

权 利 要 求

1. 一种 T 细胞受体 (TCR), 其特征在于, 所述 TCR 具有结合 KASEKIFYV-HLA A0201 复合物的活性, 并且, 所述 TCR 的 α 链可变域包含与 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列有至少 90% 的序列同源性的氨基酸序列; 和所述 TCR 的 β 链可变域包含与 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列有至少 90% 的序列同源性的氨基酸序列。

2. 如权利要求 1 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 TCR 与 KASEKIFYV-HLA A0201 复合物的亲和力是野生型 TCR 的至少 2 倍。

3. 如权利要求 1 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 TCR 是可溶的。

4. 如权利要求 1 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 TCR 为 $\alpha\beta$ 异质二聚 TCR。优选地, 所述 TCR 具有 α 链恒定区序列 TRAC*01 和 β 链恒定区序列 TRBC1*01 或 TRBC2*01。

5. 如权利要求 1 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 TCR α 链可变域包含 3 个 CDR 区, CDR1 α 、CDR2 α 和 CDR3 α , 其中, CDR1 α 的氨基酸序列为 DSSSTY, CDR2 α 的氨基酸序列为 IFSNMMDM, 和 CDR3 α 的氨基酸序列为 AEPNQAGTALI。

6. 如权利要求 1 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 TCR β 链可变域包含 3 个 CDR 区, CDR1 β 、CDR2 β 和 CDR3 β , 其中, CDR1 β 的氨基酸序列为 MNHEY, 和 CDR2 β 的氨基酸序列为 SVGEGT。

7. 如权利要求 1 所述的 TCR, 其中, 所述 TCR β 链可变域包含 3 个 CDR 区, CDR1 β 、CDR2 β 和 CDR3 β , CDR3 β 的基准氨基酸序列为 ASSSLEDPYEQY, 其特征在于, 所述 TCR 在 CDR3 β 中含有至少一个突变; 优选地, 突变个数为 4 个。

8. 如权利要求 1 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 TCR 的 α 链可变域氨基酸序列为 SEQ ID NO: 1。

9. 如权利要求 1 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 TCR 的 α 链可变域包含与 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列有至少 95% 的序列同源性的氨基酸序列; 和所述 TCR 的 β 链可变域包含与 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列有至少 95% 的序列同源性的氨基酸序列。

10. 如权利要求 1 所述 TCR, 所述 TCR α 链可变域包含 3 个 CDR 区, CDR1 α 、CDR2 α 和 CDR3 α , 其特征在于, 所述 TCR α 链可变域的 3 个 CDR 区的基准序列如下,

CDR1 α : DSSSTY

CDR2 α : IFSNMMDM

CDR3 α : AEPNQAGTALI, 并且含有至少一个下列突变:

突变前的残基	突变后的残基
CDR1 α 的第 2 位 S	K 或 P 或 R 或 T
CDR1 α 的第 3 位 S	M 或 W
CDR1 α 的第 4 位 S	A
CDR2 α 的第 4 位 N	Y
CDR2 α 的第 5 位 M	Q

CDR2 α 的第 6 位 D	S 或 T
CDR2 α 的第 7 位 M	E 或 T
CDR3 α 的第 5 位 Q	A 或 D 或 E 或 K 或 N 或 R 或 S 或 T
CDR3 α 的第 6 位 A	S 或 V
CDR3 α 的第 7 位 G	H 或 Q 或 T
CDR3 α 的第 8 位 T	S

11. 如权利要求 1 所述 TCR, 所述 TCR β 链可变域包含 3 个 CDR 区, CDR1 β 、CDR2 β 和 CDR3 β , 其特征在于, 所述 TCR β 链可变域的 3 个 CDR 区的基准序列如下,

CDR1 β : MNHEY

CDR2 β : SVGEGT

5 CDR3 β : ASSSLEDPYEQY, 并且含有至少一个下列突变:

突变前的残基	突变后的残基
CDR2 β 的第 1 位 S	H
CDR2 β 的第 2 位 V	D 或 L
CDR2 β 的第 3 位 G	E 或 W
CDR2 β 的第 4 位 E	L 或 V
CDR3 β 的第 3 位 S	A
CDR3 β 的第 4 位 S	D
CDR3 β 的第 5 位 L	I 或 V
CDR3 β 的第 6 位 E	Q 或 T
CDR3 β 的第 9 位 Y	F
CDR3 β 的第 10 位 E	I 或 P 或 V
CDR3 β 的第 11 位 Q	K 或 L 或 M 或 V
CDR3 β 的第 12 位 Y	A 或 E 或 I 或 L 或 N 或 Q 或 R 或 S 或 T 或 V

12. 如权利要求 1 所述的 TCR, 其中, 所述 TCR α 链可变域包含 3 个 CDR, CDR1 α 、CDR2 α 和 CDR3 α , 其特征在于, CDR1 α 的氨基酸序列选自下组: DSSSTY、DPWATY、DRMSTY、DTMSTY 和 DKMSTY; 和/或 CDR2 α 的氨基酸序列选自下组: IFSNMDM、IFSYQST、IFSYMTE 和 IFSYQSE; 和/或 CDR3 α 的氨基酸序列选自下组: AEPNQAGTALI、
10 AEPNNSHSALI、AEPNASHSALI、AEPNKSHSALI、AEPNSSHSALI 和 AEPNQSHSALI。

13. 如权利要求 1 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 TCR β 链可变域包含 3 个 CDR 区, CDR1 β 、CDR2 β 和 CDR3 β , 其中, 所述 TCR 的 CDR3 β 选自下组: ASSSLEDPFVKR、ASADVQDPYEQY 和 ASADIQDPYEQY。

14. 如权利要求 1 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 TCR β 链可变域包含 3 个 CDR 区,
15 CDR1 β 、CDR2 β 和 CDR3 β , 其中, 所述 TCR 的 CDR2 β 选自下组: SVGEGT、SLEVGT、HDWLGT 和 SDWLGT。

15. 如权利要求 1 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 TCR α 链可变域包含 3 个 CDR, CDR1 α 、CDR2 α 和 CDR3 α , 和所述 TCR β 链可变域包含 3 个 CDR 区, CDR1 β 、CDR2 β 和 CDR3 β ,

并且所述 TCR α 和 β 链可变域具有选自下组的 CDR:

CDR 编号	A-CDR1	A-CDR2	A-CDR3	B-CDR1	B-CDR2	B-CDR3
1	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNQAGTALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPFVKR
2	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNQAGTALI	MNHEY	SVGEGT	ASADVQDPYEQY
3	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNQAGTALI	MNHEY	SVGEGT	ASADIQDPYEQY
4	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNQAGTALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYVMT
5	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNQAGTALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYIKY
6	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNQAGTALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYIVT
7	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNQAGTALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYVKI
8	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNQAGTALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYIKT
9	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNQAGTALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYILN
10	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNQAGTALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYILT
11	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNNSHSALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYEQY
12	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNAAHSALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYEQY
13	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNASHSALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYEQY
14	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNSSHSALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYEQY
15	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNSAHSALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYEQY
16	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNNAHSALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYEQY
17	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNKSHSALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYEQY
18	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNQAHSALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYEQY
19	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNQSHSALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYEQY
20	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNRSHSALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYEQY
21	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNKAHSALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYEQY
22	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNTSHSALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYEQY
23	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNDVTTALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYEQY
24	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNESQSALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYEQY
25	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNQAGTALI	MNHEY	SVGEGT	ASSDVTDPYEQY
26	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNQAGTALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYIMA
27	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNQAGTALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYVLE
28	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNQAGTALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYPML
29	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNQAGTALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYVVS
30	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNQAGTALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSLEDPYVMV
31	DSSSTY	IFSNMDM	AEPNQAGTALI	MNHEY	SVGEGT	ASSSVEDPYEQY
32	DPWATY	IFSYQST	AEPNNSHSALI	MNHEY	SLEVGT	ASADVQDPYEQY
33	DPWATY	IFSYMTE	AEPNASHSALI	MNHEY	HDWLGT	ASSSLEDPYVMV
34	DPWATY	IFSYQSE	AEPNKSHSALI	MNHEY	HDWLGT	ASSSLEDPYIKY
35	DPWATY	IFSYMTE	AEPNNSHSALI	MNHEY	HDWLGT	ASSSLEDPYVMQ
36	DPWATY	IFSYQST	AEPNKSHSALI	MNHEY	SDWLGT	ASADIQDPYEQY

37	DPWATY	IFSQST	AEPNNSHSALI	MNHEY	SLEVGT	ASSSLEDPYIKT
38	DPWATY	IFSMTTE	AEPNASHSALI	MNHEY	SLEVGT	ASSSLEDPYVMQ
39	DPWATY	IFSMTTE	AEPNSSHSALI	MNHEY	SDWLGT	ASSSLEDPYVME
40	DRMSTY	IFSQST	AEPNSSHSALI	MNHEY	SDWLGT	ASADVQDPYEQY
41	DTMSTY	IFSMTTE	AEPNKSHSALI	MNHEY	SDWLGT	ASADVQDPYEQY
42	DKMSTY	IFSQST	AEPNNSHSALI	MNHEY	SDWLGT	ASADVQDPYEQY
43	DKMSTY	IFSMTTE	AEPNNSHSALI	MNHEY	SDWLGT	ASADVQDPYEQY
44	DPWATY	IFSMTTE	AEPNNSHSALI	MNHEY	SLEVGT	ASADIQDPYEQY
45	DPWATY	IFSMTTE	AEPNASHSALI	MNHEY	SLEVGT	ASADVQDPYEQY
46	DPWATY	IFSQSE	AEPNKSHSALI	MNHEY	SLEVGT	ASADVQDPYEQY
47	DPWATY	IFSMTTE	AEPNNSHSALI	MNHEY	SLEVGT	ASADVQDPYEQY
48	DPWATY	IFSQST	AEPNKSHSALI	MNHEY	SLEVGT	ASADVQDPYEQY
49	DPWATY	IFSMTTE	AEPNSSHSALI	MNHEY	SLEVGT	ASADVQDPYEQY
50	DPWATY	IFSQST	AEPNNSHSALI	MNHEY	SLEVGT	ASADIQDPYEQY
51	DPWATY	IFSMTTE	AEPNASHSALI	MNHEY	SLEVGT	ASADIQDPYEQY
52	DPWATY	IFSQSE	AEPNKSHSALI	MNHEY	SLEVGT	ASADIQDPYEQY
53	DPWATY	IFSQST	AEPNKSHSALI	MNHEY	SLEVGT	ASADIQDPYEQY
54	DPWATY	IFSMTTE	AEPNSSHSALI	MNHEY	SLEVGT	ASADIQDPYEQY

16. 如权利要求 1 所述的 TCR，其特征在于，所述 TCR 包含(i)除其跨膜结构域以外的全部或部分 TCR α 链，和(ii)除其跨膜结构域以外的全部或部分 TCR β 链，其中(i)和(ii)均包含 TCR 链的可变域和至少一部分恒定域。

17. 如权利要求 16 所述的 TCR，其特征在于，所述 TCR 的 α 链恒定区与 β 链恒定区之间含有人工链间二硫键，优选地，所述 TCR α 与 β 链的恒定区之间形成人工链间二硫键的半胱氨酸残基取代了选自下列的一组或多组位点：

- TRAC*01 外显子 1 的 Thr48 和 TRBC1*01 或 TRBC2*01 外显子 1 的 Ser57；
- TRAC*01 外显子 1 的 Thr45 和 TRBC1*01 或 TRBC2*01 外显子 1 的 Ser77；
- TRAC*01 外显子 1 的 Tyr10 和 TRBC1*01 或 TRBC2*01 外显子 1 的 Ser17；
- TRAC*01 外显子 1 的 Thr45 和 TRBC1*01 或 TRBC2*01 外显子 1 的 Asp59；
- TRAC*01 外显子 1 的 Ser15 和 TRBC1*01 或 TRBC2*01 外显子 1 的 Glu15；
- TRAC*01 外显子 1 的 Arg53 和 TRBC1*01 或 TRBC2*01 外显子 1 的 Ser54；
- TRAC*01 外显子 1 的 Pro89 和 TRBC1*01 或 TRBC2*01 外显子 1 的 Ala19；
- 和 TRAC*01 外显子 1 的 Tyr10 和 TRBC1*01 或 TRBC2*01 外显子 1 的 Glu20。

18. 如权利要求 1 所述的 TCR，其特征在于，所述 TCR 的 α 链可变域氨基酸序列选自：SEQ ID NO: 1 和 64-87；和/或所述 TCR 的 β 链可变域氨基酸序列选自：SEQ ID NO: 88-114。

19. 如权利要求 1 所述的 TCR，其特征在于，所述 TCR 选自下组：

TCR 编号	α 链可变域序列 SEQ ID NO:	β 链可变域序列 SEQ ID NO:
--------	-------------------------------	------------------------------

1	1	88
2	1	89
3	1	90
4	1	91
5	1	92
6	1	93
7	1	94
8	1	95
9	1	96
10	1	97
11	64	2
12	65	2
13	66	2
14	67	2
15	68	2
16	69	2
17	70	2
18	71	2
19	72	2
20	73	2
21	74	2
22	75	2
23	76	2
24	77	2
25	1	98
26	1	99
27	1	100
28	1	101
29	1	102
30	1	103
31	1	104
32	78	105
33	79	106
34	80	107
35	81	108
36	82	109

37	78	110
38	79	111
39	83	112
40	84	113
41	85	113
42	86	113
43	87	113
44	81	114
45	79	105
46	80	105
47	81	105
48	82	105
49	83	105
50	78	114
51	79	114
52	80	114
53	82	114
54	83	114

20. 如权利要求 1 所述的 TCR，其特征在于，所述 TCR 为单链 TCR。

21. 如权利要求 1 所述的 TCR，其特征在于，所述 TCR 是由 α 链可变域和 β 链可变域组成的单链 TCR，所述 α 链可变域和 β 链可变域由一柔性短肽序列(linker)连接。

22. 如以上任一权利要求所述的 TCR，其特征在于，所述 TCR 的 α 链和/或 β 链的 C-
5 或 N-末端结合有偶联物，优选地，所述偶联物为可检测标记物；更优选地，所述偶联物为抗-CD3 抗体。

23. 一种多价 TCR 复合物，其特征在于，所述 TCR 复合物包含至少两个 TCR 分子，并且其中的至少一个 TCR 分子为上述任一权利要求中所述的 TCR。

24. 一种核酸分子，其特征在于，所述核酸分子包含编码权利要求 1-22 中任一项所述
10 的 TCR 的核酸序列或其互补序列。

25. 一种载体，其特征在于，所述的载体含有权利要求 24 中所述的核酸分子。

26. 一种宿主细胞，其特征在于，所述的宿主细胞中含有权利要求 27 中所述的载体或染色体中整合有外源的权利要求 24 中所述的核酸分子。

27. 一种分离的细胞，其特征在于，所述细胞表达权利要求 1-22 中任一项所述的 TCR。

15 28. 一种药物组合物，其特征在于，所述组合物含有药学上可接受的载体以及权利要求 1-22 中任一项所述的 TCR、或权利要求 23 中所述的 TCR 复合物、或权利要求 27 中所述的细胞。

29. 一种治疗疾病的方法，其特征在于，包括给需要治疗的对象施用权利要求 1-22 中

任一项所述的 TCR、或权利要求 23 中所述的 TCR 复合物、或权利要求 27 中所述的细胞、或权利要求 28 中所述的药物组合物。

30. 权利要求 1-22 中任一项所述的 T 细胞受体、权利要求 23 中所述的 TCR 复合物或权利要求 27 中所述细胞的用途，其特征在于，用于制备治疗肿瘤的药物。

5 31. 权利要求 1-22 中任一项所述的 T 细胞受体、权利要求 23 中所述的 TCR 复合物或权利要求 27 中所述的细胞用作治疗肿瘤的药物。

32. 一种制备权利要求 1-22 中任一项所述的 T 细胞受体的方法，其特征在于，包括步骤：

- 10 (i) 培养权利要求 26 中所述的宿主细胞，从而表达权利要求 1-22 中任一项所述的 T 细胞受体；
- (ii) 分离或纯化出所述的 T 细胞受体。