

权 利 要 求

1. 一种 T 细胞受体 (TCR)，其特征在于，其具有结合 SLLMWITQC-HLA A2 复合物的活性，并且所述 T 细胞受体包含 TCR α 链可变域和 TCR β 链可变域，所述 TCR α 链可变域包含 3 个 CDR 区，所述 TCR α 链可变域的 3 个 CDR 区的基准序列如下，

CDR1 α : TSINN

CDR2 α : IRSNERE

CDR3 α : ATDANGKII，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 1 位 T	G
CDR1 α 的第 2 位 S	W
CDR1 α 的第 3 位 I	A 或 V
CDR1 α 的第 4 位 N	Q
CDR2 α 的第 3 位 S	T
CDR2 α 的第 4 位 N	G
CDR2 α 的第 5 位 E	Q
CDR2 α 的第 6 位 R	A 或 Q
CDR3 α 的第 1 位 A	M
CDR3 α 的第 2 位 T	Y
CDR3 α 的第 4 位 A	E 或 Q
CDR3 α 的第 5 位 N	F 或 Y 或 W
CDR3 α 的第 6 位 G	A 或 Q
CDR3 α 的第 7 位 K	W 或 R 或 T 或 S 或 M 或 L
CDR3 α 的第 8 位 I	W 或 V 或 Y 或 P，和
CDR3 α 的第 9 位 I	N 或 E 或 D 或 Q 或 V 或 K 或 G 或 M 或 S

- 和/或，所述 TCR β 链可变域包含 3 个 CDR 区，所述 TCR β 链可变域的 3 个 CDR 区的基准序列如下，

CDR1 β : SGHDY

CDR2 β : FNNNVP

CDR3 β : ASSLGSENEY，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 3 位 N	H
CDR2 β 的第 4 位 N	G
CDR2 β 的第 5 位 V	A
CDR2 β 的第 6 位 P	V
CDR3 β 的第 3 位 S	Q 或 M
CDR3 β 的第 4 位 L	R 或 K 或 M，和

CDR3 β 的第 6 位 S	A 或 G 或 P 。
-----------------------	-------------

2. 如权利要求 1 所述的 TCR, 其特征在于, 其具有结合 SLLMWITQC-HLA A2 复合物的活性, 并包含 TCR α 链可变域和 TCR β 链可变域, 所述 TCR 在 SEQ ID NO: 1 所示的 α 链可变域中发生突变, 所述突变的氨基酸残基位点包括 27T、28S、29I、30N、51S、52N、53E、54R、90A、91T、93A、94N、95G、96K、97I 和 98I 中的一个或多个, 其中, 氨基酸残基编号采用 SEQ ID NO: 1 所示的编号; 和/或所述 TCR 在 SEQ ID NO: 2 所示的 β 链可变域中发生突变, 所述突变的氨基酸残基位点包括 51N、52N、53V、54P、95S、96L 和 98S 中的一个或多个, 其中, 氨基酸残基编号采用 SEQ ID NO: 2 所示的编号;

优选地, 突变后的所述 TCR α 链可变域包括选自下组的一个或多个氨基酸残基: 27G、28W、29A 或 29V、30Q、51T、52G、53Q、54Q 或 54A、90M、91Y、93E 或 93Q、94F 或 94Y 或 94W、95A 或 95Q、96W 或 96R 或 96T 或 96S 或 96M 或 96L、97W 或 97V 或 97Y 或 97P、和 98E 或 98N 或 98D 或 98Q 或 98K 或 98V 或 98G 或 98M 或 98S, 其中, 氨基酸残基编号采用 SEQ ID NO: 1 所示的编号; 和/或突变后的所述 TCR β 链可变域包括选自下组的一个或多个氨基酸残基: 51H、52G、53A、54V、95Q 或 95M、96R 或 96K 或 96M、和 98A 或 98G 或 98P, 氨基酸残基编号采用 SEQ ID NO: 2 所示的编号。

3. 如权利要求 1 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 TCR 与 SLLMWITQC-HLA A2 复合物的亲和力是野生型 TCR 的至少 2 倍。

4. 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 90% 的序列同源性的氨基酸序列; 和/或所述 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。

5. 如权利要求 1 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 TCR 包含 TCR α 链可变域和 TCR β 链可变域, 所述 TCR β 链可变域包含 CDR1 β 、CDR2 β 和 CDR3 β , 其中所述 CDR1 β 包含序列: SGHDY。

6. 如权利要求 1 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 TCR 包含 TCR α 链可变域和 TCR β 链可变域, 所述 TCR β 链可变域包含 CDR1 β 、CDR2 β 和 CDR3 β , 其中所述 CDR2 β 包含序列: FN[2 β X1][2 β X2][2 β X3][2 β X4], 其中, [2 β X1]、[2 β X2]、[2 β X3]、和 [2 β X4]、各独立地选自任意的天然氨基酸残基。

7. 如权利要求 6 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 [2 β X1] 为 N 或 H。

8. 如权利要求 6 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 [2 β X2] 为 N 或 G。

9. 如权利要求 6 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 [2 β X3] 为 V 或 A。

10. 如权利要求 6 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 [2 β X4] 为 P 或 V。

11. 如要求 6 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 CDR2 β 包含选自下组的序列: FNHGAV 和 FNNNP。

12. 如权利要求 1 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 TCR 包含 TCR α 链可变域和 TCR β 链可变域, 所述 TCR β 链可变域包含 CDR1 β 、CDR2 β 和 CDR3 β , 其中所述 CDR3 β 包含序列: AS[3 β X1][3 β X2]G[3 β X3]NEQY, 其中, [3 β X1]、[3 β X2]、[3 β X3] 独立地选自任意的天然氨基酸残基。

13. 如权利要求 12 所述的 TCR, 其特征在于, 所述[3 β X1]为 S、Q 或 M。
14. 如权利要求 12 所述的 TCR, 其特征在于, 所述[3 β X2]为 L、R、K、或 M。
15. 如权利要求 12 所述的 TCR, 其特征在于, 所述[3 β X3]为 S、A、G 或 P。
16. 如权利要求 12 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 CDR3 包含选自下组的序列:
- 5 ASQRGSNEQY、ASQKGANEQY、ASQLGSNEQY、ASQLGANEQY、ASQLGGNEQY、ASQLGPNEQY、ASQRGANEQY、ASQMGSNEQY、ASQMGANEQY 和 ASMLGSNEQY。
17. 如权利要求 1 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 TCR 包含 TCR α 链可变域和 TCR β 链可变域, 所述 TCR α 链可变域包含 CDR1 α 、CDR2 α 和 CDR3 α , 其中, 所述 CDR1 α 包含序列: [1 α X1][1 α X2][1 α X3][1 α X4]N, 其中, [1 α X1]、[1 α X2]、[1 α X3]、[1 α X4]、[1 α X5]独立地选自任意的天然氨基酸残基。
- 10 18. 如权利要求 17 所述的 TCR, 其特征在于, 所述[1 α X1]为 T 或 G。
19. 如权利要求 17 所述的 TCR, 其特征在于, 所述[1 α X2]为 S 或 W。
20. 如权利要求 17 所述的 TCR, 其特征在于, 所述[1 α X3]为 I 或 A 或 V。
21. 如权利要求 17 所述的 TCR, 其特征在于, 所述[1 α X4]为 N 或 Q。
- 15 22. 如权利要求 17 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 CDR1 α 包含选自下组的序列: GSIQN、GWAQN、GWVQN 和 TSINN。
23. 如权利要求 1 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 TCR 包含 TCR α 链可变域和 TCR β 链可变域, 所述 TCR α 链可变域包含 CDR1 α 、CDR2 α 和 CDR3 α , 其中, 所述 CDR2 α 包含序列: IR [2 α X1][2 α X2][2 α X3][2 α X4]E, 其中, [2 α X1]、[2 α X2]、[2 α X3]、[2 α X4]独立地选自任意的天然氨基酸残基。
- 20 24. 如权利要求 23 所述的 TCR, 其特征在于, 所述[2 α X1]为 S 或 T。
25. 如权利要求 23 所述的 TCR, 其特征在于, 所述[2 α X2]为 N 或 G。
26. 如权利要求 23 所述的 TCR, 其特征在于, 所述[2 α X3]为 E 或 Q。
27. 如权利要求 23 所述的 TCR, 其特征在于, 所述[2 α X4]为 R、A 或 Q。
- 25 28. 如权利要求 23 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 CDR2 α 包含选自下组的序列: IRTGEQE、IRTGQAE 和 IRSNERE。

29. 如权利要求 1 所述的 TCR, 其特征在于, 所述 TCR 具有选自下组的 CDR:

TCR 编号	CDR1 α	CDR2 α	CDR3 α	CDR1 β	CDR2 β	CDR3 β
1	TSINN	IRSNERE	ATDAFAWWI	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
2	GWAQN	IRTGEQE	ATDANARWN	SGHDY	FNHGAV	ASSLGSNEQY
3	GSIQN	IRTGEQE	ATDANARWE	SGHDY	FNHGAV	ASSLGSNEQY
4	GSIQN	IRTGEQE	ATDANARWE	SGHDY	FNHGAV	ASQRGSNEQY
5	GSIQN	IRTGEQE	ATDANARWE	SGHDY	FNHGAV	ASQKGANEQY
6	GSIQN	IRTGEQE	ATDANARWD	SGHDY	FNHGAV	ASQLGSNEQY
7	GWAQN	IRSNERE	ATDANARWN	SGHDY	FNHGAV	ASQLGSNEQY
8	GWVQN	IRTGEQE	ATDANARWD	SGHDY	FNHGAV	ASSLGSNEQY
9	GSIQN	IRSNERE	ATDANARWD	SGHDY	FNHGAV	ASQLGANEQY
10	GWAQN	IRSNERE	ATDANARWD	SGHDY	FNHGAV	ASQLGSNEQY
11	GSIQN	IRSNERE	ATDANARWE	SGHDY	FNHGAV	ASQKGANEQY
12	TSINN	IRSNERE	ATDANGKII	SGHDY	FNNNVP	ASQLGGNEQY

13	TSINN	IRSNERE	ATDANGKII	SGHDY	FNNNVP	ASQKGANEQY
14	TSINN	IRSNERE	ATDANGKII	SGHDY	FNNNVP	ASQLGPNEQY
15	TSINN	IRSNERE	ATDANGKII	SGHDY	FNNNVP	ASQRGANEQY
16	TSINN	IRSNERE	ATDANGKII	SGHDY	FNNNVP	ASQMGSNEQY
17	TSINN	IRSNERE	ATDANGKII	SGHDY	FNNNVP	ASQLGSNEQY
18	TSINN	IRSNERE	ATDANGKII	SGHDY	FNNNVP	ASQLGSNEQY
19	TSINN	IRSNERE	MYDENGKII	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
20	TSINN	IRSNERE	MYDQNGKII	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
21	TSINN	IRSNERE	ATDAYGTVQ	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
22	TSINN	IRSNERE	ATDANGTVQ	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
23	TSINN	IRSNERE	ATDANGSVQ	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
24	TSINN	IRSNERE	ATDAYGRYI	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
25	TSINN	IRSNERE	ATDANQMWK	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
26	TSINN	IRSNERE	ATDAYGLPI	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
27	TSINN	IRSNERE	ATDANGLPV	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
28	TSINN	IRSNERE	ATDANGRWE	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
29	TSINN	IRSNERE	ATDANGTVG	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
30	TSINN	IRSNERE	ATDANGRWM	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
31	TSINN	IRSNERE	ATDANGLWS	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
32	GWAQN	IRTGEQE	ATDANARWD	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
33	GWAQN	IRTGQAE	ATDANARWE	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
34	GSIQN	IRSNERE	ATDAFAWWI	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
35	GWVQN	IRTGEQE	ATDANARWN	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
36	GWAQN	IRTGEQE	ATDANARWN	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
37	GWVQN	IRTGEQE	ATDANARWD	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
38	GSIQN	IRTGEQE	ATDAWARWI	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
39	GWVQN	IRTGQAE	ATDANARWE	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
40	GSIQN	IRTGEQE	ATDANARWN	SGHDY	FNNNVP	ASSLGSNEQY
41	TSINN	IRSNERE	ATDANGKII	SGHDY	FNNNVP	ASQMGSNEQY
42	TSINN	IRSNERE	ATDANGKII	SGHDY	FNNNVP	ASQRGANEQY
43	TSINN	IRSNERE	ATDANGKII	SGHDY	FNNNVP	ASQMGSNEQY
44	TSINN	IRSNERE	ATDANGKII	SGHDY	FNNNVP	ASMLGSNEQY

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

31. 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。

32. 如权利要求 31 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。

33. 如权利要求 32 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。

34. 如权利要求 33 所述的 TCR，其特征在于，在所述 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：

- 10 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；
 15 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。

35. 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: 58-86; 和/或所述 TCR 的 β 链可变域氨基酸序列选自: SEQ ID NO: 87-102。

5 36. 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	58	2
2	59	87
3	60	87
4	60	88
5	60	89
6	61	90
7	62	90
8	63	87
9	64	91
10	65	90
11	66	89
12	1	92
13	1	93
14	1	94
15	1	95
16	1	96
17	1	97
18	1	98
19	67	2
20	68	2
21	69	2
22	70	2
23	71	2
24	72	2
25	73	2
26	74	2
27	75	2
28	76	2
29	77	2
30	78	2
31	79	2
32	80	2
33	81	2
34	82	2
35	83	2
36	59	2
37	63	2
38	84	2
39	85	2
40	86	2
41	1	99

42	1	100
43	1	101
44	1	102。

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

38. 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。

39. 如权利要求 38 所述的 TCR，其特征在于，所述 TCR α 链可变域和/或 β 链可变域的疏水芯发生突变。

40. 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: 9-37；和/或所述 TCR 的 β 链可变域氨基酸序列选自：SEQ ID NO: 38-53。

41. 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:
s-1	9	4
s-2	10	38
s-3	11	38
s-4	11	39
s-5	11	40
s-6	12	41
s-7	13	41
s-8	14	38
s-9	15	42
s-10	16	41
s-11	17	40
s-12	3	43
s-13	3	44
s-14	3	45
s-15	3	46
s-16	3	47
s-17	3	48
s-18	3	49
s-19	18	4
s-20	19	4
s-21	20	4
s-22	21	4
s-23	22	4
s-24	23	4
s-25	24	4
s-26	25	4
s-27	26	4
s-28	27	4
s-29	28	4
s-30	29	4
s-31	30	4
s-32	31	4
s-33	32	4

s-34	33	4
s-35	34	4
s-36	10	4
s-37	14	4
s-38	35	4
s-39	36	4
s-40	37	4
s-41	3	50
s-42	3	51
s-43	3	52
s-44	3	53。

42. 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-或 N-末端结合有偶联物。

43. 如权利要求 42 所述的 TCR，其特征在于，与所述 TCR 结合的偶联物为可检测标记物、治疗剂、PK 修饰部分或任何这些物质的组合。

5 44. 如权利要求 43 所述的 TCR，其特征在于，与所述 TCR 结合的治疗剂为连接于所述 TCR 的 α 或 β 链的 C-或 N-末端的抗-CD3 抗体。

45. 一种多价 TCR 复合物，其特征在于，包含至少两个 TCR 分子，并且其中的至少一个 TCR 分子为上述权利要求中任一项所述的 TCR。

10 46. 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 1-44 任一所述的 TCR 的核酸序列或其互补序列。

47. 一种载体，其特征在于，所述的载体含有权利要求 46 中所述的核酸分子。

48. 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 47 中所述的载体或染色体中整合有外源的权利要求 46 中所述的核酸分子。

49. 一种分离的细胞，其特征在于，所述细胞表达权利要求 1-44 中任一项所述的 TCR。

15 50. 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 1-44 中任一项所述的 TCR、或权利要求 45 中所述的 TCR 复合物、或权利要求 49 中所述的细胞。

20 51. 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 1-44 中任一所述的 TCR、或权利要求 45 中所述的 TCR 复合物、或权利要求 49 中所述的细胞、或权利要求 50 中所述的药物组合物。

52. 权利要求 1-44 任一项所述的 T 细胞受体、权利要求 45 中所述的 TCR 复合物或权利要求 49 中所述细胞的用途，其特征在于，用于制备治疗肿瘤的药物。

53. 一种制备权利要求 1-44 中任一所述的 T 细胞受体的方法，其特征在于，包括步骤：

25 (i) 培养权利要求 48 所述的宿主细胞，从而表达权利要求 1-44 中任一所述的 T 细胞受体；

(ii) 分离或纯化出所述的 T 细胞受体。