирования (например, с применением Sector Imager Meso Scale Discovery (MSD®)). В определенных вариантах осуществления анализ может включать кокультивирование *in vitro* популяции T-клеток, экспрессирующих TCR, и эффекторных клеток при соотношении эффекторная клетка:целевая клетка 5:1 ( $2,5 \times 10^5$  эффекторных клеток:  $5 \times 10^4$  целевых клеток), и измерение интерферона гамма через 24 ч после кокультивирования (например, с применением Sector Imager Meso Scale Discovery (MSD®)).

Возрастающее количество детектируемых цитокинов может выступать в качестве показателя активности. Активность или специфичность TCR, представляющего интерес, в отношении его целевого пептида по сравнению с контрольным (нецелевым) полипептидом, или активность или специфичность TCR, представляющего интерес, в отношении его целевого пептида, связанного с целевым HLA, по сравнению с целевым пептидом, связанным с нецелевым HLA, может быть 2-кратной или большей, 3-кратной или большей, 4-кратной или большей, 5-кратной или большей, 6-кратной или большей, 7-кратной или большей, 8-кратной или большей, 9-кратной или большей, 10-кратной или большей, 15-кратной или большей, 20-кратной или большей, 30-кратной или большей, 40-кратной или большей, 50-кратной или большей, 100-кратной или большей, 200-кратной или большей, 300-кратной или большей, 400-кратной или большей, 500-кратной или большей, 600-кратной или большей, 700-кратной или боль-

шей, 800-кратной или большей, 900-кратной или большей, 1000-кратной или большей, 1500-кратной или большей, 2000-кратной или большей, 2500-кратной или большей, 3000-кратной или большей, 4000-кратной или большей, 5000-кратной или большей, 10000-кратной или большей, 20000-кратной или большей, 30000-кратной или большей, 40000-кратной или большей, 50000-кратной или большей, 60000-кратной или большей, 70000-кратной или большей, 80000-кратной или большей, 90000-кратной или большей или 100000-кратной или большей.

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

В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен TCR (например, выделенный TCR или TCR, экспрессируемый на выделенной клетке), который специфически связывается с презентуемым HLA-A2 пептидом PRAME 312-320, при этом антигенсвязывающий белок характеризуется одной или несколькими из следующих характеристик: (i) содержит вариабельный домен альфа-цепи, содержащий определяющую комплементарность область (CDR)3, при этом CDR3 содержит аминокислотную последовательность любой из аминокислотных последовательностей CDR3 вариабельного домена альфа-цепи, изложенных в табл. 3; (ii) содержит вариабельный домен бета-цепи, содержащий определяющую комплементарность область (CDR)3, при этом CDR3 содержит аминокислотную последовательность любой из аминокислотных последовательностей CDR3 вариабельного домена бета-цепи, изложенных в табл. 3; (iii) содержит CDR1 вариабельного домена альфа-цепи, содержащую любую из аминокислотных последовательностей CDR1, изложенных в табл. 3, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%, и CDR2 вариабельного домена альфа-цепи, независимо содержащую любую из аминокислотных последовательностей CDR2, изложенных в табл. 3, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (iv) содержит CDR1 вариабельного домена бета-цепи, содержащую любую из аминокислотных последовательностей CDR1, изложенных в табл. 3, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%, и CDR2 вариабельного домена бета-цепи, независимо содержащую любую из аминокислотных последовательностей CDR2, изложенных в табл. 3, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (v) содержит CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельного домена альфа-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей вариабельного домена альфа-цепи, приведенных в табл. 5, или по сути аналогичной им последовательности, идентичной по меньшей мере на 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; и CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельного домена бета-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей вариабельного домена бета-цепи, приведенных в табл. 5, или по сути аналогичной им последовательности, идентичной по меньшей мере на 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (vi) содержит вариабельный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98%, 99% или около 100% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи, приведенных в табл. 5; (vii) содержит вариабельный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98%, 99% или около 100% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей вариабельного домена бета-цепи, приведенных в табл. 5; (viii) содержит (a) вариабельный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или около 100% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей вариабельного домена альфа-цепи, приведенных в табл. 5; и (b) вариабельный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98%, 99% или около 100% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных

последовательностей варибельного домена бета-цепи, приведенных в табл. 5; (ix) содержит: (a) CDR1 варибельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 7, 13, 19, 25, 31, 37, 43, 49, 55, 61, 67, 73, 79, 85, 91, 97 и 103, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере 99%; (b) CDR2 варибельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 8, 14, 20, 26, 32, 38, 44, 50, 56, 62, 68, 74, 80, 86, 92, 98 и 104, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную по меньшей мере на 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (c) CDR3 варибельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3, 9, 15, 21, 27, 33, 39, 45, 51, 57, 63, 69, 75, 81, 87, 93, 99 и 105, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную по меньшей мере на 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (d) CDR1 варибельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4, 10, 16, 22, 28, 34, 40, 46, 52, 58, 64, 70, 76, 82, 88, 94, 100 и 106, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную по меньшей мере на 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (e) CDR2 варибельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5, 11, 17, 23, 29, 35, 41, 47, 53, 59, 65, 71, 77, 83, 89, 95, 101 и 107, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную по меньшей мере на 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; и (f) CDR3 варибельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54, 60, 66, 72, 78, 84, 90, 96, 102 и 108, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (x) содержит пару аминокислотных последовательностей варибельного домена альфа-цепи/варибельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 217/219, 229/231, 237/239, 241/243 и 285/287, или по сути аналогичную им последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% идентичность последовательности; (xi) содержит пару аминокислотных последовательностей варибельного домена альфа-цепи/варибельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 217/219, 221/223, 225/227, 229/231, 233/235, 237/239, 241/243, 245/247, 249/251, 253/255, 257/259, 261/263, 265/267, 269/271, 273/275, 277/279, 281/283 и 285/287, или по сути аналогичную им последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% идентичность последовательности; (xii) не связывается специфически с клетками, экспрессирующими предположительные нецелевые пептиды, но не пептид презентируемого HLA-A2 PRAME 312-320, как определено посредством люминесцентного анализа; и/или (xiii) активирует Т-клеточный ответ примерно в два раза сильнее, чем PRAME-специфический TCR, полученный от пациента, например, активирует Т-клеточный ответ в приблизительно два раза больше, или в приблизительно три раза больше, или в приблизительно четыре раза больше, чем происходящий от пациента PRAME-специфический TCR, измеряемого с применением TCR-опосредованного люминесцентного биоанализа передачи сигналов с участием Т-клеток.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен TCR (например, выделенный TCR или TCR, экспрессируемый на выделенной клетке), который специфически связывается с презентируемым HLA-A2 пептидом PRAME 425-433, при этом антигенсвязывающий белок характеризуется одной или несколькими из следующих характеристик: (i) содержит варибельный домен альфа-цепи, содержащий определяющую комплементарность область (CDR)3, при этом CDR3 содержит аминокислотную последовательность любой из аминокислотных последовательностей CDR3 варибельного домена альфа-цепи, изложенных в табл. 6; (ii) содержит варибельный домен бета-цепи, содержащий определяющую комплементарность область (CDR)3, при этом CDR3 содержит аминокислотную последовательность любой из аминокислотных последовательностей CDR3 варибельного домена бета-цепи, изложенных в табл. 6; (iii) содержит CDR1 варибельного домена альфа-цепи, содержащую любую из аминокислотных последовательностей CDR1, изложенных в табл. 6, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%, и CDR2 варибельного домена альфа-цепи, независимо содержащую любую из аминокислотных последовательностей CDR2, изложенных в табл. 6, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (iv) содержит CDR1 варибельного домена бета-цепи, содержащую любую из аминокислотных последовательностей CDR1, изложенных в табл. 6, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%, и CDR2 варибельного домена бета-

та-цепи, независимо содержащую любую из аминокислотных последовательностей CDR2, изложенных в табл. 6, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную по меньшей мере на 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (v) содержит CDR1, CDR2 и CDR3 варибельного домена альфа-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей варибельного домена альфа-цепи, приведенных в табл. 8, или по сути аналогичной им последовательности, идентичной по меньшей мере на 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельного домена бета-цепи, содержащиеся в любой из последовательностей варибельного домена бета-цепи, приведенных в табл. 8, или по сути аналогичной им последовательности, идентичной на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (vi) содержит варибельный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98%, 99% или около 100% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей варибельного домена альфа-цепи, приведенных в табл. 8; (vii) содержит варибельный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98%, 99% или около 100% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей варибельного домена бета-цепи, приведенных в табл. 8; (viii) содержит (a) варибельный домен альфа-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или около 100% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей варибельного домена альфа-цепи, приведенных в табл. 8; и (b) варибельный домен бета-цепи, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% 96%, 97%, 98%, 99% или около 100% идентична полной аминокислотной последовательности любой из аминокислотных последовательностей аминокислотных последовательностей варибельного домена бета-цепи, приведенных в табл. 8; (ix) содержит (a) CDR1 варибельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 289, 295, 301, 307, 313, 319, 325, 331, 337, 343, 349, 355, 361, 367, 373, 379, 385, 391, 397, 403, 409, 415, 421, 427, 433, 439, 445, 451, 457, 463, 469, 475, 481, 487, 493, 499, 505, 511, 517 и 523, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (b) CDR2 варибельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 290, 296, 302, 308, 314, 320, 326, 332, 338, 344, 350, 356, 362, 368, 374, 380, 386, 392, 398, 404, 410, 416, 422, 428, 434, 440, 446, 452, 458, 464, 470, 476, 482, 488, 494, 500, 506, 512, 518 и 524, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (c) CDR3 варибельного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 291, 297, 303, 309, 315, 321, 327, 333, 339, 345, 351, 357, 363, 369, 375, 381, 387, 393, 399, 405, 411, 417, 423, 429, 435, 441, 447, 453, 459, 465, 471, 477, 483, 489, 495, 501, 507, 513, 519 и 525, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (d) CDR1 варибельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 292, 298, 304, 310, 316, 322, 328, 334, 340, 346, 352, 358, 364, 370, 376, 382, 388, 394, 400, 406, 412, 418, 424, 430, 436, 442, 448, 454, 460, 466, 472, 478, 484, 490, 496, 502, 508, 514, 520 и 526, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (e) CDR2 варибельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 293, 299, 305, 311, 317, 323, 329, 335, 341, 347, 353, 359, 365, 371, 377, 383, 389, 395, 401, 407, 413, 419, 425, 431, 437, 443, 449, 455, 461, 467, 473, 479, 485, 491, 497, 503, 509, 515, 521 и 527, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; и (f) CDR3 варибельного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 294, 300, 306, 312, 318, 324, 330, 336, 342, 348, 354, 360, 366, 372, 378, 384, 390, 396, 402, 408, 414, 420, 426, 432, 438, 444, 450, 456, 462, 468, 474, 480, 486, 492, 498, 504, 510, 516, 522 и 528, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (x) содержит пару аминокислотных последовательностей варибельного домена альфа-цепи/варибельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 825/827, 845/847, 853/855, 857/859, 865/867, 873/875, 885/887, 893/805, 897/899, 901/903, 913/915 и 925/927, или по сути аналогичную им последовательность, идентичную на по меньшей мере

90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%; (xi) содержит пару аминокислотных последовательностей варибельного домена альфа-цепи/варибельного домена бета-цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 769/771, 773/775, 777/779, 781/783, 785/787, 789/791, 793/795, 797/799, 801/803, 805/807, 809/811, 813/815, 817/819, 821/823, 825/827, 829/831, 833/835, 837/839, 841/843, 845/847, 849/851, 853/855, 857/859, 861/863, 865/867, 869/871, 873/875, 877/879, 881/883, 885/887, 889/891, 893/805, 897/899, 901/903, 905/907, 909/911, 913/915, 917/919, 921/923 и 925/927, или по сути аналогичную им последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% идентичность последовательности; (xii) не связывается специфически с клетками, экспрессирующими предположительные нецелевые пептиды, но не пептид презентруемого HLA-A2 PRAME 425-433, как определено посредством люминесцентного анализа; и/или (xiii) активирует Т-клеточный ответ примерно в два раза сильнее, чем PRAME-специфический TCR, полученный от пациента, например активирует Т-клеточный ответ приблизительно в два раза больше или приблизительно в три раза больше, или приблизительно в четыре раза больше, чем происходящий от пациента PRAME-специфический TCR, измеряемого с применением TCR-опосредованного люминесцентного биоанализа передачи сигналов с участием Т-клеток.

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

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

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

Вектор экспрессии может содержать дополнительную последовательность, такую как бх-гистидин (SEQ ID NO: 954), метки с-Мус и FLAG, которые включены в экспрессируемые TCR. Таким образом, вектор экспрессии может быть сконструирован таким образом, чтобы он содержал 5' и 3' нетранслируемые регуляторные последовательности, которые иногда могут функционировать как энхансерные последовательности, промоторные области и/или терминаторные последовательности, которые могут способствовать или усиливать эффективную транскрипцию нуклеиновой (нуклеиновых) кислоты (кислот),

представляющей (представляющих) интерес, переносимых в векторе экспрессии. Вектор экспрессии также может быть сконструирован для функции репликации и/или экспрессии (например, транскрипции и трансляции) в конкретном типе клеток, положении в клетке или типе ткани. Векторы экспрессии могут содержать селективируемый маркер для поддержания вектора в клетке хозяина или реципиента.

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

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

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

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

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

Ретровирусные векторы (т. е., как лентивирусные, так и нелентивирусные) для применения в настоящем изобретении могут быть созданы с применением стандартных методик клонирования посредством объединения необходимых последовательностей ДНК в порядке и ориентации, описанных в данном документе (Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel, F. M. et al. (eds.) Greene Publishing Associates, (1989), Sections 9.10-9.14, и других стандартных лабораторных руководствах; Eglitis, et al. (1985) *Science* 230:1395-1398; Danos and Mulligan (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:6460-6464; Wilson et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:3014-3018; Armentano et al. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:6141-6145; Huber et al. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:8039-8043; Ferry et al. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:8377-8381; Chowdhury et al. (1991) *Science* 254:1802-1805; van Beusechem et al. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:7640-7644; Kay et al. (1992) *Human Gene Therapy* 3:641-647; Dai et al. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10892-10895; Hwu et al. (1993) *J. Immunol* 150:4104-4115; U.S. Pat. № 4868116; патенте США № 4980286; заявке PCT WO 89/07136; заявке PCT WO 89/02468; заявке PCT WO 89/05345 и заявке PCT WO 92/07573).

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

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

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

В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены выделенные клетки-хозяева, содержащие векторы, представленные в данном документе. Клетки-хозяева, содержащие вектор, могут быть пригодны для экспрессии или клонирования полинуклеотида, содержащегося в векторе. Подходящие клетки-хозяева могут включать без ограничения прокариотические клетки, клетки грибов, дрожжевые клетки или высшие эукариотические клетки, такие как клетки млекопитающих. Подходящие для этой цели прокариотические клетки включают без ограничения эубактерии, такие как грамотрицательные или грамположительные организмы, например *Escherichia*, например *E. coli*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, например *Salmonella typhimurium*, *Serratia*, например *Serratia marcescans* и *Shigella*, а также *Bacilli*, такие как *B. subtilis* и *B. licheniformis*, *Pseudomonas*, такие как *P. aeruginosa* и *Streptomyces*.

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

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

В частности, TCR по настоящему изобретению вводятся и экспрессируются в иммунных эффекторных клетках, чтобы перенаправить их специфичность на целевой антиген, представляющий интерес, например, экспонируемый HLA-A2 пептид PRAME, например, аминокислотные остатки 312-320 или 425-433 PRAME.

В настоящем изобретении представлены способы получения иммунных эффекторных клеток, которые экспрессируют TCR, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ включает трансфекцию или трансдукцию эффекторных иммунных клеток, например, иммунных эф-

факторных клеток, выделенных от субъекта, такого как субъект, у которого имеется ассоциированное с PRAME заболевание или нарушение, так что иммунные эффекторные клетки экспрессируют один или несколько TCR, как описано в данном документе. В определенных вариантах осуществления эффекторные клетки выделяют от индивидуума и генетически модифицируют без дополнительных манипуляций *in vitro*. Такие клетки можно затем повторно вводить индивидууму. В дополнительных вариантах осуществления иммунные эффекторные клетки сначала активируют и стимулируют для пролиферации *in vitro* перед их генетической модификацией для экспрессии TCR. В этом отношении иммунные эффекторные клетки можно культивировать до или после генетической модификации (т.е., трансдукции или трансфекции для экспрессии TCR, как описано в данном документе).

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

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

В определенных вариантах осуществления Т-клетки выделяют из мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) посредством лизирования эритроцитов и истощения моноцитов, например, центрифугированием в градиенте PERCOLL™. Специфические популяции Т-клеток, таких как CD28+, CD4+, CD8+, CD45RA+ и CD45RO+Т-клетки, можно дополнительно выделять с применением методик положительного и отрицательного отбора. Например, обогащение популяции Т-клеток путем отрицательного отбора может быть достигнуто с помощью комбинации антител, направленных на поверхностные маркеры, уникальные для отрицательно отобранных клеток. Одним из способов применения в данном документе является сортировка и/или отбор клеток посредством отрицательной магнитной иммуноаффинности или проточной цитометрии, в которой используется коктейль моноклональных антител, направленных на маркеры клеточной поверхности, присутствующие на отрицательно отобранных клетках. Например, для обогащения клеток CD4+ путем отрицательного отбора коктейль моноклональных антител обычно содержит антитела к CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR и CD8. Проточная цитометрия и сортировка клеток также могут быть использованы для выделения популяций клеток, представляющих интерес, для применения в настоящем изобретении.

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

Иммунные эффекторные клетки, такие как Т-клетки, могут быть генетически модифицированы после выделения с применением известных способов, или иммунные эффекторные клетки могут быть активированы и экспандированы (или дифференцированы в случае предшественников) *in vitro* перед генетической модификацией. В некоторых вариантах осуществления иммунные эффекторные клетки, такие как Т-клетки, генетически модифицируют химерными антигенными рецепторами, описанными в данном документе (например, трансдуцируют вирусным вектором, содержащим нуклеиновую кислоту, кодирующую TCR), а затем активируют и экспандируют *in vitro*. Способы активации и экспансии Т-клеток известны в данной области техники и описаны, например, в патенте США № 6905874; патенте США № 6867041; патенте США № 6797514; WO 2012079000, US 2016/0175358.

В настоящем изобретении представлена популяция модифицированных иммунных эффекторных клеток для лечения ассоциированного с PRAME заболевания или нарушения, например, рака, при этом

модифицированные иммунные эффекторныe клетки содержат PRAME TCR, как раскрыто в данном документе.

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

### III. Фармацевтические композиции

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

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

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

В определенных ситуациях фармацевтическую композицию можно доставлять в системе с контролируемым высвобождением. В некоторых вариантах осуществления можно использовать насос.

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

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

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

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

Популяции TCR-экспрессирующих иммунных эффекторных клеток по настоящему изобретению можно вводить либо отдельно, либо в виде фармацевтической композиции в комбинации с разбавителями и/или с другими компонентами, такими как IL-2 или другие цитокины или популяции клеток. Вкрат-

це, фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут содержать популяцию TCR-экспрессирующих иммунных эффекторных клеток, таких как Т-клетки, как описано в данном документе, в комбинации с одним или несколькими фармацевтически или физиологически приемлемыми носителями, разбавителями или наполнителями. Такие композиции могут содержать буферы, такие как нейтральный забуференный солевой раствор, фосфатный забуференный солевой раствор и т.п.; углеводы, такие как глюкоза, манноза, сахароза или декстраны, маннит; белки; полипептиды или аминокислоты, такие как глицин; антиоксиданты; хелатирующие средства, такие как EDTA или глутатион; адъюванты (например, гидроксид алюминия); и консерванты. Композиции по настоящему изобретению предпочтительно составляют для внутривенного введения.

IV. Терапевтические пути применения TCR к PRAME или иммунных эффекторных клеток, содержащих TCR к PRAME

Противоопухолевый иммунный ответ, индуцированный у субъекта посредством введения TCR-экспрессирующих Т-клеток, описанных в данном документе, с применением способов, описанных в данном документе, или других способов, известных из уровня техники, может включать клеточные иммунные ответы, опосредованные цитотоксическими Т-клетками, способными уничтожать инфицированные клетки, ответами регуляторных Т-клеток и Т-клеток-хэлперов. Также могут быть индуцированы гуморальные иммунные ответы, опосредованные прежде всего Т-клетками-хэлперами, способными активировать В-клетки, что приводит к продуцированию антител. Для анализа типа иммунных ответов, индуцированных композициями по настоящему изобретению, могут применяться различные методики, которые хорошо описаны из уровня техники; например, *Current Protocols in Immunology*, Edited by: John E. Coligan, Ada M. Kruisbeek, David H. Margulies, Ethan M. Shevach, Warren Strober (2001) John Wiley & Sons, NY, N.Y.

Таким образом, TCR к PRAME по настоящему изобретению являются применимыми, среди прочего, для лечения, предупреждения и/или облегчения любого ассоциированного с PRAME или опосредованного им заболевания или нарушения.

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

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

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

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

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения композиции, описанные в данном документе, применимы для лечения субъектов, страдающих первичным или рецидивирующим раком,

включая без ограничения ассоциированный с PRAME рак, например, ассоциированный с PRAME рак представляет собой липосаркому, нейробластому, миелому, меланому, метастатическую меланому, синовиальную саркому, рак мочевого пузыря, рак пищевода, плоскоклеточный рак пищевода, гепатоцеллюлярный рак, рак головы и шеи, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, эпителиальный рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, астроцитарную опухоль, мультиформную глиобластому, анапластическую астроцитому, опухоль головного мозга, рак маточной трубы, первичный рак брюшной полости, распространенные солидные опухоли, саркому мягких тканей, саркому, миелодиспластический синдром, острый миелоидный лейкоз, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, болезнь Ходжкина, множественную миелому, метастатические солидные опухоли, колоректальную карциному, рак желудка, рабдомиосаркому, миксоидную круглоклеточную липосаркому или рецидивирующий немелкоклеточный рак легкого. В некоторых вариантах осуществления ассоциированный с PRAME рак представляет собой рак яичников, меланому, немелкоклеточную карциному легкого, гепатоцеллюлярную карциному, колоректальную карциному, плоскоклеточную карциному пищевода, аденокарциному пищевода, рак желудка, рак мочевого пузыря, рак головы и шеи, рак желудка, синовиальную саркому, рак тела матки и эндометрия, карциносаркому матки, опухоль зародышевых клеток яичка, увеальную меланому, папиллярно-клеточный рак почки, светлоклеточный рак почки, тимому, аденокарциному толстой кишки, плоскоклеточную карциному шейки матки, опухоль шейки матки, аденокарциному поджелудочной железы, рак печени, гепатоцеллюлярную карциному, мезотелиому или миксоидную круглоклеточную липосаркому.

TCR могут использоваться для лечения симптомов ассоциированного с PRAME рака ранней или поздней стадии. В некоторых вариантах осуществления TCR по настоящему изобретению можно применять для лечения запущенного или метастатического рака. TCR применимы для ослабления, ингибирования или уменьшения опухолевого роста. В определенных вариантах осуществления лечение TCR по настоящему изобретению приводит к более чем 40% регрессии, более чем 50% регрессии, более чем 60% регрессии, более чем 70% регрессии, более чем 80% регрессии или более чем 90% регрессии опухоли у субъекта. В определенных вариантах осуществления TCR можно применять для предупреждения рецидива опухоли. В определенных вариантах осуществления TCR применимы для повышения выживаемости без прогрессирования или общей выживаемости у субъекта с ассоциированным с PRAME раком. В некоторых вариантах осуществления TCR применимы для снижения токсичности, вызванной химиотерапией или лучевой терапией, при сохранении долгосрочной выживаемости у пациента, страдающего от ассоциированного с PRAME рака.

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

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

В дополнительных вариантах осуществления настоящего изобретения TCR применяют для приготовления фармацевтической композиции для лечения пациентов, страдающих ассоциированным с PRAME заболеванием или нарушением, таким как ассоциированный с PRAME рак. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения TCR применяют в качестве дополнительной терапии с любым другим средством или с любой другой терапией, известной специалистам в данной области техники, применимой для лечения ассоциированного с PRAME рака.

Комбинированные виды терапии могут включать TCR к PRAME по настоящему изобретению, такой как иммунная эффекторная клетка, содержащая TCR по настоящему изобретению, или фармацевтическая композиция по настоящему изобретению, и любое дополнительное терапевтическое средство, которое можно предпочтительно комбинировать с TCR по настоящему изобретению. TCR по настоящему изобретению можно синергически комбинировать с одним или несколькими противораковыми лекарственными средствами или средством терапии, применяемыми для лечения или ингибирования ассоциированного с PRAME заболевания или нарушения, таких как PRAME-положительный рак, например, липосаркома, нейробластома, миелома, меланома, метастатическая меланома, синовиальная саркома, рак мочевого пузыря, рак пищевода, плоскоклеточный рак пищевода, гепатоцеллюлярный рак, рак головы и шеи, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, эпителиальный рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, астроцитарная опухоль, мультиформная глиобластома, анапластическая астроцитому, опухоль головного мозга, рак маточной трубы, первичный рак брюшной полости, распространенные солидные опухоли, саркома мягких тканей, саркома, миелодиспластический синдром, острый миелоидный лейкоз, лимфома Ходжкина, неходжкинская лимфома, болезнь Ходжкина, множественная миелома, метастатические солидные опухоли, колоректальная карцинома, рак желудка, рабдомиосаркома, миксоидная круглоклеточная липосаркома, рак эндометрия тела матки, карциносаркома матки, опухоль зародышевых клеток яичка, увеальная меланома, почечно-папиллярно-клеточная карцинома, почечная почечно-светлоклеточная карцинома, тимома, аденокарцинома толстой кишки, плоскоклеточный рак шейки матки, опухоль шейки матки, аденокарцинома поджелудочной железы, рак печени,

гепатоцеллюлярная карцинома, мезотелиома или рецидивирующий немелкоклеточный рак легкого.

В данном документе предполагается применение TCR по настоящему изобретению в комбинации с иммуностимулирующими и/или иммуносупрессивными видами терапии для подавления опухолевого роста и/или повышения выживаемости пациентов с раком. Иммуностимулирующая терапия включает прямую иммуностимулирующую терапию для увеличения активности иммунных клеток путем "снятия тормоза" с подавленных иммунных клеток или "нажатия на газ" для активации иммунного ответа. Примеры включают нацеливание на рецепторы других контрольных точек, вакцинацию и адъюванты. Иммуноподдерживающие способы могут приводить к повышению антигенности опухоли, способствуя гибели иммуногенных клеток, воспалению или иметь другие косвенные эффекты, которые способствуют противоопухолевому иммунному ответу. Примеры включают облучение, химиотерапию, антиангиогенные средства и хирургическое вмешательство.

В различных вариантах осуществления один или несколько TCR по настоящему изобретению можно применять в комбинации с ингибитором PD-1 (например, антителом к PD-1, таким как ниволумаб, пембролизумаб, пидолизумаб, BGB-A317 или REGN2810), ингибитором PD-L1 (например, антителом к PD-L1, таким как авелумаб, атезолизумаб, дурвалумаб, MDX-1105 или REGN3504), ингибитором CTLA-4 (например, ипилимумабом), ингибитором TIM3, ингибитором BTLA, ингибитором TIGIT, ингибитором CD47, ингибитором GITR, антагонистом другого T-клеточного коингибитора или лиганда (например, антитела к CD-28, 2B4, LY108, LAIR1, ICOS, CD160 или VISTA), ингибитором индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO), антагонистом фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) [например, "ловушкой VEGF", такой как афлиберцепт или другой слитый белок, ингибирующий VEGF, как указано в US 7087411, или антителом к VEGF или его антигенсвязывающим фрагментом (например, бевацизумабом или ранибизумабом) или низкомолекулярным ингибитором киназы рецептора VEGF (например, сунитинибом, сорафенибом или пазопанибом)], ингибитором Ang2 (например, несвакумабом), ингибитором трансформирующего фактора роста бета (TGFP), ингибитором рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) (например, эрлотинибом, цетуксимабом), ингибитором NY-ESO-1 (например, антителом к NY-ESO-1), ингибитором CD20 (например, антителом к CD20, таким как ритуксимаб), антителом к опухолеспецифическому антигену [например, CA9, CA125, ассоциированным с меланомой антигеном 3 (MAGE3), карциноэмбриональным антигеном (CEA), виментином, белком опухоль-M2-ПК, простатоспецифическим антигеном (PSA), муцином-1, MART-1 и CA19-9], вакциной (например, бациллой Кальмета-Герена, противораковой вакциной), адъювантом для повышения презентации антигена (например, гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором), костимулятором средством, биспецифическим антителом (например, биспецифическим антителом к CD3×CD20, биспецифическим антителом к PSMA×CD3 или биспецифическим антителом, которое выступает в качестве костимулирующего средства, таким как биспецифическое антитело, которое связывает опухолевый антиген и обладает костимулирующей активностью), цитокином, химиотерапевтическим средством (например, дакарбазин, темозоломидом, циклофосфамидом, доцетакселом, доксорубицином, даунорубицином, цисплатином, карбоплатином, метокситрекситабином), лучевой терапией, хирургическим вмешательством, ингибитором IL-6R (например, сарилумабом), ингибитором IL-4R (например, дупилумабом), ингибитором IL-10, цитокином, таким как IL-2, IL-7, IL-21 и IL-15, конъюгатом антитело-лекарственное средство (ADC) (например, ADC антитело к CD19-DM4 и ADC антитело к DS6-DM4), противовоспалительным препаратом (например, кортикостероидами и нестероидными противовоспалительными препаратами), пищевой добавкой, такой как антиоксиданты или любое другое терапевтическое лечение для лечения рака. В определенных вариантах осуществления TCR по настоящему изобретению можно применять в комбинации с противораковыми вакцинами, включая вакцины дендритных клеток, онколитические вирусы, вакцины опухолевых клеток и т.д., для усиления противоопухолевого ответа.

Примеры противораковых вакцин, которые можно применять в комбинации с TCR по настоящему изобретению, включают вакцину на основе MAGE3 от меланомы и рака мочевого пузыря, вакцину на основе MUC1 от рака молочной железы, EGFRv3 (например, риндопепимут) от рака головного мозга (включая мультиформную глиобластому), вакцину на основе ALVAC-CEA (от CEA+ видов рака) и вакцину на основе NY-ESO-1 (например, от меланомы).

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

Дополнительное (дополнительные) терапевтически активное (активные) средство (средств-

ва)/компонент (компоненты) можно вводить до, одновременно или после введения TCR к PRAME по настоящему изобретению. Для целей данного раскрытия такие схемы введения рассматриваются как введение TCR к PRAME "в комбинации с" вторым терапевтически активным компонентом.

Дополнительный (дополнительные) терапевтически активный (активные) компонент (компоненты) можно вводить субъекту до введения PRAME к TCR по настоящему изобретению. В других вариантах осуществления дополнительный (дополнительные) терапевтически активный (активные) компонент (компоненты) можно вводить субъекту после введения PRAME к TCR по настоящему изобретению. В еще одних вариантах осуществления дополнительный (дополнительные) терапевтически активный (активные) компонент (компоненты) можно вводить субъекту одновременно с введением PRAME к TCR по настоящему изобретению. "Одновременное" введение для целей настоящего изобретения включает, например, введение TCR к PRAME и дополнительного терапевтически активного компонента субъекту в одной лекарственной форме (например, в совместном составе) или в отдельных лекарственных формах, вводимых субъекту в течение приблизительно 30 мин или менее друг после друга. При введении в отдельных лекарственных формах каждую лекарственную форму можно вводить одним и тем же путем; в качестве альтернативы каждую лекарственную форму можно вводить другим путем. В любом случае все из введения компонентов в одной лекарственной форме, в отдельных лекарственных формах одним и тем же путем или в отдельных лекарственных формах разными путями считается "одновременным введением" для целей настоящего изобретения. Для целей настоящего изобретения введение TCR к PRAME "до", "одновременно с" или "после" (как эти термины определены в данном документе выше) введения дополнительного терапевтически активного компонента считается введением TCR к PRAME "в комбинации с" "дополнительным терапевтически активным компонентом".

Настоящее изобретение дополнительно иллюстрируется следующим разделом "Примеры", которые никоим образом не несут ограничивающего характера. Полное содержание всех ссылок, патентов и опубликованных патентных заявок, процитированных в этой заявке, тем самым включено в данный документ посредством ссылки.

### Примеры

#### Пример 1. Идентификация PRAME-специфических T-клеточных рецепторов

Мышей, гуманизированных в отношении компонентов клеточной иммунной системы, мышей VelociT (см., например, публикацию PCT № WO 2016/164492, полное содержание которой включено в данный документ посредством ссылки), иммунизировали либо пептидом PRAME (312-320) (rldqllrhv); SEQ ID NO: 929), либо пептидом PRAME (425-433) (sllqhlgl); SEQ ID NO: 930), специфически презентруемым HLA-A2 человека, разведенным в PBS и смешанным с адьювантом, например, в равном объеме с полным адьювантом Фрейнда (CFA; Chondrex, Inc.). Отдельно получали и диссоциировали суспензии селезенки мышей, иммунизированных тем или иным пептидом. Эритроциты лизировали в буфере для лизиса ACK (Life Technologies), а спленоциты суспендировали в полной среде RPMI. Выделенные спленоциты сортировали и отдельные T-клетки, которые связывают пептид PRAME, используемый для иммунизации (либо PRAME (312-320), либо PRAME (425-433)) в контексте MHC, выделяли с помощью сортировки флуоресцентно-активированных клеток (FACS). Выделенные T-клетки высевали в однолуночный планшет и смешивали с праймерами для ПЦР, специфическими для альфа- и бета-цепей вариабельной области TCR. cDNA для каждой отдельной T-клетки синтезировали с помощью реакции с использованием обратной транскриптазы (RT). Затем каждый полученный с использованием RT продукт разделяли и переносили в две соответствующие лунки для последующей ПЦР бета- и альфа-цепей TCR. Один набор полученных с использованием RT продуктов сначала амплифицировали с помощью ПЦР с использованием 5'-вырожденного праймера, специфического для лидерной последовательности вариабельной области бета-цепи TCR, или 5'-вырожденного праймера, специфического для лидерной последовательности вариабельной области альфа-цепи TCR, и 3'-праймера, специфического для константной области TCR, с получением ампликона. Затем ампликоны снова амплифицировали с помощью ПЦР с использованием 5'-вырожденного праймера, специфического для каркаса 1 вариабельной области бета-цепи TCR, или 5'-вырожденного праймера, специфического для каркаса 1 вариабельной области альфа-цепи TCR, и 3'-праймера, специфического для константной области TCR, с получением ампликонов для клонирования. Продукты ПЦР, полученные из бета- и альфа-цепей TCR, клонировали в векторы экспрессии, содержащие бета-цепь константной области и альфа-цепь константной области соответственно. Векторы экспрессии, экспрессирующие пары полноразмерных бета- и альфа-цепей, трансфицировали в клетки CHO и исследовали в отношении связывания с коммерческим тетрамерным реагентом PRAME/HLA. Клетки CHO инкубировали с растворимым тетрамером HLA-A2:PRAME (312-320) или HLA:A2:PRAME (425-433) (MBL International, Вуберн, Массачусетс) и антителом, специфическим к константной области TCR мыши (клон H57-597)) (Biolegend, Сан-Диего, Калифорния). Затем образцы анализировали на LSRFortessa X-20 (BD Biosciences, Сан-Хосе, Калифорния). Для расчета процента положительных в отношении тетрамера клеток устанавливали антиген-положительные (Ag+) гейты на основе отрицательного контроля TCR, который не связывается с тетрамером HLA-A2:PRAME (312-320) или HLA:A2:PRAME (425-433) (MBL International, Вуберн, Массачусетс), с применением FlowJo (LLC, Ашленд, Орегон). Все Ag+ TCR характеризовались критерием Flow Jo  $\geq 1\%$  клеток при Ag+ гейтинге со

средней интенсивностью флуоресценции (MFI)  $\geq 1000$ . Ag+ TCR определяли с помощью секвенирования следующего поколения. Общее количество TCR, которые идентифицировали с помощью PRAME (312-320) и которые экспрессируют идентичные нуклеотидные последовательности альфа- и бета-цепей TCR, показано в табл. 1 ниже. Частота клеток или % тетрамер-положительных клеток в Ag+ гейте являются репрезентативными для TCR, показанного в первом столбце табл. 1. Общее количество TCR, которые идентифицировали с помощью PRAME (425-433) и которые экспрессируют идентичные нуклеотидные последовательности альфа- и бета-цепей TCR, показано в табл. 2 ниже. Частота клеток или % тетрамер-положительных клеток в Ag+ гейте являются репрезентативными для TCR, показанного в первом столбце табл. 2.

Подробный перечень аминокислотных последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена бета-цепи и аминокислотных последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена альфа-цепи TCR, которые идентифицировали с помощью PRAME (312-320), как описано выше, представлен в табл. 3. Подробный перечень последовательностей нуклеиновых кислот CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена бета-цепи и последовательностей нуклеиновых кислот CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена альфа-цепи TCR, которые идентифицировали с помощью PRAME (312-320), как описано выше, представлен в табл. 4. В табл. 5 представлены аминокислотные и нуклеотидные последовательности переменных областей бета-цепи и переменных областей альфа-цепи TCR, которые идентифицировали с помощью PRAME (312-320).

Подробный перечень аминокислотных последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена бета-цепи и аминокислотных последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена альфа-цепи TCR, которые идентифицировали с помощью PRAME (425-433), как описано выше, представлен в табл. 6. Подробный перечень последовательностей нуклеиновых кислот CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена бета-цепи и последовательностей нуклеиновых кислот CDR1, CDR2 и CDR3 переменного домена альфа-цепи TCR, которые идентифицировали с помощью PRAME (425-433), как описано выше, представлен в табл. 7. В табл. 8 представлены аминокислотные и нуклеотидные последовательности переменных областей бета-цепи и переменных областей альфа-цепи TCR, которые идентифицировали с помощью PRAME (425-433),

В табл. 9 представлены семейства генов TCR для переменных областей и соединительных областей альфа- и бета-цепей выделенных TCR, которые идентифицировали с помощью PRAME (312-320), а в табл. 11 представлены идентификаторы аминокислотных последовательностей и последовательностей полинуклеиновых кислот для переменных доменов и CDR альфа- и бета-цепей TCR, которые идентифицировали с помощью PRAME (312-320).

В табл. 10 представлены семейства генов TCR для переменных областей и соединительных областей альфа- и бета-цепей выделенных TCR, которые идентифицировали с помощью PRAME (425-433), а в табл. 12 представлены идентификаторы аминокислотных последовательностей и последовательностей полинуклеиновых кислот для переменных доменов и CDR альфа- и бета-цепей TCR, которые идентифицировали с помощью PRAME (425-433).

Таблица 1

ID TCR	Все Ag+ TCR	Частота клеток $\geq 1000$ MFI, $\geq 1\%$
PN46909	21	52,60
PN46889	21	92,50
PN46733	2	87,90
PN46723	52	72,50
PN46714	1	62,10
PN46735	1	17,90
PN46678	1	11,00
PN46884	3	59,00
PN46914	1	11,50
PN46883	13	64,70
PN46857	1	53,90
PN46880	5	31,90
PN46871	2	44,70
PN46853	2	35,40
PN46731	1	15,70
PN46777	99	98,90
PN46797	1	57,30
PN46738	1	23,00

Таблица 2

ID TCR	Все Ag+ TCR	Частота клеток ≥ 1000 MFI, ≥ 1%
PN42365	96	95,80
PN42879	1	93,10
PN42774	3	91,60
PN42498	30	90,30
PN42558	1	85,70
PN42386	1	82,20
PN42378	2	77,50
PN42776	1	60,20
PN42455	1	53,00
PN42840	21	52,50
PN42795	14	49,40
PN42870	8	7,27
PN42689	21	4,92
PN42888	22	87,40
PN42450	4	62,20
PN42750	2	40,80
PN42562	5	92,00
PN42483	29	86,40
PN42712	11	80,70
PN42561	150	80,20
PN42442	3	61,30
PN42476	1	54,20
PN42496	1	45,00
PN42655	7	27,00
PN42677	1	25,30
PN42706	1	24,70
PN42654	1	20,10
PN42441	1	15,50
PN42683	2	11,10
PN42845	1	10,50
PN42826	1	9,26
PN42707	10	7,28
PN42833	2	6,86
PN42762	12	4,95
PN42780	1	4,89
PN42746	1	4,39
PN42815	30	4,35
PN42711	1	4,26
PN42895	3	4,09
PN42610	1	6,08

Таблица 3. Аминокислотные последовательности CDR для TCR VelociT, специфических в отношении PRAME (312-320)/HLA-A2

ID TCR	CDR1 Va	SEQ ID NO:	CDR2 Va	SEQ ID NO:	CDR3 Va	SEQ ID NO:	CDR1 Vβ	SEQ ID NO:	CDR2 Vβ	SEQ ID NO:	CDR3 Vβ	SEQ ID NO:
PN46678	TRDITY Y	1	RNSFDEQN	2	ALSEFDRGSTLGRLY	3	SGHKS	4	YYEKEE	5	ASSRDINEKLF	6
PN46714	VSGLRG	7	LYSAGEE	8	AVQADGGSQGNLI	9	SGHKS	10	YYEKEE	11	ASSLDINSPLH	12
PN46723	VSGLRG	13	LYSAGEE	14	AVQEDGGSQGNLI	15	SGHKS	16	YYEKEE	17	ASSRDINEKLF	18
PN46731	DSASNY	19	IRSNVGE	20	AAWNYGQNFV	21	PRHDT	22	FYEKMQ	23	ASSLEGSEAF	24
PN46733	NSASDY	25	IRSNMDK	26	AENNYGQNFV	27	MNHNS	28	SASEGT	29	ASSDWGGQVEAF	30
PN46735	TISGTDY	31	GLTSN	32	ILREYMYSGGGADGL T	33	SGHKS	34	YYEKEE	35	ASSFQAGVNYGYT	36
PN46738	TSENNY Y	37	QEAYKQQN	38	AFGMYSGGGADGLT	39	WSHSY	40	SAAADI	41	ASSDGTGYYGYT	42
PN46777	TSENNY Y	43	QEAYKQQN	44	ALMEYGNKLV	45	WSHSY	46	SAAADI	47	ASSDGTGYYGYT	48
PN46797	TSENNY Y	49	QEAYKQQN	50	ALMEYENKLV	51	WSHSY	52	SAAADI	53	ASSDGTGYYGYT	54
PN46853	SSNFYA	55	MTLNGDE	56	ACGGSGNTGKLI	57	PRHDT	58	FYEKMQ	59	ASSSQGPQH	60
PN46857	TRDITY Y	61	RNSFDEQN	62	ALSEGYGNKLV	63	KGHSH	64	LQKENI	65	ASSHRDDTEAF	66
PN46871	DSAIYN	67	IQSSQRE	68	AVEGTTDSWGKFKQ	69	PRHDT	70	FYEKMQ	71	ASSSQGPQH	72
PN46880	YSGSPE	73	HISR	74	ALSGASGGYIPT	75	KGHSH	76	LQKENI	77	ASSHRDDTEAF	78
PN46883	TRDITY Y	79	RNSFDEQN	80	ALSVSSYNTDKLI	81	KGHSH	82	LQKENI	83	ASSHRDDTEAF	84
PN46884	TRDITY Y	85	RNSFDEQN	86	ALSEGYNTDKLI	87	MDHEN	88	SYDVKM	89	ASSLGANTIY	90
PN46889	DRGSQS	91	IYSNGD	92	AVNIPNSGYSTLT	93	MNHEY	94	SVGEGT	95	ASSYWEGTEAF	96
PN46909	TSENNY Y	97	QEAYKQQN	98	AFDYGQNFV	99	MNHNY	100	SVGAGI	101	ASSYGGGQTEAF	102
PN46914	TRDITY Y	103	RNSFDEQN	104	ALSEGYNQGGKLI	105	MDHEN	106	SYDVKM	107	ASGADSNQPQH	108

Таблица 4. Последовательности нуклеиновых кислот CDR для TCR VelociT, специфических в отношении PRAME (312-320)/HLA-A2

ID TCR	CDR1 V $\alpha$	SEQ ID NO:	CDR2 V $\alpha$	SEQ ID NO:	CDR3 V $\alpha$	SEQ ID NO:	CDR1 V $\beta$	SEQ ID NO:	CDR2 V $\beta$	SEQ ID NO:	CDR3 V $\beta$	SEQ ID NO:
PN46678	ACCCGTG ATACTACT TATTAC	109	CGGAACT CTTTTGAT GAGCAAA AT	110	GCTCTGAGTGAGT TTGACAGAGGCTC AACCTTGGGGAGG CTATAC	111	TCTGGGC ACAAGAG T	112	TATTA TGAGA AAGAA GAG	113	GCCAGCAG CCGGGACAT TAATGAAA AACTGTTT	114
PN46714	GTCAGCG GTTTAAG AGGG	115	CTGTATTC AGCTGGG GAAGAA	116	GCTGTGCAGGCCG ATGGAGGAAGCC AAGGAAATCTCAT C	117	TCTGGGC ACAAGAG T	118	TATTA TGAGA AAGAA GAG	119	GCCAGCAG CTTGGACAT TAATTCACC CCTCCAC	120
PN46723	GTCAGCG GTTTAAG AGGG	121	CTGTATTC AGCTGGG GAAGAA	122	GCTGTGCAGGAGG ATGGAGGAAGCC AAGGAAATCTCAT C	123	TCTGGGC ACAAGAG T	124	TATTA TGAGA AAGAA GAG	125	GCCAGCAG CCGGGACAT TAATGAAA AACTGTTT	126
PN46731	GACAGTG CCTCAAA CTAC	127	ATTCGTTC AAATGTG GGCGAA	128	GCAGCATGGAAGT ATGGTCAGAAATTT TGTC	129	CCTAGAC ACGACAC T	130	TTTTA TGAAA AGATG CAG	131	GCCAGCAG CTTAGAGGG GTCTGAAGC TTTC	132
PN46733	AACAGCG CCTCAGA CTAC	133	ATTCGTTC AAATATG GACAAA	134	GCAGAGAATAACT ATGGTCAGAAATTT TGTC	135	ATGAACC ATAACTC C	136	TCAGC TTCTG AGGGT ACC	137	GCCAGCAGT GACTGGGG ACAGGGGG TTGAAGCTT TC	138
PN46735	ACAATCA GTGGAAC TGATTAC	139	GGTCTTA CAAGCAA T	140	ATCCTGAGAGAAT ACATGTATTCAGG AGGAGGTGCTGAC GGACTCACC	141	TCTGGGC ACAAGAG T	142	TATTA TGAGA AAGAA GAG	143	GCCAGCAG CTTCCAAGC AGGGGTTA ACTATGGCT ACACC	144
PN46738	ACCAAGT AGAATAA TTATTAT	145	CAAGAAG CTTATAA GCAACAG AAT	146	GCTTTCGGTATGT ATTGAGGAGGAGG TGCTGACGGACTC ACC	147	TGGAGCC ACAGCTA T	148	TCAGC AGCTG CTGAT ATT	149	GCCAGCAGT GATGGGAC AGGGTACTA TGGCTACAC C	150
PN46777	ACCAAGT AGAATAA TTATTAT	151	CAAGAAG CTTATAA GCAACAG AAT	152	GCCCTTATGGAAT ATGGAAACAAACT GGTC	153	TGGAGCC ACAGCTA T	154	TCAGC AGCTG CTGAT ATT	155	GCCAGCAGT GATGGGAC AGGGTACTA TGGCTACAC C	156
PN46797	ACCAAGT AGAATAA TTATTAT	157	CAAGAAG CTTATAA GCAACAG AAT	158	GCCCTTATGGAAT ATGGAAACAAACT GGTC	159	TGGAGCC ACAGCTA T	160	TCAGC AGCTG CTGAT ATT	161	GCCAGCAGT GATGGGAC AGGGTACTA TGGCTACAC C	162
PN46853	TCCAGCA ATTTTTAT GCC	163	ATGACTT TAAATGG GGAT	164	GCCTGTGGGGGTT CTGGCAACACAGG CAAACCTAATC	165	CCTAGAC ACGACAC T	166	TTTTA TGAAA AGATG CAG	167	GCCAGCAG CTCCCAGGG TCAGCCCA GCAT	168
PN46857	ACCCGTG ATACTACT TATTAC	169	CGGAACT CTTTTGAT GAGCAAA AT	170	GCTCTGAGTGAGG GATATGGAAACAA ACTGGTC	171	AAAGGAC ACAGTCA T	172	CTCCA GAAAG AAAAT ATC	173	GCCAGCTCA CACAGGGA CGACACTGA AGCTTTC	174
PN46871	GATAGCG CTATTTAC AAC	175	ATTCAGT CAAGTCA GAGAGAG	176	GCTGTGGAGGGGA CAACTGACAGCTG GGGGAAATTCAG	177	CCTAGAC ACGACAC T	178	TTTTA TGAAA AGATG CAG	179	GCCAGCAG CTCCCAGGG TCAGCCCA GCAT	180
PN46880	TATTCTGG GAGTCTT GAA	181	CACATCT CTAGA	182	GCTCTAAGTGGGG CATCAGGAGGAA GCTACATACCTAC A	183	AAAGGAC ACAGTCA T	184	CTCCA GAAAG AAAAT ATC	185	GCCAGCTCA CACAGGGA CGACACTGA AGCTTTC	186
PN46883	ACCCGTG ATACTACT TATTAC	187	CGGAACT CTTTTGAT GAGCAAA AT	188	GCTCTGAGTGTAT CATCTATAACAC CGACAAGCTCATC	189	AAAGGAC ACAGTCA T	190	CTCCA GAAAG AAAAT ATC	191	GCCAGCTCA CACAGGGA TGACACTGA AGCTTTC	192
PN46884	ACCCGTG ATACTACT TATTAC	193	CGGAACT CTTTTGAT GAGCAAA AT	194	GCTCTGAGTGAGG GGTATAACACCGA CAAGCTCATC	195	ATGGACC ATGAAAA T	196	TCATA TGATG TTAAA ATG	197	GCCAGCAGT TTAGGGGG GGCGAACA CCATATAT	198
PN46889	GACCGAG GTCCCA GTCC	199	ATATACT CCAATGG TGAC	200	GCCGTGAACATTC CGAATTCAGGATA CAGCACCTCACC	201	ATGAACC ATGAATA C	202	TCAGT TGGTG AGGGT ACA	203	GCCAGCAGT TACTGGGAG GGCACTGA AGCTTTC	204
PN46909	ACCAAGT AGAATAA TTATTAT	205	CAAGAAG CTTATAA GCAACAG AAT	206	GCTTTCGACTATG GTCAGAAATTTGT C	207	ATGAACC ATAACTA C	208	TCAGT TGGTG CTGGT ATC	209	GCCAGCAGT TACGGGGG GGGGCAGA CTGAAGCTT TC	210
PN46914	ACCCGTG ATACTACT TATTAC	211	CGGAACT CTTTTGAT GAGCAAA AT	212	GCTCTGAGTGAGG GTTATAACAGGG AGGAAAGCTTATC	213	ATGGACC ATGAAAA T	214	TCATA TGATG TTAAA ATG	215	GCCAGCGG GGCAGATA GCAATCAGC CCCAGCAT	216

Таблица 5. Аминокислотные последовательности и последовательности нуклеиновых кислот для TCR VelociT, специфических в отношении PRAME (312-320)/HLA-A2

Название домена	Название последовательности Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO); последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 <u>подчеркнуты</u> Последовательность нуклеиновых кислот (SEQ ID NO); последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 <u>подчеркнуты</u>
PN46678 Va	AQKVTQAQPEISVVEKEDVTLDCVYETRDITYYLFWYKQPPSGELVFLI RRNSFDEQNEISGRYSWNFQKSTSSFNFTITASQVVDSAVYFCALSEFDR GSTLGRLYFGRGTQLTVWP (SEQ ID NO: 217) GCTCAGAAGGTAAGCAAGCGCAGCCTGAAATTTCTGTGGTGGAGA AGGAGGATGTGACCTTGGACTGTGTGTATGAAACCCGTGACTACT TATTACTTATTCTGGTACAAGCAACCACCAAGTGGAGAATTGGTTTT CCTTATTCGTCGGAACCTTTTGTGATGAGCAAAATGAAATAAGTGGTC GGTATTCTTGGAACTCCAGAAATCCACCAGTTCCTTCAACTCACC ATCACAGCCTCACAAGTCGTGGACTCAGCAGTATACTTCTGTGCTCT GAGTGAGTTTGACAGAGGCTCAACCCCTGGGGAGGCTATACTTTGGA AGAGGAACTCAGTTGACTGTCTGGCCT (SEQ ID NO: 218)
PN46678 Vβ	DAGVTQSPTHLIKTRGQQVTLRCSPISGHKSVSWYQQVVGQGPQFIFQY YEKEERGRGNFPDRFSARQFPNYSELNVNALLLGDALYLCASSRDIN EKLFVFGSGTQLSVL (SEQ ID NO: 219) GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAACGAGAG GACAGCAAGTACTCTGAGATGCTCTCCTATCTCTGGGCACAAGAGT GTGTCCTGGTACCAACAGGTCCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTATCTT TCAGTATTATGAGAAAGAAGAGAGAGGAAGAGGAAACTCCCTGAT CGATTCTCAGCTCGCCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGT GAACGCCTTGTGCTGGGGACTCGGCCCTGTATCTCTGTGCCAGCA GCCGGGACATTAATGAAAAACTGTTTTTGGCAGTGGAACCCAGCTC TCTGTCTTG (SEQ ID NO: 220)
PN46714 Va	EDQVTQSPEALRLQEGESSLNCSYTVSGLRGLFWYRQDPGKGPEFLFT LYSAGEEKEKERLKATLTKKESFLHITAPKPEDSATYLCVAVQADGGSQG NLIFGKGTKLSVKP (SEQ ID NO: 221) GAAGACCAGGTGACGCAGAGTCCCGAGGCCCTGAGACTCCAGGAGG GAGAGAGTAGCAGTCTCAACTGCAGTTACACAGTCAGCGGTTTAAAG AGGGCTGTCTGGTATAGGCAAGATCCTGGGAAAGGCCCTGAATTC TCTTACCCTGTATTCAGCTGGGGAAGAAAAGGAGAAAGAAAGGCT AAAAGCCACATTAACAAAGAAGGAAAGCTTTCTGCACATCACAGCC CCTAAACCTGAAGACTCAGCCACTTATCTCTGTGCTGTGCAGGCCGA TGGAGGAAGCCAAGGAAATCTCATCTTTGAAAAGGCACTAAACTC TCTGTAAACCA (SEQ ID NO: 222)
PN46714 Vβ	DAGVTQSPTHLIKTRGQQVTLRCSPISGHKSVSWYQQVVGQGPQFIFQY YEKEERGRGNFPDRFSARQFPNYSELNVNALLLGDALYLCASSLDIN SPLHFGNGTRLTVT (SEQ ID NO: 223) GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAACGAGAG GACAGCAAGTACTCTGAGATGCTCTCCTATCTCTGGGCACAAGAGT GTGTCCTGGTACCAACAGGTCCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTATCTT TCAGTATTATGAGAAAGAAGAGAGAGGAAGAGGAAACTCCCTGAT CGATTCTCAGCTCGCCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGT GAACGCCTTGTGCTGGGGACTCGGCCCTGTATCTCTGTGCCAGCA

	<u>GCTTGGACATTAATTCACCCCTCCACTTTGGGAACGGGACCAGGCTC</u> <u>ACTGTGACA (SEQ ID NO: 224)</u>
PN46723 V $\alpha$	<u>EDQVTQSPEALRLQEGESSLNCSYTVSGLRGLFWYRQDPGKGPEFLFT</u> <u>LYSAGEEKEKERLKATLTKKESFLHITAPKPEDSATYLC</u> <u>AVQEDGGSQG</u> <u>NLIFGKGTKLSVKP (SEQ ID NO: 225)</u> GAAGACCAGGTGACGCAGAGTCCCGAGGCCCTGAGACTCCAGGAGG GAGAGAGTAGCAGTCTCAACTGCAGTTACACAGTCAGCGGTTAAAG AGGGCTGTCTGGTATAGGCAAGATCCTGGGAAAAGGCCCTGAATTCC TCTTACCCTGTATTACAGCTGGGGAAGAAAAGGAGAAAAGAAAGGCT AAAAGCCACATTAACAAAGAAGGAAAAGCTTTCTGCACATCACAGCC CCTAAACCTGAAGACTCAGCCACTTATCTCTGTGTCTGTGCAGGAGGA TGGAGGAAGCCAAGGAAATCTCATCTTTGGAAAAGGCACTAAACTC TCTGTAAACCA (SEQ ID NO: 226)
PN46723 V $\beta$	<u>DAGVTQSPHLLIKTRGQVTLRCSPI</u> <u>SGHKS</u> <u>SVSWYQQVLGQGPQFIFQY</u> <u>YEKEERGRGNFPDRFSARQFPNYSELNVNALLLGD</u> <u>SALYLC</u> <u>ASSRDIN</u> <u>EKLFGSGTQLSVL (SEQ ID NO: 227)</u> GACGCTGGAGTACCCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAACGAGAG GACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCTATCTCTGGGCACAAGAGT GTGTCTGGTACCAACAGGTCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTATCTT TCAGTATTATGAGAAAAGAGAGAGAGGAAGAGGAAACTTCCCTGAT CGATTCTCAGCTCGCCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGT GAACGCCTTGTTGCTGGGGGACTCGGCCCTGTATCTCTGTGCCAGCA GCCGGGACATTAATGAAAAACTGTTTTTTGGCAGTGGAACCCAGCTC TCTGTCTTG (SEQ ID NO: 228)
PN46731 V $\alpha$	<u>GENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYSDSASNYFPWYKQELGKRPQLIID</u> <u>RSNVGEKKDQRIAVTLNKTAKHFLHITETQPEDSAVYFCA</u> <u>AWNYGQN</u> <u>FVFGPGTRLSVLP (SEQ ID NO: 229)</u> GGAGAGAATGTGGAGCAGCATCCTTCAACCCTGAGTGTCCAGGAGG GAGACAGCGCTGTATCAAGTGTACTTATTCAGACAGTGCCCTCAAAC TACTTCCCTTGGTATAAGCAAGAAGCTTGGAAAAAGACCTCAGCTTAT TATAGACATTCGTTCAAATGTGGGCGAAAAGAAAAGACCAACGAATT GCTGTACATTGAACAAGACAGCCAAACATTTCTCCCTGCACATCAC AGAGACCAACCTGAAGACTCGGCTGTCTACTTCTGTGCAGCATGGA ACTATGGTCAGAAATTTGTCTTTGGTCCCAGGAAACCAGATTGTCCGTG CTGCCC (SEQ ID NO: 230)
PN46731 V $\beta$	<u>AAGVIQSPRHLIKEKRETA</u> <u>TLKCYPIPRHDTVYWYQQGPQDPQFLISEY</u> <u>EKMQSDKGSIPDRFSAQQFSDYHSELNMSSELELGD</u> <u>SALYFC</u> <u>ASSLEGSE</u> <u>AFFGQGTRLTVV (SEQ ID NO: 231)</u> GCTGCTGGAGTCATCCAGTCCCCAAGACATCTGATCAAAAGAAAAGA GGAAACAGCCACTCTGAAATGCTATCCTATCCCTAGACACGACACT GTCTACTGGTACCAGCAGGGTCCAGGTCAGGACCCCCAGTTCCTCAT TTCGTTTTATGAAAAGATGCAGAGCGATAAAGGAAGCATCCCTGATC GATTCTCAGCTCAACAGTTCAGTGACTATCATTCTGAACTGAACATG AGCTCCTTGGAGCTGGGGGACTCAGCCCTGTACTTCTGTGCCAGCAG CTTAGAGGGGTCTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCCAGACTCACAG TTGTA (SEQ ID NO: 232)
PN46733 V $\alpha$	<u>GESVGLHLP</u> <u>TLVQEGD</u> <u>NSIINCAYSNSASDYFIWYKQESGKGPQFIIDIR</u> <u>SNMDKRQQRVTVLLNKT</u> <u>VKHLSLQIAATQPGDSAVYFCA</u> <u>ENNYGQN</u> <u>FVFGPGTRLSVLP (SEQ ID NO: 233)</u> GGAGAGAGTGTGGGGCTGCATCTTCTACCCTGAGTGTCCAGGAGG GTGACAACCTTATTATCAACTGTGCTTATTCAAACAGCGCCTCAGAC TACTTCATTTGGTACAAGCAAGAATCTGGAAAAGGTCCTCAATTCAT

	<u>TATAGACATTCGTTCAAATATGGACAAAAGGCAAGGCCAAAGAGTC</u> <u>ACCGTTTTATTGAATAAGACAGTGAAACATCTCTCTCTGCAAAATTGC</u> <u>AGCTACTCAACCTGGAGACTCAGCTGTCTACTTTTGTGCAGAGAATA</u> <u>ACTATGGTCAGAATTTTGTCTTTGGTCCCAGAACAGATTGTCCGTG</u> <u>CTGCC (SEQ ID NO: 234)</u>
PN46733 Vβ	<u>NAGVTQTPKFQVLKGTQSMTLQCAQDMNHNSMYWYRQDPGMGLRLI</u> <u>YYSASEGTTDKGEVPNGYNVSRNLKREFSLRLESAAPSQTSVYFCASSD</u> <u>WGQGVFAFFGQGRLLTVV (SEQ ID NO: 235)</u> <u>AATGCTGGTGTCACTCAGACCCCAAATTCCAGGTCCTGAAGACAG</u> <u>GACAGAGCATGACTGCAGTGTGCCAGGATATGAACCATAACTC</u> <u>CATGTACTGGTATCGACAAGACCCAGGCATGGGACTGAGGCTGATTT</u> <u>ATTACTCAGCTTCTGAGGGTACCCTGACAAAGGAGAAGTCCCAAT</u> <u>GGCTACAATGTCTCCAGATTAACAACGGGAGTTCTCGCTCAGGCT</u> <u>GGAGTCGGCTGCTCCCTCCAGACATCTGTGTACTTCTGTGCCAGCA</u> <u>GTGACTGGGGACAGGGGTTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCAG</u> <u>ACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 236)</u>
PN46735 Vα	<u>DAKTTQPNMESNEEPPVHLPCNHSTISGTDYIHWYRQLPSQGPEYVIH</u> <u>GLTSNVNRRMASLAI AEDRKSSLLILHRATLRDAAVYYCILREYMYSGG</u> <u>GADGLTFGKGTHLIQP (SEQ ID NO: 237)</u> <u>GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTC AATGGAGAGTAACGAAGAAG</u> <u>AGCCTGTTCACTTGCCTGTAACTCCACAATCAGTGGAACTGAT</u> <u>TACATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCAGGGTCCAGAGTACGT</u> <u>GATTCATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGG</u> <u>CAATCGCTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTGCT</u> <u>ACCTTGAGAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCCTGAGAGAATACAT</u> <u>GTATTCAGGAGGAGGTGCTGACGGACTCACCTTTGGCAAAGGGACT</u> <u>CATCTAATCATCCAGCCC (SEQ ID NO: 238)</u>
PN46735 Vβ	<u>DAGVTQSPHLIKTRGQVTLRCSPIGHKSVSWYQQVLGQGPQFIFQY</u> <u>YEKEERGRGNFPDRFSARQFPNYSELNVNALLGDSALYLCASSFOAG</u> <u>VNYGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 239)</u> <u>GACGCTGGAGTCAACCAAAGTCCACACACCTGATCAAAACGAGAG</u> <u>GACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCTATCTCTGGGCACAAGAGT</u> <u>GTGTCCTGGTACCAACAGGTCCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTATCT</u> <u>TCAGTATTATGAGAAAGAAGAGAGAGGAAGAGGAAACTTCCCTGAT</u> <u>CGATTCTCAGCTCGCCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGT</u> <u>GAACGCCTTGTTGCTGGGGACTCGGCCCTGTATCTCTGTGCCAGCA</u> <u>GCTTCCAAGCAGGGGTTAACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACC</u> <u>AGGTTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 240)</u>
PN46738 Vα	<u>AQVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDTSENNYLFWYKQPPSRQMILVI</u> <u>RQEAYKQONATENRFSVNFQKAASFSLKISDSQLGDTAMYFCAFGMV</u> <u>SGGGADGLTFGKGTHLIQP (SEQ ID NO: 241)</u> <u>GCCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG</u> <u>CAGAGACTGTGACCTGAGTTGCACATATGACACCAGTGAGAATAA</u> <u>TTATTATTTGTTCTGGTACAAGCAGCCTCCAGCAGGCAGATGATTC</u> <u>TCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACGGAGAA</u> <u>TCGTTTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTCTCA</u> <u>AGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGACTGCGATGTATTTCTGTGCT</u> <u>TTCGGTATGTATTCAGGAGGAGGTGCTGACGGACTCACCTTTGGCAA</u> <u>AGGGACTCATCTAATCATCCAGCCC (SEQ ID NO: 242)</u>
PN46738 Vβ	<u>DAGITQSPRYKITETGRQVTLMCHQWVSHSYMFWYRQDLGHGLRLIYY</u> <u>SAAADITDKGEVDPGYVVSRSKTENFPLTLESA TRSQT SVYFCASSDGT</u> <u>GYGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 243)</u>

	<p>GATGCTGGAATCACCCAGAGCCCAAGATACAAGATCACAGAGACAG  GAAGGCAGGTGACCTTGATGTGTCACCAGACTTGGAGCCACAGCTA  TATGTTCTGGTATCGACAAGACCTGGGACATGGGCTGAGGCTGATCT  ATTACTCAGCAGCTGCTGATATTACAGATAAAGGAGAAGTCCCCGAT  GGCTATGTTGTCTCCAGATCCAAGACAGAGAATTTCCCCCTCACTCT  GGAGTCAGCTACCCGCTCCAGACATCTGTGTATTTCTGCGCCAGCA  GTGATGGGACAGGGTACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAG  GTTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 244)</p>
PN46777 V $\alpha$	<p>AQTVTQSQPEMSVQEAEVTLSCYDTSENNYLFWYKOPPSRQMILVI  RQEAYKQQNATENRFSVNFQKAASFSFLKISDSQLGDTAMYFCALMEY  GNKLVFGAGTILRVKS (SEQ ID NO: 245)</p> <p>GCCCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG  CAGAGACTGTGACCCTGAGTTGCACATATGACACCAGTGAGAATAA  TATTATTGTTCTGGTACAAGCAGCCTCCAGCAGGCAGATGATTC  TCGTTATTCGCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACGGAGAA  TCGTTTCTCTGTGAACCTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTCTCA  AGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGACACTGCGATGTATTTCTGTGCC  CTTATGGAATATGGAAACAAACTGGTCTTTGGCGCAGGAACCATTCT  GAGAGTCAAGTCC (SEQ ID NO: 246)</p>
PN46777 V $\beta$	<p>DAGITQSPRYKITETGRQVTLMCHQWVSHSYMFWYRQDLGHGLRLIYY  SAAADITDKGEVPDGYVVSRSKTENFPLTLESATRSQTSVYFCASSDGT  GYYGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 247)</p> <p>GATGCTGGAATCACCCAGAGCCCAAGATACAAGATCACAGAGACAG  GAAGGCAGGTGACCTTGATGTGTCACCAGACTTGGAGCCACAGCTA  TATGTTCTGGTATCGACAAGACCTGGGACATGGGCTGAGGCTGATCT  ATTACTCAGCAGCTGCTGATATTACAGATAAAGGAGAAGTCCCCGAT  GGCTATGTTGTCTCCAGATCCAAGACAGAGAATTTCCCCCTCACTCT  GGAGTCAGCTACCCGCTCCAGACATCTGTGTATTTCTGCGCCAGCA  GTGATGGGACAGGGTACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAG  GTTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 248)</p>
PN46797 V $\alpha$	<p>AQTVTQSQPEMSVQEAEVTLSCYDTSENNYLFWYKOPPSRQMILVI  RQEAYKQQNATENRFSVNFQKAASFSFLKISDSQLGDTAMYFCALMEY  ENKLVFGAGTILRVKS (SEQ ID NO: 249)</p> <p>GCCCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG  CAGAGACTGTGACCCTGAGTTGCACATATGACACCAGTGAGAATAA  TTATTATTGTTCTGGTACAAGCAGCCTCCAGCAGGCAGATGATTC  TCGTTATTCGCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACGGAGAA  TCGTTTCTCTGTGAACCTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTCTCA  AGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGACACTGCGATGTATTTCTGTGCC  CTTATGGAATATGAAAACAAACTGGTCTTTGGCGCAGGAACCATTCT  GAGAGTCAAGTCC (SEQ ID NO: 250)</p>
PN46797 V $\beta$	<p>DAGITQSPRYKITETGRQVTLMCHQWVSHSYMFWYRQDLGHGLRLIYY  SAAADITDKGEVPDGYVVSRSKTENFPLTLESATRSQTSVYFCASSDGT  GYYGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 251)</p> <p>GATGCTGGAATCACCCAGAGCCCAAGATACAAGATCACAGAGACAG  GAAGGCAGGTGACCTTGATGTGTCACCAGACTTGGAGCCACAGCTA  TATGTTCTGGTATCGACAAGACCTGGGACATGGGCTGAGGCTGATCT  ATTACTCAGCAGCTGCTGATATTACAGATAAAGGAGAAGTCCCCGAT  GGCTATGTTGTCTCCAGATCCAAGACAGAGAATTTCCCCCTCACTCT  GGAGTCAGCTACCCGCTCCAGACATCTGTGTATTTCTGCGCCAGCA  GTGATGGGACAGGGTACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAG  GTTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 252)</p>

<p>PN46853 Va</p>	<p>ILNVEQSPQSLHVQEGDSTNFTCSFPSSNFYALHWYRWETAKSPEALFV  <u>MTLNGDEK</u>KKGRISATLNTKEGYSYL<sup>Y</sup>IKGSQPEDSATYLCA<u>CGGSGN</u>  <u>TGKLIFGQGT</u>LQVKP (SEQ ID NO: 253)            ATACTGAACGTGGAACAAAGTCCTCAGTCACTGCATGTTTCAGGAGG            GAGACAGCACCAATTTACCTGCAGCTTCCCTCCAGCAATTTTTAT  <u>GCCTT</u>ACTACTGGTACAGATGGGAAACTGCAAAAAGCCCCGAGGCCT            TGTTTGTAATGACTTTAAATGGGGATGAAAAGAAGAAAGGACGAAT            AAGTGCCACTCTTAATACCAAGGAGGGTTACAGCTATTGTACATCA            AAGGATCCCAGCCTGAAGACTCAGCCACATACCTCTGTGCCTGTGGG  <u>GGTCT</u>GGCAACACAGGCAAATACTTTGGGCAAGGGACAACCTT            ACAAGTAAAACCA (SEQ ID NO: 254)</p>
<p>PN46853 Vβ</p>	<p>AAGVIQSPRHLIKEKRETA TLKCYPIPRHDTVYVYQOGPGQDPQFLISFY  <u>EKMQSDKGSIPDRFSAQ</u>QFSDYHSELNMSLELGDSALYFC<u>ASSSQGQP</u>  <u>QHFGD</u>GTRLSIL (SEQ ID NO: 255)            GCTGCTGGAGTCATCCAGTCCCAAGACATCTGATCAAAGAAAAGA            GGGAAACAGCCACTCTGAAATGCTATCCTATCCCTAGACACGACACT            GTCTACTGGTACCAGCAGGGTCCAGGTCAGGACCCCAAGTTCCTCAT            TTCGTTTTATGAAAAGATGCAGAGCGATAAAGGAAGCATCCCTGATC            GATTCTCAGCTCAACAGTTCAGTACTATCATTCTGAACTGAACATG            AGCTCCTTGGAGCTGGGGGACTCAGCCCTGTACTTCTGTGCCAGCAG            CTCCCAGGGTCAGCCCAGCATTTTGGTGATGGGACTCGACTCTCCA            TCCTA (SEQ ID NO: 256)</p>
<p>PN46857 Va</p>	<p>AQKVTQATREISVVEKEDVTLDCVYE<u>TRD</u>TTYLFWYKQPPSGELVFLI  <u>RRNSFDEQNEISGRYSWN</u>FQKSTSSNFNITASQVVD<sup>S</sup>AVYFC<u>ALSEGY</u>  <u>GNKLV</u>FGAGTILRVKS (SEQ ID NO: 257)            GCTCAGAAGGTA<sup>A</sup>ACTCAAGCGACTAGAGAAATTTCTGTGGTGGAGA            AGGAGGATGTGACCTTGGACTGTGTGTATGAAACCCGTGATACTACT  <u>TATTACT</u>TATTCTGGTACAAGCAACCACCAAGTGGAGAATTGGTTTT            CCTTATTCGTCGGAACTCTTTTGATGAGCAAAATGAAATAAGTGGTC            GGTATTCTTGGAACTCCAGAAATCCACCAGTTCCTTCAACTTCACC            ATCACGCCTCACAAAGTCGTGGACTCAGCAGTATACTTCTGTGCTCT  <u>GAGTGAGGGATATG</u>GAACA<sup>A</sup>AACTGGTCTTTGGCGCAGGAACCATT            CTGAGAGTCAAGTCC (SEQ ID NO: 258)</p>
<p>PN46857 Vβ</p>	<p>NAGVMQNPRHLVRRRGQEARLRCSPMKGHS<sup>H</sup>VYWRQLPEEGLKFM  <u>VYLQKENI</u>IDESGMPKERFSAEFPKEGPSILRIQVVVRGDSAA<sup>Y</sup>FC<u>ASSH</u>  <u>RDDTEA</u>FFGQGTRLT<sup>V</sup>V (SEQ ID NO: 259)            AATGCCGGCGTCATGCAGAACCAAGACACCTGGTCAGGAGGAGGG            GACAGGAGGCAAGACTGAGATGCAGCCCAATGAAAGGACACAGTC  <u>ATGTTT</u>ACTGGTATCGGCAGCTCCCAGAGGAAGGTCTGAAATTCATG            GTTTATCTCCAGAAAGAAAATATCATAGATGAGTCAGGAATGCCAA            AGGAACGATTTCTGCTGAATTTCCCAAAGAGGGCCCCAGCATCCTG            AGGATCCAGCAGGTAGTGCAGGAGATTCCGCAGCTTATTTCTGTGC  <u>CAGCTCACACAGGGACGACACTGAAGCTT</u>CTTTGGACAAGGCACC            AGACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 260)</p>
<p>PN46871 Va</p>	<p>KQEV<sup>T</sup>QIPAALSVPEGENLVLNCSFTDS<sup>A</sup>IYNLQWFRQDPGKGLTSLLLI  <u>QSSQRE</u>QTSGRNLNASL<sup>D</sup>KSSGRSTLYIAASQPGDSATYLCA<u>VEGTTDSW</u>  <u>GKEQF</u>GAGTQVVVTP (SEQ ID NO: 261)            AAACAGGAGGTGACGCAGATTCCTGCAGCTCTGAGTGTCCAGAAG            GAGAAAACCTGGTTCTCAACTGCAGTTTCACTGATAGCGCTATTTAC  <u>AACCTCC</u>AGTGGTTTAGGCAGGACCCTGGGAAAAGGTCTCACATCTCT            GTTGCTTATTCAGTCAAGTCAGAGAGAGCAAACAAGTGAAGACTT            AATGCCTCGCTGGATAAATCATCAGGACGTAGTACTTTATACATTGC</p>

	<p>AGCTTCTCAGCCTGGTACTCAGCCACCTACCTCTGTGCTGTGGAGG  GGACAACCTGACAGCTGGGGGAAATTCAGTTTGGAGCAGGGACCCA  GGTTGTGGTCACCCCA (SEQ ID NO: 262)</p>
PN46871 V $\beta$	<p>AAGVIQSPRHLIKEKRETLKCYPIPRHDTVYVYQQGPGQDPQLISFY  <u>EKMQSDKGSIPDRFSAQQFSDYHSELNMSLELGDSALYFCASSSQGQP</u>  <u>QHFGDGTRLSIL</u> (SEQ ID NO: 263)  GCTGCTGGAGTCATCCAGTCCCAAGACATCTGATCAAAGAAAAGA  GGGAAACAGCCACTCTGAAATGCTATCCTATCCCTAGACACGACACT  GTCTACTGGTACCAGCAGGGTCCAGGTCAGGACCCCAAGTTCCAT  TTCGTTTTATGAAAAGATGCAGAGCGATAAAGGAAGCATCCCTGATC  GATTCTCAGCTCAACAGTTCAGTGACTATCATTCTGAACTGAACATG  AGCTCCTTGGAGCTGGGGACTCAGCCCTGTACTTCTGTGCCAGCAG  CTCCCAGGGTCAGCCCCAGCATTTTGGTGATGGGACTCGACTCTCCA  TCCTA (SEQ ID NO: 264)</p>
PN46880 V $\alpha$	<p>AQRVTQPEKLLSVFKGAPVELKCNYSYSGSPELFWYVQYSRQRLQLLL  RHISRESIKGFTADLNKGETSFHLKPFQAQEEDSAMYYCALSGASGGSYI  <u>PTFGRGTSLIVHP</u> (SEQ ID NO: 265)  GCCCAGAGAGTGACTCAGCCCGAGAAGCTCCTCTCTGTCTTTAAAGG  GGCCCCAGTGGAGCTGAAGTGCAACTATTCCTATTCTGGGAGTCTCTG  <u>A</u>ACTCTTCTGGTATGTCCAGTACTCCAGACAACGCCTCCAGTTACTC  TTGAGACACATCTCTAGAGAGAGCATCAAAGGCTTCACTGCTGACCT  TAACAAAGGCGAGACATCTTTCCACCTGAAGAAACCATTGCTCAAG  AGGAAGACTCAGCCATGTATTACTGTGCTCTAAGTGGGGCATCAGG  <u>AGGAAGCTACATACCTACATTTGGAAGAGGAACCAGCCTTATTGTTC</u>  ATCCG (SEQ ID NO: 266)</p>
PN46880 V $\beta$	<p>NAGVMQNPRHLVRRRGQEARLRCSMPKGHSHVYVYRQLPEEGLKFM  VYLQKENIIDESGMPKERFSAEFPKEGPSILRIQQVVRGDSAAVYFCASSH  <u>RDDTEAFFGQGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 267)  AATGCCGGCGTCATGCAGAACCAAGACACCTGGTCAGGAGGAGGG  GACAGGAGGCAAGACTGAGATGCAGCCAATGAAAGGACACAGTC  <u>ATGTTTACTGGTATCGGCAGCTCCCAGAGGAAGGTCTGAAATTCATG</u>  GTTTATCTCCAGAAAGAAAATATCATAGATGAGTCAGGAATGCCAA  AGGAACGATTTTCTGCTGAATTTCCCAAAGAGGGCCCCAGCATCTG  AGGATCCAGCAGGTAGTGCGAGGAGATTCCGCAGCTTATTTCTGTGC  CAGCTCACACAGGGACGACACTGAAGCTTCTTTGGACAAGGCACC  AGACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 268)</p>
PN46883 V $\alpha$	<p>AQKVTQAQTEISVVEKEDVTLDCVYETRDITYYLFWYKQPPSGELVFLI  RRNSFDEQNEISGRYSWNFQKSTSSNFNTITASQVVDASAVYFCALSVSSY  <u>NTDKLIFGTGTRLQVFP</u> (SEQ ID NO: 269)  GCTCAGAAGGTAACCTAAGCGCAGACTGAAATTTCTGTGGTGGAGA  AGGAGGATGTGACCTTGACTGTGTGTATGAAACCCGTGATACTACT  TATTACTTATTCTGGTACAAGCAACCACCAAGTGGAGAATTGGTTTT  CCTTATTCGTCGGAACCTTTTTGATGAGCAAAATGAAATAAGTGGTC  GGTATTCTTGAACTCCAGAAATCCACCAGTTCCTTCAACTTCACC  ATCACAGCCTCACAAAGTCGTGGACTCAGCAGTATACTTCTGTGCTCT  GAGTGTATCATCTTATAACACCGACAAGTCATCTTTGGGACTGGGA  CCAGATTACAAGTCTTTCCA (SEQ ID NO: 270)</p>
PN46883 V $\beta$	<p>NAGVMQNPRHLVRRRGQEARLRCSMPKGHSHVYVYRQLPEEGLKFM  VYLQKENIIDESGMPKERFSAEFPKEGPSILRIQQVVRGDSAAVYFCASSH  <u>RDDTEAFFGQGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 271)  AATGCCGGCGTCATGCAGAACCAAGACACCTGGTCAGGAGGAGGG  GACAGGAGGCAAGACTGAGATGCAGCCAATGAAAGGACACAGTC</p>

	<p><u>ATGTTTACTGGTATCGGCAGCTCCCAGAGGAAGGTCTGAAATTCATG</u>  <u>GTTTATCTCCAGAAAGAAAATATCATAGATGAGTCAGGAATGCCAA</u>  <u>AGGAACGATTTTCTGCTGAATTTCCCAAAGAGGGCCCCAGCATCCTG</u>  <u>AGGATCCAGCAGGTAGTGCAGGAGATTCCGGCAGCTTATTTCTGTGC</u>  <u>CAGCTCACACAGGGATGACACTGAAGCTTCTTTGGACAAGGCACC</u>  <u>AGACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 272)</u></p>
PN46884 V $\alpha$	<p><u>AQKVTQAQPEISVVEKEDVTLDCVYETRDITYYLFWYKOPPSGELVFLI</u>  <u>RRNSFDEQNEISGRYSWNFQKSTSSFNFTITASQVVDSAVYFCALSEGY</u>  <u>NTDKLIFGTGTRLQVFP (SEQ ID NO: 273)</u>  <u>GCTCAGAAGGTAAGTCAAGCGCAGCCTGAAATTTCTGTGGTGGAGA</u>  <u>AGGAGGATGTGACCTTGGACTGTGTGTATGAAACCCGTGATACTACT</u>  <u>TATTACTTATTTCTGGTACAAGCAACCACCAAGTGGAGAATTGGTTTT</u>  <u>CCTTATTCGTCGGAACCTTTTGTATGAGCAAAAATGAAATAAGTGGTC</u>  <u>GGTATTCTTGGAACTTCCAGAAATCCACCAGTTCCTTCAACTTCACC</u>  <u>ATCACAGCCTCACAAGTCGTGGACTCAGCAGTATACTTCTGTGCTCT</u>  <u>GAGTGAGGGGTATAACACCCGACAAGCTCATCTTTGGGACTGGGACC</u>  <u>AGATTACAAGTCTTTCCA (SEQ ID NO: 274)</u></p>
PN46884 V $\beta$	<p><u>DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQMDHENMFWYRQDPGLGLRLIY</u>  <u>FSYDVKMKEKGDIPGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLCASSLG</u>  <u>GANTIYFGEGSWLTVV (SEQ ID NO: 275)</u>  <u>GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAAGGACGG</u>  <u>GAGAGAAAAGTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAAAA</u>  <u>TATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGATCT</u>  <u>ATTTCTCATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCCTGAG</u>  <u>GGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCTGATTCT</u>  <u>GGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGTGCCAGCA</u>  <u>GTTTAGGGGGGGCGAACACCATATATTTGGAGAGGGGAAGTTGGCT</u>  <u>CACTGTTGTA (SEQ ID NO: 276)</u></p>
PN46889 V $\alpha$	<p><u>QKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNTYSDRGSQSFFWYRQYSGKSPELIMSI</u>  <u>YSNGDKEDGRFTAQLNKASQYVSLLRDSQPSSDAYSILCAVNIPNSGYS</u>  <u>TLTFGKGTMLLVSP (SEQ ID NO: 277)</u>  <u>CAGAAGGAGGTGGAGCAGAATTCTGGACCCCTCAGTGTTCAGAGG</u>  <u>GAGCCATTGCCTCTCTCAACTGCACCTACAGTGACCGAGGTTCCCAG</u>  <u>TCCTTCTTCTGGTACAGACAATATTCTGGGAAAAGCCCTGAGTTGAT</u>  <u>AATGTCCATATACTCCAATGGTGACAAAAGAAGATGGAAGGTTTACA</u>  <u>GCACAGCTCAATAAAGCCAGCCAGTATGTTTCTCTGCTCATCAGAGA</u>  <u>CTCCCAGCCAGTGATTCAGCCACCTACCTCTGTGCCGTGAACATTC</u>  <u>CGAATTCAGGATACAGCACCCCTCACCTTTGGGAAGGGGACTATGCTT</u>  <u>CTAGTCTCTCCA (SEQ ID NO: 278)</u></p>
PN46889 V $\beta$	<p><u>NAGVTQTPKFRVLKTGQSMTLTLLCAQDMNHEMYWYRQDPGMGLRLI</u>  <u>HYSVGEGTTAKGEVPDGYNVSRLLKQNFLLGLESAAQSQTSVYFCASS</u>  <u>YWEGTEAFFGQGTRLTVV (SEQ ID NO: 279)</u>  <u>AATGCTGGTGTCACTCAGACCCCAAAATTCGGGTCCTGAAGACAG</u>  <u>GACAGAGCATGACACTGCTGTGTGCCAGGATATGAACCATGAATA</u>  <u>CATGTACTGGTATCGACAAGACCCAGGCATGGGGCTGAGGCTGATT</u>  <u>CATTACTCAGTTGGTGAGGGTACAAGTCCCAAAGGAGAGGTCCCTG</u>  <u>ATGGCTACAATGTCTCCAGATTAACAAAAACAGAATTTCTGCTGGGG</u>  <u>TTGGAGTCGGCTGCTCCCTCCCAACATCTGTGTACTTCTGTGCCAG</u>  <u>CAGTTACTGGGAGGGCACTGAAGCTTCTTTGGACAAGGCACCAGA</u>  <u>CTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 280)</u></p>

PN46909 Va	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDTSENNYYLFWYKQPPSRQMLVI RQEAYKQQNATENRFSVNFQKAAKSFLKISDSQLGDTAMYFCADFYG QNEVFGPGRLSVLP (SEQ ID NO: 281) GCCCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGG CAGAGACTGTGACCCTGAGTTGCACATATGACACCAGTGAGAATAA TTATTATTGTTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGATTC TCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACGGAGAA TCGTTCTCTGGAECTCCAGAAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTCTCA AGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGACACTGCGATGTATTCTGTGCT TTCGACTATGGTCAGAATTTGTCTTTGGTCCCAGGAAACCAGATTGTCC GTGCTGCCC (SEQ ID NO: 282)
PN46909 Vβ	NAGVTQTPKFRILKIGQSMTLQCAQDMNHNMYWYRQDPGMGLKLIY YSVAGITDKGEVPNGYNVSRSTTEYFPLRLELAAPSQTSVYFCASSYG GGQTEAFFGQGRLLTVV (SEQ ID NO: 283) AATGCTGGTGTCACTCAGACCCAAAATTCCGCATCCTGAAGATAGG ACAGAGCATGACACTGCAGTGTGCCAGGATATGAACCATAACTAC ATGTACTGGTATCGACAAGACCCAGGCAATGGGGCTGAAGCTATT ATTATTCAGTTGGTGTGATCACTGATAAAGGAGAAGTCCCGAAT GGCTACAACGTCTCCAGATCAACCACAGAGTATTTCCCCTCAGGCT GGAGTTGGCTGCTCCCTCCAGACATCTGTGTACTTCTGTGCCAGCA GTTACGGGGGGGGCAGACTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCAG ACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 284)
PN46914 Va	AQKVTQAQPEISVVEKEDVTLDCVYETRDTYYLFWYKQPPSGELVFLI RRNSFDEQNEISGRYSWNFQKSTSSNFNTITASQVDSAVYFCALSEGY NQQGKLIFGQGTLSVKP (SEQ ID NO: 285) GCTCAGAAGGTAACCAAGCGCAGCCTGAAATTTCTGTGGTGGAGA AGGAGGATGTGACCTGGACTGTGTGTATGAAACCCGTGATACTACT TATTACTTATTCTGGTACAAGCAACCACCAAGTGGAGAATTGGTTTT CCTTATTCGTCGGAACCTTTTGATGAGCAAAATGAAATAAGTGGTC GGTATTCTTGGAACTCCAGAAATCCACCAGTTCCTTCAACTCACC ATCACAGCCTACAAGTCGTGGACTCAGCAGTATACTTCTGTGCTCT GAGTGAGGGTTATAACCAGGGAGGAAAGCTTATCTTCGGACAGGGA ACGGAGTTATCTGTGAAACCC (SEQ ID NO: 286)
PN46914 Vβ	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLIY FSYDVKMKKEKGDIPGYSVSREKKEKRFSLILESASTNQTSMYLCASGAD SNQPOHFGDGRLLSIL (SEQ ID NO: 287) GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAGGACGG GAGAGAAAGTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAAA TATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGATCT ATTTCTCATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAGGAGATATCTGTGAG GGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCTGATTCT GGAGTCCGCCAGCAACCAGACATCTATGTACCTCTGTGCCAGCG GGCAGATAGCAATCAGCCCCAGCATTTTGGTGTGAGGACTCGACTC TCCATCCTA (SEQ ID NO: 288)

Таблица 6. Аминокислотные последовательности CDR для TCR VelocIT, специфических в отношении PRAME (425-433)/HLA-A2

ID TCR	CDR1 Va	SEQ ID NO:	CDR2 Va	SEQ ID NO:	CDR3 Va	SEQ ID NO:	CDR1 Vβ	SEQ ID NO:	CDR2 Vβ	SEQ ID NO:	CDR3 Vβ	SEQ ID NO:
PN42365	SVFSS	289	VVTGGEV	290	AANGGSQGNLI	291	SGHDT	292	YYEEEE	293	ASSLQDYGYT	294
PN42378	TISGTDY	295	GLTSN	296	ILRPDSWGKFKQ	297	SGHDT	298	YYEEEE	299	ASSLQDYGYT	300
PN42386	SVFSS	301	VVTGGEV	302	ATNGGSQGNLI	303	SGHDT	304	YYEEEE	305	ASSLQDYGYT	306
PN42441	TISGTDY	307	GLTSN	308	IRRPNGQFY	309	MNHEY	310	SMNVEV	311	ASSLWTGSEAF	312
PN42442	SVFSS	313	VVTGGEV	314	AGGTSQTYKYI	315	MNHEY	316	SMNVEV	317	ASSPGTANYGYT	318
PN42450	YSGSPE	319	HISR	320	ALGNTDKLI	321	MDHEN	322	SYDVKM	323	ASSSPRTGWYGYT	324
PN42455	TISGTDY	325	GLTSN	326	ILRPDSWGKFKQ	327	SGHDT	328	YYEEEE	329	ASSLVDYGYT	330
PN42476	TISGTDY	331	GLTSN	332	ILRPDSWGKFKQ	333	MDHEY	334	SMNVEV	335	ASSLGGVDERLS	336
PN42483	SVFSS	337	VVTGGEV	338	AGDGGSQGNLI	339	MNHEY	340	SMNVEV	341	ASSLGGADEKLF	342
PN42496	TISGTDY	343	GLTSN	344	ILGQGAQKLV	345	MNHEY	346	SMNVEV	347	ASSLWTGGGYT	348
PN42498	SVFSS	349	VVTGGEV	350	AGDGGSQGNLI	351	SGHDT	352	YYEEEE	353	ASSLVDYGYT	354
PN42558	DSVNN	355	IPSGT	356	VLGGGSQGNLI	357	SGHDT	358	YYEEEE	359	ASSFTDYGYT	360
PN42561	TISGTDY	361	GLTSN	362	ILRDGTGNQFY	363	MNHEY	364	SMNVEV	365	ASSLWTGGGYT	366
PN42562	SVFSS	367	VVTGGEV	368	AGGPGSYKYI	369	MNHEY	370	SMNVEV	371	ASSPPTPNYGYT	372
PN42610	DRGSQS	373	IYNGD	374	AGNYGQNFV	375	PRHDT	376	FYEKMQ	377	ASSIGLNQPH	378
PN42654	TISGTDY	379	GLTSN	380	ILRDGIGNQFY	381	MNHEY	382	SMNVEV	383	ASSLWTGGGYT	384
PN42655	TISGTDY	385	GLTSN	386	ILRPDSWGKFKQ	387	MNHEY	388	SMNVEV	389	ASSLWTGGGYT	390
PN42677	TISGTDY	391	GLTSN	392	ILRDGTGNQFY	393	MNHEY	394	SMNVEV	395	ASSSTGYGYT	396
PN42683	TISGTDY	397	GLTSN	398	ILRDREYGNKLV	399	MNHEY	400	SMNVEV	401	ASSLWTGGGYT	402
PN42689	SVFSS	403	VVTGGEV	404	AEDGGSQGNLI	405	SGHDT	406	YYEEEE	407	ASSLSDYGYT	408
PN42706	DSVNN	409	IPSGT	410	AVEASGYKYI	411	MNHEY	412	SMNVEV	413	ASSWGTGGYGYT	414
PN42707	NSASDY	415	IRSNMDK	416	AENKRDNYGQNFV	417	MNHEY	418	SMNVEV	419	ASSFWVNTAEP	420
PN42711	DSVNN	421	IPSGT	422	AVGSSNGYKLS	423	MNHEY	424	SMNVEV	425	ASSPPTGGFSPLH	426
PN42712	DSVNN	427	IPSGT	428	AVGSSNDYKLS	429	MNHEY	430	SMNVEV	431	ASSPPTGGFSPLH	432
PN42746	NSASDY	433	IRSNMDK	434	AENRQDNYGQNFV	435	MNHEY	436	SMNVEV	437	ASSLWVNTAEP	438
PN42750	TISGTDY	439	GLTSN	440	ILRPDSWGKFKQ	441	MDHEN	442	SYDVKM	443	ASSTVRQGNVGYT	444
PN42762	TISGTDY	445	GLTSN	446	ILNTGTASKLT	447	MNHEY	448	SMNVEV	449	ASSLSSNTAEP	450

PN42774	DRGSQS	451	IYNSGD	452	AVNRGTDKLI	453	SGHDT	454	YYEEEE	455	ASSWTDYGYT	456
PN42776	TISGTDY	457	GLTSN	458	ILRPDSWGKFQ	459	SGHDT	460	YYEEEE	461	ASSWTDYGYT	462
PN42780	SVFSS	463	VVTGGEV	464	AGGTSGYKYI	465	MNHEY	466	SMNVEV	467	ASSPGTPNYGYT	468
PN42795	NSASQS	469	VYSSGN	470	VVNGGSQGNLI	471	SGHDT	472	YYEEEE	473	ASSVGDYGYT	474
PN42815	NSASDY	475	IRSNMDK	476	AENNYGQNFY	477	MNHEY	478	SMNVEV	479	ASSLWDSPLH	480
PN42826	NSMFDY	481	ISSIKDK	482	AASAGSARQLT	483	MNHEY	484	SMNVEV	485	ASSLYHTHEAF	486
PN42833	TISGNEY	487	GLKNN	488	IVRDITSGTYKYI	489	MNHEY	490	SMNVEV	491	ASSLSSTGFSPLH	492
PN42840	SVFSS	493	VVTGGEV	494	AEGGGSQGNLI	495	SGHDT	496	YYEEEE	497	ASSWTDYGYT	498
PN42845	SVFSS	499	VVTGGEV	500	AGIRSNDYKLS	501	MNHEY	502	SMNVEV	503	ASSSWTAHTEAF	504
PN42870	SVFSS	505	VVTGGEV	506	AENSGGGADGLT	507	SGHDT	508	YYEEEE	509	ASSFTDYGYT	510
PN42879	SVFSS	511	VVTGGEV	512	AGEDFGNEKLT	513	SGHDT	514	YYEEEE	515	ASSWADYGYT	516
PN42888	SSNFYA	517	MTLNGDE	518	AFLTGNQFY	519	MDHEN	520	SYDVKM	521	ASSTVROGNYGYT	522
PN42895	NSMFDY	523	ISSIKDK	524	AASAGSARQLT	525	MNHEY	526	SMNVEV	527	ASSLWSNTEAF	528

Таблица 7. Последовательности нуклеиновых кислот CDR для TCR VelociT, специфических в отношении PRAME (425-433)/HLA-A2

ID TCR	CDR1 V $\alpha$	SEQ ID NO:	CDR2 V $\alpha$	SEQ ID NO:	CDR3 V $\alpha$	SEQ ID NO:	CDR1 V $\beta$	SEQ ID NO:	CDR2 V $\beta$	SEQ ID NO:	CDR3 V $\beta$	SEQ ID NO:
PN42365	AGTGTTTTTCCAGC	529	GTAGTTACGGGTGGAGAAGTG	530	GCCGCTAATGGAGGAAGCCAAGGAAATCTCATC	531	TCTGGGCATGACACT	532	TATTATGAGGAGGAAGAG	533	GCCAGCAGCTTACAGGACTATGGCTACACC	534
PN42378	ACAATCAGTGGAACTGATTAC	535	GGTCTTACAAGCAAT	536	ATCCTGCGGCCTGACAGCTGGGGGAAAATCCAG	537	TCTGGGCATGACACT	538	TATTATGAGGAGGAAGAG	539	GCCAGCAGCTTACAGGACTATGGCTACACC	540
PN42386	AGTGTTTTTCCAGC	541	GTAGTTACGGGTGGAGAAGTG	542	GCCACTAATGGAGGAAGCCAAGGAAATCTCATC	543	TCTGGGCATGACACT	544	TATTATGAGGAGGAAGAG	545	GCCAGCAGCTTACAGGACTATGGCTACACC	546
PN42441	ACAATCAGTGGAACTGATTAC	547	GGTCTTACAAGCAAT	548	ATCAGGCGGCCCGTAACCCAGTTCTAT	549	ATGAACCATGAGTAT	550	TCAATGATGTTGAGGTG	551	GCCAGCAGTTTATGGACAGGGTCTGAGCTTTC	552
PN42442	AGTGTTTTTCCAGC	553	GTAGTTACGGGTGGAGAAGTG	554	GCAGGAGGGACCTCAGGAACCTACAAATACATC	555	ATGAACCATGAGTAT	556	TCAATGATGTTGAGGTG	557	GCCAGCAGTCCAGGGACAGCTAACTATGGCTACACC	558
PN42450	TATTCTGGGAGTCTCTGAA	559	CACATCTCTAGA	560	GCTCTAGGGAACACCGACAAGCTCATC	561	ATGGACCATGAAAT	562	TCATATGATGTTAAATG	563	GCCAGCAGTTCGCCAGGACAGGGTGTATGGCTACACC	564
PN42455	ACAATCAGTGGAACTGATTAC	565	GGTCTTACAAGCAAT	566	ATCCTGCGGCCTGACAGCTGGGGGAAAATCCAG	567	TCTGGGCATGACACT	568	TATTATGAGGAGGAAGAG	569	GCCAGCAGTTCGGTGGATTATGGCTACACC	570
PN42476	ACAATCAGTGGAACTGATTAC	571	GGTCTTACAAGCAAT	572	ATCCTGCGGCCTGACAGCTGGGGGAAAATCCAG	573	ATGGACCATGAGTAT	574	TCAATGATGTTGAGGTG	575	GCCAGCAGTTCAGGGCGCGGATGAAAGACTGTCT	576
PN42483	AGTGTTTTTCCAGC	577	GTAGTTACGGGTGGAGAAGTG	578	GCAGGGGATGGAGGAAGCCAAGGAAAATCTCATC	579	ATGAACCATGAGTAT	580	TCAATGATGTTGAGGTG	581	GCCAGCAGTTCAGGGCGCGGATGAAAACCTGTTT	582
PN42496	ACAATCAGTGGAACTGATTAC	583	GGTCTTACAAGCAAT	584	ATCCTGGGTCAGGGAGCCAGAGAAGCTGTGTA	585	ATGAACCATGAGTAT	586	TCAATGATGTTGAGGTG	587	GCCAGCAGTTCAGGACAGGGGGCGGCTACACC	588
PN42498	AGTGTTTTTCCAGC	589	GTAGTTACGGGTGGAGAAGTG	590	GCAGGGGATGGAGGAAGCCAAGGAAAATCTCATC	591	TCTGGGCATGACACT	592	TATTATGAGGAGGAAGAG	593	GCCAGCAGTTCGGTGGATTATGGCTACACC	594
PN42558	GACTCTGTGAACAAT	595	ATCCCTCAGGGACA	596	GTCTAGGGGGAGGAAGCCAAGGAAAATCTCATC	597	TCTGGGCATGACACT	598	TATTATGAGGAGGAAGAG	599	GCCAGCAGTTCAGGACTATGGCTACACC	600
PN42561	ACAATCAGTGGAACTGATTAC	601	GGTCTTACAAGCAAT	602	ATCCTGAGAGACGGGACCCGTAACCAAGTCTTAT	603	ATGAACCATGAGTAT	604	TCAATGATGTTGAGGTG	605	GCCAGCAGTTCAGGACAGGGGGTGGCTACACC	606
PN42562	AGTGTTTTTCCAGC	607	GTAGTTACGGGTGGAGAAGTG	608	GCAGGAGGACCCCTCAGGAACCTACAAATACATC	609	ATGAACCATGAGTAT	610	TCAATGATGTTGAGGTG	611	GCCAGCAGTCCCGGACACCTAACTATGGCTACACC	612
PN42610	GACCGAGGTTCCCACTCC	613	ATATACTCAATGGTGAC	614	GCCGGGAACTATGGTCAGAAATTTTGTC	615	CCTAGACACGACACT	616	TTTTATGAAAAGATGCAG	617	GCCAGCAGCATCGGACTTAATCAGCCCGCAGCAT	618

PN426 54	ACAATCAG TGGAACTG ATTA	619	GGTCTTAC AAGCAAT	620	ATCCTGAGAGACGG CATCGGTAACCAGT TCTAT	621	ATGAAC CATGAG TAT	622	TCAATGA ATGTTGA GGTG	623	GCCAGCAGTTTAT GGACAGGGGGAG GCTACACC	624
PN426 55	ACAATCAG TGGAACTG ATTAC	625	GGTCTTAC AAGCAAT	626	ATCCTGCGGCCTGA CAGCTGGGGGAAA TTCCAG	627	ATGAAC CATGAG TAT	628	TCAATGA ATGTTGA GGTG	629	GCCAGCAGTTTAT GGACAGGGGGAG GCTACACC	630
PN426 77	ACAATCAG TGGAACTG ATTAC	631	GGTCTTAC AAGCAAT	632	ATCCTGAGAGACGG CAGCGTAACCAGT TCTAT	633	ATGAAC CATGAG TAT	634	TCAATGA ATGTTGA GGTG	635	GCCAGCAGTTTCGA CAGGGTACTATGG CTACACC	636
PN426 83	ACAATCAG TGGAACTG ATTAC	637	GGTCTTAC AAGCAAT	638	ATCCTGAGAGACGG GGAATATGGAAAC AAACTGGTC	639	ATGAAC CATGAG TAT	640	TCAATGA ATGTTGA GGTG	641	GCCAGCAGTTTAT GGACAGGGGGCG GCTACACC	642
PN426 89	AGTGTTTT TCCAGC	643	GTAGTTA CGGGTGG AGAAGTG	644	GCAGAAGATGGAG GAAGCCAAGGAAA TCTCATC	645	TCTGGG CATGAC ACT	646	TATTATG AGGAGGA AGAG	647	GCCAGCAGCTTAT CAGACTATGGCTA CACC	648
PN427 06	GACTCTGT GAACAAT	649	ATTCCCTC AGGGACA	650	GCTGTGGAGGCTC AGGAACCTACAAAT ACATC	651	ATGAAC CATGAG TAT	652	TCAATGA ATGTTGA GGTG	653	GCCAGCAGTTGGG GGACAGGGGGCT ATGGCTACACC	654
PN427 07	AACAGCGC CTCAGACT AC	655	ATTCGTTT AAATATG GACAAA	656	GCAGAGAATAAGC GGGATAACTATGGT CAGAATTTTGTC	657	ATGAAC CATGAG TAT	658	TCAATGA ATGTTGA GGTG	659	GCCAGCAGTTTCT GGGTGAACACTGA AGCTTTC	660
PN427 11	GACTCTGT GAACAAT	661	ATTCCCTC AGGGACA	662	GCTGTGGGGAGTTC TAACGGCTACAAGC TCAGC	663	ATGAAC CATGAG TAT	664	TCAATGA ATGTTGA GGTG	665	GCCAGCAGTCCCG GGACAGGGGGATT TTCACCCCTCCAC	666
PN427 12	GACTCTGT GAACAAT	667	ATTCCCTC AGGGACA	668	GCTGTGGGGAGTTC TAACGACTACAAGC TCAGC	669	ATGAAC CATGAG TAT	670	TCAATGA ATGTTGA GGTG	671	GCCAGCAGTCCCG GGACAGGGGGATT TTCACCCCTCCAC	672
PN427 46	AACAGCGC CTCAGACT AC	673	ATTCGTTT AAATATG GACAAA	674	GCAGAGAATAGGC AGGATAACTATGGT CAGAATTTTGTC	675	ATGAAC CATGAG TAT	676	TCAATGA ATGTTGA GGTG	677	GCCAGCAGTTTAT GGGTGAACACTGA AGCTTTC	678
PN427 50	ACAATCAG TGGAACTG ATTAC	679	GGTCTTAC AAGCAAT	680	ATCCTGCGGCCTGA CAGCTGGGGGAA TTCCAG	681	ATGGAC CATGAA AAT	682	TCATATG ATGTTAA AATG	683	GCCAGCAGTACCG TGAGGCAGGGGA ACTATGGCTACAC C	684
PN427 62	ACAATCAG TGGAACTG ATTAC	685	GGTCTTAC AAGCAAT	686	ATCCTGAATACCGG CACTGCCAGTAAAC TCACC	687	ATGAAC CATGAG TAT	688	TCAATGA ATGTTGA GGTG	689	GCCAGCAGTTTAT CGTCGAACACTGA AGCTTTC	690
PN427 74	GACCGAGG TTCCAGT CC	691	ATATACTC CAATGGT GAC	692	GCCGTGAACAGAG GCACCGACAAGCTC ATC	693	TCTGGG CATGAC ACT	694	TATTATG AGGAGGA AGAG	695	GCCAGCAGCTGGA CAGACTATGGCTA CACC	696
PN427 76	ACAATCAG TGGAACTG ATTAC	697	GGTCTTAC AAGCAAT	698	ATCCTGCGGCCTGA CAGCTGGGGGAAA TTCCAG	699	TCTGGG CATGAC ACT	700	TATTATG AGGAGGA AGAG	701	GCCAGCAGCTGGA CAGACTATGGCTA CACC	702
PN427 80	AGTGTTTT TCCAGC	703	GTAGTTA CGGGTGG AGAAGTG	704	GCAGGAGGAACCT CAGGAACCTACAA ATACATC	705	ATGAAC CATGAG TAT	706	TCAATGA ATGTTGA GGTG	707	GCCAGCAGTCCCG GGACACCCAACCTA TGGCTACACC	708
PN427 95	AACAGTGC TTCTCAGT CT	709	GTATACTC CAGTGGT AAT	710	GTGGTGAATGGAG GAAGCCAAGGAAA TCTCATC	711	TCTGGG CATGAC ACT	712	TATTATG AGGAGGA AGAG	713	GCCAGCAGCTGAG GGGACTATGGCTA CACC	714
PN428 15	AACAGCGC CTCAGACT AC	715	ATTCGTTT AAATATG GACAAA	716	GCAGAGAACAACCT ATGGTCAGAATTTT GTC	717	ATGAAC CATGAG TAT	718	TCAATGA ATGTTGA GGTG	719	GCCAGCAGTTTAT GGGACAGTTCACC CCTCCAC	720
PN428 26	AACAGCAT GTTTGATT AT	721	ATAAGTT CCATTAA GGATAAA	722	GCAGCAAGCGCCG GTTCTGCAAGGCAA CTGACC	723	ATGAAC CATGAG TAT	724	TCAATGA ATGTTGA GGTG	725	GCCAGCAGTTTAT ACACCCACTGTA AGCTTTC	726
PN428 33	ACCATCAG TGGAATG AGTAT	727	GGTCTAA AAAACAA T	728	ATCGTCAGAGACAC TACCTCAGGAACCT ACAAATACATC	729	ATGAAC CATGAG TAT	730	TCAATGA ATGTTGA GGTG	731	GCCAGCAGTTTAT CCTCGACAGGTTT TTCACCCCTCCAC	732
PN428 40	AGTGTTTT TCCAGC	733	GTAGTTA CGGGTGG AGAAGTG	734	GCAGAGGGGGGAG GAAGCCAAGGAAA TCTCATC	735	TCTGGG CATGAC ACT	736	TATTATG AGGAGGA AGAG	737	GCCAGCAGCTGGA CAGACTATGGCTA CACC	738
PN428 45	AGTGTTTT TCCAGC	739	GTAGTTA CGGGTGG AGAAGTG	740	GCAGGGATACGTTT TAACGACTACAAGC TCAGC	741	ATGAAC CATGAG TAT	742	TCAATGA ATGTTGA GGTG	743	GCCAGCAGTTCCT GGACAGCCCACAC TGAAGCTTTC	744
PN428 70	AGTGTTTT TCCAGC	745	GTAGTTA CGGGTGG AGAAGTG	746	GCAGAAAATTTCAG GAGGAGGTGCTGA CGGACTCACC	747	TCTGGG CATGAC ACT	748	TATTATG AGGAGGA AGAG	749	GCCAGCAGCTTCA CAGACTATGGCTA CACC	750
PN428 79	AGTGTTTT TCCAGC	751	GTAGTTA CGGGTGG AGAAGTG	752	GCAGGAGAGGACT TTGGAAATGAGAA ATTAACC	753	TCTGGG CATGAC ACT	754	TATTATG AGGAGGA AGAG	755	GCCAGCAGCTGGG CGGATTATGGCTA CACC	756
PN428 88	TCCAGCAA TTTTTATGC C	757	ATGACTTT AAATGGG GATGAA	758	GCCTTTCTACCCGG TAACCAGTTCTAT	759	ATGGAC CATGAA AAT	760	TCATATG ATGTTAA AATG	761	GCCAGCAGTACCG TGAGGCAGGGGA ACTATGGCTACAC C	762
PN428 95	AACAGCAT GTTTGATT AT	763	ATAAGTT CCATTAA GGATAAA	764	GCAGCAAGCGCCG GTTCTGCAAGGCAA CTGACC	765	ATGAAC CATGAG TAT	766	TCAATGA ATGTTGA GGTG	767	GCCAGCAGTTTAT GGTCGAACACTGA AGCTTTC	768

Таблица 8. Аминокислотные последовательности и последовательности нуклеиновых кислот для TCR VelociT, специфических в отношении PRAME (425-433)/HLA-A2

Название домена	Название последовательности Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO); последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 <u>подчеркнуты</u> Последовательность нуклеиновых кислот (SEQ ID NO); последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 <u>подчеркнуты</u>
PN42365 V $\alpha$	<u>TQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVV</u> <u>TGGEVKKLKRLLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCAANGGSQGN</u> <u>LIFGKGTKLSVKP</u> (SEQ ID NO: 769) ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGG GAGAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTTTTTTCCAGC TTACAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGAAGGTCTGTCTCCTGGT GACAGTAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACCC TTTCAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGC GGCCAGCCTGGTGATACAGGCCCTACCTCTGTGCCGCTAATGGAG GAAGCCAAGGAAATCTCATCTTTGGAAAAGGCACTAAACTCTCTGTT AAACCA (SEQ ID NO: 770)
PN42365 V $\beta$	DAGVTSPTHLIKTRGQVTLRCSPKSGHDTVSWYQQALGQGPQFIFQ <u>YEEEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSELNVNALLLGDSALYLCASSLQD</u> <u>YGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 771) GACGCTGGAGTACCCAAAGTCCCACACACTGATCAAAACGAGAG GACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACACT GTGTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTATCTT TCAGTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTTCCCTGAT CGATTCTCAGGTCACCAAGTCCCTAAGTCTGAGCTGAGCTGAATGT GAACGCCTTGTGCTGGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCA GCTTACAGGACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAAC GTTGTA (SEQ ID NO: 772)
PN42378 V $\alpha$	DAKTTQPNSMESNEEPPVHLPCHNSTISGTDYIHWYRQLPSQGPPEYVIH <u>GLTSNVNRRMASLAIEDRKSSTLILHRSTLRDAAVYYCILRPDSWGKF</u> <u>QFGAGTQVVVTP</u> (SEQ ID NO: 773) GATGCTAAGACCACACAGCCAAATCAATGGAGAGTAACGAAGAAG AGCCTGTTCACTTGCCTTGTAACCACTCCACAATCAGTGGAACTGAT TACATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCCAGGGTCCAGAGTACGT GATTCATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGG CAATCGCTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTTCT ACCTTGAGAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCCTGCGGCCCTGACAG CTGGGGGAAATCCAGTTTGGAGCAGGGACCCAGGTTGTGGTCACC CCA (SEQ ID NO: 774)
PN42378 V $\beta$	DAGVTSPTHLIKTRGQVTLRCSPKSGHDTVSWYQQALGQGPQFIFQ <u>YEEEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSELNVNALLLGDSALYLCASSLQD</u> <u>YGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 775) GACGCTGGAGTACCCAAAGTCCCACACACTGATCAAAACGAGAG GACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACACT GTGTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTATCTT TCAGTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTTCCCTGAT CGATTCTCAGGTCACCAAGTCCCTAAGTCTGAGCTGAGCTGAATGT GAACGCCTTGTGCTGGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCA

	GCTTACAGGACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACC GTTGTA (SEQ ID NO: 776)
PN42386 V $\alpha$	TQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVV TGGEVKKLKRLLTFQGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCA <sup>T</sup> NGGSGGN LIFGKGTKLSVKP (SEQ ID NO: 777) ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGG GAGAAAATCTACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGT <sup>T</sup> TTTTCCAGC TTACAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCTGTCTCCTGGT GACAGTAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACC TTTCAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGC GGCCAGCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTCTGTGCCACTAATGGAG GAAGCCAAGGAAATCTCATCTTTGGAAAAGGCACTAACTCTCTGTT AAACCA (SEQ ID NO: 778)
PN42386 V $\beta$	DAGVTQSPHLLIKTRGQVTLRCSPKSGHDTVSWYQQALGQGQPFIFQ YEEEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSSSELNVNALLLGDSALYLCA <sup>S</sup> SSLQD YGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 779) GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACTGATCAAAACGAGAG GACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACACT GTGTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTATCTT TCAGTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTTCCCTGAT CGATTCTCAGGTCACCAAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGT GAACGCCTTGTTGCTGGGGGACTCGGCCCTCTATCTGTGCCAGCA GCTTACAGGACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACC GTTGTA (SEQ ID NO: 780)
PN42441 V $\alpha$	DAKTTQPNMESNEEPPVHLPCHSTISGTDYIHWYRQLPSQGPYVIH GLTSNVNRMASLAI <sup>A</sup> EDRKSSLILHRATLRDAAVYYCIRRRPQNQYF GTGTS <sup>L</sup> TVIP (SEQ ID NO: 781) GATGCTAAGACCACACAGCCAAATCAATGGAGAGTAACGAAGAAG AGCCTGTCACTTGCCTTGTAACCACTCCACAATCAGTGGAACTGAT TACATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCAGGGTCCAGAGTACGT GATTCATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGG CAATCGCTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTGCT ACCTTGAGAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCAGGCGGCCCGGTAA CCAGTCTATTTTGGGACAGGGACAAGTTTGACGGTCATTCCA (SEQ ID NO: 782)
PN42441 V $\beta$	EAQVTQNPRLITVTGKLLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIY YSMNVEYTDKGDVPEGYKVS <sup>R</sup> KEKRNFLILESPNQTS <sup>L</sup> YFCASSLW TGSEAFFGQGTRLTVV (SEQ ID NO: 783) GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCAAGATACCTCATCACAGTGACTG GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTAT ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT ACTATCAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAA GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCCTGATCC TGGAGTCGCCAGCCCCAACCAAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGC AGTTTATGGACAGGGTCTGAAGCTTCTTTGGACAAGGCACCAGACT CACAGTTGTA (SEQ ID NO: 784)
PN42442 V $\alpha$	TQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVV TGGEVKKLKRLLTFQGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCA <sup>G</sup> GGTSGTYK YIFGTGTRLKVLA (SEQ ID NO: 785) ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGG GAGAAAATCTACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGT <sup>T</sup> TTTTCCAGC TTACAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCTGTCTCCTCTGGT

	<u>GACAGTAGTTACTGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACC</u> <u>TTTCAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTTCTCTCCACATCACTGC</u> <u>GGCCAGCCTGGTGATACAGGCCTTACCTCTGTGCAGGAGGGACCT</u> <u>CAGGAACCTACAAATACATCTTTGGAACAGGCACCAGGCTGAAGGT</u> <u>TTTAGCA (SEQ ID NO: 786)</u>
PN42442 Vβ	<u>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSONMNEHYMSWYRQDPGLGLRQIY</u> <u>YSMNVEVTDKGDVPEGYKVS RKEKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSPG</u> <u>TANYGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 787)</u> <u>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTG</u> <u>GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTTCAGAAATATGAACCATGAGTAT</u> <u>ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT</u> <u>ACTATTCAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAA</u> <u>GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCC</u> <u>TGGAGTCGCCAGCCCCAACCCAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGC</u> <u>AGTCCAGGGACAGCTAACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCA</u> <u>GGTTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 788)</u>
PN42450 Vα	<u>AQRVTQPEKLLSVFKGAPVELKCNYSYSGPELFWYVQYSRQLQLLL</u> <u>RHISRESIKGFTADLNKGETSFHLKPFQAQEEDSAMYYCALGNTDKLI</u> <u>GTGTRLQVFP (SEQ ID NO: 789)</u> <u>GCCCAGAGAGTGACTCAGCCCGAGAAGCTCCTCTCTGTCTTTAAAGG</u> <u>GGCCCCAGTGGAGCTGAAGTGCAACTATTCCTATTCTGGGAGTCCCTG</u> <u>AACTCTTCTGGTATGTCCAGTACTCCAGACAACGCCTCCAGTTACTC</u> <u>TTGAGACACATCTCTAGAGAGAGCATCAAAGGCTTCACTGCTACCT</u> <u>TAACAAAGGCGAGACATCTTTCCACCTGAAGAAACCATTTGCTCAAG</u> <u>AGGAAGACTCAGCCATGTATTACTGTGCTCTAGGGAAACACCGACAA</u> <u>GCTCATCTTTGGGACTGGGACCAGATTACAAGTCTTTCCA (SEQ ID</u> <u>NO: 790)</u>
PN42450 Vβ	<u>DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFYRQDPGLGLRLIY</u> <u>FSYDVKMKKEKGDIPGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLCASSPR</u> <u>TGWYGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 791)</u> <u>GATGTGAAAAGTAAACCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAAGGACGG</u> <u>GAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAAAA</u> <u>TATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGCTCGGGGCTACGGCTGATCT</u> <u>ATTTCTCATATGATGTTAAAAATGAAAAGAAAAAGGAGATATTCCTGAG</u> <u>GGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCTGATTCT</u> <u>GGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGTGCCAGCA</u> <u>GTTTCGCCAGGACAGGGTGGTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACC</u> <u>AGGTTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 792)</u>
PN42455 Vα	<u>DAKTTQPNSMESNEEPPVHLPNHSITSGTDYIHWYRQLPSQGPEYVIH</u> <u>GLTSNVNRMASLAI AEDRKSSTLILHRSTLRDAAVYYCILRPDSWGKF</u> <u>QFGAGTQVVVTP (SEQ ID NO: 793)</u> <u>GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTC AATGGAGAGTAACGAAGAAG</u> <u>AGCCTGTTCACTTGCCTTGTAACC ACTCCACAATCAGTGGAACTGAT</u> <u>TACATAATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCCAGGGTCCAGAGTACGT</u> <u>GATTCATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGG</u> <u>CAATCGCTGAAGACAGAAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTTCT</u> <u>ACCTTGAGAGATGCTGTGTGTACTACTGCATCCTGCGGCCTGACAG</u> <u>CTGGGGGAAATCCAGTTTGGAGCAGGGACCCAGGTTGTGGTCAAC</u> <u>CCA (SEQ ID NO: 794)</u>
PN42455 Vβ	<u>DAGVTQSPHLLIKTRGQVTLRCSPKSGHDTVSWYQQALGQGPQFIFQ</u> <u>YEEEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSSSELNVNALLLGDALYLCASSLVD</u> <u>YGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 795)</u>

	<p>GACGCTGGAGTACCCAAAGCCCCACACACCTGATCAAAACGAGAG  GACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACACT  GTGTCCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCAGGGGCCCAAGTTTATCTT  TCAGTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTTCCCTGAT  CGATTCTCAGGTCACCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGT  GAACGCCTTGTGCTGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCA  GCTTGGTGGATTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACC  GTTGTA (SEQ ID NO: 796)</p>
PN42476 Va	<p>DAKTTQPNMESNEEPPVHLPCHSTISGTDYIHWYRQLPSQGPYVVIH  <u>GLTSNVNRRMASLAI AEDRKSS TL LHRSTLRDAAVYYCILRPDSWGKF</u>  QFGAGTQVVVTP (SEQ ID NO: 797)  GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTCATGGAGAGTAACGAAGAAG  AGCCTGTTCACCTGCCTTGTAACCACTCCACAATCAGTGGAACTGAT  TACATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCCAGGGTCCAGAGTACGT  GATTCATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGG  CAATCGCTGAAGACAGAAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCCTTCT  ACCTTGAGAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCCTGCGGCCTGACAG  CTGGGGGAAATCCAGTTTGGAGCAGGGACCCAGGTTGTGGTACC  CCA (SEQ ID NO: 798)</p>
PN42476 Vβ	<p>EAQVTQSPRYLITVTGKCLTVTCSQNMDHEYMSWYRQDPGLGLRQIYY  <u>SMNVEVTDKGDVPEGYKVP RKEKRSFPLILESPCCSQTPLYL CASSLGG</u>  VDERLSFGSGTQLSVL (SEQ ID NO: 799)  GAAGCCCAAGTGACCCAGAGCCCAAGATACCTCATCACAGTGACTG  GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGGACCATGAGTAT  ATGTCTGGTATCGACAGGACCCGGGGCTGGGCCTAAGGCAGATCT  ACTATTCAATGAATGTTGAGGTGACAGATAAGGGAGATGTTCTCGA  AGGGTACAAAGTCCCTCGAAAAGAGAAGAGGAGTTTCCCCTGATC  CTGGAGTCGCCCTGCTGCAGCCAGACCCCTCTGTACCTCTGTGCCAG  CAGTTTAGGGGGCGTGGATGAAAGACTGTCTTTTGGCAGTGGAACCC  AGCTCTCCGCTTG (SEQ ID NO: 800)</p>
PN42483 Va	<p>TQLEEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVV  <u>TGGEVKKLKR LTFQFGDARKDSSLHITAAQP GDTGLYL CAGDGGSQGN</u>  LIFGKGTKLSVKP (SEQ ID NO: 801)  ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGG  GAGAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAGTGTTTTTTCCAGC  TTACAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCTGCTCCTCTGGT  GACAGTAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACC  TTTCAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGC  GGCCAGCCTGGTGATACAGGCCTTACCTCTGTGCAGGGGATGGA  GGAAGCCAAGGAAATCTCATCTTTGGAAAAGGCACTAAACTCTCTGT  TAAACCA (SEQ ID NO: 802)</p>
PN42483 Vβ	<p>EAQVTQSPRYLITVTGKCLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIYY  <u>SMNVEVTDKGDVPEGYKVS RKEKRNFP LILESPSPNQTSLYFCASSLGG</u>  ADEKLF FGSQTQLSVL (SEQ ID NO: 803)  GAAGCCCAAGTGACCCAGAGCCCAAGATACCTCATCACAGTGACTG  GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTAT  ATGTCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT  ACTATTCAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTCGAA  GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCC  TGGAGTCGCCAGCCCCAACCCAGCCTCTGTACTTCTGTGCCAGC  AGTTTAGGGGGCGCGGATGAAAAACTGTTTTTTGGCAGTGGAACCC  AGCTCTCTGTCTTG (SEQ ID NO: 804)</p>

<p>PN42496 V<math>\alpha</math></p>	<p>DAKTTQPNMESNEEPPVHLPCHSTISGTDYIHWYRQLPSQGPPEYVIH <u>GLTSNVNNRMASLAI AEDRK SSSLILHRATLRDAAVYYCILGQGAQKL</u> VFGQGTRLTINP (SEQ ID NO: 805) GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTCATGGAGAGTAACGAAGAAG AGCCTGTTCACCTGCCTTGTAACCACTCCACAATCAGTGGAAGTATGAT <u>TACATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCCAGGGTCCAGAGTACGT</u> <u>GATTCATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGG</u> CAATCGCTGAAGACAGAAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTGT ACCTTGAGAGATGCTGTGTACTACTGCATCCTGGGTCCAGGGAGC <u>CCAGAAGCTGGTATTTGGCCAAGGAACCAGGCTGACTATCAACCCA</u> (SEQ ID NO: 806)</p>
<p>PN42496 V<math>\beta</math></p>	<p>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLRLQIY <u>YSMNVEVTDKGDVPEGYKVS RKEKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSLW</u> TGGGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 807) GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCAAGATACCTCATCACAGTGACTG GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTAT ATGTCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT ACTATTC AATGAA TGTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCCCTGAA GGGTACAAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCTGATC TGGAGTCGCCAGCCCCAACCAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGC <u>AGTTTATGGACAGGGGGCGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGT</u> AACCGTTGTA (SEQ ID NO: 808)</p>
<p>PN42498 V<math>\alpha</math></p>	<p>TQLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVV <u>TGGEVKKLRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCAAGDGGSQGN</u> LIFGKGTKLSVKP (SEQ ID NO: 809) ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGG GAGAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTTTTTCCAGC TTACAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCTCCTGGT GACAGTAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACC TTTCAGTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGC GGCCAGCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTCTGTGCAGGGGATGGA GGAAGCCAAGGAAATCTCATCTTTGGAAAAGGCACTAAACTCTCTGT TAAACCA (SEQ ID NO: 810)</p>
<p>PN42498 V<math>\beta</math></p>	<p>DAGVTQSPHLLIKTRGQQVTLRCSPKSGHDTVSWYQQALGQGPQFIFQ <u>YEEEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSSSELNVNALLLGDSALYLCASSLVD</u> YGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 811) GACGCTGGAGTACCCAAAGTCCACACACCTGATCAAAAACGAGAG GACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACACT GTGTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCAGGGGGCCCCAGTTTATCTT TCAGTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTTCCCTGAT CGATTCTCAGGTCACCAGTTCCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGT GAACGCCTTGTGCTGGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCA <u>GCTTGGTGGATTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAAC</u> GTTGTA (SEQ ID NO: 812)</p>
<p>PN42558 V<math>\alpha</math></p>	<p>GIQVEQSPDLILQEGANSTLRNCFSDSVNNLQWFHQNPWGQLINLFYIP <u>SGTKQNGRLSATTVATERYSLLYISSQTTDSGVYFCVLGGGSQGNLIFG</u> KGTKLSVKP (SEQ ID NO: 813) GGAATACAAGTGGAGCAGAGTCTCCAGACCTGATTCTCCAGGAGG GAGCCAATTCACGCTGCGGTGCAATTTTTCTGACTCTGTGAACAAT TTGCAGTGGTTTCATCAAAACCTTGGGGACAGCTCATCAACCTGTT TTACATTCCCTCAGGGACAAAACAGAATGGAAGATTAAGCGCCACG ACTGTGCTACGGAACGCTACAGCTTATTGTACATTTCTCTTCCAG</p>

	<u>ACCACAGACTCAGGCGTTTATTCTGTGTCCTAGGGGGAGGAAGCCA</u> <u>AGGAAATCTCATCTTTGGAAAAGGCACTAAACTCTCTGTAAACCA</u> (SEQ ID NO: 814)
PN42558 Vβ	<u>DAGVTQSPHLIKTRGQVTLRCSPKSGHDTVSWYQQALGQGPQFIFQ</u> <u>YEEEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSSELNVNALLGDSALYLCASSFTD</u> <u>YGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 815) <u>GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAAACGAGAG</u> <u>GACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCTAAGTCTGGGCATGACACT</u> <u>GTGTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTATCTT</u> <u>TCAGTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCCAACTCCCTGAT</u> <u>CGATTCTCAGGTCACCAGTCCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGT</u> <u>GAACGCCTTGTTGCTGGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCA</u> <u>GCTTTACAGACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACC</u> <u>GTTGTA</u> (SEQ ID NO: 816)
PN42561 Vα	<u>DAKTTQPNSMESNEEPPVHLPCHSTISGTDYIHWYRQLPSQGPYVIH</u> <u>GLTSNVNRMASLAIAEDRKSSTLILHRATLRDAAVYVICILRDGTGNQF</u> <u>YFGTGTSLTVIP</u> (SEQ ID NO: 817) <u>GATGCTAAGACCACACAGCCAAATCAATGGAGAGTAACGAAGAAG</u> <u>AGCCTGTTCACTTGCCTTGTAACCACTCCACAATCAGTGGAACTGAT</u> <u>TACATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCAGGGTCCAGAGTACGT</u> <u>GATTCATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGG</u> <u>CAATCGCTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTGCT</u> <u>ACCTTGAGAGATGCTGCTGTGTAATACTGCAATCCTGAGAGACGGGAC</u> <u>CGGTAACCAGTTCTATTTGGGACAGGGACAAGTTTGACGGTCATTC</u> <u>CA</u> (SEQ ID NO: 818)
PN42561 Vβ	<u>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIY</u> <u>YSMNVEVTDKGDVPEGYKVSREKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSLW</u> <u>TGGGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 819) <u>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCAAGATACCTCATCACAGTGACTG</u> <u>GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTTCTCAGAATATGAACCATGAGTAT</u> <u>ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT</u> <u>ACTATCAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTCTGAA</u> <u>GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCTGATCC</u> <u>TGGAGTCGCCAGCCCCAACAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGC</u> <u>AGTTTATGGACAGGGGGTGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGT</u> <u>AACCGTTGTA</u> (SEQ ID NO: 820)
PN42562 Vα	<u>TQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVV</u> <u>TGGEVKKLRKRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCAGGPSGYK</u> <u>YIFGTGTRLKVL</u> A (SEQ ID NO: 821) <u>ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGG</u> <u>GAGAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTITTTCCAGC</u> <u>TTACAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGCTCCTGGT</u> <u>GACAGTAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACC</u> <u>TTTCAGTTTGGTGTGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGC</u> <u>GGCCAGCCTGGTGATACAGGCCCTACCTCTGTGCAGGAGGACCTT</u> <u>CAGGAACCTACAAATACATCTTTGGAACAGGCACCAGGCTGAAGGT</u> <u>TTAGCA</u> (SEQ ID NO: 822)
PN42562 Vβ	<u>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIY</u> <u>YSMNVEVTDKGDVPEGYKVSREKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSPG</u> <u>TPNYGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 823) <u>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCAAGATACCTCATCACAGTGACTG</u> <u>GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTTCTCAGAATATGAACCATGAGTAT</u>

	<p>ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT  ACTATTC<del>CAATGAATGTTGAGGTG</del>ACTGATAAGGGAGATGTTCTGAA  GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCC  TGGAGTCGCCCAGCCCCAACCCAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGC  AGTCCCGGGACACCTAACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAG  GTTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 824)</p>
PN42610 V $\alpha$	<p>QKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYS<del>DRGSQS</del>FFWYRQYSGKSP<del>LIMS</del>  YSNGDKEDGRFTAQLNKASQYV<del>LLIRDSQPSDS</del>ATYLCAGNYQ<del>ONFV</del>  FGPGTRLSVLP (SEQ ID NO: 825)</p> <p>CAGAAGGAGGTGGAGCAGAATTCTGGACCCCTCAGTGTTCAGAGG  GAGCCATTGCCTCTCTCAACTGCACTTACAGTGACCGAGGTTCCCAG  TCCCTTCTTCTGGTACAGACAATATTCTGGGAAAAGCCCTGAGTTGAT  AATGTCCATACTCCAATGGTGACAAAGAAGATGGAAGGTTTACA  GCACAGCTCAATAAAGCCAGCCAGTATGTTTCTCTGCTCATCAGAGA  CTCCCAGCCCAGTGATTCAGCCACCTACCTCTGTGCCGGGAAC<del>TATG</del>  GTCAGAATTTGCTTTGGTCCC<del>GGAA</del>CCAGATTGTCCTGCTGCC  (SEQ ID NO: 826)</p>
PN42610 V $\beta$	<p>AAGVIQSPRHLIKEKRE<del>TATLKCYPIPRHDT</del>VYWYQQGPQD<del>PQFLISEY</del>  EKM<del>QSDKGSIPDR</del>FAQQFSDYHSELN<del>MSSLEL</del>GDSALYFC<del>ASSIGN</del>  QHFGDGT<del>RLSIL</del> (SEQ ID NO: 827)</p> <p>GCTGCTGGAGTCATCCAGTCCCAAGACATCTGATCAAAGAAAAGA  GGGAAACAGCCACTCTGAAATGCTATCCTATCC<del>TAGACACGACACT</del>  GTCTACTGGTACCAGCAGGGTCCAGGTCAGGACCC<del>CCAGTTCTCAT</del>  TTCGTTTTATGAAAAGATGCAGAGCGATAAAGGAAGCATCCCTGATC  GATTCTCAGCTCAACAGTTCAGTGACTATCATTCTGAACTGAA<del>CATG</del>  AGCTCCTGGAGCTGGGGGACTCAGCCCTGTACTTCTGTGCCAGCAG  CATCGGACTTAATCAGCCCCAGCATTTTGGTGATGGGACTCGACTCT  CCATCCTA (SEQ ID NO: 828)</p>
PN42654 V $\alpha$	<p>DAKTTQPN<del>SME</del>SNEE<del>EPVH</del>LP<del>CNHSTIS</del>GDYIH<del>WYRQLPSQ</del>PEY<del>VIH</del>  GL<del>TSNVN</del>NR<del>MASL</del>AIAED<del>RKSSTL</del>LHRATLRDA<del>AVYYC</del>IL<del>RDGIGN</del>  YFGTGTSLTVIP (SEQ ID NO: 829)</p> <p>GATGCTAAGACCACACAGCCAAATCAATGGAGAGTAACGAAGAAG  AGCCTGTCACTTGCCTTGTAACCACTCC<del>ACAATCAGTGGA</del>ACTGAT  TACATA<del>CATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCAGGGTCCAGAGTACGT</del>  GATTCATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAAATGGCCTCTCTGG  CAATCGCTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTGTCT  ACCTTGAGAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCCTGAGAGACGGCAT  CGGTAACCAGTTCTATTTGGGACAGGGACAAGTTGACGGTCA<del>TTC</del>  CA (SEQ ID NO: 830)</p>
PN42654 V $\beta$	<p>EAQVTQNPRYLITVTGK<del>LTVTCSQNMN</del>HEYMSWYRQD<del>PGLGLRQIY</del>  YS<del>MNVEY</del>TDKGDVPEGYK<del>VSRKEKRN</del>FPLILESP<del>PNQ</del>TS<del>LYFC</del>ASSLW  TGGGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 831)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCAAGATACCTCATCACAGTGACTG  GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGA<del>ACCATGAGTAT</del>  ATGCTCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT  ACTATTC<del>CAATGAATGTTGAGGTG</del>ACTGATAAGGGAGATGTTCTGAA  GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCC  TGGAGTCGCCCAGCCCCAACCCAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGC  AGTTTATGGACAGGGGGAGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGT  TAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 832)</p>

PN42655 V $\alpha$	DAKTTQPNMESNEEPPVHLPCHNSTISGTDYIHWYRQLPSQGPEYVIH <u>GLTSNVNRRMASLAI AEDRKSSTLILHRSTLRDAAVYYCILRPDSWGKF</u> QFGAGTQVVVTP (SEQ ID NO: 833) GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTCAATGGAGAGTAACGAAGAAG AGCCTGTTCACCTGCCTTGTAACCACTCC <u>ACAATCAGTGGA</u> ACTGAT <u>TACATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCAGGGTCCAGAGTACGT</u> GATTCATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGG CAATCGCTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTTCT ACCTTGAGAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCCTCGGCCTGACAG CTGGGGGAAATTCAGTTTGGAGCAGGGACCCAGGTTGTGGTCCAC CCA (SEQ ID NO: 834)
PN42655 V $\beta$	EAQVTQNPRLITVTGKCLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIY YSMNVEVTDKGDVPEGYKVSREKRNFLILESPSPNQTSLYFC <u>ASSLW</u> TGGGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 835) GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTG GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAAT <u>ATGAACCATGAGTAT</u> ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT ACTATTCAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAA GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCTGATCC TGGAGTCGCCAGCCCCAACAGACCTCTCTGTACTCTGTGCCAGC <u>AGTTTATGGACAGGGGAGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAAGT</u> TAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 836)
PN42677 V $\alpha$	DAKTTQPNMESNEEPPVHLPCHNSTISGTDYIHWYRQLPSQGPEYVIH <u>GLTSNVNRRMASLAI AEDRKSSTLILHRATLRDAAVYYCILRDGTGNQF</u> YFGTGTSLTVIP (SEQ ID NO: 837) GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTCAATGGAGAGTAACGAAGAAG AGCCTGTTCACCTGCCTTGTAACCACTCC <u>ACAATCAGTGGA</u> ACTGAT <u>TACATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCAGGGTCCAGAGTACGT</u> GATTCATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGG CAATCGCTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTCT ACCTTGAGAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCCTGAGAGACGGCAC <u>CGGTAACCAAGTCTATTTGGGACAGGGACAAGTTGACGGTCAATC</u> CA (SEQ ID NO: 838)
PN42677 V $\beta$	EAQVTQNPRLITVTGKCLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIY YSMNVEVTDKGDVPEGYKVSREKRNFLILESPSPNQTSLYFC <u>ASSST</u> GYYGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 839) GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTG GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAAT <u>ATGAACCATGAGTAT</u> ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT ACTATTCAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAA GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCTGATCC TGGAGTCGCCAGCCCCAACAGACCTCTCTGTACTCTGTGCCAGC <u>AGTTCGACAGGGTACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAAGTT</u> AACCGTTGTA (SEQ ID NO: 840)
PN42683 V $\alpha$	DAKTTQPNMESNEEPPVHLPCHNSTISGTDYIHWYRQLPSQGPEYVIH <u>GLTSNVNRRMASLAI AEDRKSSTLILHRATLRDAAVYYCILRDREYGNK</u> LVFGAGTILRVKS (SEQ ID NO: 841) GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTCAATGGAGAGTAACGAAGAAG AGCCTGTTCACCTGCCTTGTAACCACTCC <u>ACAATCAGTGGA</u> ACTGAT <u>TACATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCAGGGTCCAGAGTACGT</u> GATTCATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGG CAATCGCTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTGTCT

	<p>ACCTTGAGAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCCTGAGAGACCGGGA  ATATGGAAACAAACTGGTCTTTGGCGCAGGAACCATTCTGAGAGTC  AAGTCC (SEQ ID NO: 842)</p>
PN42683 Vβ	<p>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIY  YSMNVEVTDKGDVPEGYKVSREKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSLW  TGGGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 843)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCAAGATACCTCATCACAGTGACTG  GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTAT  ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT  ACTATCAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAA  GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCC  TGGAGTCGCCAGCCCCAACAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGC  AGTTTATGGACAGGGGGCGGCTACACCTTCGGTTCCGGGACCAGGTT  AACCGTTGTA (SEQ ID NO: 844)</p>
PN42689 Vα	<p>TQLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSVFSSLQWYRQEPGEPVLLVTVV  TGGEVKKLKRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCAEDGGSQGN  LIFGKGTKLSVKP (SEQ ID NO: 845)</p> <p>ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGG  GAGAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTTTTTTCCAGC  TTACAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGTCTGTCTCCTGGT  GACAGTAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACCC  TTACAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGC  GGCCAGCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTCTGTGCAGAAGATGGA  GGAAGCCAAGGAAATCTCATCTTTGAAAAGGCACTAAACTCTCTGT  TAAACCA (SEQ ID NO: 846)</p>
PN42689 Vβ	<p>DAGVTQSPHTLIKTRGQQVTLRCSPKSGHDTVSWYQQALGQGPQFIFQ  YEEEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSSELNVNALLGDSALYLCASSLSD  YGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 847)</p> <p>GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCACACACCTGATCAAAACGAGAG  GACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCTAAGTCTGGGCATGACACT  GTGTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCAGGGGCCCAAGTTTATCTT  TCAGTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTCCCTGAT  CGATTCTCAGGTCACCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGT  GAACGCCTGTTGCTGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCA  GCTTATCAGACTATGGCTACACCTTCGGTTCCGGGACCAGGTTAACCC  GTTGTA (SEQ ID NO: 848)</p>
PN42706 Vα	<p>GIQVEQSPDLILQEGANSTLRNFSVNNLQWFHQNPWGQLINLFYIP  SGTKQNGRLSATTVATERYSLLYISSQTDSGVYFCAVEASGYKYIFG  TGTRLKVLA (SEQ ID NO: 849)</p> <p>GGAATACAAGTGAGCAGAGTCTCCAGACCTGATTCTCCAGGAGG  GAGCCAATCCACGCTGCGGTGCAATTTTCTGACTCTGTGAACAAT  TTGCAGTGGTTTCATCAAAACCCTGGGGACAGCTCATCAACCTGTT  TTACATTCCTCAGGGACAAAACAGAATGGAAGATTAAGCGCCACG  ACTGTGCTACGGAACGCTACAGCTTATTGTACATTTCTCTTCCCAG  ACCACAGACTCAGGCGTTTATTCTGTGCTGTGGAGGCCTCAGGAAC  CTACAAATACATCTTTGGAACAGGCACCAGGCTGAAGGTTTTAGCA  (SEQ ID NO: 850)</p>
PN42706 Vβ	<p>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIY  YSMNVEVTDKGDVPEGYKVSREKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSWG  TGGYGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 851)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCAAGATACCTCATCACAGTGACTG  GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTAT</p>

	<p>ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT  ACTATTCAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAA  GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCC  TGGAGTCGCCCAGCCCCAACCCAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGC  AGTTGGGGGACAGGGGGCTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCA  GGTTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 852)</p>
PN42707 Va	<p>GESVGLHLPILSVQEGDNSIINCAYSNSASDYFIWYKQESGKGPQFIIDIR  SNMDKRQQRVTVLLNKTVKHLSLQIAATOPGDSAVYFCAENKRDNY  GQNFVFGPGRSLVLP (SEQ ID NO: 853)  GGAGAGAGTGTGGGGCTGCATCTTCTACCCTGAGTGTCCAGGAGG  GTGACAACCTATTATCAACTGTGCTTATTCAAACAGCGCCTCAGAC  TACTTCAATTGGTACAAAGCAAGAATCTGGAAAAGGTCTCAATTCAT  TATAGACATTCGTTCAAATATGGACAAAAGGCAAGGCCAAAGAGTC  ACCGTTTTATTGAATAAGACAGTGAAACATCTCTCTGCAAAATTGC  AGCTACTCAACTGGAGACTCAGCTGTCTACTTTTGTGCAGAGAATA  AGCGGGATAACTATGGTCAGAATTTGTCTTTGGTCCCGGAACCA  TTGTCCGTGCTGCC (SEQ ID NO: 854)</p>
PN42707 Vβ	<p>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSONMNHHEYMSWYRQDPGLRLQIY  YSMNVEVTDKGDVPEGYKVS RKEKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSFW  VNTEAFFGQGRLLTVV (SEQ ID NO: 855)  GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTACTG  GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTAT  ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT  ACTATTCAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAA  GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCC  TGGAGTCGCCCAGCCCCAACCCAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGC  AGTTTCTGGGTGAACACTGAAGCTTCTTTGGACAAGGCACCAGACT  CACAGTTGTA (SEQ ID NO: 856)</p>
PN42711 Va	<p>GIQVEQSPDLILQEGVNSTLRCNFSDSVNNLQWFHQNPWGQLINLFYIP  SGTKQNGRLSATTVATERYSLLYISSRTTDSGVYFCAVGSNGYKLSF  GAGTTVTVRA (SEQ ID NO: 857)  GGAATACAAGTGGAGCAGAGTCCTCCAGACCTGATTCTCCAGGAGG  GAGTCAATTCACGCTGCGGTGCAATTTTCTGACTCTGTGAACAAT  TTGCAGTGGTTTCATCAAACCCCTGGGGACAGCTCATCAACCTGTT  TTACATTCCTCAGGGACA AAAACAGAATGGAAGATTAAGCGCCACG  ACTGTGGCTACGGAACGCTACAGCTTATTGTACATTTCTCTTCCCG  GACCACAGACTCAGGCGTTTATTTCTGTGCTGTGGGGAGTTCTAACG  GCTACAAGCTCAGCTTTGGAGCTGGAACCACAGTAACTGTAAGAGC  A (SEQ ID NO: 858)</p>
PN42711 Vβ	<p>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSONMNHHEYMSWYRQDPGLRLQIY  YSMNVEVTDKGDVPEGYKVS RKEKRNFLILESPSPNQTSLYFCASSPG  TGGFSPLHFGNGTRLTVT (SEQ ID NO: 859)  GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTACTG  GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTAT  ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT  ACTATTCAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAA  GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCC  TGGAGTCGCCCAGCCCCAACCCAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGC  AGTCCCGGGACAGGGGGATTTTCAACCCTCCACTTTGGGAACGGGAC  CAGGCTCACTGTGACA (SEQ ID NO: 860)</p>

PN42712 V $\alpha$	GIQVEQSPDLILQEGANSTLRCNFSDSYNNLQWFHQNPWGQLINLFYIP <u>SGTKQNGRLSATTVATERYSLLYISSQTTDSGVYFC</u> <u>AVGSSNDYKLSF</u> GAGTTVTVRA (SEQ ID NO: 861) GGAATACAAGTGGAGCAGAGTCCTCCAGACCTGATTCTCCAGGAGG GAGCCAATTCACGCTGCGGTGCAATTTTCTGACTCTGTGAACAAT TTGCAGTGGTTTCATCAAAACCTTGGGGACAGCTCATCAACCTGTT TTACATCCCTCAGGGACAAAACAGAATGGAAGATTAAGCGCCACG ACTGTCGCTACGGAACGCTACAGCTTATTGTACATTTCTCTTCCCAG ACCACAGACTCAGGCGTTTATTCTGTGCTGTGGGGAGTTCTAACGA <u>CTACAAGCTCAGCTTTGGAGCCGGAACCACAGTAACTGTAAGAGCA</u> (SEQ ID NO: 862)
PN42712 V $\beta$	EAQVTQNPRYLITVTGKCLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIY <u>YSMNVEVTDKGDVPEGYKVSREKRNFLILESPSPNQTSLYFC</u> <u>ASSPG</u> <u>TGGFSPLHFGNGTRLTVT</u> (SEQ ID NO: 863) GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCAAGATACCTCATCACAGTGACTG GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTAT ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT ACTATTC AATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTTGAA GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCCTGATCC TGGAGTCGCCAGCCCCAACCCAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGC <u>AGTCCCGGGACAGGGGATTTTACCCCTCCACTTTGGGAACGGGAC</u> <u>CAGGCTCACTGTGACA</u> (SEQ ID NO: 864)
PN42746 V $\alpha$	GESVGLHPLTSLVQEGDNSIINCAYSNSASDYFIWYKQESGKGPQFIIDIR <u>SNMDKROGQRVTLLNKTVKHLSLQIAATQPGDSAVYFC</u> <u>AENRODNY</u> <u>GQNFVFGPGTRLSVLP</u> (SEQ ID NO: 865) GGAGAGAGTGTGGGGCTGCATCTTCTACCCTGAGTGTCCAGGAGG GTGACAACCTTATTATCAACTGTGCTTATTC AAACAGCGCCTCAGAC <u>TACTTCAATTTGGTACAAGCAAGAATCTGGAAAAGGTCCTCAATTCAT</u> <u>TATAGACATTCGTTCAAATATGGACAAAAGGCAAGGCCAAAGAGTC</u> ACCGTTTTATTGAATAAGACAGTGAAACATCTCTCTGCAAATTC AGCTACTCAACCTGGAGACTCAGCTGTCTACTTTTGTGCAGAGAATA <u>GGCAGGATAACTATGGTCAGAATTTGTCTTTGGTCCCGGAACCAGA</u> <u>TTGTCCGTGCTGCC</u> (SEQ ID NO: 866)
PN42746 V $\beta$	EAQVTQNPRYLITVTGKCLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIY <u>YSMNVEVTDKGDVPEGYKVSREKRNFLILESPSPNQTSLYFC</u> <u>ASSLW</u> <u>VNTEAFFGQGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 867) GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCAAGATACCTCATCACAGTGACTG GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTAT ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT ACTATTC AATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTTGAA GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCCTGATCC TGGAGTCGCCAGCCCCAACCCAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGC <u>AGTTTATGGGTAAACTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCAGACT</u> <u>CACAGTTGTA</u> (SEQ ID NO: 868)
PN42750 V $\alpha$	DAKTTQPNSMESNEEPPVHLPCNHSTISGTDYIHWYRQLPSQGPEYVIH <u>GLTSNVNRMASLAIAEDRKSSTLILHRSTLRDAAVYYC</u> <u>ILRPDSWGKF</u> <u>QFGAGTQVVVTP</u> (SEQ ID NO: 869) GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTC AATGGAGAGTAACGAAGAAG AGCCTGTTCACTTGCCTTGTAACCACTCC <u>ACAATCAGTGGAACTGAT</u> <u>TACATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCCAGGGTCCAGAGTACGT</u> <u>GATTCATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGG</u> <u>CAATCGCTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTCT</u>

	ACCTTGAGAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCCTGCGGCCTGACAG CTGGGGGAAGTTCCAGTTTGGAGCAGGGACCCAGGTTGTGGTCACC CCA (SEQ ID NO: 870)
PN42750 Vβ	DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQMDHENMFWYRQDPGLGLRLIY FSYDVKMKKEKGDPIEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLCASSTV RQGNYGTYFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 871) GATGTGAAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAAGGACGG GAGAGAAAAGTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAAAA TATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGCTGCGGGCTACGGCTGATCT ATTTCTCATATGATGTTAAAATGAAAGAAAAAGGAGATATTCCTGAG GGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCTGATTCT GGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGTGCCAGCA GTACCGTGAGGCAGGGGAACCTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGAC CAGGTTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 872)
PN42762 Vα	DAKTTQPNMESNEEPPVHLPCHNSTISGTDYIHWYRQLPSQGPYVIH GLTSNVNRRMASLAIAEDRKSSLLILHRATLRDAVVYCYLNTGTASKL TFGTGTRLQVTL (SEQ ID NO: 873) GATGCTAAGACCACACAGCCAAATCAATGGAGAGTAACGAAGAAG AGCCTGTTCACTTGCCCTGTAACCACTCCACAATCAGTGGAACTGAT TACATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCCAGGGTCCAGAGTACGT GATTCATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGG CAATCGCTGAAGACAGAAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTGT ACCTTGAGAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCCTGAATACCGGCAC TGCCAGTAAACTCACCTTGGGACTGGAACAAGACTTCAGGTCACGC TC (SEQ ID NO: 874)
PN42762 Vβ	EAQVTQNPRLITVTGKLLTVTCSONMNEYMSWYRQDPGLGLRQIY YSMNVEVTDKGDVPEGYKVSREKERNFPLILESPNQTSLYFCASSLSS NTEAFFGQGTRLTVV (SEQ ID NO: 875) GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTG GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTAT ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT ACTATTCAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAA GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCTGATCC TGGAGTCGCCAGCCCCAACCCAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGC AGTTTATCGTCGAACACTGAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCAGACT CACAGTTGTA (SEQ ID NO: 876)
PN42774 Vα	QKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNTYSDRGSQSFVWYRQYSKSPELIMSI YSNGDKEDGRFTAQLNKASQYVSLLRDSQPSDSATYLCVAVNRGTDKLI FGTGTRLQVFP (SEQ ID NO: 877) CAGAAGGAGGTGGAGCAGAATTCTGGACCCCTCAGTGTTCAGAGG GAGCCATTGCCTCTCTCAACTGCACCTACAGTGACCGAGGTTCACAG TCCTTCTTCTGGTACAGACAATATTCTGGGAAAAGCCCTGAGTTGAT AATGTCCATATACTCCAATGGTGACAAAGAAGATGGAAGGTTTACA GCACAGCTCAATAAAGCCAGCCAGTATGTTTCTCTGCTCATCAGAGA CTCCCAGCCCAGTGATTCAGCCACCTACCTCTGTGCCGTGAACAGAG GCACCGACAAGCTCATCTTGGGACTGGGACCAGATTACAAGTCTTT CCA (SEQ ID NO: 878)
PN42774 Vβ	DAGVTQSPHLLIKTRGQVTLRCSPKSGHDTVSWYQALGQGPQIFQ YEEEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSELNVNALLLGDALYLCASSWT DYGTYFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 879) GACGCTGGAGTCAACCAAAGTCCACACACCTGATCAAAAACGAGAG GACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCTAAAGTCTGGGCATGACACT

	<p>GTGTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTATCTT  TCAGTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCCAACTCCCTGAT  CGATTCTCAGGTCACCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGT  GAACGCCTTGTGCTGGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCA  GCTGGACAGACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAAC  GTTGTA (SEQ ID NO: 880)</p>
PN42776 Va	<p>DAKTTQPNMESNEEPPVHLPCNHSTISGTDYIHWYRQLPSQPEYVIH  GLTSNVNRRMASLAI AEDRKSS TL LHRSTLRDAAVYYCILRPDSWGKF  QFGAGTQVVVTP (SEQ ID NO: 881)</p> <p>GATGCTAAGACCACACAGCCAAATTCATGGAGAGTAACGAAGAAG  AGCCTGTTCACTTGCCTTGTAACCACTCCACAATCAGTGGAACGTAT  TACATACATTGGTATCGACAGCTTCCCTCCAGGGTCCAGAGTACGT  GATTCATGGTCTTACAAGCAATGTGAACAACAGAATGGCCTCTCTGG  CAATCGCTGAAGACAGAAAGTCCAGTACCTTGATCCTGCACCGTTCT  ACCTTGAGAGATGCTGCTGTGTACTACTGCATCCTGCGGCCTGACAG  CTGGGGGAAATTCAGTTTGGAGCAGGGACCCAGGTTGTGGTCAAC  CCA (SEQ ID NO: 882)</p>
PN42776 Vβ	<p>DAGVTQSPTHLIKTRGQQVTLRCSPKSGHDTVSWYQQALGQQPQFIFQ  YYEEEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSSSELNVNALLGDSALYLCASSWT  DYGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 883)</p> <p>GACGCTGGAGTCACCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAACGAGAG  GACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACACT  GTGTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTATCTT  TCAGTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCCAACTCCCTGAT  CGATTCTCAGGTCACCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGT  GAACGCCTTGTGCTGGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCA  GCTGGACAGACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAAC  GTTGTA (SEQ ID NO: 884)</p>
PN42780 Va	<p>TQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLOWYRQEPGEGPVLVTVY  TGGEVYKLLKRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCAAGTSGTYK  YIFGTGTRLKVL A (SEQ ID NO: 885)</p> <p>ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGG  GAGAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTTTTTTCCAGC  TTACAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAAGTCTGTCTCCTGGT  GACAGTAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACC  TTTCAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGC  GGCCAGCCTGGTGATACAGGCCTCTACCTCTGTGCAGGAGGAACCT  CAGGAACCTACAAATACATCTTTGGAACAGGCACCAGGCTGAAGGT  TTAGCA (SEQ ID NO: 886)</p>
PN42780 Vβ	<p>EAQVTQNPRYLITVTGKLLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIY  YSMNVEVTDKGDVPEGYKVS RKEKRNFP LILESPSPNQTSLYFCASSPG  TPNYGYTFGSGTRLTVV (SEQ ID NO: 887)</p> <p>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCAAGATACCTCATCACAGTGACTG  GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTAT  ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT  ACTATTC AATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAA  GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCC  TGGAGTCGCCAGCCCCAACAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGC  AGTCCCGGACACCCAATAAGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAG  GTTAACCGTTGTA (SEQ ID NO: 888)</p>

PN42795 V $\alpha$	<p>RKEVEQDPGPFNVPEGATVAFNCTYSNSASQSFFWYRQDCRKEPKLLM  <u>SVYSSGNEDGRFTAQLNRSQYISLLIRDSKLSDSATYL</u><u>CVVNGGSQGN</u>  <u>LIFGKGTKLSVKP</u> (SEQ ID NO: 889)  CGGAAGGAGGTGGAGCAGGATCCTGGACCCTCAATGTTCCAGAGG  GAGCCACTGTCGCTTTCAACTGTACTTACAGCAACAGTGCTTCTCAG  <u>TCTTTCTTCTGGTACAGACAGGATTGCAGGAAAGAACCTAAGTTGCT</u>  GATGTCCGTATACTCCAGTGGTAATGAAGATGGAAGGTTTACAGCAC  AGCTCAATAGAGCCAGCCAGTATATTTCCCTGCTCATCAGAGACTCC  AAGCTCAGTGATTACGCCACCTACCTCTGTGTGGTGAATGGAGGAAG  <u>CCAAGGAAATCTCATCTTTGAAAAGGCACTAAACTCTCTGTAAAC</u>  CA (SEQ ID NO: 890)</p>
PN42795 V $\beta$	<p>DAGVTQSPTHLIKTRGQVTLRCSPKSGHDTVSWYQQALGQGPQFIFQ  <u>YEEEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSELNVNALLGDSALYLC</u><u>ASSVGD</u>  <u>YGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 891)  GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAACGAGAG  GACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACACT  GTGTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTATCTT  <u>TCAGTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTCCCTGAT</u>  CGATTCTCAGGTCACCAAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGT  GAACGCCTTGTTGCTGGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCA  <u>GCGTAGGGGACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAAC</u>  GTTGTA (SEQ ID NO: 892)</p>
PN42815 V $\alpha$	<p>GESVGLHLPVLSVQEGDNSIINCAYSNSASDYFIWYKQESGKGPQFIIDIR  <u>SNMDKRQQRVTVLLNKTVKHL</u><u>SLQIAATQPGDSAVYFCAENNYGQN</u>  <u>FVFGPGRVLSVLP</u> (SEQ ID NO: 893)  GGAGAGAGTGTGGGGCTGCATCTTCTACCTGAGTGTCCAGGAGG  GTGACAACCTCTATTATCAACTGTGCTTATTCAAACAGCGCCTCAGAC  <u>TACTTCAATTTGGTACAAGCAAGAATCTGGAAAAGGTCCTCAATTCAT</u>  TATAGACATTCGTTCAAATATGGACAAAAGGCAAGGCCAAAAGAGTC  ACCGTTTTATTGAATAAGACAGTGAAACATCTCTCTCTGCAAATTGC  AGCTACTCAACCTGGAGACTCAGCTGTCTACTTTTGTGCAGAGAAACA  <u>ACTATGGTCAGAATTTTGICTTTGGTCCC</u><u>GGAACCAGATTGTCCGTG</u>  CTGCC (SEQ ID NO: 894)</p>
PN42815 V $\beta$	<p>EAQVTQNPRYLITVTGKCLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLRLRQIY  <u>YSMNVEVTDKGDVPEGYKVS</u><u>RKEKRNFLILESPSPNQTSLYFC</u><u>ASSLW</u>  <u>DSSPLHFGNGTRLTVT</u> (SEQ ID NO: 895)  GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCAAGATACCTCATCACAGTGACTG  GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTTCTCAGAATATGAACCATGAGTAT  ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT  ACTATTCATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAA  GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCC  TGGAGTCGCCAGCCCCAACAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGC  <u>AGTTTATGGGACAGTTCACCCCTCCACTTTGGGAACGGGACCAGGCT</u>  CACTGTGACA (SEQ ID NO: 896)</p>
PN42826 V $\alpha$	<p>DQQVKQNSPVLVQEGRISILNCDYTNMFDYFLWYKYPAEPTFLISL  <u>SSIKDKNEDGRFTVFLNKS</u><u>AKHLSLHIVPSQPGDSAVYFCAASAGSARO</u>  <u>LTFGSGTQLTVLP</u> (SEQ ID NO: 897)  GACCAGCAAGTTAAGCAAAAATTCACCATCCCTGAGCGTCCAGGAAG  GAAGAATTTCTATTCTGAACTGTGACTATACTAACAGCATGTTTGAT  <u>TATTTCTATGGTACAAAAAATACCCTGCTGAAGGTCCTACATTCT</u>  GATATCTATAAGTTCCATTAAGGATAAAAATGAAGATGGAAGATTC  ACTGTTTTCTTAAACAAAAGTGCCAAGCACCTCTCTGCAATTGT</p>

	<u>GCCCTCCAGCCTGGAGACTCTGCAGTGACTTCTGTGCAGCAAGCG</u> <u>CCGGTTCTGCAAGGCAACTGACCTTTGGATCTGGGACACAATTGACT</u> <u>GTTTTACCT (SEQ ID NO: 898)</u>
PN42826 V $\beta$	<u>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSONMNHHEYMSWYRQDPGLGLRQIY</u> <u>YSMNVEVTDKGDVPEGYKVSrKEKRNFLILESPSPNQTSlyFCASSLY</u> <u>THTEAFFGQGRlTVV (SEQ ID NO: 899)</u> <u>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTG</u> <u>GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTTCAGAAATGAACCATGAGTAT</u> <u>ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT</u> <u>ACTATTCAATGAATGTTGAGGIGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAA</u> <u>GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCTGATCC</u> <u>TGGAGTCGCCAGCCCCAACAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGC</u> <u>AGTTTATACACCCACACTGAAGCTTCTTTGGACAAGGCACCAGACT</u> <u>CACAGTTGTA (SEQ ID NO: 900)</u>
PN42833 V $\alpha$	<u>DAKTTQPPSMDCAEGRAANLPCNHSTISGNEYVYWYRQIHSQGPQYIIIH</u> <u>GLKNNETNEMASLIITEDRKSSTLILPHATLRDTAVYYCIVRDITSGTYK</u> <u>YIFGTGTRLKVLVLA (SEQ ID NO: 901)</u> <u>GATGCTAAGACCACCCAGCCCCCTCCATGGATTGCGCTGAAGGAA</u> <u>GAGCTGCAAACTGCCTTGTAATCACTCTACCATCAGTGGAAATGAG</u> <u>TATGTGTATTGGTATCGACAGATTCCTCCAGGGGCCACAGTATAT</u> <u>CATTCATGGTCTAAAAACAATGAAACCAATGAAATGGCCTCTCTGA</u> <u>TCATCACAGAAGACAGAAAGTCCAGCACCTTGATCCTGCCACGCT</u> <u>ACGCTGAGAGACTGCTGTGTACTATTGCATCGTCAGAGACTAC</u> <u>CTCAGGAACCTACAAATACATCTTTGGAACAGGCACCAGGCTGAAG</u> <u>GTTTTAGCA (SEQ ID NO: 902)</u>
PN42833 V $\beta$	<u>EAQVTQNPRYLITVTGKKLTVTCSONMNHHEYMSWYRQDPGLGLRQIY</u> <u>YSMNVEVTDKGDVPEGYKVSrKEKRNFLILESPSPNQTSlyFCASSLSS</u> <u>TGFSPLHFGNGRlTVT (SEQ ID NO: 903)</u> <u>GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCCAAGATACCTCATCACAGTGACTG</u> <u>GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTTCAGAAATGAACCATGAGTAT</u> <u>ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT</u> <u>ACTATTCAATGAATGTTGAGGIGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAA</u> <u>GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCTGATCC</u> <u>TGGAGTCGCCAGCCCCAACAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGC</u> <u>AGTTTATCCTCGACAGGTTTTTACCCCTCCACTTTGGGAACGGGAC</u> <u>CAGGCTCACTGTGACA (SEQ ID NO: 904)</u>
PN42840 V $\alpha$	<u>TQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVV</u> <u>TGGEVKKLKRlTFQGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCAEGGGSQGN</u> <u>LIFGKGTKLSVKP (SEQ ID NO: 905)</u> <u>ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGG</u> <u>GAGAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTITTTCCAGC</u> <u>TTACAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCTCCTGGT</u> <u>GACAGTAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACC</u> <u>TTTCAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGC</u> <u>GGCCAGCCTGGTGATACAGGCCTTACCTCTGTGCAGAGGGGGGA</u> <u>GGAAAGCCAAGGAAATCTCATCTTTGGAAAAGGCACTAAACTCTCTGT</u> <u>TAAACCA (SEQ ID NO: 906)</u>
PN42840 V $\beta$	<u>DAGVTQSPHLIKTRGQVTLRCSPKSGHDTVSWYQQALGQGPQFIFQ</u> <u>YEEEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSSSELNVNALLGDSALYLCASSWT</u> <u>DYGYTFGSGRlTVV (SEQ ID NO: 907)</u> <u>GACGCTGGAGTCAACCAAGTCCCACACACCTGATCAAAACGAGAG</u> <u>GACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCTAAGTCTGGGCATGACACT</u>

	GTGTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTATCTT TCAGTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTTCCCTGAT CGATTCTCAGGTCACCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGT GAACGCCTTGTGCTGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCA GCTGGACAGACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAAC GTTGTA (SEQ ID NO: 908)
PN42845 V $\alpha$	TQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVV TGGEVKKLKRLLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCAGIRSNDYKL SFGAGTTVTVRA (SEQ ID NO: 909) ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGG GAGAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTTTTTCCAGC TTACAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCTCCTGGT GACAGTAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACC TTTCAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGC GGCCAGCCTGGTGATACAGGCCCTTACCTCTGTGCAGGGATACGTT CTAACGACTACAAGCTCAGCTTGGAGCCGGAACCCACAGTAACTGT AAGAGCA (SEQ ID NO: 910)
PN42845 V $\beta$	EAQVTQNPRYLITVTGKLLVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIY YSMNVEVTDKGDVPEGYKVSREKRNFPILLESPPNQTSLYFCASSW TAHTEAFFGQGRLLTVV (SEQ ID NO: 911) GAAGCCCAAGTGACCCAGAACCAAGATACCTCATCACAGTACTG GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAATATGAACCATGAGTAT ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT ACTATTC AATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAA GGGTACAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAAATTTCCCTGATCC TGGAGTCGCCAGCCCCAACAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGC AGTTCCTGGACAGCCACACTGAAAGCTTTCTTTGGACAAGGCACCA ACTCACAGTTGTA (SEQ ID NO: 912)
PN42870 V $\alpha$	TQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVV TGGEVKKLKRLLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCAENSGGGAD GLTFGKGTHLIQ (SEQ ID NO: 913) ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGCCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGG GAGAAAATCTCACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTTTTTCCAGC TTACAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCTCCTGGT GACAGTAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACC TTTCAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGC GGCCAGCCTGGTGATACAGGCCCTTACCTCTGTGCAGAAAATTACAG GAGGAGGTGCTGACGGACTCACCTTTGGCAAAGGGACTCATCTAAT CATCCAGCCC (SEQ ID NO: 914)
PN42870 V $\beta$	DAGVTQSPTHLIKTRGQQVTLRCSPKSGHDTVSWYQQALGQGPQFIFQ YYEEERQRGNFPDRFSGHQFPNYSSELNVNALLLGDSALYLCASSFTD YGYTFGSGTRLLTVV (SEQ ID NO: 915) GACGCTGGAGTACCCAAAGTCCACACACCTGATCAAAACGAGAG GACAGCAAGTACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACACT GTGTCCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTATCTT TCAGTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTTCCCTGAT CGATTCTCAGGTCACCAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGT GAACGCCTTGTGCTGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCA GCTTCACAGACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAAC GTTGTA (SEQ ID NO: 916)

PN42879 V $\alpha$	<p><u>TQLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVY</u> <u>TFGEVKKLRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPQDGTGLYLCAGEDFGNEK</u> <u>LTFTGTTRLTHP</u> (SEQ ID NO: 917)</p> <p>ACCCAGCTGCTGGAGCAGAGTCCTCAGTTTCTAAGCATCCAAGAGG GAGAAAATCTACTGTGTACTGCAACTCCTCAAGTGTITTTTCCAGC TTACAATGGTACAGACAGGAGCCTGGGGAAGGTCCTGTCTCCTGGT GACAGTAGTTACGGGTGGAGAAGTGAAGAAGCTGAAGAGACTAACC TTTCAGTTTGGTGATGCAAGAAAGGACAGTTCTCTCCACATCACTGC GGCCAGCTGGTGATACAGGCCTTACCTCTGTGCAGGAGAGGACT <u>TTGGAAATGAGAAATTAACCTTTGGGACTGGAACAAGACTCACCAT</u> <u>CATACCC</u> (SEQ ID NO: 918)</p>
PN42879 V $\beta$	<p><u>DAGVTQSPHLIKTRGQVTLRCSPKSGHDTVSWYQQALGQGPQFIFQ</u> <u>YEEEEERQRGNFDRFSGHQFPNYSSELNVNALLGDSALYLCASSWA</u> <u>DYGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 919)</p> <p>GACGCTGGAGTCACCCAAAGTCCCACACACCTGATCAAAAACGAGAG GACAGCAAGTGACTCTGAGATGCTCTCCTAAGTCTGGGCATGACACT GTGTCTGGTACCAACAGGCCCTGGGTCAGGGGCCCCAGTTTATCTT TCAGTATTATGAGGAGGAAGAGAGACAGAGAGGCAACTTCCCTGAT CGATTCTCAGGTCACCAAGTTCCTAACTATAGCTCTGAGCTGAATGT GAACGCCTTGTGCTGGGGACTCGGCCCTCTATCTCTGTGCCAGCA <u>GCTGGCGGATTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACC</u> <u>GTTGTA</u> (SEQ ID NO: 920)</p>
PN42888 V $\alpha$	<p><u>ILNVEQSPQSLHVQEGDSTNFTCSFPSSNFYALHWYRWETAKSPEALFV</u> <u>MTLNGDEKKKGRISATLNTKEGYSYL YIKGSPEDSATYLC AFLTGNQF</u> <u>YFGTGTSLTVIP</u> (SEQ ID NO: 921)</p> <p>ATACTGAACGTGGAACAAAGTCTCAGTCACTGCATGTTTCAGGAGG GAGACAGCACCAATTTACCTGCAGTTCCTTCCAGCAATTTTTAT <u>GCCTTACACTGGTACAGATGGGAAACTGCAAAAAGCCCCGAGGCCT</u> <u>TGTTTGTAAATGACTTTAAATGGGGATGAAAAGAAGAAAGGACGAAT</u> <u>AAGTGCCACTCTTAATACCAAGGAGGGTTACAGCTATTTGTACATCA</u> <u>AAGGATCCCAGCCTGAAGACTCAGCCACATACCTCTGTGCCTTCTC</u> <u>ACCGGTAACCAAGTCTATTTGGGACAGGGACAAGTTTGACGGTCAT</u> <u>TCCA</u> (SEQ ID NO: 922)</p>
PN42888 V $\beta$	<p><u>DVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYRQDPGLGLRLIY</u> <u>FSYDVKMKEKGDPIEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYLCASSTV</u> <u>ROGNYGYTFGSGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 923)</p> <p>GATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAAAGGACGG GAGAGAAAGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAAA <u>TATGTTCTGGTATCGACAAGACCCAGGCTGGGGCTACGGCTGATCT</u> <u>ATTTCTCATATGATGTTAAAAATGAAAAGAAAAAGGAGATATTCCTGAG</u> <u>GGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGCGCTTCTCCCTGATTCT</u> <u>GGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTCTGTGCCAGCA</u> <u>GTACCGTGAGGCAGGGGAACTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGAC</u> <u>CAGGTTAACCGTTGTA</u> (SEQ ID NO: 924)</p>
PN42895 V $\alpha$	<p><u>DQQVKQSSPSSLVQEGRISILNCDYTNMFDYFLWYKYP AEGPTFLISI</u> <u>SSIKDKNEDGRFTVFLNLSAKHLSLHIVPSQP GDSAVYFCAASAGSARQ</u> <u>LTFGSGTQLTVLP</u> (SEQ ID NO: 925)</p> <p>GACCAGCAAAGTTAAGCAAAGTTCACCATCCCTGAGCGTCCAGGAAG GAAGAATTTCTATTCTGAACTGTGACTATACTAACAGCATGTTTGT <u>TATTTCCATATGGTACAAAAAATACCCTGCTGAAGGTCCTACATTCCT</u> <u>GATATCTATAAGTTCATTAAGGATAAAAATGAAGATGGAAGATTC</u> <u>ACTGTTTTCTTAAACAAAAGTGCCAAGCACCTCTCTCTGCACATTGT</u></p>
	<p><u>GCCCTCCCAGCCTGGAGACTCTGCAGTGTACTTCTGTGCAGCAAGCG</u> <u>CCGGTCTGCAAGGCAACTGACCTTTGGATCTGGGACACAATTGACT</u> <u>GTTTTACCT</u> (SEQ ID NO: 926)</p>
PN42895 V $\beta$	<p><u>EAQVTQNPRYLITVTGKCLTVTCSQNMNHEYMSWYRQDPGLGLRQIY</u> <u>YSMNVEVTDKGDVPEGYKVSREKERNFPLILESPSPNQTSLYFCASSLW</u> <u>SNTEAFFGQGTRLTVV</u> (SEQ ID NO: 927)</p> <p>GAAGCCAAAGTGACCCAGAACCAAGATACCTCATCACAGTGACTG GAAAGAAGTTAACAGTGACTTGTCTCAGAAATGAACCATGAGTAT ATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGGCTGGGCTTAAGGCAGATCT ACTATTCAATGAATGTTGAGGTGACTGATAAGGGAGATGTTCTGAA GGGTACAAAAGTCTCTCGAAAAGAGAAGAGGAATTTCCCCTGATCC TGGAGTCGCCAGCCCCAACCAAGACCTCTCTGTACTTCTGTGCCAGC <u>AGTTTATGGTCCGAACACTGAAGCTTCTTTGGACAAGGCACCAGACT</u> <u>CACAGTTGTA</u> (SEQ ID NO: 928)</p>

Таблица 9. Семейства переменных (V) и соединительных (J) областей генов для  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей TCR VelociT, специфических в отношении PRAME (312-320)/HLA-A2

ID TCR	V $\beta$	J $\beta$	V $\alpha$	J $\alpha$
PN46909	6-6	1-1	38-1	26
PN46889	6-2	1-1	12-2	11
PN46733	6-1	1-1	13-2	26
PN46723	5-5	1-4	20-1	42
PN46714	5-5	1-6	20-1	42
PN46735	5-5	1-2	26-2	45
PN46678	5-5	1-4	19-1	18
PN46884	28-1	1-3	19-1	34
PN46914	28-1	1-5	19-1	23
PN46883	18-1	1-1	19-1	34
PN46857	18-1	1-1	19-1	47
PN46880	18-1	1-1	16-1	6
PN46871	13-1	1-5	21-1	24
PN46853	13-1	1-5	24-1	37
PN46731	13-1	1-1	13-1	26
PN46777	10-2	1-2	38-1	47
PN46797	10-2	1-2	38-1	47
PN46738	10-2	1-2	38-1	45

Таблица 10. Семейства переменных (V) и соединительных (J) областей генов для  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей TCR VelociT, специфических в отношении PRAME (425-433)/HLA-A2

ID TCR	Vb	Jb	Va	Ja
PN42365	5-6	1-2	27-1	42-1
PN42879	5-6	1-2	27-1	48-1
PN42774	5-6	1-2	12-2	34-1
PN42498	5-6	1-2	27-1	42-1
PN42558	5-6	1-2	22-1	42-1
PN42386	5-6	1-2	27-1	42-1
PN42378	5-6	1-2	26-2	24-1
PN42776	5-6	1-2	26-2	24-1
PN42455	5-6	1-2	26-2	24-1
PN42840	5-6	1-2	27-1	42-1
PN42795	5-6	1-2	12-1	42-1
PN42870	5-6	1-2	27-1	45-1
PN42689	5-6	1-2	27-1	42-1
PN42888	28-1	1-2	24-1	49-1
PN42450	28-1	1-2	16-1	34-1
PN42750	28-1	1-2	26-2	24-1
PN42562	27-1	1-2	27-1	40-1
PN42483	27-1	1-4	27-1	42-1
PN42712	27-1	1-6	22-1	20-1
PN42561	27-1	1-2	26-2	49-1
PN42442	27-1	1-2	27-1	40-1
PN42476	27-1	1-4	26-2	24-1
PN42496	27-1	1-2	26-2	54-1
PN42655	27-1	1-2	26-2	24-1
PN42677	27-1	1-2	26-2	49-1
PN42706	27-1	1-2	22-1	40-1
PN42654	27-1	1-2	26-2	49-1
PN42441	27-1	1-1	26-2	49-1
PN42683	27-1	1-2	26-2	47-1
PN42845	27-1	1-1	27-1	20-1
PN42826	27-1	1-1	29/DV5	22-1
PN42707	27-1	1-1	13-2	26-1
PN42833	27-1	1-6	26-1	40-1
PN42762	27-1	1-1	26-2	44-1
PN42780	27-1	1-2	27-1	40-1
PN42746	27-1	1-1	13-2	26-1
PN42815	27-1	1-6	13-2	26-1
PN42711	27-1	1-6	22-1	20-1
PN42895	27-1	1-1	29/DV5	22-1
PN42610	13-1	1-5	12-2	26-1

Таблица 11. Идентификаторы аминокислотных последовательностей и последовательностей полинуклеиновых кислот для альфа- и бета-вариабельных цепей и CDR TCR, которые были идентифицированы с помощью PRAME (312-320)

ID TCR	Аминокислотные последовательности									Последовательности полинуклеиновых кислот								
	CDR α-цепей					CDR β-цепей				CDR α-цепей					CDR β-цепей			
	Vα	CDR1	CDR2	CDR3	Vβ	CDR1	CDR2	CDR3	Vα	CDR1	CDR2	CDR3	Vβ	CDR1	CDR2	CDR3		
	SEQ ID NO:									SEQ ID NO:								
PN46678	217	1	2	3	219	4	5	6	218	109	110	111	220	112	113	114		
PN46714	221	7	8	9	223	10	11	12	222	115	116	117	224	118	119	120		
PN46723	225	13	14	15	227	16	17	18	226	121	122	123	228	124	125	126		
PN46731	229	19	20	21	231	22	23	24	230	127	128	129	232	130	131	132		
PN46733	233	25	26	27	235	28	29	30	234	133	134	135	236	136	137	138		
PN46735	237	31	32	33	239	34	35	36	238	139	140	141	240	142	143	144		
PN46738	241	37	38	39	243	40	41	42	242	145	146	147	244	148	149	150		
PN46777	245	43	44	45	247	46	47	48	246	151	152	153	248	154	155	156		
PN46797	249	49	50	51	251	52	53	54	250	157	158	159	252	160	161	162		
PN46853	253	55	56	57	255	58	59	60	254	163	164	165	256	166	167	168		
PN46857	257	61	62	63	259	64	65	66	258	169	170	171	260	172	173	174		
PN46871	261	67	68	69	263	70	71	72	262	175	176	177	264	178	179	180		
PN46880	265	73	74	75	267	76	77	78	266	181	182	183	268	184	185	186		
PN46883	269	79	80	81	271	82	83	84	270	187	188	189	272	190	191	192		
PN46884	273	85	86	87	275	88	89	90	274	193	194	195	276	196	197	198		
PN46889	277	91	92	93	279	94	95	96	278	199	200	201	280	202	203	204		
PN46909	281	97	98	99	283	100	101	102	282	205	206	207	284	208	209	210		
PN46914	285	103	104	105	287	106	107	108	286	211	212	213	288	214	215	216		

Таблица 12. Идентификаторы аминокислотных последовательностей и последовательностей полинуклеиновых кислот для альфа- и бета-вариабельных цепей и CDR TCR, которые были идентифицированы с помощью PRAME (425-433)

ID TCR	Аминокислотные последовательности									Последовательности полинуклеиновых кислот								
	CDR α-цепей					CDR β-цепей				CDR α-цепей					CDR β-цепей			
	Vα	CDR1	CDR2	CDR3	Vβ	CDR1	CDR2	CDR3	Vα	CDR1	CDR2	CDR3	Vβ	CDR1	CDR2	CDR3		
	SEQ ID NO:									SEQ ID NO:								
PN42365	769	289	290	291	771	292	293	294	770	529	530	531	772	532	533	534		
PN42378	773	295	296	297	775	298	299	300	774	535	536	537	776	538	539	540		
PN42386	777	301	302	303	779	304	305	306	778	541	542	543	780	544	545	546		
PN42441	781	307	308	309	783	310	311	312	782	547	548	549	784	550	551	552		
PN42442	785	313	314	315	787	316	317	318	786	553	554	555	788	556	557	558		
PN42450	789	319	320	321	791	322	323	324	790	559	560	561	792	562	563	564		
PN42455	793	325	326	327	795	328	329	330	794	565	566	567	796	568	569	570		
PN42476	797	331	332	333	799	334	335	336	798	571	572	573	800	574	575	576		
PN42483	801	337	338	339	803	340	341	342	802	577	578	579	804	580	581	582		
PN42496	805	343	344	345	807	346	347	348	806	583	584	585	808	586	587	588		
PN42498	809	349	350	351	811	352	353	354	810	589	590	591	812	592	593	594		
PN42558	813	355	356	357	815	358	359	360	814	595	596	597	816	598	599	600		
PN42561	817	361	362	363	819	364	365	366	818	601	602	603	820	604	605	606		
PN42562	821	367	368	369	823	370	371	372	822	607	608	609	824	610	611	612		
PN42610	825	373	374	375	827	376	377	378	826	613	614	615	828	616	617	618		
PN42654	829	379	380	381	831	382	383	384	830	619	620	621	832	622	623	624		
PN42655	833	385	386	387	835	388	389	390	834	625	626	627	836	628	629	630		
PN42677	837	391	392	393	839	394	395	396	838	631	632	633	840	634	635	636		
PN42683	841	397	398	399	843	400	401	402	842	637	638	639	844	640	641	642		
PN42689	845	403	404	405	847	406	407	408	846	643	644	645	848	646	647	648		
PN42706	849	409	410	411	851	412	413	414	850	649	650	651	852	652	653	654		
PN42707	853	415	416	417	855	418	419	420	854	655	656	657	856	658	659	660		
PN42711	857	421	422	423	859	424	425	426	858	661	662	663	860	664	665	666		
PN42712	861	427	428	429	863	430	431	432	862	667	668	669	864	670	671	672		
PN42746	865	433	434	435	867	436	437	438	866	673	674	675	868	676	677	678		
PN42750	869	439	440	441	871	442	443	444	870	679	680	681	872	682	683	684		
PN42762	873	445	446	447	875	448	449	450	874	685	686	687	876	688	689	690		
PN42774	877	451	452	453	879	454	455	456	878	691	692	693	880	694	695	696		
PN42776	881	457	458	459	883	460	461	462	882	697	698	699	884	700	701	702		
PN42780	885	463	464	465	887	466	467	468	886	703	704	705	888	706	707	708		
PN42795	889	469	470	471	891	472	473	474	890	709	710	711	892	712	713	714		
PN42815	893	475	476	477	895	478	479	480	894	715	716	717	896	718	719	720		
PN42826	897	481	482	483	899	484	485	486	898	721	722	723	900	724	725	726		
PN42833	901	487	488	489	903	490	491	492	902	727	728	729	904	730	731	732		
PN42840	905	493	494	495	907	496	497	498	906	733	734	735	908	736	737	738		
PN42845	909	499	500	501	911	502	503	504	910	739	740	741	912	742	743	744		
PN42870	913	505	506	507	915	508	509	510	914	745	746	747	916	748	749	750		
PN42879	917	511	512	513	919	514	515	516	918	751	752	753	920	754	755	756		
PN42888	921	517	518	519	923	520	521	522	922	757	758	759	924	760	761	762		
PN42895	925	523	524	525	927	526	527	528	926	763	764	765	928	766	767	768		

#### Пример 2. Дозозависимая активация T-клеточных рецепторов

Линию клеток Jurkat, лишенную эндогенной экспрессии TCRα и TCRβ, получали посредством разрушения генов. Затем эти клетки конструировали с геномной сайта посадочной площадки, которая обеспечивала опосредованную Сте-рекомбиназой вставку одной копии трансгенных конструкций на основе TCR. Репортер люциферазы, управляемый элементом ответа в виде активирующего белка 1 (AP1), впоследствии включали в эту исходную клеточную линию для биоанализа. Конкретные линии для биоана-

лиза TCR создавали с помощью Ste-опосредованной вставки конструкций, экспрессирующих производные от VelocIT® последовательности TCR $\alpha$  и TCR $\beta$ .

Линии биоанализа Jurkat, экспрессирующие конструкции на основе TCR, сортировали до гомогенности с использованием сортировки клеток, активируемых флуоресценцией (FACS), а затем тестировали в анализах стимуляции пептид-МНС. Клетки HEK293T (HLA-A2\*01) высевали в лунки для анализа с различными разведениями антигенного пептида PRAME (PRAME 425-433; SEQ ID NO: 930) или нерелевантного рестриктированного по HLA-A2 пептида (SLLMWITQC; SEQ ID NO: 953). Эти разведения выполняли, как указано в табл. 13.

Таблица 13. Разведения пептидов для тестирования зависимости доза-ответ антител к TCR к PRAME

Разведение	Концентрация (мкМ)	Нерелевантный пептид (мкг/мл)	Пептид PRAME (425-433) (мкг/мл)
1	100	109	98,9
2	20	21,8	19,8
3	4	4,4	4,0
4	0,8	0,87	0,79
5	0,16	0,17	0,16
6	0,032	0,035	0,032
7	0,0064	0,0070	0,0063
8	0,00128	0,0014	0,0013
9	0,000256	0,00028	0,00025
10	0,0000512	5,6E-5	5,1E-5
11	0,00001024	1,1E-5	1,0E-5
12	0 (без пептида)	0	0

Через 2 ч после инкубации сконструированные клетки Jurkat добавляли в лунки в соотношении 3:1 клетки Jurkat:293T и инкубировали еще 5 ч. Репортерную активность люциферазы определяли путем измерения выхода люминесценции в конечной точке в лунках для анализа. PRAME-специфические TCR опосредовали дозозависимую активацию репортера API в ответ на клетки HLA-A2\*01 HEK293T, в которые вводили когнатный пептид, но не на клетки, в которые вводили нерелевантный пептид. Данные о EC50 показаны в табл. 14 ниже.

Таблица 14. Антиген-специфический ответ HLA-A2/PRAME (425-433)-специфических TCR в биоанализе с использованием клеток Jurkat, нормализованный в отношении отрицательного контроля

ID TCR	EC50 (мкМ)
PN42365	0,01594
PN42386	0,02711
PN42441	0,8205
PN42442	0,2324
PN42450	0,03355
PN42483	*
PN42496	0,02937
PN42498	0,002418
PN42558	0,2614
PN42561	0,0137
PN42562	0,02807
PN42610	*
PN42654	*
PN42655	
PN42677	*
PN42683	*
PN42689	0,0095
PN42706	0,7274
PN42707	0,01182
PN42711	0,05688
PN42712	0,01329
PN42746	0,04598
PN42762	114,8
PN42774	0,8757
PN42780	1,255
PN42795	0,2454
PN42815	0,1261
PN42826	4,915
PN42833	0,04786
PN42840	0,03092
PN42845	0,911
PN42870	0,1302
PN42879	*
PN42888	0,0119
PN42895	0,94

\* Не выше отрицательного контроля/не отвечали в анализе

### Эквиваленты

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

### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Т-клеточный рецептор (TCR), который специфически связывается с презентруемым HLA-A2 пептидом предпочтительно экспрессируемого антигена меланомы (PRAME), при этом TCR содержит аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 альфа-цепи/CDR1, CDR2 и CDR3 бета-цепи, выбранные из пары последовательностей переменных доменов альфа-цепи/бета-цепи SEQ ID NO: 789/791.

2. TCR по п.1, содержащий:

(a) CDR1 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 319;

(b) CDR2 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 320;

(c) CDR3 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 321;

(d) CDR1 переменного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 322;

(e) CDR2 переменного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 323; и

(f) CDR3 переменного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 324.

3. Выделенная клетка, презентрующая TCR по п.1 или 2.

4. Выделенная полинуклеотидная молекула, содержащая полинуклеотидную последовательность, которая кодирует переменный домен альфа-цепи TCR, как изложено в п.1 или 2.

5. Выделенная полинуклеотидная молекула, содержащая полинуклеотидную последовательность, которая кодирует переменный домен бета-цепи TCR, как изложено в п.1 или 2.

6. Вектор, содержащий полинуклеотидную молекулу по п.4.

7. Вектор, содержащий полинуклеотидную молекулу по п.5.

8. Выделенная клетка, экспрессирующая вектор по п.6.

9. Выделенная клетка, экспрессирующая вектор по п.7.

10. Выделенная клетка, экспрессирующая векторы по п.6 и 7.

11. Фармацевтическая композиция, содержащая выделенную клетку по п.10 и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

12. Способ лечения субъекта, у которого имеется ассоциированный с PRAME рак, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества TCR, как изложено в п.1 или 2, фармацевтической композиции по п.11 или множества выделенных клеток по п.3, за счет чего осуществляется лечение субъекта.

13. Полинуклеотидная молекула, кодирующая Т-клеточный рецептор (TCR), который специфически связывается с презентруемым HLA-A2 пептидом предпочтительно экспрессируемого антигена меланомы (PRAME), содержащим аминокислотную последовательность SLLQHLIGL (SEQ ID NO:930) (PRAME 425-433), при этом TCR содержит аминокислотные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 альфа-цепи/CDR1, CDR2 и CDR3 бета-цепи, выбранные из пары последовательностей переменных доменов альфа-цепи/бета-цепи SEQ ID NO: 789/791.

14. Полинуклеотидная молекула по п.13, отличающаяся тем, что указанный TCR содержит:

(a) CDR1 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 319;

(b) CDR2 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 320;

(c) CDR3 переменного домена альфа-цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 321;

(d) CDR1 переменного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 322;

(e) CDR2 переменного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 323; и

(f) CDR3 переменного домена бета-цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 324.

15. Полинуклеотидная молекула по п.13 или 14, отличающаяся тем, что указанный TCR содержит:

- (a) CDR1 варибельного домена альфа-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 559;
- (b) CDR2 варибельного домена альфа-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 560;
- (c) CDR3 варибельного домена альфа-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 561;
- (d) CDR1 варибельного домена бета-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 562;
- (e) CDR2 варибельного домена бета-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 563; и
- (f) CDR3 варибельного домена бета-цепи, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 564.

16. Полинуклеотидная молекула по п.15, отличающаяся тем, что указанный TCR кодируется парой последовательностей нуклеиновой кислоты варибельного домена альфа-цепи/варибельного домена бета-цепи SEQ ID NO: 790/792.

17. Вектор, содержащий полинуклеотидную молекулу по любому из пп.13 и 16.

18. Выделенная клетка, содержащая вектор по п.17.

19. Способ лечения субъекта, у которого имеется ассоциированный с PRAME рак, включающий введение субъекту множества клеток по п.18, за счет чего осуществляется лечение субъекта.

20. Способ по п.12, отличающийся тем, что ассоциированный с PRAME рак представляет собой липосаркому, нейробластому, миелому, меланому, метастатическую меланому, синовиальную саркому, рак мочевого пузыря, рак пищевода, плоскоклеточный рак пищевода, гепатоцеллюлярный рак, рак головы и шеи, мелкоклеточный рак легкого, рак яичников, эпителиальный рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, астроцитарную опухоль, мультиформную глиобластому, анапластическую астроцитому, опухоль головного мозга, рак маточной трубы, первичный рак брюшной полости, распространенные солидные опухоли, саркому мягких тканей, саркому, миелодиспластический синдром, острый миелоидный лейкоз, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, болезнь Ходжкина, множественную миелому, метастатические солидные опухоли, колоректальную карциному, рак желудка, рабдомиосаркому, миксоидную круглоклеточную липосаркому, рак эндометрия тела матки, карциносаркому матки, опухоль зародышевых клеток яичка, увеальную меланому, почечно-папиллярно-клеточную карциному, почечную почечно-светлоклеточную карциному, тимому, аденокарциному толстой кишки, плоскоклеточный рак шейки матки, опухоль шейки матки, аденокарциному поджелудочной железы, рак печени, гепатоцеллюлярную карциному, мезотелиому или рецидивирующий мелкоклеточный рак легкого.

21. Способ по п.12 или 20, отличающийся тем, что TCR, фармацевтическую композицию или множество клеток вводят субъекту в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

22. Способ по любому из пп.12, 20 и 21, отличающийся тем, что TCR, фармацевтическую композицию или множество клеток вводят субъекту подкожно, внутривенно, внутрикожно, внутрибрюшинно, перорально, внутримышечно или внутрочерепно.

23. Способ по п.19, отличающийся тем, что ассоциированный с PRAME рак представляет собой липосаркому, нейробластому, миелому, меланому, метастатическую меланому, синовиальную саркому, рак мочевого пузыря, рак пищевода, плоскоклеточный рак пищевода, гепатоцеллюлярный рак, рак головы и шеи, мелкоклеточный рак легкого, рак яичников, эпителиальный рак яичников, рак предстательной железы, рак молочной железы, астроцитарную опухоль, мультиформную глиобластому, анапластическую астроцитому, опухоль головного мозга, рак маточной трубы, первичный рак брюшной полости, распространенные солидные опухоли, саркому мягких тканей, саркому, миелодиспластический синдром, острый миелоидный лейкоз, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, болезнь Ходжкина, множественную миелому, метастатические солидные опухоли, колоректальную карциному, рак желудка, рабдомиосаркому, миксоидную круглоклеточную липосаркому, рак эндометрия тела матки, карциносаркому матки, опухоль зародышевых клеток яичка, увеальную меланому, почечно-папиллярно-клеточную карциному, почечную почечно-светлоклеточную карциному, тимому, аденокарциному толстой кишки, плоскоклеточный рак шейки матки, опухоль шейки матки, аденокарциному поджелудочной железы, рак печени, гепатоцеллюлярную карциному, мезотелиому или рецидивирующий мелкоклеточный рак легкого.

24. Способ по п.19 или 23, отличающийся тем, что множество клеток вводят субъекту в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

25. Способ по любому из пп.19, 23 и 24, отличающийся тем, что множество клеток вводят субъекту подкожно, внутривенно, внутрикожно, внутрибрюшинно, перорально, внутримышечно или внутрочерепно.

