

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202490201 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.03.07

(22) Дата подачи заявки
2022.07.15

(51) Int. Cl. *A61K 35/17* (2015.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C12N 15/10 (2006.01)
C12Q 1/6809 (2018.01)
G01N 33/574 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
C12N 5/0783 (2010.01)
C12N 5/10 (2006.01)

(54) ИДЕНТИФИКАЦИЯ РАСПРОСТРАНЕННЫХ ОПУХОЛЕСПЕЦИФИЧНЫХ Т-КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ И АНТИГЕНОВ

(31) 21185876.6

(32) 2021.07.15

(33) EP

(86) PCT/EP2022/069866

(87) WO 2023/006450 2023.02.02

(88) 2023.05.04

(71) Заявитель:
БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ
ИНТЕРНЕТШНЕЛ ГМБХ (DE)

(72) Изобретатель:
Хаммер Рудольф, Хенниг Штеффен,
Адам Пол, Луковски Самуэль,
Вайсман Давид (DE)

(74) Представитель:
Кузнецова С.А. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к способу идентификации распространенных среди пациентов опухолеспецифичных Т-клеточных рецепторов (TCR) и их соответствующих антигенов. Настоящее изобретение также относится к последовательностям этих TCR, нуклеиновой кислоте, кодирующей TCR, и Т-клетке, содержащей TCR и/или кодирующую нуклеиновую кислоту.



A1

202490201

202490201

A1

ИДЕНТИФИКАЦИЯ РАСПРОСТРАНЕННЫХ ОПУХОЛЕСПЕЦИФИЧНЫХ Т-КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ И АНТИГЕНОВ

Настоящее изобретение относится к способу идентификации распространенных среди пациентов опухолеспецифичных Т-клеточных рецепторов (TCR) и их соответствующих антигенов. Настоящее изобретение также относится к последовательностям этих TCR, нуклеиновой кислоте, кодирующей TCR, и Т-клетке, содержащей TCR и/или кодирующую нуклеиновую кислоту.

Предпосылки изобретения

С тех пор, как было показано, что иммунная система способна бороться с опухолями и отторгать их, были предприняты большие усилия по разработке терапевтических или профилактических вакцин против рака. Эти усилия столкнулись с огромными трудностями в отношении открытия антигенов, поскольку подходящие опухолевые антигены для вакцинации должны сочетать в себе три основных требования. Они должны быть иммуногенными, чтобы вызвать эффективный терапевтический ответ. Они должны характеризоваться опухолеспецифичностью, чтобы обеспечить безопасное лечение, особенно в профилактических целях. Однако перекрестная реактивность с антигенами, ассоциированными с патогеном, входит в объем настоящего изобретения. Наконец, существует необходимость идентификации общих антигенов, которые экспрессируются в опухолях многих пациентов.

За последнее десятилетие были разработаны две высокопроизводительные платформы, которые широко использовались для обнаружения опухолевых антигенов. Однако они обе удовлетворяют требованиям лишь в ограниченной степени. Подходы к секвенированию всего экзона явным образом позволяют идентифицировать опухолеспецифичные мутировавшие антигены. Но за исключением некоторых повторяющихся драйверных мутаций, подавляющее большинство идентифицированных реактивных в отношении мутаций антигенов являются специфическими для пациента. С другой стороны, с помощью подходов, основанных на масс-спектрометрии, возможно обнаруживать общие HLA-презентированные пептиды в опухолях различных пациентов. Однако доказательство иммуногенности и опухолеспецифичности этих пептидов остается сложной задачей.

Адоптивная клеточная терапия (ACT) с применением Т-клеток, генетически сконструированных для экспрессии реактивных в отношении опухоли химерных антигенных рецепторов (CAR-Т-клеток) или Т-клеточных рецепторов (TCR), является многообещающей стратегией лечения пациентов с раком. В отличие от гематологических злокачественных новообразований, где CAR-Т-клетки против определенных линиеспецифических клеточных поверхностных антигенов были одобрены из-за их высокой эффективности с управляемыми побочными эффектами, в случае видов солидного рака применение CAR-Т-клеток (в настоящее время) невозможно вследствие отсутствия антигенов-мишеней клеточной поверхности, экспрессия которых ограничена опухолью. Т-клетки (пациента), генетически сконструированные для экспрессии опухолеспецифичных трансгенных TCR (tsTCRtg-Т-клетки), распознающие пептиды ассоциированных с опухолью или опухолеспецифичных антигенов (ТАА или TSA), презентированных HLA-молекулами (pMHC), представляют собой привлекательную альтернативу. Хотя ТАА (например, антигены рака/зародышевого типа, дифференцировки, сверхэкспрессированные антигены) и вирусный (v)TSA (в опухолях вирусной этиологии) могут быть широко распределены между опухолями и приводить к презентации общего pMHC у HLA-совместимых пациентов, подавляющее большинство (невирусных) TSA (неоантигенов) являются уникальными для отдельных видов рака. Полученное в результате огромное разнообразие pMHC следует рассматривать как частные антигены отдельных субъектов. Однако в небольшом количестве случаев было показано, что TSA, возникающие в результате точечных мутаций или хромосомных транслокаций, которые влияют на распространенные драйверные гены злокачественных новообразований и которые являются общими среди опухолей, являются иммуногенными (например, мутации RAS, TP53, BRAF, PIK3CA и транслокации, затрагивающие ALK, ROS, NTRK, RET и т. д.). Также гораздо менее четко определенные на данный момент категории антигенов, такие как опухолеспецифичные криптические («темная материя») или аберрантно сплайсированные транскрипты, потенциально могут быть общими среди опухолей и распознаваться Т-клетками.

Ранее авторы настоящего изобретения разработали способ, который обеспечивает идентификацию опухолеспецифичных Т-клеточных рецепторов путем сравнения последовательностей CDR3, полученных из TIL, с Т-клетками в соседней ткани (WO 2017/025564 A1). Таким образом, существует возможность определить

опухолеспецифичность по повышенному присутствию клонов Т-клеток в опухоли по сравнению с неопухолевыми тканями пациента. Однако большинство опухолеспецифичных антигенов возникают в результате мутаций, которые ограничены отдельным пациентом. В то время как на персональные неоантигены можно нацеливаться с помощью персонализированных средств tsTCRtg-Т-клеточной терапии, общие ТАА или TSA являются идеальными мишенями для готовых средств tsTCRtg-Т-клеточной терапии у пациентов с экспрессией совместимых аллелей HLA. Персонализированная терапия является времязатратной, дорогостоящей и строго регулируется FDA и EMA (ATMP, передовые лекарственные средства; лекарственные средства для генной терапии). Кроме того, заболевания у многих пациентов прогрессируют быстрее, чем могут быть получены персонализированные терапевтические средства. Следовательно, было бы крайне преимущественно разработать способ, который позволяет идентифицировать носителей таких распространенных опухолеспецифичных TCR путем сканирования их TIL-репертуаров в отношении идентичных или в крайней степени подобных антигенраспознающих доменов (CDR3 α и - β), тем самым обеспечивая предоставление готовых терапевтических рецепторов и одновременно открывая возможность идентифицировать общие опухолеспецифичные антигены для дополнительных вариантов терапевтических средств.

На основании вышеупомянутого уровня техники целью настоящего изобретения является обеспечение средств и способов идентификации последовательностей распространенного опухолеспецифичного TCR и соответствующих им антигенов. Данная цель достигается посредством объекта независимых пунктов формулы изобретения настоящего изобретения, при этом дополнительные преимущественные варианты осуществления описаны в зависимых пунктах формулы изобретения, примерах, фигурах и общем описании настоящего изобретения.

Сущность изобретения

Вместо того, чтобы начинать с антигенов-кандидатов, которые требуют критической валидации в отношении специфичности и функциональных тестов, альтернативным способом является анализ репертуара Т-клеток в опухолях различных пациентов с раком в поисках конкретных эффектов, берущих начало от общих опухолевых антигенов. Когда Т-клетка инфильтрируется в опухоль и провоцирует специфическое

опосредуемое рецептором взаимодействие с опухолевым антигеном, за этим контактом следует активация, пролиферация и обогащение клона в опухоли. Таким образом, предпочтительная локализация этого уникального клонотипа TCR, определяемая количественно по соотношению значений частоты встречаемости клонотипов TCR между опухолью и прилегающей неопухолевой тканью, является прогностическим показателем опухолевой специфичности. Эта технология описана в WO 2017/025564 A1. Если такой уникальный опухолеспецифичный клонотип TCR или структурно близкие клонотипы TCR, называемые кластером TCR, выявляются в опухолях других пациентов, это свидетельствует о существовании общего опухолевого антигена у этих пациентов. Это является особенно информативным, когда кластеры TCR выявляются у HLA-совместимых пациентов, раскрывая природу аллеля HLA, презентирующего общий антигенный эпитоп. В качестве последней стадии с помощью полного выяснения кластерных TCR, например, с помощью технологий с использованием отдельных клеток, будут получать α/β -TCR со специфичностью к общему антигену.

Такие HLA-ограниченные α/β -TCR со специфичностью к общим опухолевым антигенам являются исходной точкой важных вариантов применения.

Будучи беспрецедентными новыми инструментами, они могут использоваться в качестве специфических зондов для обнаружения антигенов, направляя нацеленный поиск общих опухолевых антигенов.

Будучи «готовыми» TCR в векторной форме, они могут использоваться для трансдукции в аутологичные Т-клетки пациентов с раком для иммунотерапевтического вмешательства. Пригодными являются HLA-совместимые пациенты, которые являются либо носителями кластерных TCR, либо носителями известного общего опухолевого антигена.

Благодаря новым технологиям генной инженерии (CRISPR/Cas9, TALEN, нуклеаза с цинковыми пальцами) становится все более возможным получать аллогенные клеточные терапевтические продукты от здоровых доноров, которые являются более доступными и в большем количестве, чем от большинства пациентов, и один продукт может использоваться для лечения нескольких пациентов. Это возможно, поскольку (аутологичные, как и аллогенные) tsTCRtg-Т-клетки можно генетически конструировать таким образом, чтобы они характеризовались меньшей

иммуногенностью (например, за счет нокаута эндогенных HLA в аллогенных условиях), меньшей склонностью к истощению/дисфункции (например, при нокауте рецепторов контрольных точек) и меньшей восприимчивостью к развитию болезни «трансплантат против хозяина» (GvHD) или непредсказуемой перекрестной реактивностью вследствие нокаута эндогенных TCR.

В дополнение к трансдукции традиционных аутогенных или аллогенных CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток с помощью α/β -tsTCR существует возможность трансдуцировать дополнительные типы клеток адаптивного или врожденного иммунитета, таких как $\gamma\delta$ -Т-клетки, NKT-клетки и NK-клетки с рецепторами; упомянутые выше технологии генной инженерии позволяют осуществлять совместную трансдукцию NK-клеток с tsTCR и сигнальными доменами CD3, необходимыми для активации клеток при взаимодействии TCR с pMHC.

Следовательно, нахождение общих опухолевых антигенов и/или Т-клеточных рецепторов, которые являются общими для более чем одного индивидуума, является крайне предпочтительным.

Следовательно, существует необходимость идентифицировать общие опухолеспецифичные антигены и/или общие опухолеспецифичные Т-клеточные рецепторы. Это позволит разработать готовое средство лечения рака, учитывая, что известно, что HLA пациента совпадают.

Для достижения этой цели необходимо разработать способ, который позволяет идентифицировать такие общие опухолеспецифичные TCR и одновременно общий опухолеспецифичный антиген.

Первый аспект настоящего изобретения относится к способу идентификации общего опухолеспецифичного Т-клеточного рецептора (TCR).

Второй аспект настоящего изобретения относится к способу идентификации общего опухолеспецифичного антигена.

Третий аспект настоящего изобретения относится к выделенному TCR, идентифицированному с помощью способа согласно первому аспекту.

Четвертый аспект настоящего изобретения относится к последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей TCR согласно третьему аспекту.

Пятый аспект настоящего изобретения относится к выделенной аутологичной Т-клетке, содержащей TCR согласно третьему аспекту и/или последовательность нуклеиновой кислоты согласно четвертому аспекту.

Шестой аспект настоящего изобретения относится к TCR согласно третьему аспекту, последовательности нуклеиновой кислоты согласно четвертому аспекту или выделенной аутологичной Т-клетке согласно пятому аспекту для применения в лечении рака.

Термины и определения

Для целей толкования данного описания применяют следующие определения, и, когда это уместно, термины, используемые в единственном числе, также включают множественное число и наоборот. В случае если какое-либо определение, приведенное ниже, противоречит какому-либо документу, включенному в настоящий документ посредством ссылки, приведенное определение будет иметь преимущественную силу.

Термины «содержащий», «имеющий», «состоящий из» и «включающий» и другие подобные формы, а также их грамматические эквиваленты, используемые в данном документе, предназначены для эквивалентного значения и являются открытыми в том смысле, что элемент или элементы, следующие за любым из этих слов, не предназначены для исчерпывающего перечисления такого элемента или элементов или ограничены только перечисленным элементом или элементами. Например, изделие, «содержащее» компоненты А, В и С, может состоять из (т. е. содержать только) компонентов А, В и С или может содержать не только компоненты А, В и С, но и один или более других компонентов. Как таковое, подразумевается и понимается, что «содержит» и подобные ему формы, а также их грамматические эквиваленты, включают раскрытие вариантов осуществления «состоящих по сути из» или «состоящих из».

В случае, когда представлен диапазон значений, подразумевается, что каждое промежуточное значение с точностью до десятой доли единицы нижнего предела, если контекст явно не диктует иное, между верхним и нижним пределами этого диапазона и

любое другое указанное или промежуточное значение в этом указанном диапазоне, включено в данное изобретение с учетом любого конкретно исключенного предела в указанном диапазоне. В случае если указанный диапазон включает один или оба из пределов, диапазоны, исключаящие один или оба из включенных пределов, также включены в настоящее изобретение.

Ссылка на «приблизительно» в отношении значения или параметра в данном документе включает (и описывает) варианты, которые направлены на это значение или параметр как таковой. Например, описание со ссылкой на «приблизительно X» включает описание «X».

Используемая в данном документе, в том числе в прилагаемой формуле изобретения, форма единственного числа включает ссылки на множественное число, если из контекста явно не следует иное.

Если не определено иное, то все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в данной области (например, в культуре клеток, молекулярной генетике, химии нуклеиновых кислот, методиках гибридизации и биохимии). Для молекулярных, генетических и биохимических способов, а также химических способов, применяют стандартные методики (см. в целом Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 4th ed. (2012) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. и Ausubel et al., *Short Protocols in Molecular Biology* (2002) 5th Ed, John Wiley & Sons, Inc.).

Последовательности

Последовательности, сходные или гомологичные (например, по меньшей мере приблизительно 70% идентичность последовательностей) последовательностям, раскрытым в данном документе, также являются частью настоящего изобретения. В некоторых вариантах осуществления идентичность последовательности на уровне аминокислот может составлять приблизительно 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или выше. На уровне нуклеиновой кислоты идентичность последовательности может составлять приблизительно 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или выше. В качестве альтернативы значительная степень идентичности существует, когда сегменты нуклеиновой кислоты

гибридизуются в условиях селективной гибридизации (например, в условиях гибридизации высокой жесткости) с комплементарной нитью. Нуклеиновые кислоты могут присутствовать в цельных клетках, в клеточном лизате или в частично очищенной или по сути чистой форме.

В контексте настоящего описания термины *идентичность последовательностей* и *процент идентичности последовательностей* относятся к одному количественному параметру, представляющему результат сравнения последовательностей, определенный путем сравнения двух выровненных последовательностей положение за положением. Способы выравнивания последовательностей для сравнения хорошо известны из уровня техники. Выравнивание последовательностей для сравнения можно проводить с применением алгоритма локальной гомологии из Smith and Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482 (1981), с применением алгоритма глобального выравнивания из Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970), с применением способа поиска подобия из Pearson and Lipman, Proc. Nat. Acad. Sci. 85:2444 (1988) или с применением компьютеризированных вариантов внедрения этих алгоритмов, включая без ограничения: CLUSTAL, GAP, BESTFIT, BLAST, FASTA и TFASTA. Программное обеспечение для проведения BLAST-анализов является общедоступным, например, через Национальный центр биотехнологической информации (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Одним примером для сравнения аминокислотных последовательностей является алгоритм BLASTP, в котором используют настройки по умолчанию: ожидаемый порог: 10; длина слова: 3; максимальное количество совпадений в диапазоне запросов: 0; матрица сравнения: BLOSUM62; штраф за гэп: наличие 11, продление 1; композиционные корректировки: условная корректировка композиционной матрицы вкладов. Одним из таких примеров для сравнения последовательностей нуклеиновых кислот является алгоритм BLASTN, в котором используют настройки по умолчанию: ожидаемый порог: 10; длина слова: 28; максимальное количество совпадений в диапазоне запросов: 0; оценка совпадения/несоответствия: 1.-2; штраф за гэп: линейный. Если не указано иное, значения идентичности последовательностей, представленные в данном документе, относятся к значениям, полученным с использованием набора программ BLAST (Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410

(1990)), с использованием вышеуказанных параметров по умолчанию для сравнения белков и нуклеиновых кислот соответственно.

Ссылка на идентичные последовательности без указания процентного значения подразумевает 100% идентичные последовательности (т. е. одну и ту же последовательность).

Общая биохимия: пептиды, аминокислотные последовательности

Термин *полипептид* в контексте настоящего описания относится к молекуле, состоящей из 50 или более аминокислот, которые образуют линейную цепь, где аминокислоты соединены пептидными связями. Аминокислотная последовательность полипептида может представлять собой аминокислотную последовательность цельного (обнаруживаемого физиологически) белка или его фрагментов. Термины «полипептиды» и «белок» используются в данном документе взаимозаменяемо и включают белки и их фрагменты. Полипептиды раскрыты в данном документе как последовательности аминокислотных остатков.

Термин *пептид* в контексте настоящего описания относится к молекуле, состоящей из не более 50 аминокислот, в частности от 8 до 30 аминокислот, более конкретно от 8 до 15 аминокислот, которые образуют линейную цепь, где аминокислоты соединены пептидными связями.

Последовательности аминокислотных остатков даны от amino- до карбоксильного конца. Заглавные буквы для положений последовательности относятся к L-аминокислотам в однобуквенном коде (Stryer, Biochemistry, 3-е изд. с. 21). Строчные буквы для положений аминокислотной последовательности относятся к соответствующим D- или (2R)-аминокислотам. Последовательности пишутся слева направо в направлении от amino- к карбоксильному концу. В соответствии со стандартной номенклатурой последовательности аминокислотных остатков обозначаются трехбуквенным или однобуквенным кодом, как указано ниже: аланин (Ala, A), аргинин (Arg, R), аспарагин (Asn, N), аспарагиновая кислота (Asp, D), цистеин (Cys, C), глутамин (Gln, Q), глутаминовая кислота (Glu, E), глицин (Gly, G), гистидин (His, H), изолейцин (Ile, I), лейцин (Leu, L), лизин (Lys, K), метионин (Met, M), фенилаланин (Phe, F), пролин (Pro, P), серин (Ser, S), треонин (Thr, T), триптофан (Trp, W), тирозин (Tyr, Y) и валин (Val, V).

Общая молекулярная биология: последовательности нуклеиновых кислот, экспрессия

Термин *ген* относится к полинуклеотиду, содержащему по меньшей мере одну открытую рамку считывания (ORF), которая способна кодировать определенный полипептид или белок после транскрипции и трансляции. Полинуклеотидную последовательность можно использовать для идентификации более крупных фрагментов или полноразмерных кодирующих последовательностей гена, с которыми они ассоциированы. Способы выделения последовательностей более крупных фрагментов известны специалистам в данной области техники.

Термины *экспрессия гена* или *экспрессия* или в качестве альтернативы термин *генный продукт* могут относиться к любому или обоим из процессов и их продуктам, т. е. образованию нуклеиновых кислот (РНК) или образованию пептида или полипептида, также относятся к транскрипции и трансляции соответственно или к любому из промежуточных процессов, которые регулируют обработку генетической информации с получением полипептидных продуктов. Термин *экспрессия гена* может также применяться к транскрипции и процессингу генного продукта на основе РНК, например, регуляторной РНК или структурной (например, рибосомальной) РНК. Если экспрессируемый полинуклеотид получен из геномной ДНК, экспрессия может включать сплайсинг мРНК в эукариотической клетке. Экспрессию можно анализировать как на уровне транскрипции, так и на уровне трансляции, другими словами, мРНК и/или белкового продукта.

Термин *нуклеотиды* в контексте настоящего описания относится к строительным блокам нуклеиновой кислоты или аналога нуклеиновой кислоты, олигомеры которых способны образовывать селективные гибриды с олигомерами РНК или ДНК на основе спаривания оснований. Термин *нуклеотиды* в данном контексте включает в себя классические рибонуклеотидные строительные блоки аденозин, гуанозин, уридин (и рибозилтимин), цитидин, классические дезоксирибонуклеотиды дезоксиаденозин, дезоксигуанозин, тимидин, дезоксиуридин и дезоксицитидин. Дополнительно он включает аналоги нуклеиновых кислот, такие как фосфотиоаты, 2'-О-метилфосфотиоаты, *пептидные нуклеиновые кислоты* (PNA; N-(2-аминоэтил)глициновые звенья, связанные пептидной связью, с нуклеиновым основанием, присоединенным к альфа-углероду глицина) или *закрытые нуклеиновые кислоты* (LNA; связанные 2'-О-, 4'-С-метиленовыми мостиками строительные блоки

РНК). Повсюду в данном документе, где дается ссылка на *гибридизирующую последовательность*, такая гибридизирующая последовательность может состоять из любого из вышеуказанных нуклеотидов или их смесей.

T-клеточная биология

Термин «CDR3» в контексте настоящего описания относится к гипервариабельной определяющей комплементарность области 3. Размер CDR3, в частности, характеризуется общим количеством аминокислот (AA) и соответствующих нуклеотидов от консервативного цистеина в сегменте V β , или V α , или V γ , или V δ до положения консервативного фенилаланина в сегменте J β или J α , J γ или J δ .

Термин «маркер активации/истощения/дифференцировки T-клеток» в контексте настоящего описания относится к молекуле T-клетки, указывающей на активацию, истощение или дифференцировку T-клеток, в частности, к молекуле на поверхности T-клетки.

Иммунотерапия (рака)

В контексте настоящего описания термин *иммунотерапия рака, биологическая* или *иммуномодулирующая терапия* означает типы лечения рака, которые помогают иммунной системе бороться с раком. Неограничивающие примеры иммунотерапии рака включают ингибиторы и агонисты иммунных контрольных точек, терапию на основе переноса T-клеток, цитокины и их рекомбинантные производные, адъюванты и вакцинацию с помощью малых молекул или клеток.

Термин «образец опухоли» в контексте настоящего описания относится к образцу или пулу образцов, полученных из опухоли пациента. Опухоль также может включать метастазы или скопление метастазов.

Термин «образец неопухолевогой ткани» в контексте настоящего описания относится к образцу или пулу образцов, полученных из ткани, находящейся в непосредственной близости от опухоли пациента.

Термин «опухолеспецифичный» в контексте настоящего описания, в частности, относится к T-клеткам, встречающимся в конкретной опухоли и, в частности, демонстрирующим преимущественное распределение в конкретной опухоли.

Термин «HLA» в контексте настоящего изобретения относится к лейкоцитарному антигену человека как конкретному подмножеству общего термина «главный комплекс гистосовместимости» (МНС).

Супертипы HLA были определены на основе группировки вместе аллелей МНС, которые характеризуются сходными показателями специфичности связывания, т. е. пептидами с одинаковыми или сходными так называемыми якорными аминокислотными остатками (например, положениями 2 и 9 или 10 в 9- и 10-мерных пептидах). Супертипы HLA дополнительно описаны в Sidney et al. (BMC Immunology 2008, 9:1).

Термин *секвенирование одиночной клетки* в контексте настоящего описания относится к способу, который позволяет идентифицировать множество кодирующих элементов одиночной клетки. Это включает в себя секвенирование геномных элементов, таких как ДНК ядра или органеллы, их транскрипт или их комбинацию. Как правило, кодирующие элементы одиночной клетки связаны физически, пространственно или с помощью штрих-кода, специфичного для клетки, который позволяет правильно расположить элементы в клетке после секвенирования. В частности, секвенирование РНК одиночной клетки (scRNA-seq) применяется с целью идентификации профиля экспрессии и/или переменных последовательностей иммунных рецепторов. В частности, способы scRNA-seq позволяют идентифицировать мРНК по меньшей мере 1000 клеток в параллельном режиме путем капельной сортировки, как, например, технология Chromium 10X Genomics. Другими альтернативами для характеристики профиля клеточной экспрессии и/или последовательностей TCR являются такие способы, как GeoMx™ или CosMx™ от NanoString Technologies Inc., или Visium Spatial Gene Expression от 10X Genomics Inc., или ZipSeq (WO 2019/226631 A1), которые способны обеспечить связывание этой информации путем пространственного распределения в образцах, таких как FFPE (фиксированные в формалине и залитые парафином).

Термин *корреляционное секвенирование* в контексте настоящего описания относится к способу, который позволяет провести статистическую корреляцию множества кодирующих элементов одиночной клетки. Этого можно достичь путем объединения в пул Т-клеток или образцов, содержащих пулы Т-клеток, и идентификации транскриптов в указанных пулах путем секвенирования. Те пулы, которые содержат

комбинацию двух и более транскриптов, скорее всего содержат общий клонотип, что позволяет отнести эту комбинацию по статистической встречаемости. Наиболее предпочтительным является секвенирование и корреляция комбинации цепей TCR клонотипа.

Кластеризация

Кластеризация последовательностей T-клеточных рецепторов (TCR), как описано в литературе (CDHIT (Limin Fu et al. Bioinformatics. 2012 Dec 1;28(23):3150-2), iSMART (Hongyi Zhang et al. Clin Pak Res. 2020 Mar 15;26(6):1359-1371), GLIPH (Jacob Glanville et al. Nature. 2017 Jul 6;547(7661):94-98.)), обычно выполняется для одной из 2 цепей TCR по отдельности. В случае альфа/бета-T-клеток это почти всегда бета-цепь. Еще одной предпосылкой опубликованных подходов к кластеризации TCR является знание соответствующих антигенных пептидов, которые распознаются TCR посредством молекул МНС. В случае известных вирусных антигенных эпитопов они использовались в качестве обучающих наборов для оптимизации алгоритма кластеризации (GLIPH, iSmart), в случае специфичных для рака антигенных пептидов это невозможно вследствие отсутствия известных ассоциированных с опухолью антигенов.

В способе TCRpolyClust применяется другой подход. С самого начала алгоритм кластеризации работает в отношении TCR, которые имеют экспериментально измеренный показатель опухолеспецифичности у разных пациентов, хотя антигенные пептиды неизвестны. Кроме того, алгоритм позволяет явным образом использовать обе цепи TCR и применять многомерную оценку для ранжирования кластеров TCR среди пациентов по перекрытиям типов HLA и экспрессии различных маркеров активации/истощения/дифференцировки.

Схематическое описание TCRpolyClust

Основной способ предоставления опухолеспецифичных TCR (tsTCR) у каждого отдельного пациента изложен в WO 2017/025564 A1. Посредством количественного секвенирования следующего поколения (NGS) области CDR3 T-клеток, взятых из опухолевой ткани и в то же время из здоровой соседней ткани, идентифицируют tsTCR по явно повышенной частоте встречаемости в опухоли по сравнению с неопухолевыми тканями: коэффициент опухолеспецифичности представляет собой соотношение значений частоты встречаемости клонотипов в опухолевой ткани и неопухолевыми

ткани. Способ, представленный в данном документе, для характеристики tsTCR у отдельного пациента включает следующие дополнительные стадии.

1) одновременная идентификация бета- и альфа-цепей соответствующего tsTCR, предпочтительно путем корреляционного секвенирования, более предпочтительно путем секвенирования VDJ одиночной клетки, предпочтительно с помощью технологии Chromium 10X Genomics. В результате каждый клонотип tsTCR состоит из одной последовательности бета- и одной или двух последовательностей альфа-цепи, охватывающих полную область CDR3 и соседние сегменты V и J. На основе данной информации возможно проводить полный синтез TCR.

2) Одновременная идентификация количества маркеров активации/истощения/дифференцировки путем анализа экспрессии генов одиночной клетки, предпочтительно с помощью технологии Chromium 10X Genomics. На основе подходов глубокого секвенирования TIL и проектов по секвенированию одиночной клетки стало ясно, что хроническое воздействие антигена во время прогрессирования рака генерирует тоническую передачу сигнала TCR, что управляет истощением T-клеток и подавляет эффекторную функцию T-клеток. Истощенные/дисфункциональные T-клетки «маркированы» с помощью определенных рецепторов. Включение маркеров истощения/активации в анализ разграничивает неспецифические клонотипы от опухолеспецифичных клонотипов. Широко известные маркеры активации/истощения CD4⁺ и CD8⁺ эффекторных T-клеток представляют собой PD1, TIGIT, LAG3, TIM3, CTLA4, CD40, CD137 (4-1BB), CD69 или любой другой ген, который в значительной степени экспрессируется в T-клетках при активации соответствующими антигенами. Что касается CD4⁺ T-клеток, дополнительные маркеры являются весьма полезными для проведения различия между реактивными в отношении опухолей клетками Th1 и клетками Tfh от иммуносупрессивных клеток Th2, Treg или Th17, которые играют неоднозначные роли в контексте развития опухоли. Противоопухолевые клетки Th1 и Tfh характеризуются экспрессией эффекторных функций, таких как IFN- γ , TNF- α , GZMB, PRF, при этом клетки Th2 экспрессируют IL-4, IL-5, клетки Th17 - IL-17A, а Treg - иммуносупрессивные цитокины TGF- β и IL-10, среди прочих. Кроме того, можно дифференцировать подтипы T-клеток и/или состояния дифференцировки на основе экспрессии определенных факторов транскрипции, например, FOXP3 для Treg, TBX21 (TBET) и EOMES для эффекторных T-клеток, RUNX3 для клеток, проявляющих

цитотоксичность, ТОХ (истощенная субпопуляция Т-клеток, которая сохраняет пролиферативный потенциал и функциональную способность) и т. д.

3) Генотипирование HLA с не более чем 4-разрядным разрешением, как правило, выполняется путем анализа образцов крови пациента с помощью стандартных способов. В комбинации с типами HLA вся данная информация позволяет построить область узнавания репертура tsTCR у пациента. Таблица примеров представлена на фигуре 1, отдельные стадии для построения области узнавания tsTCR показаны на блок-схеме на фигуре 2. Область узнавания tsTCR ряда пациентов представляет собой основу способа TCRpolyClust, который описан далее. На фигуре 3 также представлена графическая схема.

4) Выборку различных пациентов с опухолью сравнивают через сходство последовательностей их последовательностей CDR3 TCR. Алгоритм работает в 2 цикла, при этом в цикле 1 генерируется ряд начальных кластеров, которые обнаруживаются путем группировки всех спаренных TCR (альфа- и бета-цепь рассматриваются как 1 последовательность), которые на соответствующих бета- и альфа-цепях характеризуются максимальным значением расстояния Левенштейна, составляющим 3 (3 несоответствия на цепь), в частности, максимальным значением, составляющим 2, более конкретно максимальным значением, составляющим 1, наиболее конкретно составляющим 0. Для проведения эффективного попарного сравнения последовательностей тысяч TCR доступны несколько алгоритмов, например, CDHIT, iSMART, BLASTP. После завершения начальной кластеризации рассчитывают консенсусную последовательность, охватывающую аминокислотные последовательности бета-CDR3. Во втором цикле все консенсусные последовательности из цикла 1 подвергаются кластеризации с параметрами, подобными таковым в цикле 1.

5) Минимальный размер кластера среди пациентов составляет 2, т. е. кластер должен содержать альфа-бета-спаренные TCR от по меньшей мере двух разных пациентов. Кроме того, медианный коэффициент опухолеспецифичности (т. е. соотношение значений частоты встречаемости клонотипов в опухоли по сравнению с неопухолевыми тканями) должен составлять более 2 (в идеале более 3, наиболее предпочтительно более 5), и медианная частота встречаемости клонотипов TCR-бета в

опухолевых тканях должна составлять по меньшей мере более 0,005% (конкретно более 0,01%, более конкретно более 0,05%, наиболее конкретно более 0,1%)

6) Специфичность антигена TCR строго зависит от генотипа HLA пациента. Таким образом, непременным условием пригодности кластера среди пациентов является значительное перекрытие типов HLA в пределах одного кластера. По меньшей мере один тип HLA (A, B или C) должен быть обнаружен у 50% или больше всех пациентов, встречающихся в этом кластере (более предпочтительно у 60% или больше, наиболее предпочтительно у 80% или больше). В случае неравновесного сцепления это также может применяться в отношении пар HLA вплоть до полного гаплотипа.

7) Технология секвенирования РНК одиночной клетки (например, 10X Genomics) применяется для идентификации обеих цепей TCR специально выделенной Т-клетки и на той же стадии позволяет измерить профиль экспрессии гена посредством scRNAseq. Ряд маркеров активации/истощения (например, PD1, CTLA4, TIGIT, LAG3, TIM3 и т. д.), факторов транскрипции (например, FOXP3, RUNX3, EOMES, TBET, TOX и т. д.) и эффекторных функций (IFN- γ , TNF- α , IL-10, IL17 и т. д.), указанных выше, можно измерять относительно частоты их экспрессии, так что каждую отдельную Т-клетку можно оценивать относительно наличия ряда или комбинации маркеров. По меньшей мере один маркер должен обнаруживаться у 50% или больше всех пациентов, встречающихся в этом кластере (более предпочтительно у 60% или больше).

Термин *распространенный Т-клеточный рецептор* в контексте настоящего описания относится к Т-клеточному рецептору (TCR), который присутствует не только у одного пациента, но который обнаруживается у ряда разных пациентов. Распространенный TCR также может называться общим TCR, так как TCR является общим среди пациентов. Данный распространенный TCR характеризуется идентичными или в высокой степени подобными областями CDR3 среди пациентов, и, таким образом, распространенный TCR, вероятно, распознает один и тот же антиген. Если распространенный TCR является HLA-зависимым, он, вероятно, будет распознавать одну и ту же молекулу МНС с идентичным или почти идентичным пептидом, связанным с молекулой МНС, у разных пациентов. Таким образом, данный пептид, связанный с молекулой МНС, общей среди пациентов, является распространенным антигеном.

На отдельной стадии данного способа можно определить, что у всех исследуемых пациентов имеется по меньшей мере один общий ген HLA (имеется по меньшей мере один ген HLA в общем).

Термин *распространенный антиген* в контексте настоящего описания относится к объекту, который распознается распространенным TCR. В определенных вариантах осуществления данный распространенный антиген представляет собой комплекс, содержащий молекулу МНС и пептид, связанный с молекулой МНС.

Термин *по существу идентичный* в контексте настоящего описания относится к последовательностям нуклеиновой кислоты, которые либо идентичны, либо характеризуются идентичностью, составляющей по меньшей мере 95%, в частности, по меньшей мере 97%, более конкретно по меньшей мере 98%, более конкретно по меньшей мере 99%, наиболее конкретно более чем 99%.

Термин *перекрестно реактивный TCR* в контексте настоящего описания относится к альфа/бета-TCR, который распознает более чем одну определенную пептидную последовательность, презентированную на молекуле МНС. Предпочтительно распознаваемые антигенные пептиды отличаются на по меньшей мере одну аминокислоту, более предпочтительно на две аминокислоты и получены из по сути различных предшественников полипептида.

Термин *частота встречаемости* в контексте настоящего описания относится к относительному содержанию определенной последовательности среди множества последовательностей. Чтобы определить частоту встречаемости последовательности, подсчитывают по существу идентичные последовательности и это количество делят на количество всех наблюдаемых последовательностей.

Термин *один и тот же тип ткани* в контексте настоящего описания относится к образцам ткани, происходящим из одной и той же ткани. Например, типом ткани метастаза является ткань, из которой происходят метастатические клетки, а не та ткань, в которой обнаруживается метастаз внутри организма.

Термин *ген одного и того же типа HLA* в контексте настоящего описания относится к генам HLA, кодирующим молекулы МНС. Один и тот же тип HLA в данном документе означает, что ген HLA кодирует один и тот же вариант молекулы МНС. Поскольку у

человечества существует большое разнообразие генов HLA, репертуар HLA исследуемых пациентов определяют в одном варианте осуществления способа по настоящему изобретению, а для дальнейшего анализа отбирают пациентов, у которых имеется по меньшей мере один ген одного и того же типа HLA.

Термин *экспрессирующей последовательности в антигенпрезентирующей клетке* понимается следующим образом. Антигенпрезентирующую клетку (APC) трансфицируют или трансдуцируют с помощью последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей пептид или белок. Последовательность нуклеиновой кислоты находится в пределах подходящего вектора экспрессии для трансфекции или трансдукции клеток млекопитающих. Как только последовательность нуклеиновой кислоты вводится в APC, APC экспрессирует кодируемый пептид или белок. В определенных вариантах осуществления пептид презентуется на молекуле HLA на поверхности клетки APC. В определенных вариантах осуществления один или несколько пептидов, полученных из белка, презентуются на молекуле HLA на поверхности клетки APC. Экспрессия рекомбинантных антигенов, которые будут презентированы на молекулах HLA класса I, представляет собой хорошо известную процедуру, которая может быть достигнута путем трансфекции APC, экспрессирующих указанную молекулу класса I, с помощью нуклеиновых кислот, кодирующих указанные антигены. В определенных вариантах осуществления для эффективного презентирования рекомбинантных антигенов на молекулах HLA класса II соответствующие APC должны экспрессировать указанную молекулу класса II и подвергаться неканонической аутофагии. Известно, что в особенности неканоническая макроаутофагия перенаправляет внутриклеточно экспрессируемые антигены для процессинга для презентирования на молекулах HLA класса II (Münz, Mol Aspects Med. 2021 Jun 16;100987).

Термин *активация T-клеток* в контексте настоящего описания относится к статусу T-клетки, при котором экспрессируются определенные маркеры активации. T-клетка специфически активируется посредством взаимодействия ее TCR с соответствующим МНС, презентующим пептид. Активацию можно измерять, например, с помощью секреции IFN- γ T-клетки.

Термин *линия опухолевых клеток* в контексте настоящего описания относится к клеточной линии, происходящей из раковой ткани. Множество линий опухолевых клеток известно в уровне техники (Gandhi et al., Nature. 2019 May; 569 (7757): 503-508.)

Полимер из данной группы мономеров представляет собой гомополимер (состоящий из множества одинаковых мономеров); сополимер из данной выборки мономеров представляет собой гетерополимер, состоящий из по меньшей мере двух мономеров из группы.

Используемый в данном документе термин *фармацевтическая композиция* относится к соединению по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли вместе с по меньшей мере одним фармацевтически приемлемым носителем. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению представлена в форме, подходящей для местного, парентерального или инъекционного введения.

Используемый в данном документе термин *фармацевтически приемлемый носитель* включает любые растворители, диспергирующие среды, покрытия, поверхностно-активные вещества, антиоксиданты, консерванты (например, антибактериальные средства, противогрибковые средства), изотонические средства, средства, замедляющие абсорбцию, соли, консерванты, лекарственные средства, стабилизаторы лекарственных средств, связывающие вещества, вспомогательные вещества, разрыхляющие средства, смазочные средства, подсластители, ароматизирующие средства, красители и т. п. и их комбинации, как будет известно специалистам в данной области техники (см., например, Remington: the Science and Practice of Pharmacy, ISBN 0857110624).

Используемые в данном документе термины *осуществление лечения* или *лечение* любого заболевания или нарушения (например, рака) относятся в одном варианте осуществления к облегчению заболевания или нарушения (например, замедлению, или остановке, или снижению развития заболевания или по меньшей мере одного из его клинических симптомов). В другом варианте осуществления «осуществление лечения» или «лечение» относятся к уменьшению или облегчению по меньшей мере одного физического параметра, включая те, которые могут быть не различимы пациентом. В еще одном варианте осуществления «осуществление лечения» или «лечение» относятся к модулированию заболевания или нарушения либо физически (например,

стабилизации различного симптома), либо физиологически (например, стабилизации физического параметра), либо тому и другому. Способы оценки лечения и/или предупреждения заболевания в общем известны в уровне техники, если конкретно не описано ниже в данном документе.

Подробное описание изобретения

Первый аспект настоящего изобретения относится к способу идентификации общего опухолеспецифичного Т-клеточного рецептора (TCR).

Способ включает стадии:

- a. получения множества последовательностей опухолеспецифичных TCR от каждого отдельного пациента из числа n (n более 1) пациентов посредством стадий:
 - i. определения частоты встречаемости каждой из множества последовательностей TCR опухоли на стадии с использованием последовательностей из опухоли;
 - ii. определения частоты встречаемости каждой из множества последовательностей TCR неопухоловой ткани на стадии с использованием последовательностей неопухоловой ткани;
 - iii. проведения отбора последовательностей нуклеиновой кислоты TCR на стадии опухолеспецифичного отбора в качестве последовательностей опухолеспецифичных TCR, если в случае любой конкретной последовательности TCR частота встречаемости TCR опухоли среди множества последовательностей нуклеиновой кислоты TCR опухоли выше, чем частота встречаемости TCR неопухоловой ткани, среди множества последовательностей нуклеиновой кислоты TCR неопухоловой ткани;
- b. проведения отбора последовательности распространенного опухолеспецифичного TCR посредством стадий:

- i. перевода последовательностей нуклеиновой кислоты опухолеспецифичных TCR в аминокислотные последовательности опухолеспецифичных TCR для множества из n пациентов;
- ii. определения областей CDR3 указанных аминокислотных последовательностей опухолеспецифичных TCR с получением последовательностей опухолеспецифичных CDR3 для каждого из указанных n пациентов;
- iii. выравнивания областей CDR3 указанного множества аминокислотных последовательностей опухолеспецифичных TCR указанных n пациентов;
- iv. группировки последовательностей TCR в один кластер клонотипа TCR, если их области CDR3 отличаются не более чем на 3 аминокислоты (AA)/CDR3, конкретно не более чем на 2 AA/CDR3, более конкретно не более чем на 1 AA/CDR3, наиболее конкретно не отличаются;
- v. проведения отбора кластера последовательностей TCR на стадии отбора распространенных TCR в качестве последовательности распространенного опухолеспецифичного TCR, если кластер клонотипа TCR присутствует у по меньшей мере двух пациентов.

В определенных вариантах осуществления кластер последовательностей TCR отбирают в качестве последовательности распространенного опухолеспецифичного TCR, если кластер клонотипа TCR входит в число 200 наиболее преобладающих последовательностей опухолеспецифичных TCR, более конкретно 100 наиболее распространенных последовательностей опухолеспецифичных TCR у по меньшей мере двух пациентов.

Стадия с использованием последовательностей из опухоли включает стадии:

- I. предоставления выделенного образца опухоли, содержащего T-клетки, полученные от указанного пациента;
- II. выделения опухолевых T-клеток из указанного выделенного образца опухоли с получением выделенных опухолевых T-клеток;

выделения препарата нуклеиновой кислоты опухоли из указанных выделенных опухолевых Т-клеток;

- III. получения множества последовательностей нуклеиновой кислоты TCR опухоли из указанного препарата нуклеиновой кислоты опухоли;
- IV. выравнивания указанного множества последовательностей нуклеиновой кислоты TCR опухоли и группировки последовательностей нуклеиновой кислоты TCR опухоли, которые являются по существу идентичными, в группу, представляющую собой клонотип TCR опухоли, и подсчета последовательностей нуклеиновой кислоты TCR опухоли в каждой группе, представляющей собой клонотип TCR опухоли, с получением количества последовательностей нуклеиновой кислоты TCR опухоли в каждой группе, представляющей собой клонотип TCR опухоли;
- V. определения частоты встречаемости каждого TCR опухоли путем деления количества последовательностей нуклеиновой кислоты TCR опухоли в каждой группе, представляющей собой клонотип TCR опухоли, на количество всех последовательностей нуклеиновой кислоты TCR опухоли, полученных из образца.

Стадия с использованием последовательностей неопухолевой ткани включает стадии:

- I. предоставления выделенного образца неопухолевой ткани, содержащего Т-клетки, полученные от указанного пациента;
- II. выделения Т-клеток неопухолевой ткани из указанного выделенного образца неопухолевой ткани с получением выделенных Т-клеток неопухолевой ткани;

выделения препарата нуклеиновой кислоты неопухолевой ткани из указанных выделенных Т-клеток неопухолевой ткани;
- III. получения множества последовательностей нуклеиновой кислоты TCR неопухолевой ткани из указанного препарата нуклеиновой кислоты неопухолевой ткани;

- IV. выравнивания указанного множества последовательностей нуклеиновой кислоты TCR неопухолевого ткани и группировки последовательностей нуклеиновой кислоты TCR неопухолевого ткани, которые являются по существу идентичными, в одну группу, представляющую собой клонотип TCR неопухолевого ткани и подсчета последовательностей нуклеиновой кислоты TCR неопухолевого ткани в каждой группе, представляющей собой клонотип TCR неопухолевого ткани, с получением количества последовательностей нуклеиновой кислоты TCR неопухолевого ткани в каждой группе, представляющей собой клонотип TCR неопухолевого ткани;
- V. определения частоты встречаемости каждого TCR неопухолевого ткани путем деления количества последовательностей нуклеиновой кислоты TCR неопухолевого ткани в каждой группе, представляющей собой клонотип TCR неопухолевого ткани, на количество всех последовательностей нуклеиновой кислоты TCR неопухолевого ткани, полученных из образца.

В определенных вариантах осуществления способ согласно первому аспекту осуществляют в точности в том порядке стадий, как указано выше.

В альтернативном варианте первого аспекта последовательности нуклеиновой кислоты переводят в аминокислотные последовательности перед стадией опухолеспецифичного отбора, а на стадии опухолеспецифичного отбора аминокислотные последовательности сравнивают и отбирают.

Другой альтернативный вариант способа согласно первому аспекту может быть описан следующим образом:

- a. последовательности опухолеспецифичных TCR от первого пациента идентифицируют посредством следующих стадий:
- i. секвенирования генов TCR из образца опухоли первого пациента;
 - ii. секвенирования генов TCR из образца неопухолевого ткани первого пациента;

- iii. проведения отбора генов TCR в качестве опухолеспецифичных, если эти гены TCR встречаются чаще внутри образца опухоли, чем в образце неопухолевого ткани;
- b. последовательности опухолеспецифичных TCR от второго пациента идентифицируют посредством тех же стадий i-iii с использованием образцов от второго пациента, и способ повторяют для ряда из n пациентов;
- c. последовательности опухолеспецифичных TCR сравнивают среди n пациентов посредством стадий:
 - i. выравнивания областей CDR3 идентифицированных последовательностей опухолеспецифичных TCR на уровне аминокислот среди всех пациентов;
 - ii. группировки последовательностей TCR в один кластер, если последовательности области CDR3 отличаются не более чем на 3 аминокислоты (AA)/CDR3, в частности, не более чем на 2 AA/CDR3, более конкретно не более чем на 1 AA/CDR3, наиболее конкретно не отличаются;
- d. последовательность TCR отбирают в качестве последовательности распространенного опухолеспецифичного TCR, если кластер присутствует у по меньшей мере двух пациентов, в частности, у 3 или больше, 4 или больше, 5 или больше, 10 или больше, 20 или больше или 30 или больше пациентов.

В определенных вариантах осуществления образец опухоли от ряда из n пациентов относится к ткани одного и того же типа.

В определенных вариантах осуществления указанный образец неопухолевого ткани относится к тому же типу ткани, что и образец опухоли.

В определенных вариантах осуществления Т-клетки сортируют после стадии выделения II в соответствии с их корецептором CD4 и/или CD8 перед получением множества последовательностей нуклеиновой кислоты TCR неопухолевого ткани на стадии III с получением таким образом последовательностей, специфичных в отношении HLA класса I и/или HLA класса II.

В определенных вариантах осуществления определяют, что множество пациентов характеризуются наличием по меньшей мере одного общего гена, относящегося к одному и тому же типу HLA.

В определенных вариантах осуществления определяют, что множество пациентов характеризуются наличием по меньшей мере одного общего гена, относящегося к одному и тому же типу HLA, где соответствующий класс HLA может быть присвоен в связи с предыдущей сортировкой Т-клеток согласно CD4+ или CD8+.

В определенных вариантах осуществления определено, что множество пациентов характеризуются наличием общего гена, относящегося к одному и тому же типу HLA, в частности, точно одного общего гена, относящегося к одному и тому же типу HLA, и указанный распространенный опухолеспецифичный TCR относят к TCR, специфичному в отношении типа HLA.

В определенных вариантах осуществления указанный распространенный опухолеспецифичный TCR относят к TCR, специфичному в отношении типа HLA, посредством стадий:

- a. проведения отбора всех пациентов, у которых присутствует последовательность распространенного опухолеспецифичного TCR;
- b. определения того, какие гены HLA присутствуют у указанных отобранных пациентов;
- c. отнесения распространенного опухолеспецифичного TCR к TCR, специфичному в отношении типа HLA, если распространенный ген HLA, в частности, точно один распространенный ген HLA, присутствует у всех отобранных пациентов.

В определенных вариантах осуществления последовательность TCR отбирают в качестве последовательности опухолеспецифичного TCR на стадии опухолеспецифичного отбора (a.iii.), если частота встречаемости группы, представляющей собой клонотип TCR опухоли, в 2 раза выше, чем частота встречаемости группы, представляющей собой клонотип TCR неопухолевого ткани, конкретно в 3 раза выше, более конкретно в 5 раз выше, еще более конкретно в 10 раз выше, чем частота встречаемости группы, представляющей собой клонотип TCR неопухолевого ткани.

В определенных вариантах осуществления число пациентов n составляет от 2 до 100, конкретно n составляет от 10 до 50, более конкретно n составляет от 20 до 30.

В определенных вариантах осуществления стадия отбора распространенных TCR (стадия b.v) дополнительно включает измерение маркеров активации/истощения/дифференцировки Т-клеток, в частности, маркера, выбранного из PDCD1 (PD1), TIGIT, LAG3, HAVCR2 (TIM3), CTLA4, IFNG, TNF, GZMB, TNFRSF9 (CD137, 4-1BB), CD45 (CD45RA/RO), CD69, LAMP1 (CD107a), TBX21 (T-BET), TCF7 (TCF-1), EOMES, TOX и RUNX3, где последовательность TCR отбирают в качестве последовательности распространенного опухолеспецифического TCR, если Т-клетки, несущие TCR, экспрессируют один или более маркеров активации/истощения/дифференцировки Т-клеток или их комбинацию.

Второй аспект настоящего изобретения относится к способу идентификации общего опухолеспецифического антигена.

Способ включает стадии:

a. идентификации распространенного опухолеспецифического TCR в соответствии с первым аспектом у числа n (n более 1) пациентов;

b. получения множества опухолеспецифических полипептидов посредством стадий:

(1) получения множества последовательностей опухолеспецифических мРНК от каждого пациента из указанных пациентов посредством стадий:

i. определения множества последовательностей мРНК опухоли на стадии с использованием последовательностей мРНК опухоли;

ii. определения множества последовательностей мРНК опухолевой ткани на стадии с использованием последовательностей мРНК опухолевой ткани;

- iii. проведения отбора последовательностей опухолеспецифичных мРНК на стадии опухолеспецифичного отбора мРНК;
- (2) проведения отбора множества опухолеспецифичных полипептидов посредством стадий:
- i. перевода указанного множества последовательностей опухолеспецифичных РНК во множество опухолеспецифичных аминокислотных последовательностей;
 - ii. выравнивания множества опухолеспецифичных аминокислотных последовательностей от множества из n пациентов;
 - iii. группировки аминокислотных последовательностей в один полипептидный кластер, если их аминокислотные последовательности характеризуются идентичностью последовательности, составляющей 80% или больше, 85% или больше, 90% или больше, 92% или больше, 94% или больше, 96% или больше, 98% или больше или 99% или больше;
 - iv. проведения отбора множества полипептидных кластеров аминокислотных последовательностей в качестве опухолеспецифичных полипептидов, если опухолеспецифичная аминокислотная последовательность присутствует у всех из n пациентов (всех пациентов, у которых был отобран распространенный опухолеспецифичный TCR);
- c. экспрессии указанного члена множества опухолеспецифичных полипептидов в случае каждого члена множества опухолеспецифичных полипептидов в антигенпрезентирующей клетке, имеющей общий ген HLA с пациентами, у которых был отобран распространенный опухолеспецифичный TCR;
- d. выявления для каждой антигенпрезентирующей клетки того, способна ли антигенпрезентирующая клетка активировать Т-клетку,

экспрессирующую указанный распространенный опухолеспецифичный TCR;

е. проведения отбора опухолеспецифичного полипептида в качестве распространенного опухолеспецифичного антигена, если антигенпрезентирующая клетка, экспрессирующая указанный опухолеспецифичный полипептид, способна активировать указанную Т-клетку, экспрессирующую указанный распространенный опухолеспецифичный TCR.

Стадия с использованием последовательностей мРНК опухоли включает стадии:

- I. выделения препарата РНК опухоли из образца опухоли от указанного пациента;
- II. получения множества последовательностей мРНК опухоли из указанного препарата РНК опухоли;

Стадия с использованием последовательностей мРНК неопухолевой ткани включает стадии:

- I. выделения препарата РНК неопухолевой ткани из указанного образца неопухолевой ткани от указанного пациента;
- II. получения множества последовательностей мРНК неопухолевой ткани из указанного препарата РНК опухоли;

Стадия опухолеспецифичного отбора мРНК включает стадии:

- I. выравнивания множества последовательностей мРНК опухоли и множества последовательностей мРНК неопухолевой ткани;
- II. проведения отбора последовательностей мРНК, которые присутствуют в образце опухоли и отсутствуют (не выявляются) в образце неопухолевой ткани в качестве опухолеспецифичных последовательностей РНК.

В определенных вариантах осуществления дополнительно пептид, презентированный на молекуле HLA на антигенпрезентирующей клетке, экспрессирующей указанный

распространенный опухолеспецифичный антиген, выделяют из молекулы HLA и характеризуют путем масс-спектрометрии (Freudenmann et al., Immunology. 2018 Jul;154(3):331-345.).

В определенных вариантах осуществления дополнительно

- a. антиген, обнаруженный с помощью способа согласно второму аспекту, фрагментируют на пептиды;
- b. каждый пептид загружают на молекулу HLA на антигенпрезентирующей клетке;
- c. для каждой антигенпрезентирующей клетки определяют, способна ли антигенпрезентирующая клетка активировать Т-клетку, экспрессирующую распространенный опухолеспецифичный TCR, обнаруженный с помощью способа согласно первому аспекту.

В определенных вариантах осуществления указанный образец опухоли и указанный образец неопухолевого ткани происходят из одного и того же образца ткани, и где выделение препарата РНК опухоли из указанного образца ткани осуществляют по отдельности из отдельных опухолевых клеток и неопухолевых клеток, полученных из указанного образца ткани.

Секвенирование одиночной клетки представляет собой удобный способ идентификации опухолеспецифичной РНК. Поскольку опухоль всегда представляет собой смесь раковых клеток и нормальных клеток, эталонная РНК нормальной ткани включается автоматически. Однако клетки из соседней ткани также можно применять в качестве эталона.

Альтернативный вариант второго аспекта относится к способу идентификации распространенного опухолеспецифичного антигена, при этом способ включает стадии:

- a. идентификации распространенного опухолеспецифичного TCR в соответствии с первым аспектом у числа n (n более 1) пациентов;
- b. приведения в контакт Т-клетки, экспрессирующей указанный распространенный опухолеспецифичный TCR, с опухолевой клеткой, где опухолевая клетка получена из линии опухолевых клеток (экспрессирующих ген HLA, общий для пациентов, у

которых был отобран распространенный опухолеспецифичный TCR), и выявления того, способна ли опухолевая клетка активировать Т-клетку, с получением клетки, полученной из линии опухолевых клеток, экспрессирующей распространенный опухолеспецифичный антиген;

c. необязательно повторения стадии b с использованием другой линии опухолевых клеток;

d. получения библиотеки cDNA из клетки, полученной из линии опухолевых клеток, экспрессирующей распространенный опухолеспецифичный антиген;

e. экспрессии указанного члена в случае каждого члена библиотеки cDNA в антигенпрезентирующей клетке, содержащей ген HLA, общий для пациентов, у которых был отобран общий опухолеспецифичный TCR;

f. выявления для каждой антигенпрезентирующей клетки того, способна ли антигенпрезентирующая клетка активировать Т-клетку, экспрессирующую указанный распространенный опухолеспецифичный TCR;

g. проведения отбора cDNA в качестве распространенного опухолеспецифичного антигена, если антигенпрезентирующая клетка, экспрессирующая указанную cDNA, способна активировать указанную Т-клетку, экспрессирующую указанный распространенный опухолеспецифичный TCR.

В качестве альтернативы существует возможность взятия линии опухолевых клеток и проведения нокаута отдельных участков или генов. После этого необходимо идентифицировать те клоны, которые больше не распознаются. Допустимы подходы с использованием транспозонов (случайные) или CRISPR-Cas (нацеленные).

Другой альтернативный вариант способа согласно второму аспекту может быть описан следующим образом:

a. последовательность распространенного опухолеспецифичного TCR идентифицируют посредством первого аспекта;

b. распространенные опухолеспецифичные аминокислотные последовательности идентифицируют посредством стадий:

- i. секвенирования репертуара мРНК образца опухоли первого пациента;
 - ii. секвенирования репертуара мРНК образца неопухолевой ткани первого пациента;
 - iii. проведения отбора последовательностей мРНК в качестве опухолеспецифичных у первого пациента, если последовательность мРНК присутствует в образце опухоли и отсутствует в образце неопухолевой ткани;
 - iv. повторения стадий i-iii для всех n пациентов;
 - v. перевода последовательностей опухолеспецифичных мРНК всех пациентов в аминокислотные последовательности и выравнивания опухолеспецифичных аминокислотных последовательностей;
 - vi. группировки аминокислотных последовательностей в один кластер, если их аминокислотные последовательности характеризуются идентичностью последовательностей, составляющей 80% или больше, 85% или больше, 90% или больше, 92% или больше, 94% или больше, 96% или больше, 98% или больше или 99% или больше;
 - vii. проведения отбора последовательностей в качестве распространенных опухолеспецифичных аминокислотных последовательностей, если соответствующий кластер присутствует у всех исследуемых пациентов;
- с. реактивность распространенного опухолеспецифичного TCR в отношении распространенных опухолеспецифичных аминокислотных последовательностей оценивают посредством стадий:
- i. введения каждой распространенной опухолеспецифичной аминокислотной последовательности в одну антигенпрезентирующую клетку;

ii. приведения в контакт Т-клетки, экспрессирующей распространенный опухолеспецифичный TCR, со всеми антигенпрезентирующими клетками стадии i по отдельности и измерения высвобождения IFN γ Т-клеткой;

d. аминокислотную последовательность отбирают в качестве распространенного опухолеспецифичного антигена, для которого на предыдущей стадии наблюдалось выявляемое высвобождение IFN γ Т-клеткой.

Третий аспект настоящего изобретения относится к выделенному TCR, идентифицированному с помощью способа согласно первому аспекту.

В определенных вариантах осуществления TCR содержит последовательность CDR3-альфа и последовательность CDR3-бета, где последовательность CDR3-альфа и последовательность CDR3-бета идентичны последовательностям, приведенным ниже, или содержат одну или две аминокислотные замены на последовательность CDR3,

где

a. для группы a (кластер 0) последовательность CDR3-альфа выбрана из группы последовательностей, содержащих SEQ ID NO: 6, 1, 59, и последовательность CDR3-бета выбрана из группы последовательностей, содержащих SEQ ID NO: 38, 41, 20, или

b. для группы b (кластер 1) последовательность CDR3-альфа выбрана из группы последовательностей, содержащих SEQ ID NO: 11, 12, 18, 26, 55, 58, и последовательность CDR3-бета выбрана из группы последовательностей, содержащих SEQ ID NO: 47, 72, 73, или

c. для группы c (кластер 31) последовательность CDR3-альфа выбрана из группы последовательностей, содержащих SEQ ID NO: 62, 63, 71, и последовательность CDR3-бета выбрана из последовательности SEQ ID NO: 28, или

d. для группы d (кластер 2) последовательность CDR3-альфа выбрана из группы последовательностей, содержащих SEQ ID NO: 8, 51, и последовательность CDR3-бета выбрана из группы последовательностей, содержащих SEQ ID NO: 19, 45, 60, или

e. для группы e (кластер 3) последовательность CDR3-альфа выбрана из группы последовательностей, содержащих SEQ ID NO: 2, 21, 24, 32, и последовательность CDR3-бета выбрана из группы последовательностей, содержащих SEQ ID NO: 15, 27, 31, или

f. для группы f (кластер 4) последовательность CDR3-альфа выбрана из группы последовательностей, содержащих SEQ ID NO: 29, 52, и последовательность CDR3-бета выбрана из последовательности SEQ ID NO: 9, или

g. для группы g (кластер 5) последовательность CDR3-альфа выбрана из группы последовательностей, содержащих SEQ ID NO: 13, 65, и последовательность CDR3-бета выбрана из последовательности SEQ ID NO: 61, или

h. для группы h (кластер 6) последовательность CDR3-альфа выбрана из группы последовательностей, содержащих SEQ ID NO: 5, 25, 46, и последовательность CDR3-бета выбрана из группы последовательностей, содержащих SEQ ID NO: 7, 10, 17, 42, 44,

в частности, где последовательность CRD3-альфа и последовательность CDR3-бета идентифицированы в одной и той же строке таблиц 1-8,

в частности, где указанные замены выбраны в соответствии с правилами замен, приведенными ниже,

где правила замен представляют собой следующее:

- глицин (G) и аланин (A) являются взаимозаменяемыми; валин (V), лейцин (L) и изолейцин (I) являются взаимозаменяемыми, A и V являются взаимозаменяемыми;
- триптофан (W) и фенилаланин (F) являются взаимозаменяемыми, тирозин (Y) и F являются взаимозаменяемыми;
- серин (S) и треонин (T) являются взаимозаменяемыми;
- аспарагиновая кислота (D) и глутаминовая кислота (E) являются взаимозаменяемыми;

- аспарагин (N) и глутамин (Q) являются взаимозаменяемыми; N и S являются взаимозаменяемыми; N и D являются взаимозаменяемыми; E и Q являются взаимозаменяемыми;
- метионин (M) и Q являются взаимозаменяемыми;
- цистеин (C), A и S являются взаимозаменяемыми;
- пролин (P), G и A являются взаимозаменяемыми;
- аргинин (R) и лизин (K) являются взаимозаменяемыми.

Группа последовательностей CDR3 также может называться кластером.

В определенных вариантах осуществления последовательности CDR3 выбраны из групп a, b, f, g и h.

В определенных вариантах осуществления TCR дополнительно содержит последовательность альфа вариабельной области (V), последовательность альфа области соединение-константная область (JC), последовательность бета V и последовательность бета JC или последовательность с идентичностью последовательности, составляющей 80% или больше, 85% или больше, 90% или больше, 92% или больше, 94% или больше, 96% или больше, 98% или больше или 99% или больше, с указанными последовательностями, где полная последовательность TCR сохраняет биологическую свою активность,

где

a. для группы a последовательность альфа V представляет собой SEQ ID NO: 67, последовательность альфа JC представляет собой SEQ ID NO: 4, последовательность бета V представляет собой SEQ ID NO: 23, и последовательность бета JC представляет собой SEQ ID NO: 33, или

b. для группы b последовательность альфа V представляет собой SEQ ID NO: 3, последовательность альфа JC представляет собой SEQ ID NO: 53, последовательность бета V представляет собой SEQ ID NO: 64, и последовательность бета JC представляет собой SEQ ID NO: 56, или

c. для группы c последовательность альфа V представляет собой SEQ ID NO: 54, последовательность альфа JC представляет собой SEQ ID NO: 48, последовательность бета V представляет собой SEQ ID NO: 43, и последовательность бета JC представляет собой SEQ ID NO: 37, или

d. для группы d последовательность альфа V представляет собой SEQ ID NO: 68, последовательность альфа JC представляет собой SEQ ID NO: 70, последовательность бета V представляет собой SEQ ID NO: 30, и последовательность бета JC представляет собой SEQ ID NO: 37, или

e. для группы e последовательность альфа V представляет собой SEQ ID NO: 57, последовательность альфа JC представляет собой SEQ ID NO: 4, последовательность бета V представляет собой SEQ ID NO: 16, и последовательность бета JC представляет собой SEQ ID NO: 22, или

f. для группы f последовательность альфа V представляет собой SEQ ID NO: 49, последовательность альфа JC представляет собой SEQ ID NO: 66, последовательность бета V представляет собой SEQ ID NO: 39, и последовательность бета JC представляет собой SEQ ID NO: 34, или

g. для группы g последовательность альфа V представляет собой SEQ ID NO: 35, последовательность альфа JC представляет собой SEQ ID NO: 40, последовательность бета V представляет собой SEQ ID NO: 43, и последовательность бета JC представляет собой SEQ ID NO: 69, или

h. для группы h последовательность альфа V представляет собой SEQ ID NO: 14, последовательность альфа JC представляет собой SEQ ID NO: 50, последовательность бета V представляет собой SEQ ID NO: 36, и последовательность бета JC представляет собой SEQ ID NO: 56.

Биологическую активность TCR определяют посредством активации T-клетки, содержащей TCR, с помощью опухолевой клетки или APC. Если TCR все еще способен распознавать APC, презентирующую комплекс HLA-пептид, в отношении которого TCR является специфичным, то TCR сохраняет свою биологическую активность даже в случаях отклоняющейся от нормы последовательности.

Четвертый аспект настоящего изобретения относится к последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей TCR согласно третьему аспекту.

Пятый аспект настоящего изобретения относится к выделенной аутологичной Т-клетке, содержащей TCR согласно третьему аспекту и/или последовательность нуклеиновой кислоты согласно четвертому аспекту.

В определенных вариантах осуществления выделенная аутологичная Т-клетка представляет собой рекомбинантную Т-клетку, экспрессирующую указанный TCR рекомбинантным путем.

Шестой аспект настоящего изобретения относится к TCR согласно третьему аспекту, последовательности нуклеиновой кислоты согласно четвертому аспекту или выделенной аутологичной Т-клетке согласно пятому аспекту для применения в лечении рака.

TCR согласно третьему аспекту, последовательность нуклеиновой кислоты согласно четвертому аспекту или выделенная аутологичная Т-клетка согласно пятому аспекту для применения в лечении рака у пациентов, характеризующихся одним и тем же типом HLA, что и TCR, специфичный в отношении типа HLA, определенный посредством способа согласно первому аспекту.

TCR согласно третьему аспекту, последовательность нуклеиновой кислоты согласно четвертому аспекту или выделенная аутологичная Т-клетка согласно пятому аспекту для применения у пациентов со следующим типом HLA:

- a. HLA-B*08:01 и/или HLA-C*07:01 для группы a; или
- b. супертип HLA-A*02:01 (HLA-A*02:01/68:02) для группы b; или
- c. супертип HLA-A*02:01 (HLA-A*02:01/02:35/02:05) и/или HLA-C*07:01/07:04 для группы c; или
- d. HLA-A*01:01 и/или HLA-A*02:01 для группы d; или
- e. HLA-A*02:01 и/или супертип HLA-A*01 (A*01:01/68:01) для группы e; или

- f. HLA-C*07:01 для группы f; или
- g. HLA-A*01:01, и/или HLA-A*02:01, и/или HLA-C*02:02 для группы g; или
- h. HLA-B*15:01 для группы h.

Терапевтическое лечение, лекарственные формы и соли

Подобным образом в пределах объема настоящего изобретения находится способ лечения рака у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту TCR согласно третьему аспекту, последовательности нуклеиновой кислоты согласно четвертому аспекту или выделенной аутологичной Т-клетки согласно пятому аспекту.

Подобным образом предусмотрена лекарственная форма для предупреждения или лечения рака, содержащая TCR согласно третьему аспекту, последовательность нуклеиновой кислоты согласно четвертому аспекту или выделенную аутологичную Т-клетку согласно пятому аспекту.

Фармацевтические композиции и введение

Другой аспект настоящего изобретения относится к фармацевтической композиции, содержащей TCR согласно третьему аспекту, последовательность нуклеиновой кислоты согласно четвертому аспекту или выделенную аутологичную Т-клетку согласно пятому аспекту.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения соединения по настоящему изобретению обычно составляют в фармацевтические лекарственные формы для обеспечения легко контролируемой дозировки лекарственного средства и предоставления пациенту удобного и легко доступного продукта.

Фармацевтическая композиция может быть составлена для парентерального введения, например, путем внутривенной инфузии.

Способ изготовления и способ лечения согласно настоящему изобретению

Настоящее изобретение дополнительно охватывает в качестве дополнительного аспекта применение TCR согласно третьему аспекту, последовательности нуклеиновой

кислоты согласно четвертому аспекту или выделенной аутологичной Т-клетки согласно пятому аспекту, как подробно указано выше, для применения в способе изготовления лекарственного препарата для лечения или предупреждения рака.

Подобным образом настоящее изобретение охватывает способы лечения пациента, у которого было диагностировано заболевание, ассоциированное с раком. Данный способ предполагает введение пациенту TCR согласно третьему аспекту, последовательности нуклеиновой кислоты согласно четвертому аспекту или выделенной аутологичной Т-клетки согласно пятому аспекту..

Настоящее изобретение далее проиллюстрировано следующими примерами и фигурами, из которых могут быть выведены дополнительные варианты осуществления и преимущества. Эти примеры предназначены для иллюстрации настоящего изобретения, но не для ограничения его объема.

Описание фигур

Фиг.1: схема таблицы области узнавания tsTCR. Слева направо таблица области узнавания опухолеспецифичного TCR включает следующие элементы для каждого клонотипа TCR: аминокислотная последовательность β CDR3, аминокислотная последовательность α CDR3, частота встречаемости последовательности β CDR3 в процентах, ID V-сегмента β -цепи, ID J-сегмента β -цепи, ID V-сегмента α -цепи, ID J-сегмента α -цепи, тип(типы) HLA в 4-разрядном разрешении (класс I или II), набор маркерных генов в нескольких столбцах с соответствующими уровнями экспрессии для каждого клонотипа.

Фиг. 2: схема кластеризации TCR, часть I. Представлены стадии анализа репертуара TCR в опухоли и неопухоловой ткани, сведенные в конечном итоге в таблицу области узнавания опухолеспецифичного TCR.

Фиг. 3: схема кластеризации TCR, часть II. Для 2, 3 или более разных пациентов одна таблица представляет собой кластер TCR с близкородственными TCR. Столбцы 1-13 и NN описаны ниже. 1: произвольный ID пациента. 2-3: аминокислотные последовательности обеих цепей CDR3. 4: соотношение значений частоты встречаемости клонотипов TCR в опухолевой и смежной неопухоловой ткани. 5: частота встречаемости соответствующего TCR в опухоли. 6-9: сегменты V/J обеих

цепей. 10: тип(типы) HLA (I/II) в 4-разрядном разрешении. 11-13: значения частоты встречаемости маркеров активации соответствующих Т-клеток. Их измеряют с помощью технологии экспрессии генов с применением секвенирования одиночной клетки или, если применимо, с помощью технологии сортировки клеток, и соответствующие значения частоты встречаемости клонотипов получают на основе данных секвенирования TCR. NN: любой маркер активации Т-клеток можно использовать таким же образом.

Фиг. 4: показано, что CD8⁺ Т-клетки от здоровых доноров истощали в отношении эндогенных TCR посредством CRISPR/CAS9-опосредованного нокаута и трансдуцировали с помощью TCR из клонотипов кластера 0. Трансдуцированные TCR-Т-клетки затем тестировали против семи клеточных линий NSCLC с помощью анализа IFN- γ -Elispot (не показано). Из трех линий NSCLC, экспрессирующих релевантную для кластера 0 аллель MHC HLA-B*08:01, только NCI-H1703 распознавалась TCR-Т-клетками. В дополнение к клеткам NCI-H1703 TCR-Т-клетки также распознавали клетки K562, трансдуцированные HLA-B*08:01 (но не клетки K562 дикого типа, которые не содержат HLA), и линии лимфобластоидных клеток, экспрессирующие HLA-B*08:01 (LCL) (не показано). Реактивность в отношении клеток NSCLC может блокироваться антителом, специфичным в отношении пан-HLA, что указывает на реактивность, ограниченную комплексом пептид-MHC (не показано).

Фиг. 5: показано, что CD8⁺ Т-клетки от здоровых доноров истощали в отношении эндогенных TCR посредством CRISPR/CAS9-опосредованного нокаута и трансдуцировали с помощью TCR из клонотипов кластера 2. TCR-трансдуцированные (TCR-)Т-клетки тестировали против пяти положительных в отношении HLA-A*02:01 клеточных линий NSCLC с помощью анализа IFN- γ -Elispot. Все TCR-Т-клетки распознавали MZ-LC-16, NCI-H1703 и NCI-H1792 с реактивностью выше фоновой (только TCR-Т-клетки, пунктирные линии). Кроме того, трансдуцированные TCR-ID2.1 TCR-Т-клетки показали незначительную реакцию в отношении MOR/CPR. Дополнительное тестирование в отношении перекрестной реактивности TCR-Т-клеток показало, что клетки K562, трансдуцированные HLA-A*02:01 (но не клетки K562 дикого типа) и положительные в отношении HLA-A*02:01 T2-клетки также были распознаны (не показано). Реактивность в отношении клеток NSCLC может

блокироваться антителом, специфичным к HLA-A02, что указывает на реактивность, ограниченную комплексом пептид-МНС (не показано).

Примеры

A.1. Получение образца опухоли, представляющей собой немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), и нормальной легочной ткани и анализ TCRSafe

Каждый образец опухоли иссекают, освобождая от окружающей нормальной ткани и некротических участков. Образцы кубической формы весом примерно 1 г из опухоли и нормальной легочной ткани нарезают на небольшие кусочки размером приблизительно 2-3 мм в каждом измерении. Нарезанные биоптаты опухоли (а также неопухолевогой ткани) подвергают воздействию коммерческой системы механической/ферментативной диссоциации тканей (GentleMACS, Miltenyi Biotec, Бергиш-Гладбах, Германия) с применением набора для диссоциации опухолей (Miltenyi Biotec) и следуя инструкциям изготовителя. После дезагрегации с помощью GentleMACS клеточные суспензии пропускают через клеточное сито с размером пор 70 мкм. Отбирают аликвоты опухолевых и легочных клеток и криоконсервируют их в 10% DMSO (Sigma-Aldrich) и 90% FCS (Life Technologies) для последующего применения. Оставшиеся клеточные суспензии подвергают центрифугированию в градиенте плотности с применением ступенчатого градиента 40%/80% Percoll® (GE Healthcare Europe GmbH) в PBS/RPMI 1640. Т-лимфоциты собирают из промежуточных фаз и промывают полной средой (RPMI 1640, Lonza). Затем инфильтрирующие опухоль Т-лимфоциты (TIL) и лимфоциты из нормальной легочной ткани помещают в 24-луночные планшеты для тканевых культур с 2 мл среды для восстановления (RM) в концентрации $0,5 \times 10^6$ клеток/мл. RM представляет собой RPMI 1640, обогащенную 25 мМ HEPES, pH 7,2, и L-глутамином (Lonza), 100 ед./мл пенициллина, 100 мг/мл стрептомицина и 50 мМ бета-меркаптоэтанола (ThermoFisher Scientific, Уолтэм, Массачусетс, США), обогащенную 10% аутологичной сывороткой крови человека. Планшеты помещают в увлажненный инкубатор при 37°C и 5% CO₂ и культивируют в течение ночи. На следующий день клетки собирают и объединяют в пул из TIL и нормальных легочных культур и выделяют следующие субпопуляции посредством FACS:

- CD4⁺ Т-клетки
- CD8⁺ Т-клетки

- клетки PD1+ (только из TIL)
- PD1-отрицательные клетки (только из TIL)

Из субпопуляций выделяют геномную ДНК и подвергают ее анализу TCRsafe (как раскрыто в WO 2014/096394 A1). Полученные в результате значения частоты встречаемости клонотипов Т-клеток сравнивают между субпопуляциями и опухолеспецифичными клонотипами, идентифицированными, как подробно описано в WO 2017/025564 A1.

Все последующие стадии таких примеров относятся к CD8+ Т-клеткам, выделенным из опухоли и неопухолевых тканей, как описано выше.

A.2. Спаривание α/β Т-клеточного рецептора (TCR) с применением высокопроизводительного секвенирования одиночной клетки 10X Genomics

Начиная с суспензий отдельных клеток TIL, 5000–10000 Т-клеток подвергают высокопроизводительному анализу RNASeq одиночной клетки с применением набора реагентов 10X Genomics Chromium Next GEM Single Cell V(D)J в комбинации с набором реагентов Chromium Single Cell V(D)J Enrichment (для анализа клеток человека). Технология 10X Genomics® GemCode™ обеспечивает распределение тысяч отдельных клеток в капли гелевых гранул в эмульсии (GEM). Одиночные клетки, захваченные GEM, лизируют и после этого раствор GEM, праймеры со штрих-кодом, прикрепленные к гранулам, олигонуклеотиды, мастер-микс и компоненты лизированных клеток смешивают и посредством RT-PCR получают полноразмерные библиотеки cDNA, праймированной олиго-dT. Синтез первой нити cDNA с применением механизма переключения матрицы завершают, включая последовательность со штрих-кодом, прикрепленную к гранулам. Все молекулы cDNA в пределах одного GEM помечены одним и тем же штрих-кодом. GEM расщепляют и дальнейшее получение библиотек продолжают в виде объемных реакций. После очистки cDNA с помощью набора Chromium Single Cell V(D)J Enrichment эффективно амплифицируют последовательности TCR и генерируют библиотеки для секвенирования, совместимые с секвенированием по технологии Illumina. В комбинации с амплификацией полноразмерной cDNA секвенирование по технологии Illumina выявляет для каждой отдельной проанализированной Т-клетки спаренные последовательности α/β TCR и соответствующий полноразмерный транскриптом на

клетку. Оба набора, набор реагентов 10X Genomics Chromium Next GEM Single Cell V(D)J и набор Chromium Single Cell V(D)J Enrichment (для анализа клеток человека) - применяют в соответствии с рекомендациями изготовителя.

Нуклеотидные последовательности, идентичные между TCR, описанные в разделе A.1 выше, и TCR в результате спаривания VDJ в одиночной клетке применяют для составления полной аннотации TCR в отношении альфа- и бета-цепей, значений частоты встречаемости и опухолевой специфичности.

A.3. Кластеризация TCR (TCRpolyClust)

Как описано в схеме способа TCRpolyClust, после установления комбинации A.1 и A.2 с помощью последующего кластерного анализа TCR идентифицируют пациентов с распространенными TCR и соответствующими типами HLA, что позволяет проводить скрининг общих опухолевых антигенов.

Синтез, клонирование и эктопическая экспрессия кластерных TCR в T-клетках, выделенных от аутогенных пациентов или здоровых доноров

Спаренные кластерные TCR оптимизируют по кодонам, синтезируют и клонируют в виде бицистронных химерных конструкций (β TCR-VDJ-mC_P2A-элемент_ α TCR-VJ-mC; mC представляют собой мышинные константные домены) в ретровирусные (или сопоставимые) векторы экспрессии для трансдукции аутологичных или аллогенных T-клеток из крови соответствующих пациентов или здоровых доноров. T-клетки-реципиенты предварительно обрабатывают с применением CRISPR/Cas9 для нокаута эндогенных TCR, чтобы предотвратить нецелевые иммунные реакции, опосредованные смешанными димерами TCR (эндогенные x экзогенные цепи, в аутогенных и аллогенных условиях), или аллоиммунные ответы, опосредованные эндогенными TCR (в аллогенных условиях). Указанные химерные (с)TCR-рекомбинантные T-клетки размножают *in vitro* и применяют в функциональных экспериментах, таких как распознавание аутологичных опухолевых клеток (если доступны), линий аллогенных опухолевых клеток и/или скрининги антигенов, как описано ниже.

Целенаправленные подходы для скрининга общих опухолевых антигенов

Сравнительное полноэкзомное (WES) и полнотранскриптомное (WTS) секвенирование геномной и общей РНК опухолевой и соответствующей нормальной ткани, включая

образцы от всех пациентов соответствующего кластера TCR, применяют для идентификации общих неоантигенов (SNV, MNV, InDel, продукты генов слияния, структурные изменения), абберрантно экспрессируемых канонических генов (антигены рака/зародышевого типа и сверхэкспрессируемые антигены) и абберрантно экспрессируемых и транслируемых неканонических транскриптов (транскрипты «темной материи» или криптические транскрипты). Затем кандидатов из всех категорий тестируют в отношении распознавания рекомбинантными Т-клетками, трансдуцированными сTCR. Форматы антигенов представляют собой либо плазмиды экспрессии, кодирующие полноразмерные cDNA антигена, или тандемные минигены (TMG), кодирующие только кодирующие пептид области с иммуногенным потенциалом антигенов-кандидатов. Оба формата тестируют путем совместной трансфекции антиген- и HLA-cDNA-кодирующих плазмид в клетки 293Т или COS-7 и подвергая трансфектанты тестированию в отношении распознавания Т-клетками в анализах IFN- γ ELISpot. В качестве альтернативы можно прогнозировать антигенные пептиды-кандидаты за счет их связывания с соответствующими аллелями HLA с применением общедоступных алгоритмов прогнозирования (IEDB, NetMHC), при этом синтезируют пептиды и сенсибилизируют ими HLA-совместимые антигенпрезентирующие клетки. Последние затем подвергают анализам ELISpot, тестируя их распознавание рекомбинантными Т-клетками.

Подходы для скрининга библиотеки экспрессии cDNA

Целенаправленная идентификация антигенов-кандидатов может не быть в одинаковой степени эффективной для всех категорий антигенов. Например, хотя скрининг в отношении несинонимичных соматических мутаций опухолевых клеток с применением полноэкзомного и полнотранскриптомного секвенирования является чувствительным, высокопроизводимым и позволяет получать количественный перечень потенциальных неоантигенов, идентификация криптических транслируемых транскриптов (антигенов «темной материи») является менее эффективной из-за общей нехватки конкретных признаков для их надежной идентификации. Данную дилемму можно разрешить путем исследования полного транскриптома опухолевых клеток с помощью подходов для скрининга библиотеки экспрессии cDNA. Либо из отсортированных аутологичных опухолевых клеток, либо из HLA-совместимых линий опухолевых клеток, которые, как было показано ранее, распознаются сTCR-трансдуцированными Т-клетками,

библиотеки экспрессии cDNA, полученные из общей РНК, совместно экспрессируются с соответствующими аллелями HLA в антигенпрезентирующих клетках (клетки 293Т или COS-7). Затем трансфектанты тестируют в отношении распознавания Т-клетками, трансдуцированными сTCR, посредством анализов ELISpot. Чтобы иметь возможность достижения экспрессии даже редких транскриптов после трансфекции, процедура скрининга требует высокопроизводительного подхода к тестированию высокофракционированной библиотеки cDNA. Для данной цели получают библиотеку cDNA, состоящую, например, из 2000 пулов из 100 cDNA на лунку, полученных в формате 96-луночного планшета. Трансфекции и анализы ELISpot с применением сTCR-трансдуцированных Т-клеток в качестве эффекторных клеток проводят в данном 96-луночном формате и из распознанных пулов по 100 постепенное сокращение пулов (например, 10 cDNA/пул и лунку, клоны cDNA/пул и лунку) и тестирование приведет в результате к отбору антигенкодирующих клонов cDNA.

Поскольку в достаточной степени чистая и большая популяция жизнеспособных аутологичных опухолевых клеток для выделения РНК и получения библиотек cDNA может быть получена только для меньшинства пациентов, может быть проведен предварительный скрининг для распознавания совместимых по типу линий опухолевых клеток. Клеточные линии могут быть либо выбраны для совместной экспрессии аллелей HLA, либо трансдуцированы HLA, представляющими интерес. Распознанные клеточные линии используют в качестве доказательства существования распространенного антигена, а также в качестве источников для выделения РНК и создания библиотек cDNA.

Последовательности

Последовательности TCR конструируют следующим образом (от N- к С-концу):

Блок-V__CDR3__Блок-J/C

Блок-V	Константная часть цепи TCR (альфа или бета) от стартового кодона (M) до вариательной области CDR3
CDR3	Определяющая комплементарность область 3
Блок-J/C	Константная область от CDR3 через сегмент J до соответствующего С-элемента, заканчивая стоп-кодоном (*)

Таблица 1. Кластер ID 0

SEQ-ID	CDR3- <u>бета</u> : аминокислотная последовательность	CDR3- <u>альфа</u> : аминокислотная последовательность	HLA_B_I	HLA_C_II
0.1	CASSPGPNYEQYF (SEQ ID NO: 38)	CAGAYNQGGKLIF (SEQ ID NO: 6)	B*08:01	C*07:01
0.2	CASSAGPNYEQYF (SEQ ID NO: 41)	CAASFNQGGKLIF (SEQ ID NO: 1)	B*08:01	C*07:01
0.3	CASSLGPNYEQYV (SEQ ID NO: 20)	CAASSNQGGKLIF (SEQ ID NO: 59)	B*08:01	C*07:01

Кластер ID 0

Кластер 0 ассоциирован с **HLA-B*08:01** и **HLA-C*07:01**

Бета-цепь, TRB: **TRBV7-6*01, TRBJ2-7*01, TRBC2*02**

Кластер 0, блок V

ATGGGCACCAGTCTCCTATGCTGGGTGGTCCTGGGTTTCCTAGGGACAGATCACA
CAGGTGCTGGAGTCTCCCAGTCTCCCAGGTACAAAGTCACAAAGAGGGGACAGG
ATGTAGCTCTCAGGTGTGATCCAATTCGGGTCATGTATCCCTTTATTGGTACCGA
CAGGCCCTGGGGCAGGGCCCAGAGTTTCTGACTTACTTCAATTATGAAGCCCAAC
AAGACAAATCAGGGCTGCCCAATGATCGGTTCTCTGCAGAGAGGCCTGAGGGAT
CCATCTCCACTCTGACGATCCAGCGCACAGAGCAGCGGGACTCGGCCATGTATCG
C (SEQ ID NO: 96)

Seq-ID0.1b

TGTGCCAGCAGCCCCGGACCCAACTACGAGCAGTACTTC (SEQ ID NO: 74)

Seq-ID0.2b

TGTGCCAGCAGTGCAGGGCCCAATTACGAGCAGTACTTC (SEQ ID NO: 139)

Seq-ID0.3b

TGTGCCAGCAGCTTAGGCCCGAATTACGAGCAGTACGTC (SEQ ID NO: 125)

Кластер 0, блок J/C

GGGCCGGGCACCAGGCTCACGGTCACAGAGGACCTGAAAAACGTGTTCCACCC
GAGGTCGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCCACACCCAAAAGGCC
ACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTACCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGT
GGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACAGACCCGCAGCCCCTCA
AGGAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGT
CTCGGCCACCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCT
ACGGGCTCTCGGAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCTGTCACCC
AGATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTACCTCCGAGTC
TTACCAGCAAGGGGTCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAAG
GCCACCTTGTATGCCGTGCTGGTTCAGTGCCCTCGTGCTGATGGCCATGGTCAAGA
GAAAGGATTCCAGAGGCTAG (SEQ ID NO: 151)

Кластер 0, блок V

MGTSLLCWVVLGFLGTDHTGAGVSQSPRYKVTKRGQDVALRCDPISGHVSLYWYR
QALGQGPEFLTYFNIEAQQDKSGLPNDRFSAERPEGSISTLTIQRTEQRDSAMYR
(SEQ ID NO: 23)

Seq-ID0.1b

CASSPGPNYEQYF (SEQ ID NO: 38)

Seq-ID0.2b

CASSAGPNYEQYF (SEQ ID NO: 41)

Seq-ID0.3b

CASSLGPNYEQYV (SEQ ID NO: 20)

Кластер 0, блок J/C

GPGTRLTVTEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELSWWVN
GKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSE
NDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVL
VSALVLMAMVVKRKDSRG (SEQ ID NO: 33)

Альфа-цепь, TRA: **TRAV13-1*01, TRAJ23*01, TRAC*01**

Кластер 0, блок V

ATGACATCCATTCGAGCTGTATTTATATTCCTGTGGCTGCAGCTGGACTTGGTGAA
TGGAGAGAATGTGGAGCAGCATCCTTCAACCCTGAGTGTCCAGGAGGGAGACAG
CGCTGTTATCAAGTGTACTTATTCAGACAGTGCCTCAAACACTTCCCTTGGTATA
AGCAAGAACTTGGAAAAAGACCTCAGCTTATTATAGACATTCGTTCAAATGTGGG
CGAAAAGAAAGACCAACGAATTGCTGTTACATTGAACAAGACAGCCAAACATTT
CTCCCTGCACATCACAGAGACCCAACCTGAAGACTCGGCTGTCTACTTC (SEQ ID
NO: 108)

Seq-ID0.1a

TGTGCAGGGGCGTATAACCAGGGAGGAAAGCTTATCTTC (SEQ ID NO: 85)

Seq-ID0.2a

TGTGCAGCAAGTTTTAACCAGGGAGGAAAGCTTATCTTC (SEQ ID NO: 106)

Seq-ID0.3a

TGTGCAGCAAGTAGTAACCAGGGAGGAAAGCTTATCTTC (SEQ ID NO: 123)

Кластер 0, блок J/C

GGACAGGGAACGGAGTTATCTGTGAAACCCAATATCCAGAACCCTGACCCTGCC
GTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCG
ATTTTGATTCTCAAACAAATGTGTCACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCAC
AGACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGT
GGCCTGGAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATT
ATTCCAGAAGACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTCAAGCTGG
TCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAACCTAAACTTTCAAACCTGTCAGTGAT

TGGGTTCCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTGC
GGCTGTGGTCCAGCTGA (SEQ ID NO: 87)

Кластер 0, блок V

MTSIRAVFIFLWLQLDLVNGENVEQHPSTLSVQEGDSAVIKCTYSDSASNYFPWYKQ
ELGKRPQLIIDIRSNVGEKKDQRIAVTLNKTAKHFSLHITETQPEDSAVYF (SEQ ID
NO: 67)

Seq-ID0.1a

CAGAYNQGGKLIF (SEQ ID NO: 6)

Seq-ID0.2a

CAASFNQGGKLIF (SEQ ID NO: 1)

Seq-ID0.3a

CAASSNQGGKLIF (SEQ ID NO: 59)

Кластер 0, блок J/C

GQGTELSVKPNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKT
VLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPSSCDVKLVEKSFET
DTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS (SEQ ID NO: 4)

Таблица 2. Кластер ID 1

SEQ -ID	CDR3- <u>бета</u> : аминокислотная последовательность	CDR3- <u>альфа</u> : аминокислотная последовательность	HLA_A_I	HLA_A_II
1.1	CASSFVSGTDTQYF (SEQ ID NO: 47)	CAF MARGSTLGRLY F (SEQ ID NO: 58)	A*02:01	A*02:01
1.2	CASSFVSGTDTQYF	CAF MERGSTLGRLY	A*02:01	

	(SEQ ID NO: 47)	F		
		(SEQ ID NO: 12)		
1.3	CASSFLSGTDTQYF (SEQ ID NO: 73)	CAFLTRGSTLGRLYF (SEQ ID NO: 18)		
1.4	CASSFLSGTDTQYF (SEQ ID NO: 73)	CAFMPRGSTLGRLY F (SEQ ID NO: 55)		A*68:02
1.5	CASSFLAGTDTQYF (SEQ ID NO: 72)	CAPLPRGSTLGRLYF (SEQ ID NO: 26)	A*02:01	
1.6	CASSFVSGTDTQYF (SEQ ID NO: 47)	CALLSRGSTLGRLYF (SEQ ID NO: 11)		A*02:01

Кластер ID 1

Кластер 1 ассоциирован с супертипом HLA-A*02:01 (HLA-A*02:01/68:02)

Бета-цепь, TRB: **TRBV28*01, TRBJ2-3*01, TRBC2*01**

Кластер 1, блок V

ATGGGAATCAGGCTCCTCTGTCGTGTGGCCTTTTGTTCCTGGCTGTAGGCCTCGT
AGATGTGAAAGTAACCCAGAGCTCGAGATATCTAGTCAAAGGACGGGAGAGAA
AGTTTTTCTGGAATGTGTCCAGGATATGGACCATGAAAATATGTTCTGGTATCGA
CAAGACCCAGGTCTGGGGCTACGGCTGATCTATTTCTCATATGATGTTAAAATGA
AAGAAAAGGAGATATTCCTGAGGGGTACAGTGTCTCTAGAGAGAAGAAGGAGC
GCTTCTCCCTGATTCTGGAGTCCGCCAGCACCAACCAGACATCTATGTACCTC
(SEQ ID NO: 97)

Seq-ID1.1b

TGTGCCAGCAGTTTCGTCAGCGGCACAGATACGCAGTATTTT (SEQ ID NO: 115)

Seq-ID1.2b

TGTGCCAGCAGTTTTGTGAGCGGCACAGATACGCAGTATTTT (SEQ ID NO: 88)

Seq-ID1.3b

TGTGCCAGCAGTTTTCTTAGCGGCACAGATACGCAGTATTTT (SEQ ID NO: 157)

Seq-ID1.4b

TGTGCCAGCAGTTTTCTTTCAGGCACAGATACGCAGTATTTT (SEQ ID NO: 101)

Seq-ID1.5b

TGTGCCAGCAGTTTCTAGCGGGCACAGATACGCAGTATTTT (SEQ ID NO: 136)

Seq-ID1.6b

TGTGCCAGCAGTTTCGTTTCAGGCACAGATACGCAGTATTTT (SEQ ID NO: 133)

Кластер 1, блок J/C

GGCCCAGGCACCCGGCTGACAGTGCTCGAGGACCTGAAAAACGTGTTCCCACCC
AAGGTCGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCCACACCCAAAAGGCC
ACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTACCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGT
GGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACAGACCCGCAGCCCCTCA
AGGAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGT
CTCGGCCACCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCT
ACGGGCTCTCGGAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCTGTCACCC
AGATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTCACCTCCGAGTC
TTACCAGCAAGGGGTCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAAG
GCCACCTTGTATGCCGTGCTGGTCAGTGCCCTCGTGCTGATGGCCATGGTCAAGA
GAAAGGATTCCAGAGGCTAG (SEQ ID NO: 86)

Кластер 1, блок V

MGIRLLCRVAFCLAVGLVDVKVTQSSRYLVKRTGEKVFLECVQDMDHENMFWYR
QDPGLGLRLIYFSYDVKMKEKGDPIEGYSVSREKKERFSLILESASTNQTSMYL (SEQ
ID NO: 64)

Seq-ID1.1b

CASSFVSGTDTQYF (SEQ ID NO: 47)

Seq-ID1.2b

CASSFVSGTDTQYF (SEQ ID NO: 47)

Seq-ID1.3b

CASSFLSGTDTQYF (SEQ ID NO: 73)

Seq-ID1.4b

CASSFLSGTDTQYF (SEQ ID NO: 73)

Seq-ID1.5b

CASSFLAGTDTQYF (SEQ ID NO: 72)

Seq-ID1.6b

CASSFVSGTDTQYF (SEQ ID NO: 47)

Кластер 1, J/C

GPGTRLTVLEDLKNVFPPKVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELSWWVN
GKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRCQVQFYGLSE
NDEWTQDRAKPVQTIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVL
VSALVLMAMVKRKDSRG (SEQ ID NO: 56)

Альфа-цепь, TRA: **TRAV24*01, TRAJ18*01, TRAC*01****Кластер 1, блок V**

ATGGAGAAGAATCCTTTGGCAGCCCCATTACTAATCCTCTGGTTTCATCTTGACTG
CGTGAGCAGCATACTGAACGTGGAACAAAGTCCTCAGTCACTGCATGTTTCAGGAG
GGAGACAGCACCAATTTACCTGCAGCTTCCCTTCCAGCAATTTTTATGCCTTACA
CTGGTACAGATGGGAAACTGCAAAAAGCCCCGAGGCCTTGTTTGTAATGACTTTA
AATGGGGATGAAAAGAAGAAAGGACGAATAAGTGCCACTCTTAATACCAAGGAG

GGTTACAGCTATTTGTACATCAAAGGATCCCAGCCTGAAGACTCAGCCACATACC
TC (SEQ ID NO: 131)

Seq-ID1.1a

TGTGCCTTTATGGCCAGAGGCTCAACCCTGGGGAGGCTATACTTT (SEQ ID NO:
134)

Seq-ID1.2a

TGTGCCTTTATGGAGAGAGGCTCAACCCTGGGGAGGCTATACTTT (SEQ ID NO:
124)

Seq-ID1.3a

TGTGCCTTTCTTACCAGAGGCTCAACCCTGGGGAGGCTATACTTT (SEQ ID NO:
119)

Seq-ID1.4a

TGTGCCTTTATGCCAGAGGCTCAACCCTGGGGAGGCTATACTTT (SEQ ID NO:
147)

Seq-ID1.5a

TGTGCCCCCTCCCGAGAGGCTCAACCCTGGGGAGGCTATACTTT (SEQ ID NO:
102)

Seq-ID1.6a

TGTGCCTTATTAAGCAGAGGCTCAACCCTGGGGAGGCTATACTTT (SEQ ID NO:
132)

Кластер 1, блок J/C

GGAAGAGGAACTCAGTTGACTGTCTGGCCTGATATCCAGAACCCTGACCCTGCCG
TGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGA
TTTTGATTCTCAAACAAATGTGTCACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACA
GACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTG
GCCTGGAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATT

TTCCAGAAGACACCTTCTTCCCCAGCCAGAAAGTTCCTGTGATGTCAAGCTGGT
CGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAACCTAAACTTTCAAAACCTGTCAGTGATT
GGGTCCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTGC
GGCTGTGGTCCAGCTGA (SEQ ID NO: 138)

Кластер 1, блок V

MEKNPLAAPLLILWFHLDCVSSILNVEQSPQSLHVQEGDSTNFTCSFPSSNFYALHWY
RWETAKSPEALFVMTLNGDEKKKGRISATLNTKEGYSYLYIKGSQPEDSATYL (SEQ
ID NO: 3)

Seq-ID1.1a

CAF MARGSTLGRLYF (SEQ ID NO: 58)

Seq-ID1.2a

CAF MERGSTLGRLYF (SEQ ID NO: 12)

Seq-ID1.3a

CAF LTRGSTLGRLYF (SEQ ID NO: 18)

Seq-ID1.4a

CAF MPRGSTLGRLYF (SEQ ID NO: 55)

Seq-ID1.5a

CAP LPRGSTLGRLYF (SEQ ID NO: 26)

Seq-ID1.6a

CALL SRGSTLGRLYF (SEQ ID NO: 11)

Кластер 1, блок J/C

GRGTQLTVWPDIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDK
TVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPSSCDVKLVEKSFE
TDTNLFQNL SVIGFRILLK VAGFNLLMTLRLWSS (SEQ ID NO: 53)

Таблица 3. Кластер ID 31

SEQ-ID	CDR3- <u>бета</u> : аминокислотная последовательность	CDR3- <u>альфа</u> : аминокислотная последовательность	HLA_A_I	HLA_C_II
31.1	CASSLDGMNTEAFF (SEQ ID NO: 28)	CAARLTGTASKLTF (SEQ ID NO: 63)	A*02:05	C*07:01
31.2	CASSLDGMNTEAFF (SEQ ID NO: 28)	CAARNAGTASKLTF (SEQ ID NO: 71)	A*02:35	C*07:04
31.3	CASSLDGMNTEAFF (SEQ ID NO: 28)	CAARNTGTASKLTF (SEQ ID NO: 62)	A*02:01	C*07:01

Кластер ID 31

Кластер 31 ассоциирован с **супертипом HLA-A*02:01 (HLA-A*02:01/02:35/02:05) или HLA-C*07:01/07:04**

Бета-цепь, TRB: **TRBV5-1*01, TRBJ1-1*01, TRBC1*01**

Кластер 31, блок V

ATGGGCTCCAGGCTGCTCTGTTGGGTGCTGCTTTGTCTCCTGGGAGCAGGCCAG
TAAAGGCTGGAGTCACTCAAACSTCCAAGATATCTGATCAAAACGAGAGGACAGC
AAGTGACACTGAGCTGCTCCCCTATCTCTGGGCATAGGAGTGTATCCTGGTACCA
ACAGACCCCAGGACAGGGCCTTCAGTTCCTCTTTGAATACTTCAGTGAGACACAG
AGAAACAAAGGAAACTTCCCTGGTCGATTCTCAGGGCGCCAGTTCTCTAACTCTC
GCTCTGAGATGAATGTGAGCACCTTGGAGCTGGGGGACTCGGCCCTTTATCTT
(SEQ ID NO: 116)

Seq-ID31.1b

TGCGCCAGCAGTTTGGACGGGATGAACACTGAAGCTTTCTTT (SEQ ID NO: 98)

Seq-ID31.2b

TGCGCCAGCAGCTTGGACGGAATGAACACTGAAGCTTTCTTT (SEQ ID NO: 83)

Seq-ID31.3b

TGCGCCAGCAGCTTGGACGGCATGAACACTGAAGCTTTCTTT (SEQ ID NO: 129)

Кластер 31, блок J/C

GGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTAGAGGACCTGAACAAGGTGTTCCCACCC
GAGGTGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCCACACCCAAAAGGCC
ACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTTCCCTGACCACGTGGAGCTGAGCTGGT
GGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACGGACCCGCAGCCCCTCA
AGGAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGT
CTCGGCCACCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCT
ACGGGCTCTCGGAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCCGTCACCC
AGATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTTACCTCGGTGTC
CTACCAGCAAGGGGTCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCCTGCTAGGGAAG
GCCACCCTGTATGCTGTGCTGGTCAGCGCCCTTGTGTTGATGGCCATGGTCAAGA
GAAAGGATTTCTGA (SEQ ID NO: 103)

Кластер 31, блок V

MGSRLLCWVLLCLLGGAGPVKAGVTQTPRYLIKTRGQQVTLSCSPISGHRVSWYQQT
PGQGLQFLFEYFSETQRNKGNFPGRFSGRQFSNSRSEMNVSTLELGDSALYL (SEQ ID
NO: 43)

Seq-ID31.1b

CASSLDGMNTEAFF (SEQ ID NO: 28)

Seq-ID31.2b

CASSLDGMNTEAFF (SEQ ID NO: 28)

Seq-ID31.3b

CASSLDGMNTEAFF (SEQ ID NO: 28)

Кластер 31, блок J/C

GQGTRLTVVEDLNKVFPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWVN
GKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQVQFYGLSE
NDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVL
VSALVLMAMVVRKDF (SEQ ID NO: 37)

Альфа-цепь, TRA: **TRAV29/DV5*01, TRAJ44*01, TRAC*01**

Кластер 31, блок V

ATGGCCATGCTCCTGGGGGCATCAGTGCTGATTCTGTGGCTTCAGCCAGACTGGG
TAAACAGTCAACAGAAGAATGATGACCAGCAAGTTAAGCAAATTCACCATCCC
TGAGCGTCCAGGAAGGAAGAATTTCTATTCTGAACTGTGACTATACTAACAGCAT
GTTTGATTATTTCTATGGTACAAAAAATACCCTGCTGAAGGTCCTACATTCCTGA
TATCTATAAGTTCCATTAAGGATAAAAAATGAAGATGGAAGATTCACTGTCTTCTT
AAACAAAAGTGCCAAGCACCTCTCTCTGCACATTGTGCCCTCCAGCCTGGAGAC
TCTGCAGTGTACTTC (SEQ ID NO: 79)

Seq-ID31.1a

TGTGCAGCAAGACTTACCGGCACTGCCAGTAAACTCACCTTT (SEQ ID NO: 143)

Seq-ID31.2a

TGTGCAGCAAGGAATGCCGGCACTGCCAGTAAACTCACCTTT (SEQ ID NO: 148)

Seq-ID31.3a

TGTGCAGCAAGGAATACCGGCACTGCCAGTAAACTCACCTTT (SEQ ID NO: 152)

Кластер 31, блок J/C

GGGACTGGAACAAGACTTCAGGTCACGCTCGATATCCAGAACCCTGACCCTGCCG
TGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGA
TTTTGATTCTCAAACAATGTGTACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACA
GACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTG
GCCTGGAGCAACAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATT
TTCCAGAAGACACCTTCTTCCCAGCCAGAAAGTTCCCTGTGATGTCAAGCTGGT
CGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAACCTAAACTTTCAAAAACCTGTCAAGTGATT

GGGTTCCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTGC
GGCTGTGGTCCAGCTGA (SEQ ID NO: 158)

Кластер 31, блок V

MAMLLGASVLILWLQPDWVNSQQKNDDQQVKQNSPSLSVQEGRISILNCDYTNSMF
DYFLWYKKYPAEGPTFLISSIKDKNEDGRFTVFLNKS AKHLSLHIVPSQPGDSAVYF
(SEQ ID NO: 54)

Seq-ID31.1a

CAARLTGTASKLTF (SEQ ID NO: 63)

Seq-ID31.2a

CAARNAGTASKLTF (SEQ ID NO: 71)

Seq-ID31.3a

CAARNTGTASKLTF (SEQ ID NO: 62)

Кластер 31, блок J/C

GTGTRLQVTLDIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKT
VLDMRSMDFKSN SAVAWSNK SDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPSSCDVKLVEKSFET
DTNLFQNL SVIGFRILLK VAGFNLLMTLRLWSS (SEQ ID NO: 48)

Таблица 4. Кластер ID 2

SEQ-ID	CDR3- <u>бета</u> : аминокислотная последовательность	CDR3- <u>альфа</u> : аминокислотная последовательность	HLA_A_I	HLA_A_II
2.1	CASSEDGMNTEAFF (SEQ ID NO: 19)	CAVLMDSNYQLIW (SEQ ID NO: 51)	A*01:01	A*02:01
2.2	CASSSDGMNTEAFF	CAVLMDSNYQLIW	A*01:01	A*02:01

	(SEQ ID NO: 60)	(SEQ ID NO: 51)		
2.3	CASSPDGMNTEAFF (SEQ ID NO: 45)	CALLMDSNYQLIW (SEQ ID NO: 8)	A*01:01	A*02:01

Кластер ID 2

Кластер 2 ассоциирован с **HLA-A*01:01** или **HLA-A*02:01**

Бета-цепь, TRB: **TRBV10-2, TRBJ1-1, TRBC1*01**

Кластер 2, блок V

ATGGGCACCAGGCTCTTCTTCTATGTGGCCCTTTGTCTGCTGTGGGCAGGACACA
GGGATGCTGGAATCACCCAGAGCCCAAGATACAAGATCACAGAGACAGGAAGGC
AGGTGACCTTGATGTGTCACCAGACTTGGAGCCACAGCTATATGTTCTGGTATCG
ACAAGACCTGGGACATGGGCTGAGGCTGATCTATTAATCAGCAGCTGCTGATATT
ACAGATAAAGGAGAAGTCCCCGATGGCTATGTTGTCTCCAGATCCAAGACAGAG
AATTTCCCCTCACTCTGGAGTCAGCTACCCGCTCCCAGACATCTGTGTATTTTC
(SEQ ID NO: 78)

Seq-ID2.1b

TGCGCCAGCAGTGAGGACGGCATGAACACTGAAGCTTTCTTT (SEQ ID NO: 77)

Seq-ID2.2b

TGCGCCAGCAGTTCCGACGGGATGAACACTGAAGCTTTCTTT (SEQ ID NO: 107)

Seq-ID2.3b

TGCGCCAGCAGCCCGGACGGAATGAACACTGAAGCTTTCTTT (SEQ ID NO: 92)

Кластер 2, блок J/C

GGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTAGAGGACCTGAACAAGGTGTTCCCACCC
GAGGTCGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCCACACCCAAAAGGCC
AACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTTCCCTGACCACGTGGAGCTGAGCTGGT
GGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACGGACCCGCAGCCCCTCA

AGGAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGT
CTCGGCCACCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCT
ACGGGCTCTCGGAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCCGTCACCC
AGATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTTACCTCGGTGTC
CTACCAGCAAGGGGTCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCCTGCTAGGGAAG
GCCACCCTGTATGCTGTGCTGGTCAGCGCCCTTGTGTTGATGGCCATGGTCAAGA
GAAAGGATTTCTGA (SEQ ID NO: 103)

Кластер 2, блок V

MGTRLFFFYVALCLLWAGHRDAGITQSPRYKITETGRQVTLMCHQTWSHSYMFWYR
QDLGHGLRLIYYSAADITDKGEVPDGYVVSRSKTENFPLTLESATRSQTSVYF (SEQ
ID NO: 30)

Seq-ID2.1b

CASSEDGMNTEAFF (SEQ ID NO: 19)

Seq-ID2.2b

CASSSDGMNTEAFF (SEQ ID NO: 60)

Seq-ID2.3b

CASSPDGMNTEAFF (SEQ ID NO: 45)

Кластер 2, блок J/C

GQGTRLTVVEDLNKVPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWVN
GKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSE
NDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVL
VSALVLMAMVKRKDF (SEQ ID NO: 37)

Альфа-цепь, TRA: **TRAV21*01, TRAJ33*01, TRAC*01**

Кластер 2, блок V

ATGGAGACCCTCTTGGGCCTGCTTATCCTTTGGCTGCAGCTGCAATGGGTGAGCA
GCAAACAGGAGGTGACACAGATTCCTGCAGCTCTGAGTGTCCCAGAAGGAGAAA

ACTTGGTTCTCAACTGCAGTTTCACTGATAGCGCTATTTACAACCTCCAGTGGTTT
AGGCAGGACCCTGGGAAAGGTCTCACATCTCTGTTGCTTATTCAGTCAAGTCAGA
GAGAGCAAACAAGTGGAAAGACTTAATGCCTCGCTGGATAAATCATCAGGACGTA
GTACTTTATACATTGCAGCTTCTCAGCCTGGTGACTCAGCCACCTACCTC (SEQ ID
NO: 145)

Seq-ID2.1a

TGTGCTGTCCTAATGGATAGCAACTATCAGTTAATCTGG (SEQ ID NO: 120)

Seq-ID2.2a

TGTGCTGTCTTAATGGATAGCAACTATCAGTTAATCTGG (SEQ ID NO: 146)

Seq-ID2.3a

TGTGCTTTACTCATGGATAGCAACTATCAGTTAATCTGG (SEQ ID NO: 90)

Кластер 2, блок J/C

GGCGCTGGGACCAAGCTAATTATAAAGCCAGATATCCAGAACCCTGACCCTGCCG
TGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGA
TTTTGATTCTCAAACAAATGTGTCACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATACA
GACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTG
GCCTGGAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATT
TTCCAGAAGACACCTTCTTCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTCAAGCTGGT
CGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAACCTAAACTTTCAAACCTGTCAGTGATT
GGGTCCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGGCCGGGTTAATCTGCTCATGACGCTGC
GGCTGTGGTCCAGCTGA (SEQ ID NO: 111)

Кластер 2, блок V

METLLGLLILWLQLQWVSSKQEVTPAALSVPENLVLNCSFTDSAIYNLQWFRQ
DPGKGLTSLLLIQSSQREQTSGRLNASLDKSSGRSTLYIAASQPGDSATYL (SEQ ID
NO: 68)

Seq-ID2.1a

CAVLMDSNYQLIW (SEQ ID NO: 51)

Seq-ID2.2a

CAVLMDSNYQLIW (SEQ ID NO: 51)

Seq-ID2.3a

CALLMDSNYQLIW (SEQ ID NO: 8)

Кластер 2, блок J/C

GAGTKLIIKPDIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKT
 VLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFET
 DTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS (SEQ ID NO: 70)

Таблица 5. Кластер ID 3

SEQ-ID	CDR3- <u>бета</u> : аминокислотная последовательность	CDR3- <u>альфа</u> : аминокислотная последовательность	HLA_A_I	HLA_A_II
3.1	CSVGAQGTNEKLFF (SEQ ID NO: 15)	CAESTSRGKLIF (SEQ ID NO: 24)	A*02:01	A*68:01
3.2	CSVGSGGTNEKLFF (SEQ ID NO: 27)	CAESTPGGKLIF (SEQ ID NO: 2)	A*02:01	A*68:01
3.3	CSVGTGGTNEKLFF (SEQ ID NO: 31)	CAESSPQGKLIF (SEQ ID NO: 21)	A*01:01	A*02:01
3.4	CSVGTGGTNEKLFF (SEQ ID NO: 31)	CAESTPRGRLMF (SEQ ID NO: 32)	A*02:01	A*68:01
3.5	CSVGSGGTNEKLFF (SEQ ID NO: 27)	CAESTPGGKLIF (SEQ ID NO: 2)	A*02:01	A*68:01

3.6	CSVGTGGTNEKLFF (SEQ ID NO: 31)	CAESSPQGKLIF (SEQ ID NO: 21)	A*01:01	A*02:01
3.7	CSVGTGGTNEKLFF (SEQ ID NO: 31)	CAESTPRGRLMF (SEQ ID NO: 32)	A*02:01	A*68:01

Кластер ID 3

Кластер 3 ассоциирован с **HLA-A*02:01** или супертипом **HLA-A*01 (A*01:01/68:01)**

Бета-цепь, TRB: **TRBV29-1*01, TRBJ1-4*01, TRBC1*01**

Кластер 3, блок V

ATGCTGAGTCTTCTGCTCCTTCTCCTGGGACTAGGCTCTGTGTTTCAGTGCTGTCAT
CTCTCAAAAGCCAAGCAGGGATATCTGTCAACGTGGAACCTCCCTGACGATCCAG
TGTC AAGTCGATAGCCAAGTCACCATGATGTTCTGGTACCGTCAGCAACCTGGAC
AGAGCCTGACACTGATCGCAACTGCAAATCAGGGCTCTGAGGCCACATATGAGA
GTGGATTTGTCATTGACAAGTTTCCCATCAGCCGCCCAAACCTAACATTCTCAACT
CTGACTGTGAGCAACATGAGCCCTGAAGACAGCAGCATATATCTC (SEQ ID NO:
112)

Seq-ID3.1b

TGCAGCGTTGGGGCTCAGGGAACTAATGAAAAACTGTTTTTT (SEQ ID NO: 84)

Seq-ID3.2b

TGCAGCGTTGGGTCCGGGGGCACTAATGAAAAACTGTTTTTT (SEQ ID NO: 144)

Seq-ID3.3b

TGCAGCGTCGGAACAGGGGGGCACTAATGAAAAACTGTTTTTT (SEQ ID NO: 89)

Seq-ID3.4b

TGCAGCGTTGGGACAGGGGGGCACTAATGAAAAACTGTTTTTT (SEQ ID NO: 127)

Seq-ID3.5b

TGCAGCGTTGGGTCCGGGGGCACTAATGAAAAACTGTTTTT (SEQ ID NO: 144)

Seq-ID3.6b

TGCAGCGTCGGAACAGGGGGGACTAATGAAAAACTGTTTTT (SEQ ID NO: 89)

Seq-ID3.7b

TGCAGCGTTGGGACAGGGGGAACTAATGAAAAACTGTTTTT (SEQ ID NO: 127)

Кластер 3, блок J/C

GGCAGTGGAACCCAGCTCTCTGTCTTGGAGGACCTGAACAAGGTGTTCCCACCCG
AGGTCGCTGTGTTTGTAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAAAGGCCAC
ACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTTCCCTGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGG
GTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACGGACCCGCAGCCCCTCAAG
GAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCT
CGGCCACCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTA
CGGGCTCTCGGAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCCGTCACCCA
GATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTTACCTCGGTGTCC
TACCAGCAAGGGGTCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCCTGCTAGGGAAGG
CCACCCTGTATGCTGTGCTGGTCAGCGCCCTTGTGTTGATGGCCATGGTCAAGAG
AAAGGATTTCTGA (SEQ ID NO: 81)

Кластер 3, блок V

MLSLLLLLLGLGSVFSAVISQKPSRDICQRGTSLTIQCVDSQVTMMFWYRQQPGQSL
TLIATANQGSEATYESGFVIDKFPISRPNLTFSTLTVSNMSPEDSSIYL (SEQ ID NO: 16)

Seq-ID3.1b

CSVGAQGTNEKLFF (SEQ ID NO: 15)

Seq-ID3.2b

CSVGSGGTNEKLFF (SEQ ID NO: 27)

Seq-ID3.3b

CSVGTGGTNEKLFF (SEQ ID NO: 31)

Seq-ID3.4b

CSVGTGGTNEKLFF (SEQ ID NO: 31)

Seq-ID3.5b

CSVGSGGTNEKLFF (SEQ ID NO: 27)

Seq-ID3.6b

CSVGTGGTNEKLFF (SEQ ID NO: 31)

Seq-ID3.7b

CSVGTGGTNEKLFF (SEQ ID NO: 31)

Кластер 3, блок J/C

GSGTQLSVLEDLNKVPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWVN
GKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSE
NDEWTQDRAKPVVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVL
VSALVLMAMVKRKDF (SEQ ID NO: 22)

Альфа-цепь, TRA: **TRAV5*01, TRAJ23*01/TRAJ37*01/TRAJ31*01, TRAC*01****Кластер 3, блок V**

ATGAAGACATTTGCTGGATTTTCGTTCCCTGTTTTTGTGGCTGCAGCTGGACTGTAT
GAGTAGAGGAGAGGATGTGGAGCAGAGTCTTTTCCTGAGTGTCCGAGAGGGAGA
CAGCTCCGTTATAAACTGCACTTACACAGACAGCTCCTCCACCTACTTATACTGGT
ATAAGCAAGAACCTGGAGCAGGTCTCCAGTTGCTGACGTATATTTTTTCAAATAT
GGACATGAAACAAGACCAAAGACTCACTGTTCTATTGAATAAAAAGGATAAACA
TCTGTCTCTGCGCATTGCAGACACCCAGACTGGGGACTCAGCTATCTACTTC (SEQ
ID NO: 104)

Seq-ID3.1aTGTGCAGAGAGTACCTCCAGGGGAAAGCTTATCTTC (SEQ ID NO: 100)**Seq-ID3.2a**

TGTGCAGAGAGTACTCCGGGAGGAAAGCTTATCTTC (SEQ ID NO: 155)

Seq-ID3.3a

TGTGCAGAGAGCTCGCCGCAAGGCAAACCTAATCTTT (SEQ ID NO: 142)

Seq-ID3.4a

TGTGCAGAGTCAACTCCCCGGGGCAGACTCATGTTT (SEQ ID NO: 110)

Seq-ID3.5a

TGTGCAGAGAGTACTCCGGGAGGAAAGCTTATCTTC (SEQ ID NO: 155)

Seq-ID3.6a

TGTGCAGAGAGCTCGCCGCAAGGCAAACCTAATCTTT (SEQ ID NO: 142)

Seq-ID3.7a

TGTGCAGAGTCAACTCCCCGGGGCAGACTCATGTTT (SEQ ID NO: 110)

Кластер 3, блок J/C

GGACAGGGAACGGAGTTATCTGTGAAACCCAATATCCAGAACCCTGACCCTGCC
GTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCG
ATTTTGATTCTCAAACAAATGTGTCACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCAC
AGACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGT
GGCCTGGAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATT
ATTCCAGAAGACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTCAAGCTGG
TCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAACCTAAACTTTCAAACCTGTCAGTGAT
TGGGTTCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTGC
GGCTGTGGTCCAGCTGA (SEQ ID NO: 87)

Кластер 3, блок V

MKTFAGFSFLFLWLQLDCMSRGEDVEQSLFLSVREGDSSVINCTYTDSSSTYLYWYK
QEPGAGLQLLTYIFSNMDMKQDQRLTVLLNKKDKHLSLRIADTQTGDSAIYF (SEQ
ID NO: 57)

Seq-ID3.1a

CAESTSRGKLIF (SEQ ID NO: 24)

Seq-ID3.2a

CAESTPGGKLIF (SEQ ID NO: 2)

Seq-ID3.3a

CAESSPQGKLIF (SEQ ID NO: 21)

Seq-ID3.4a

CAESTPRGRLMF (SEQ ID NO: 32)

Seq-ID3.5a

CAESTPGGKLIF (SEQ ID NO: 2)

Seq-ID3.6a

CAESSPQGKLIF (SEQ ID NO: 21)

Seq-ID3.7a

CAESTPRGRLMF (SEQ ID NO: 32)

Кластер 3, блок J/C

GQGTELSVKPNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKT
 VLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFET
 DTNLNFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS (SEQ ID NO: 4)

Таблица 6. Кластер ID 4

SEQ-ID	CDR3- бета : аминокислотная последовательность	CDR3- альфа : аминокислотная последовательность	HLA_C_I	HLA_C_II

4.1	CASSYDSGTGELFF (SEQ ID NO: 9)	CALSETGNQFYF (SEQ ID NO: 52)		C*07:01
4.2	CASSYDSGTGELFF (SEQ ID NO: 9)	CALSETGNQFYF (SEQ ID NO: 52)		C*07:01
4.3	CASSYDSGTGELFF (SEQ ID NO: 9)	CALSDTGNQFYF (SEQ ID NO: 29)	C*07:01	
4.4	CASSYDSGTGELFF (SEQ ID NO: 9)	CALSDTGNQFYF (SEQ ID NO: 29)	C*07:01	

Кластер ID 4

Кластер 4 ассоциирован с **HLA-C*07:01**

Бета-цепь, TRB: **TRBV6-5*01/TRBV6-1*01, TRBJ2-2*01, TRBC2*01**

Кластер 4, блок V

ATGAGCATCGGCCTCCTGTGCTGTGCAGCCTTGTCTCTCCTGTGGGCAGGTCCAGT
 GAATGCTGGTGTCACTCAGACCCCAAATTCAGGTCCTGAAGACAGGACAGAG
 CATGACACTGCAGTGTGCCAGGATATGAACCATGAATACATGTCCTGGTATCGA
 CAAGACCCAGGCATGGGGCTGAGGCTGATTCATTACTIONCAGTTGGTGTCTGGTATCA
 CTGACCAAGGAGAAGTCCCCAATGGCTACAATGTCTCCAGATCAACCACAGAGG
 ATTTCCCGCTCAGGCTGCTGTCGGCTGCTCCCTCCAGACATCTGTGTACTTC
 (SEQ ID NO: 154)

Seq-ID4.1b

TGTGCCAGCAGTTATGACAGCGGAACCGGGGAGCTGTTTTTT (SEQ ID NO: 121)

Seq-ID4.2b

TGTGCCAGCAGTTACGACAGTGGGACCGGGGAGCTGTTTTTT (SEQ ID NO: 140)

Seq-ID4.3b

TGTGCCAGCAGTTACGACTCAGGGACCGGGGAGCTGTTTTTT (SEQ ID NO: 141)

Seq-ID4.4b

TGTGCCAGCAGTTACGACTCAGGGACCGGGGAGCTGTTTTTT (SEQ ID NO: 141)

Кластер 4, блок J/C

GGAGAAGGCTCTAGGCTGACCGTACTGGAGGACCTGAAAAACGTGTTCCCACCC
AAGGTCGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCCACACCCAAAAGGCC
ACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTACCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGT
GGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACAGACCCGCAGCCCCTCA
AGGAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGT
CTCGGCCACCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCT
ACGGGCTCTCGGAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCTGTCACCC
AGATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTACCTCCGAGTC
TTACCAGCAAGGGGTCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAAG
GCCACCTTGTATGCCGTGCTGGTCAGTGCCCTCGTGCTGATGGCCATGGTCAAGA
GAAAGGATTCCAGAGGCTAG (SEQ ID NO: 128)

Кластер 4, блок V

MSIGLLCCAALSLLWAGPVNAGVTQTPKFQVLKTGQSMTLQCAQDMNHEYMSWYR
QDPGMGLRLIHYSVGAGITDQGEVPNGYNVSRSTTEDFPLRLLSAAPSQTSVYF (SEQ
ID NO: 39)

Seq-ID4.1b

CASSYDSGTGELFF (SEQ ID NO: 9)

Seq-ID4.2b

CASSYDSGTGELFF (SEQ ID NO: 9)

Seq-ID4.3b

CASSYDSGTGELFF (SEQ ID NO: 9)

Seq-ID4.4b

CASSYDSGTGELFF (SEQ ID NO: 9)

Кластер 4, блок J/C

GEGSRLTVLEDLKNVFPKVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELSWWVN
GKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQVQFYGLSE
NDEWTQDRAKPVQTIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVL
VSALVLMAMVKRKDSRG (SEQ ID NO: 34)

Альфа-цепь, TRA: **TRAV19*01, TRAJ49*01, TRAC*01**

Кластер 4, блок V

ATGCTGACTGCCAGCCTGTTGAGGGCAGTCATAGCCTCCATCTGTGTTGTATCCA
GCATGGCTCAGAAGGTAAGTCAAGCGCAGACTGAAATTTCTGTGGTGGAGAAGG
AGGATGTGACCTTGGACTGTGTGTATGAAACCCGTGATACTACTTATTACTTATTC
TGGTACAAGCAACCACCAAGTGGAGAATTGGTTTTTCCTTATTCGTCGGAACTCTTT
TGATGAGCAAAATGAAATAAGTGGTTCGGTATTCTTGGAAGTCCAGAAATCCACC
AGTTCCTTCAACTTCACCATCACAGCCTCACAAGTCGTGGACTCAGCAGTATACTT
C (SEQ ID NO: 149)

Seq-ID4.1a

TGTGCTCTGAGTGAAACCGGTAACCAGTTCTATTTT (SEQ ID NO: 114)

Seq-ID4.2a

TGTGCTCTGAGTGAGACCGGTAACCAGTTCTATTTT (SEQ ID NO: 91)

Seq-ID4.3a

TGTGCTCTGAGTGACACCGGTAACCAGTTCTATTTT (SEQ ID NO: 99)

Seq-ID4.4a

TGTGCTCTGAGTGACACCGGTAACCAGTTCTATTTT (SEQ ID NO: 99)

Кластер 4, блок J/C

GGGACAGGGACAAGTTTGACGGTCATTCCAAATATCCAGAACCCTGACCCTGCCG
TGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGA
TTTTGATTCTCAAACAAATGTGTACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACA
GACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTG
GCCTGGAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATT
TTCCAGAAGACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTCAAGCTGGT
CGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAACCTAAACTTTCAAACCTGTCAGTGATT
GGGTCCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTGC
GGCTGTGGTCCAGCTGA (SEQ ID NO: 76)

Кластер 4, блок V

MLTASLLRAVIASICVVSSMAQKVTQAQTEISVVEKEDVTLDCVYETRDTTYLFWY
KQPPSGELVFLIRNSFDEQNEISGRYSWNFQKSTSSFNFTITASQVVDSAVYF (SEQ
ID NO: 49)

Seq-ID4.1a

CALSETGNQFYF (SEQ ID NO: 52)

Seq-ID4.2a

CALSETGNQFYF (SEQ ID NO: 52)

Seq-ID4.3a

CALSDTGNQFYF (SEQ ID NO: 29)

Seq-ID4.4a

CALSDTGNQFYF (SEQ ID NO: 29)

Кластер 4, блок J/C

GTGTS�TVIPNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKT
VLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPSSCDVKLVEKSFET
DTNLNFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS (SEQ ID NO: 66)

Таблица 7. Кластер ID 5

SEQ-ID	CDR3- <u>бета</u> : аминокислотная последовательность	CDR3- <u>альфа</u> : аминокислотная последовательность	HLA_A_I	HLA_A_II	HLA_C_I
5.1	CASSLEGQASSYEQYF (SEQ ID NO: 61)	CAGSGAGSYQLTF (SEQ ID NO: 13)	A*01:01	A*02:01	C*02:02
5.2	CASSLEGQASSYEQYF (SEQ ID NO: 61)	CAGAGAGSYQLTF (SEQ ID NO: 65)	A*01:01	A*02:01	C*02:02

Кластер ID 5

Кластер 5 ассоциирован с **HLA-A*01:01**, **HLA-A*02:01** или **HLA-C*02:02**

Бета-цепь, TRB: **TRBV5-1*01**, **TRBJ2-7*01**, **TRBC2*01**

Кластер 5, блок V

ATGGGCTCCAGGCTGCTCTGTTGGGTGCTGCTTTGTCTCCTGGGAGCAGGCCAG
TAAAGGCTGGAGTCACTCAAACCTCCAAGATATCTGATCAAAACGAGAGGACAGC
AAGTGACACTGAGCTGCTCCCCTATCTCTGGGCATAGGAGTGTATCCTGGTACCA
ACAGACCCCAGGACAGGGCCTTCAGTTCCTCTTTGAATACTTCAGTGAGACACAG
AGAAACAAAGGAAACTTCCCTGGTCGATTCTCAGGGCGCCAGTTCTCTAACTCTC
GCTCTGAGATGAATGTGAGCACCTTGGAGCTGGGGGACTCGGCCCTTTATCTT
(SEQ ID NO: 116)

Seq-ID5.1b

TGCGCCAGCAGCTTGGAAGGACAGGCGAGCTCCTACGAGCAGTACTTC (SEQ ID
NO: 75)

Seq-ID5.2b

TGCGCCAGCAGCTTGAGGGTCAGGCCAGCTCCTACGAGCAGTACTTC (SEQ ID
NO: 156)

Кластер 5, блок J/C

GGGCCGGGCACCAGGCTCACGGTCACAGAGGACCTGAAAAACGTGTTCCACCC
AAGGTCGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCCACACCCAAAAGGCC
ACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTACCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGT
GGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACAGACCCGCAGCCCTCA
AGGAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGT
CTCGGCCACCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCT
ACGGGCTCTCGGAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCTGTCACCC
AGATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTACCTCCGAGTC
TTACCAGCAAGGGGTCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAAG
GCCACCTTGTATGCCGTGCTGGTTCAGTGCCCTCGTGCTGATGGCCATGGTCAAGA
GAAAGGATTCCAGAGGCTAG (SEQ ID NO: 80)

Кластер 5, блок V

MGSRLLCWVLLCLLGGAGPVKAGVTQTPRYLIKTRGQQVTLSCSPISGHRVSVWYQQT
PGQGLQFLFEYFSETQRNKGNFPGRFSGRQFSNSRSEMNVSTLELGDSALYL (SEQ ID
NO: 43)

Seq-ID5.1b

CASSLEGQASSYEQYF (SEQ ID NO: 61)

Seq-ID5.2b

CASSLEGQASSYEQYF (SEQ ID NO: 61)

Кластер 5, блок J/C

GPGTRLTVTEDLKNVFPKVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELSWWN
GKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQVQFYGLSE
NDEWTQDRAKPVTVQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVL
VSALVLMAMVKRKDSRG (SEQ ID NO: 69)

Альфа-цепь, TRA: TRAV25*01, TRAJ28*01, TRAC*01

Кластер 5, блок V

ATGCTACTCATCACATCAATGTTGGTCTTATGGATGCAATTGTCACAGGTGAATG
GACAACAGGTAATGCAAATTCCTCAGTACCAGCATGTACAAGAAGGAGAAGACT
TCACCACGTACTGCAATTCCTCAACTACTTTAAGCAATATACAGTGGTATAAGCA
AAGGCCTGGTGGACATCCCGTTTTTTTTGATACAGTTAGTGAAGAGTGGAGAAGTG
AAGAAGCAGAAAAGACTGACATTTTCAGTTTGGAGAAGCAAAAAGAACAGCTCC
CTGCACATCACAGCCACCCAGACTACAGATGTAGGAACCTACTTC (SEQ ID NO:
105)

Seq-ID5.1a

TGTGCAGGATCTGGGGCTGGGAGTTACCAACTCACTTTC (SEQ ID NO: 126)

Seq-ID5.2a

TGTGCTGGGGCTGGGGCTGGGAGTTACCAACTCACTTTC (SEQ ID NO: 135)

Кластер 5, блок J/C

GGGAAGGGGACCAAACCTCTCGGTCATACCAAATATCCAGAACCCTGACCCTGCC
GTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCG
ATTTTGATTCTCAAACAAATGTGTCACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCAC
AGACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGT
GGCCTGGAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATT
ATTCCAGAAGACACCTTCTTCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTCAAGCTGG
TCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAACCTAAACTTTCAAACCTGTCAGTGAT
TGGGTTCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGGCCGGGTTAATCTGCTCATGACGCTGC
GGCTGTGGTCCAGCTGA (SEQ ID NO: 153)

Кластер 5, блок V

MLLITSMLVLWMQLSQVNGQQVMQIPQYQHVQEGEDFTTYCNSSTTLSNIQWYKQR
PGGHPVFLIQLVKSGEVKKQKRLTFQFGEAKKNSSLHITATQTTDVGTYF (SEQ ID
NO: 35)

Seq-ID5.1a

CAGSGAGSYQLTF (SEQ ID NO: 13)

Seq-ID5.2a

CAGAGAGSYQLTF (SEQ ID NO: 65)

Кластер 5, блок J/C

GKGTKLSVIPNIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDVYITDKT
 VLDMRSMDFKNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFET
 DTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS (SEQ ID NO: 40)

Таблица 8. Кластер ID 6

SEQ-ID	CDR3- <u>бета</u> : аминокислотная последовательность	CDR3- <u>альфа</u> : аминокислотная последовательность	HLA_A_I
6.1	CASSIGSGSYNEQFF (SEQ ID NO: 10)	CVVSAGREYGNKLVF (SEQ ID NO: 25)	B*15:01
6.2	CASSLTSGNYNEQFF (SEQ ID NO: 42)	CVVSAGREYGNKLVF (SEQ ID NO: 25)	B*15:01
6.3	CASSRTSGSLNEQFF (SEQ ID NO: 7)	CVVTAGREYGNKLVF (SEQ ID NO: 5)	B*15:01
6.4	CASTVTSGSYNEQFF (SEQ ID NO: 44)	CVVSAGREYGNKLVF (SEQ ID NO: 25)	B*15:01
6.5	CASSLTSGSYNEQFF (SEQ ID NO: 17)	CVVSVGREYGNKLVF (SEQ ID NO: 46)	B*15:01

Кластер ID 6Кластер 6 ассоциирован с **HLA-B*15:01**

Бета-цепь, TRB: TRBV19*01, TRBJ2-1*01, TRBC2*01

Кластер 6, блок V

ATGAGCAACCAGGTGCTCTGCTGTGTGGTCCTTTGTTTCCTGGGAGCAAACACCG
TGGATGGTGGAAATCACTCAGTCCCCAAAGTACCTGTTTCAGAAAGGAAGGACAGA
ATGTGACCCTGAGTTGTGAACAGAATTTGAACCACGATGCCATGTACTGGTACCG
ACAGGACCCAGGGCAAGGGCTGAGATTGATCTACTACTCACAGATAGTAAATGA
CTTTCAGAAAGGAGATATAGCTGAAGGGTACAGCGTCTCTCGGGAGAAGAAGGA
ATCCTTTCCTCTCACTGTGACATCGGCCAAAAGAACCCGACAGCTTCTATCTC
(SEQ ID NO: 109)

Seq-ID6.1b

TGTGCCAGTAGTATTGGCAGCGGGAGTTACAATGAGCAGTTCTTC (SEQ ID NO:
118)

Seq-ID6.2b

TGTGTGGTGAGCGCCGGGAGGGAATATGGAAACAACTGGTCTTT (SEQ ID NO:
94)

Seq-ID6.3b

TGTGCCAGTAGTCCGACTAGCGGGAGTCTTAATGAGCAGTTCTTC (SEQ ID NO:
93)

Seq-ID6.4b

TGTGCCAGTACCGTAACAAGCGGGAGCTACAATGAGCAGTTCTTC (SEQ ID NO:
117)

Seq-ID6.5b

TGTGCCAGTAGTCTCACTAGCGGTTCCCTACAATGAGCAGTTCTTC (SEQ ID NO:
95)

Кластер 6, блок J/C

GGGCCAGGGACACGGCTCACCGTGCTAGAGGACCTGAAAAACGTGTTCCACCC
AAGGTCGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCCACACCCAAAAGGCC
ACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTACCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGT
GGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACAGACCCGCAGCCCCTCA
AGGAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGT
CTCGGCCACCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCT
ACGGGCTCTCGGAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCTGTCACCC
AGATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTCACCTCCGAGTC
TTACCAGCAAGGGGTCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAAG
GCCACCTTGTATGCCGTGCTGGTCAGTGCCCTCGTGCTGATGGCCATGGTCAAGA
GAAAGGATTCCAGAGGCTAG (SEQ ID NO: 113)

Кластер 6, блок V

MSNQVLCCVFLCFLGANTVDGGITQSPKYLFRKEGQNVTLSCQNLNHDAMYWYR
QDPGQGLRLIYYSQIVNDFQKGDIAEGYSVSREKKESFPLTVTSAQKNPTAFYL (SEQ
ID NO: 36)

Seq-ID6.1b

CASSIGSGSYNEQFF (SEQ ID NO: 10)

Seq-ID6.2b

CASLTSGNYNEQFF (SEQ ID NO: 42)

Seq-ID6.3b

CASSRTSGSLNEQFF (SEQ ID NO: 7)

Seq-ID6.4b

CASTVTSGSYNEQFF (SEQ ID NO: 44)

Seq-ID6.5b

CASLTSGSYNEQFF (SEQ ID NO: 17)

Кластер 6, блок J/C

GPGTRLTVLEDLKNVFPKVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELSWWVN
GKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQVQFYGLSE
NDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVL
VSALVLMAMVKKRDSRG (SEQ ID NO: 56)

Альфа-цепь, TRA: TRAV10*01, TRAJ47*01, TRAC*01

Кластер 6, блок V

ATGAAAAAGCATCTGACGACCTTCTTGGTGATTTTGTGGCTTTATTTTATAGGGG
GAATGGCAAAAACCAAGTGGAGCAGAGTCCTCAGTCCCTGATCATCCTGGAGGG
AAAGAACTGCACTCTTCAATGCAATTATACAGTGAGCCCCTTCAGCAACTTAAGG
TGGTATAAGCAAGATACTGGGAGAGGTCCTGTTTCCCTGACAATCATGACTTTCA
GTGAGAACACAAAGTCGAACGGAAGATATACAGCAACTCTGGATGCAGACACAA
AGCAAAGCTCTCTGCACATCACAGCCTCCCAGCTCAGCGATTTCAGCCTCCTACAT
C (SEQ ID NO: 150)

Seq-ID6.1a

TGTGTGGTGAGCGCGGGGAGGGAATATGGAAACAAACTGGTCTTT (SEQ ID NO:
122)

Seq-ID6.2a

TGTGTGGTGAGCGCCGGGAGGGAATATGGAAACAAACTGGTCTTT (SEQ ID NO:
94)

Seq-ID6.3a

TGTGTGGTGACCGCGGGGAGGGAATATGGAAACAAACTGGTCTTT (SEQ ID NO:
130)

Seq-ID6.4a

TGTGTGGTGAGCGCGGGGAGGGAATATGGAAACAAACTGGTCTTT (SEQ ID NO:
122)

Seq-ID6.5a

TGTGTGGTGAGCGTTGGAAGGGAATATGGAAACAACTGGTCTTT (SEQ ID NO: 82)

Кластер 6, блок J/C

GGCGCAGGAACCATTTCTGAGAGTCAAGTCCTATATCCAGAACCCTGACCCTGCCG
TGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGA
TTTTGATTCTCAAACAAATGTGTACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACA
GACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTG
GCCTGGAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATT
TTCCAGAAGACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTCAAGCTGGT
CGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAACCTAAACTTTCAAACCTGTCAGTGATT
GGGTTCCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTGC
GGCTGTGGTCCAGCTGA (SEQ ID NO: 137)

Кластер 6, блок V

MKKHLTTFVLVILWLYFYRGNGKNQVEQSPQSLIILEGKNCTLQCNYTVSPFSNLRWY
KQDTGRGPVSLTIMTFSENTKSNGRYTATLDADTKQSSLHITASQLSDSASYI (SEQ ID
NO: 14)

Seq-ID6.1a

CVVSAGREYGNKLVF (SEQ ID NO: 25)

Seq-ID6.2a

CVVSAGREYGNKLVF (SEQ ID NO: 25)

Seq-ID6.3a

CVVTAGREYGNKLVF (SEQ ID NO: 5)

Seq-ID6.4a

CVVSAGREYGNKLVF (SEQ ID NO: 25)

Seq-ID6.5a

CVVSVGREYGNKLVF (SEQ ID NO: 46)

Кластер 6, блок J/C

GAGTILRVKSYIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKT
VLDMRSMDFKSN SAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPSSCDVKLVEKSFET
DTNLNFQNLSVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS (SEQ ID NO: 50)

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ идентификации распространенного опухолеспецифического Т-клеточного рецептора (TCR), при этом способ включает стадии:

a. получения множества последовательностей опухолеспецифических TCR от каждого отдельного пациента из числа n (n более 1) пациентов посредством стадий:

i. определения частоты встречаемости каждой из множества последовательностей TCR опухоли на стадии с использованием последовательностей опухоли посредством стадий:

I. предоставления выделенного образца опухоли, полученного от указанного пациента;

II. выделения опухолевых Т-клеток из указанного образца опухоли;

III. получения множества последовательностей нуклеиновой кислоты TCR опухоли;

IV. группировки последовательностей нуклеиновой кислоты TCR опухоли, которые являются по существу идентичными, в группу, представляющую собой клонотип TCR опухоли, и подсчета последовательностей нуклеиновой кислоты TCR опухоли в каждой группе, представляющей собой клонотип TCR опухоли;

V. определения частоты встречаемости каждого TCR опухоли путем деления количества последовательностей нуклеиновой кислоты TCR опухоли в каждой группе, представляющей собой клонотип TCR опухоли, на количество всех последовательностей нуклеиновой кислоты TCR опухоли;

- ii. определения частоты встречаемости каждой из множества последовательностей TCR неопухолевой ткани на стадии с использованием последовательностей неопухолевой ткани посредством стадий:
 - I. предоставления выделенного образца неопухолевой ткани, полученного от указанного пациента;
 - II. выделения Т-клеток неопухолевой ткани из указанного образца неопухолевой ткани;
 - III. получения множества последовательностей нуклеиновой кислоты TCR неопухолевой ткани;
 - IV. группировки последовательностей нуклеиновой кислоты TCR неопухолевой ткани, которые являются по существу идентичными, в одну группу, представляющую собой клонотип TCR неопухолевой ткани и подсчета последовательностей нуклеиновой кислоты TCR неопухолевой ткани в каждой группе, представляющей собой клонотип TCR опухоли;
 - V. определения частоты встречаемости каждого TCR неопухолевой ткани путем деления количества последовательностей нуклеиновой кислоты TCR неопухолевой ткани в каждой группе, представляющей собой клонотип TCR неопухолевой ткани, на количество всех последовательностей нуклеиновой кислоты TCR неопухолевой ткани;
- iii. проведения отбора последовательностей нуклеиновой кислоты TCR на стадии опухолеспецифичного отбора в качестве опухолеспецифичных последовательностей TCR, если частота встречаемости TCR опухоли выше, чем частота встречаемости TCR неопухолевой ткани;

- b. проведения отбора последовательности распространенного опухолеспецифичного TCR посредством стадий:
- i. перевода последовательностей нуклеиновой кислоты опухолеспецифичных TCR в аминокислотные последовательности опухолеспецифичных TCR;
 - ii. определения областей CDR3 указанных аминокислотных последовательностей опухолеспецифичных TCR указанных n пациентов;
 - iii. выравнивания областей CDR3 указанного множества аминокислотных последовательностей опухолеспецифичных TCR указанных n пациентов;
 - iv. группировки последовательностей TCR в один кластер клонотипа TCR, если их области CDR3 отличаются не более чем на 3 аминокислоты (AA)/CDR3, конкретно не более чем на 2 AA/CDR3, более конкретно не более чем на 1 AA/CDR3, наиболее конкретно не отличаются;
 - v. проведения отбора кластера последовательностей TCR на стадии отбора распространенных TCR в качестве последовательности распространенного опухолеспецифичного TCR, если кластер клонотипа TCR присутствует у по меньшей мере двух пациентов.
2. Способ по п. 1, где образец опухоли от ряда из n пациентов относится к ткани одного и того же типа.
3. Способ по любому из предыдущих пунктов, где указанный образец неопухолевой ткани относится к ткани того же типа, что и образец опухоли.
4. Способ по любому из предыдущих пунктов, где определено, что множество пациентов характеризуются наличием по меньшей мере одного общего гена, относящегося к одному и тому же типу HLA.

5. Способ по п. 4, где определено, что множество пациентов характеризуются наличием общего гена, относящегося к одному и тому же типу HLA, в частности, точно одного общего гена, относящегося к одному и тому же типу HLA, и указанный распространенный опухолеспецифичный TCR относят к TCR, специфичному в отношении типа HLA.
6. Способ по любому из предыдущих пунктов, где указанный распространенный опухолеспецифичный TCR относят к TCR, специфичному в отношении типа HLA, посредством стадий:
- a. проведения отбора всех пациентов, у которых присутствует последовательность распространенного опухолеспецифичного TCR;
 - b. определения того, какие гены HLA присутствуют у указанных отобранных пациентов;
 - c. отнесения распространенного опухолеспецифичного TCR к TCR, специфичному в отношении типа HLA, если распространенный ген HLA, в частности, точно один распространенный ген HLA, присутствует у всех отобранных пациентов.
7. Способ по любому из предыдущих пунктов, где последовательность TCR отбирают в качестве последовательности опухолеспецифичного TCR на стадии опухолеспецифичного отбора (a.iii.), если частота встречаемости группы, представляющей собой клонотип TCR опухоли, в 2 раза выше, чем частота встречаемости группы, представляющей собой клонотип TCR неопухолевого ткани, конкретно в 3 раза выше, более конкретно в 5 раз выше, еще более конкретно в 10 раз выше, чем частота встречаемости группы, представляющей собой клонотип TCR неопухолевого ткани.
8. Способ по любому из предыдущих пунктов, где число пациентов n составляет от 2 до 100, конкретно n составляет от 10 до 50, более конкретно n составляет от 20 до 30.
9. Способ по любому из предыдущих пунктов, где стадия отбора распространенных TCR (стадия b.v) дополнительно включает измерение маркеров активации/истощения/дифференцировки Т-клеток, в частности,

маркера, выбранного из PDCD1 (PD1), TIGIT, LAG3, HAVCR2 (TIM3), CTLA4, IFNG, TNF, GZMB, TNFRSF9 (CD137, 4-1BB), CD45 (CD45RA/RO), CD69, LAMP1 (CD107a), TBX21 (T-BET), TCF7 (TCF-1), EOMES, TOX и RUNX3, где последовательность TCR отбирают в качестве последовательности распространенного опухолеспецифического TCR, если Т-клетки, несущие TCR, экспрессируют один или более маркеров активации/истощения/дифференцировки Т-клеток или их комбинации.

10. Способ идентификации распространенного опухолеспецифического антигена, при этом способ включает стадии:

a. идентификации распространенного опухолеспецифического TCR по любому из предыдущих пунктов у числа n (n более 1) пациентов;

b. получения множества опухолеспецифических полипептидов посредством стадий:

(1) получения множества последовательностей опухолеспецифических мРНК от каждого пациента из указанных пациентов посредством стадий:

i. определения множества последовательностей мРНК опухоли на стадии с использованием последовательностей мРНК опухоли посредством стадий:

I. выделения препарата РНК опухоли из образца опухоли от указанного пациента;

II. получения множества последовательностей мРНК опухоли из указанного препарата РНК опухоли;

ii. определения множества последовательностей мРНК неопухолевой ткани на стадии с использованием последовательностей мРНК неопухолевой ткани посредством стадий:

I. выделения препарата РНК неопухолевой ткани из указанного образца неопухолевой ткани от указанного пациента;

II. получения множества последовательностей мРНК неопухолевой ткани из указанного препарата РНК опухоли;

iii. проведения отбора последовательностей опухолеспецифичных мРНК на стадии опухолеспецифичного отбора мРНК посредством стадий:

I. выравнивания множества последовательностей мРНК опухоли и множества последовательностей мРНК неопухолевой ткани;

II. проведения отбора последовательностей мРНК, которые присутствуют в образце опухоли и отсутствуют в образце неопухолевой ткани в качестве последовательностей опухолеспецифичных РНК.

(2) проведения отбора множества опухолеспецифичных полипептидов посредством стадий:

i. перевода указанного множества последовательностей опухолеспецифичных РНК во множество опухолеспецифичных аминокислотных последовательностей;

ii. выравнивания множества опухолеспецифичных аминокислотных последовательностей от множества из n пациентов;

iii. группировки аминокислотных последовательностей в один полипептидный кластер, если их аминокислотные последовательности характеризуются идентичностью последовательности, составляющей 80% или больше, 85% или

больше, 90% или больше, 92% или больше, 94% или больше, 96% или больше, 98% или больше или 99% или больше;

iv. проведения отбора множества полипептидных кластеров аминокислотных последовательностей в качестве опухолеспецифичных полипептидов, если опухолеспецифичная аминокислотная последовательность присутствует у всех из n пациентов;

с. экспрессии указанного члена в антигенпрезентирующей клетке в случае каждого члена множества опухолеспецифичных полипептидов;

d. выявления для каждой антигенпрезентирующей клетки того, способна ли антигенпрезентирующая клетка активировать Т-клетку, экспрессирующую указанный распространенный опухолеспецифичный TCR;

e. проведения отбора опухолеспецифичного полипептида в качестве распространенного опухолеспецифичного антигена, если антигенпрезентирующая клетка, экспрессирующая указанный опухолеспецифичный полипептид, способна активировать указанную Т-клетку, экспрессирующую указанный распространенный опухолеспецифичный TCR.

11. Способ по п. 10, где дополнительно пептид, презентируемый на молекуле HLA на антигенпрезентирующей клетке, экспрессирующей указанный распространенный опухолеспецифичный антиген, выделяют и характеризуют путем масс-спектрометрии.

12. Способ по п. 10, где впоследствии

a. антиген, обнаруженный с помощью способа по п. 10, фрагментируют на пептиды;

b. каждый пептид загружают на молекулу HLA на антигенпрезентирующей клетке;

с. определяют в случае каждой антигенпрезентирующей клетки, способна ли антигенпрезентирующая клетка активировать Т-клетку, экспрессирующую распространенный опухолеспецифичный TCR;

13. Способ по любому из предыдущих п. 10, п. 11 или п. 12, где указанный образец опухоли и указанный образец неопухолевого ткани происходят из одного и того же образца ткани, и где выделение препарата РНК опухоли из указанного образца ткани осуществляют по отдельности из отдельных опухолевых клеток и неопухолевых клеток, полученных из указанного образца ткани.

14. Способ идентификации распространенного опухолеспецифичного антигена, при этом способ включает стадии:

a. идентификации распространенного опухолеспецифичного TCR по любому из предыдущих пунктов у числа n (n более 1) пациентов;

b. приведения в контакт Т-клетки, экспрессирующей указанный распространенный опухолеспецифичный TCR, с опухолевой клеткой, где опухолевая клетка получена из линии опухолевых клеток, и выявления того, способна ли опухолевая клетка активировать Т-клетку, с получением клетки, полученной из линии опухолевых клеток, экспрессирующей распространенный опухолеспецифичный антиген;

с. необязательно повторения стадии b с использованием другой линии опухолевых клеток;

d. получения библиотеки cDNA из клетки, полученной из линии опухолевых клеток, экспрессирующей распространенный опухолеспецифичный антиген;

e. экспрессии указанного члена в антигенпрезентирующей клетке в случае каждого члена библиотеки cDNA;

f. выявления для каждой антигенпрезентирующей клетки того, способна ли антигенпрезентирующая клетка активировать Т-клетку, экспрессирующую указанный распространенный опухолеспецифичный TCR;

г. проведения отбора cDNA в качестве распространенного опухолеспецифического антигена, если антигенпрезентирующая клетка, экспрессирующая указанную cDNA, способна активировать указанную Т-клетку, экспрессирующую указанный распространенный опухолеспецифичный TCR.

15. Выделенный TCR, идентифицированный с помощью способа по любому из пп. 1-9.

16. Выделенный TCR по п. 15, где TCR содержит последовательность CDR3-альфа и последовательность CDR3-бета, где последовательность CDR3-альфа и последовательность CDR3-бета идентичны последовательностям, приведенным ниже, или содержат одну или две аминокислотные замены на последовательность CDR3,

где

a. для группы а последовательность CDR3-альфа выбрана из группы последовательностей, содержащей SEQ ID NO 6, SEQ ID NO 1, SEQ ID NO 59, и последовательность CDR3-бета выбрана из группы последовательностей, содержащей SEQ ID NO 38, SEQ ID NO 41, SEQ ID NO 20, или

b. для группы b последовательность CDR3-альфа выбрана из группы последовательностей, содержащей SEQ ID NO 11, SEQ ID NO 12, SEQ ID NO 18, SEQ ID NO 26, SEQ ID NO 55, SEQ ID NO 58, и последовательность CDR3-бета выбрана из группы последовательностей, содержащей SEQ ID NO 47, SEQ ID NO 72, SEQ ID NO 73, или

c. для группы с последовательность CDR3-альфа выбрана из группы последовательностей, содержащей SEQ ID NO 62, SEQ ID NO 63, SEQ ID NO 71, и последовательность CDR3-бета выбрана из последовательности SEQ ID NO 28, или

d. для группы d последовательность CDR3-альфа выбрана из группы последовательностей, содержащей SEQ ID NO 8, SEQ ID NO 51, и

последовательность CDR3-бета выбрана из группы последовательностей, содержащей SEQ ID NO 19, SEQ ID NO 45, SEQ ID NO 60, или

e. для группы e последовательность CDR3-альфа выбрана из группы последовательностей, содержащей SEQ ID NO 2, SEQ ID NO 21, SEQ ID NO 24, SEQ ID NO 32, и последовательность CDR3-бета выбрана из группы последовательностей, содержащей SEQ ID NO 15, SEQ ID NO 27, SEQ ID NO 31, или

f. для группы f последовательность CDR3-альфа выбрана из группы последовательностей, содержащей SEQ ID NO 29, SEQ ID NO 52, и последовательность CDR3-бета выбрана из последовательности SEQ ID NO 9, или

g. для группы g последовательность CDR3-альфа выбрана из группы последовательностей, содержащей SEQ ID NO 13, SEQ ID NO 65, и последовательность CDR3-бета выбрана из последовательности SEQ ID NO 61, или

h. для группы h последовательность CDR3-альфа выбрана из группы последовательностей, содержащей SEQ ID NO 5, SEQ ID NO 25, SEQ ID NO 46, и последовательность CDR3-бета выбрана из группы последовательностей, содержащей SEQ ID NO 7, SEQ ID NO 10, SEQ ID NO 17, SEQ ID NO 42, SEQ ID NO 44,

в частности, где последовательность CRD3-альфа и последовательность CDR3-бета идентифицированы в одной и той же строке таблиц 1-8,

в частности, где указанные замены выбраны в соответствии с правилами замен, приведенными ниже,

где правила замен представляют собой следующее:

- глицин (G) и аланин (A) являются взаимозаменяемыми; валин (V), лейцин (L) и изолейцин (I) являются взаимозаменяемыми, A и V являются взаимозаменяемыми;

- триптофан (W) и фенилаланин (F) являются взаимозаменяемыми, тирозин (Y) и F являются взаимозаменяемыми;
- серин (S) и треонин (T) являются взаимозаменяемыми;
- аспарагиновая кислота (D) и глутаминовая кислота (E) являются взаимозаменяемыми;
- аспарагин (N) и глутамин (Q) являются взаимозаменяемыми; N и S являются взаимозаменяемыми; N и D являются взаимозаменяемыми; E и Q являются взаимозаменяемыми;
- метионин (M) и Q являются взаимозаменяемыми;
- цистеин (C), A и S являются взаимозаменяемыми;
- пролин (P), G и A являются взаимозаменяемыми;
- аргинин (R) и лизин (K) являются взаимозаменяемыми.

17. Выделенный TCR по п. 16, где последовательности CDR3 выбраны из групп a, b, f, g и h.

18. Выделенный TCR по п. 16 или п. 17, где TCR дополнительно содержит последовательность альфа вариабельной области (V), последовательность альфа области соединение-константная область (JC), последовательность бета V и последовательность бета JC или последовательность с идентичностью последовательности, составляющей 80% или больше, 85% или больше, 90% или больше, 92% или больше, 94% или больше, 96% или больше, 98% или больше или 99% или больше, с указанными последовательностями,

где

- a. для группы a последовательность альфа V представляет собой SEQ ID NO: 67, последовательность альфа JC представляет собой SEQ ID NO:

4, последовательность бета V представляет собой SEQ ID NO: 23, и последовательность бета JC представляет собой SEQ ID NO: 33, или

b. для группы b последовательность альфа V представляет собой SEQ ID NO: 3, последовательность альфа JC представляет собой SEQ ID NO: 53, последовательность бета V представляет собой SEQ ID NO: 64, и последовательность бета JC представляет собой SEQ ID NO: 56, или

c. для группы c последовательность альфа V представляет собой SEQ ID NO: 54, последовательность альфа JC представляет собой SEQ ID NO: 48, последовательность бета V представляет собой SEQ ID NO: 43, и последовательность бета JC представляет собой SEQ ID NO: 37, или

d. для группы d последовательность альфа V представляет собой SEQ ID NO: 68, последовательность альфа JC представляет собой SEQ ID NO: 70, последовательность бета V представляет собой SEQ ID NO: 30, и последовательность бета JC представляет собой SEQ ID NO: 37, или

e. для группы e последовательность альфа V представляет собой SEQ ID NO: 57, последовательность альфа JC представляет собой SEQ ID NO: 4, последовательность бета V представляет собой SEQ ID NO: 16, и последовательность бета JC представляет собой SEQ ID NO: 22, или

f. для группы f последовательность альфа V представляет собой SEQ ID NO: 49, последовательность альфа JC представляет собой SEQ ID NO: 66, последовательность бета V представляет собой SEQ ID NO: 39, и последовательность бета JC представляет собой SEQ ID NO: 34, или

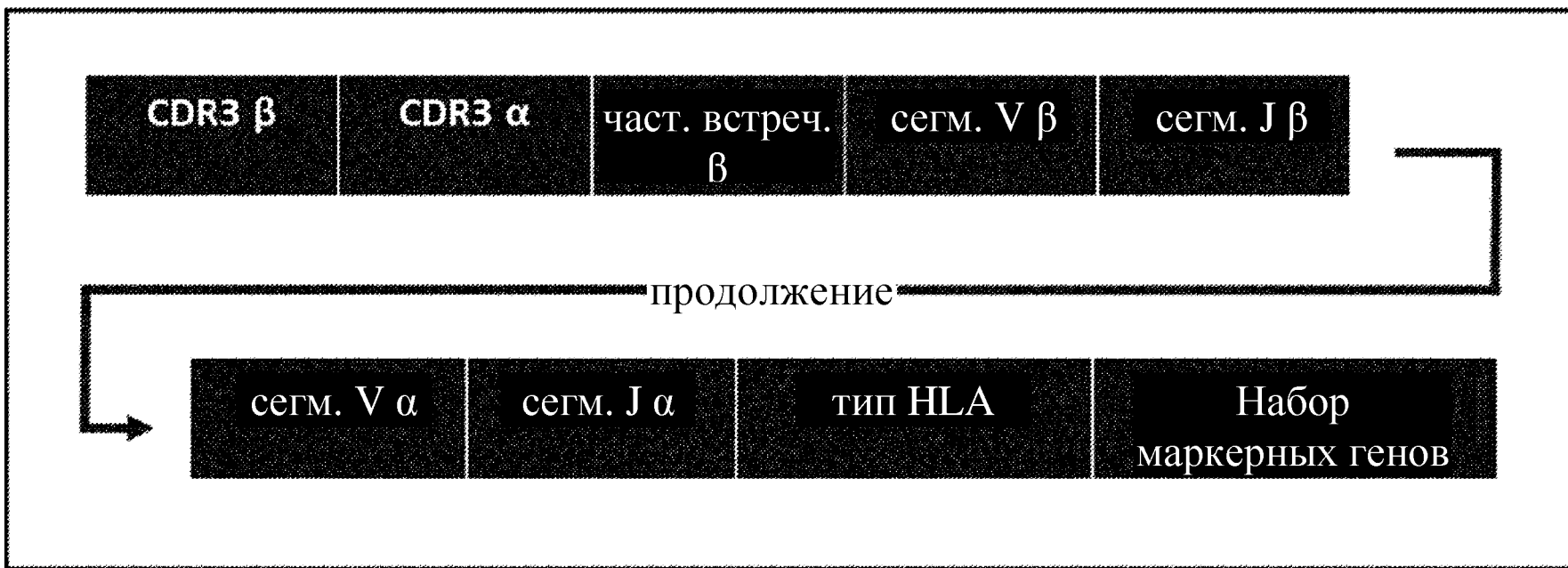
g. для группы g последовательность альфа V представляет собой SEQ ID NO: 35, последовательность альфа JC представляет собой SEQ ID NO: 40, последовательность бета V представляет собой SEQ ID NO: 43, и последовательность бета JC представляет собой SEQ ID NO: 69, или

h. для группы h последовательность альфа V представляет собой SEQ ID NO: 14, последовательность альфа JC представляет собой SEQ ID NO: 50, последовательность бета V представляет собой SEQ ID NO: 36, и последовательность бета JC представляет собой SEQ ID NO: 56.

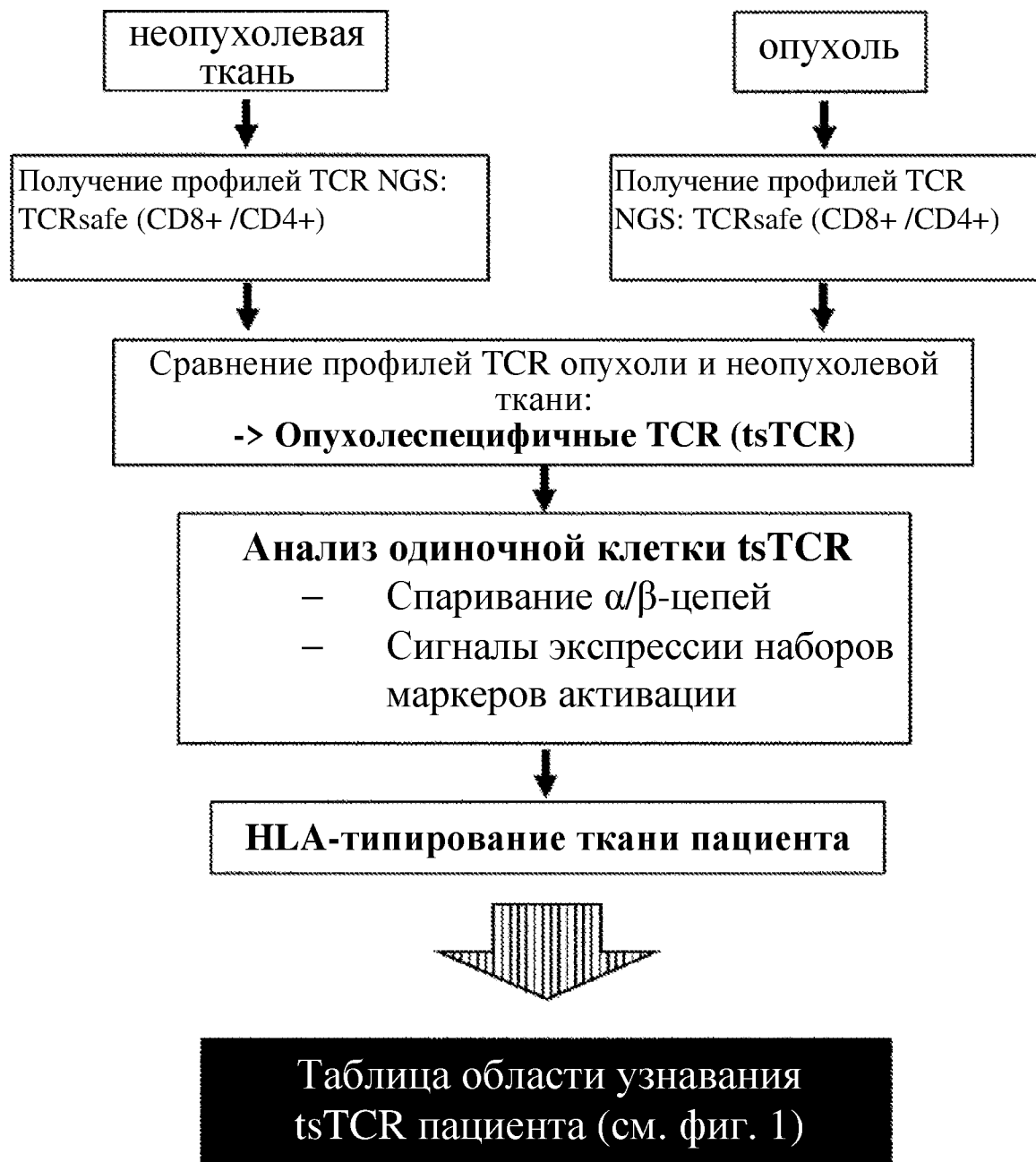
19. Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая TCR по любому из пп. 15-18.
20. Выделенная аутологичная Т-клетка, содержащая TCR по любому из пп. 15-18 и/или последовательность нуклеиновой кислоты по п. 19.
21. Выделенная аутологичная Т-клетка по п. 20, где выделенная аутологичная Т-клетка представляет собой рекомбинантную Т-клетку.
22. TCR по любому из пп. 15-18, последовательность нуклеиновой кислоты по п. 19 или выделенная аутологичная Т-клетка по п. 20 или п. 21 для применения в лечении рака.
23. TCR по любому из пп. 15-18, последовательность нуклеиновой кислоты по п. 19 или выделенная аутологичная Т-клетка по п. 20 или п. 21 для применения в лечении рака у пациентов, характеризующихся тем же типом HLA, что и TCR, специфичный в отношении типа HLA, определенный с помощью способа по п. 5 или п. 6.
24. TCR по любому из пп. 15-18, последовательность нуклеиновой кислоты по п. 19 или выделенная аутологичная Т-клетка по п. 20 или п. 21 для применения по п. 23 у пациентов со следующим типом HLA:
 - a. HLA-B*08:01 и/или HLA-C*07:01 для группы a; или
 - b. супертип HLA-A*02:01 (HLA-A*02:01/68:02) для группы b; или
 - c. супертип HLA-A*02:01 (HLA-A*02:01/02:35/02:05) и/или HLA-C*07:01/07:04 для группы c; или
 - d. HLA-A*01:01 и/или HLA-A*02:01 для группы d; или
 - e. HLA-A*02:01 и/или супертип HLA-A*01 (A*01:01/68:01) для группы e; или
 - f. HLA-C*07:01 для группы f; или
 - g. HLA-A*01:01, и/или HLA-A*02:01, и/или HLA-C*02:02 для группы g; или

h. HLA-B*15:01 для группы h.

Фиг. 1



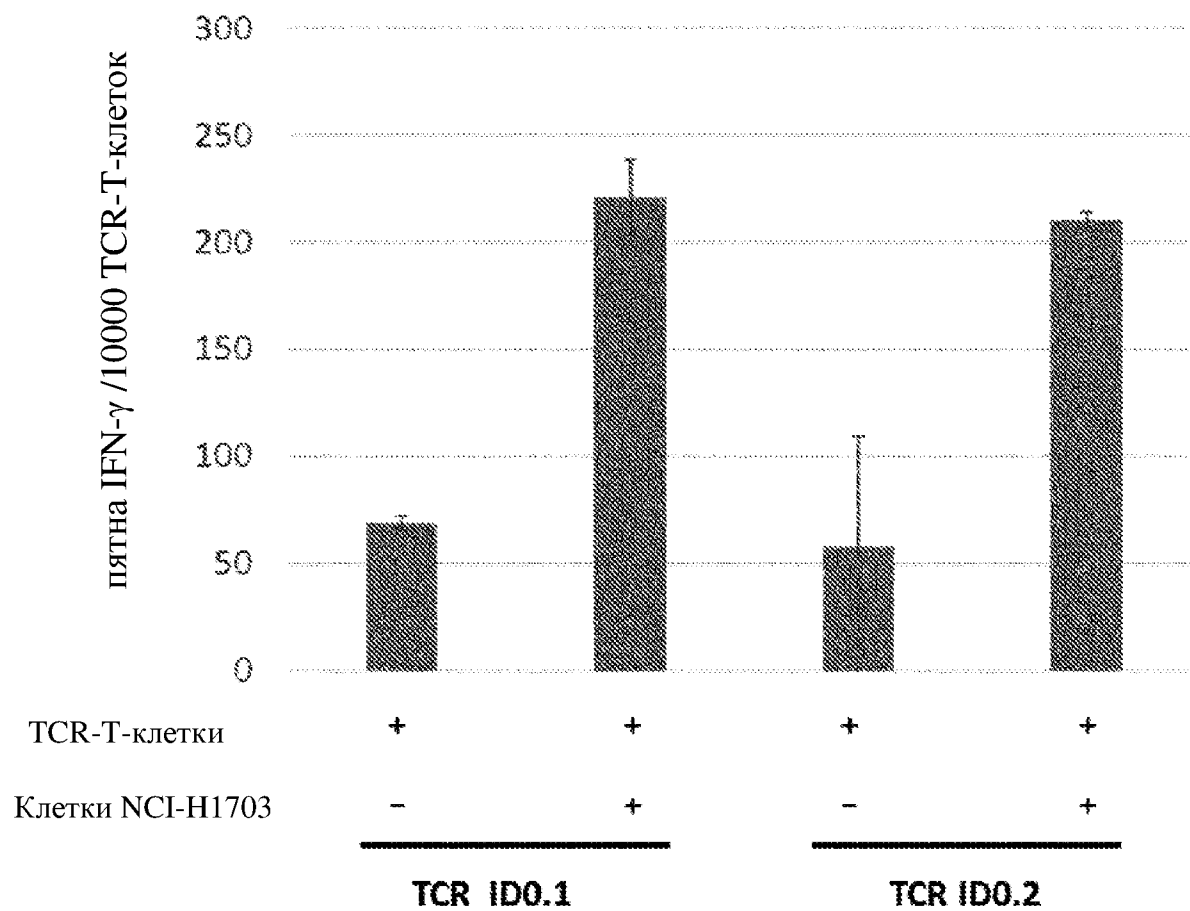
Фиг. 2



Фиг. 3

Col 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	NN
ID пациен- та	CDR3 β	CDR3 α	Коэф- фици- ент tsTCR	Част. встреч. β	V β	J β	V α	J α	Типы HLA, 4- разрядные	Маркер активации 1 (например, PD1)	Маркер активации 2 (например, LAG3)	Маркер активации 3 (например, TIM3)	

Фиг. 4



Фиг. 5

Число TCR-T-клеток, образующих пятно IFN- γ

