

REIVINDICACIONES

Habiéndose descrito la invención como antecede, se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes reivindicaciones:

1. Un receptor de células T (TCR) que tiene la propiedad de unirse a un complejo GVDGREHTV (SEQ ID NO: 1) HLA-A*02 y que comprende un dominio variable de cadena alfa de TCR y/o un dominio variable de cadena beta de TCR, en donde

el dominio variable de cadena alfa comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una identidad del 90% con los aminoácidos 1-113 de la SEQ ID NO: 2, y/o

el dominio variable de cadena beta comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una identidad del 90% con los aminoácidos 1-116 de la SEQ ID NO: 3.

2. Un TCR que se une a un complejo GVDGREHTV (SEQ ID NO: 1) HLA-A*02 con una afinidad mayor de 200 μ M, en donde: las CDR 1, 2 y 3 de cadena alfa comprenden las SEQ ID NO 6, 7 y 8 respectivamente, y/o las CDR 1, 2 y 3 de cadena beta comprenden las SEQ ID NO 11, 12 y 13 respectivamente; y/o al menos una de las CDR contiene una o más sustituciones conservativas con respecto a las SEQ ID NO: 6-8 y 11-13 y/o al menos una de las CDR contiene hasta tres sustituciones toleradas con respecto a las SEQ ID NO: 6-8 y 11-13 y/o una o más de las mutaciones expuestas en las tablas 1, 2 y 3.

3. Un TCR según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el dominio variable de cadena alfa tiene al menos una de las siguientes mutaciones de CDR respecto a la numeración de la SEQ ID NO: 2:

Residuo	
M50	L
T51	D
F52	Y
S53	A
E54	I
H94	S, R
S95	A
G96	N, D, S, Q
S98	L

(Tabla 1)

y/o el dominio variable de cadena beta tiene al menos una de las siguientes mutaciones de CDR respecto a la numeración de la SEQ ID NO: 3:

Residuo	
M27	A, L
D28	P
H29	L
E30	S
N31	K
Y50	R
D51	F
V52	A
K53	T
M54	G, L
F95	S
L96	D
M97	Q
T98	N

(Tabla 2)

4. Un TCR según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el dominio variable de cadena alfa tiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 de las mutaciones mostradas en la Tabla 1 y/o el dominio variable de cadena beta tiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 de las mutaciones mostradas en la Tabla 2.

5. Un TCR de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde el dominio variable de cadena alfa tiene al menos uno de los siguientes grupos de mutaciones

Grupo 1: M50L, T51D, F52Y, S53A, E54I

Grupo 2: H94S, S95A, G96N, S98L

Grupo 3: H94R S95A, G96D, S98L

Grupo 4: M50L, T51D, F52Y, S53A, E54I, H94R S95A, G96D, S98L

Grupo 5: M50L, H94S, S95A, G96S, S98L

Grupo 6: M50L, H94S, S95A, G96Q, S98L

y/o el dominio variable de cadena beta tiene al menos uno de los siguientes grupos de mutaciones

Grupo 1: M27A, D28P, H29L, E30S, N31K F95S, L96D, M97Q, T98N

Grupo 2: Y50R, D51F, V52A, K53T, M54G, F95S, L96D, M97Q, T98N

Grupo 3: F95S, L96D, M97Q, T98N

Grupo 4: M27L, Y50R, D51F, V52A, K53T, M54G, F95S, L96D, M97Q, T98N

Grupo 5: M27A, D28P, H29L, E30S, N31K, M54L, F95S, L96D, M97Q, T98N

6. Un TCR según cualquier reivindicación anterior, en donde el dominio variable de cadena alfa y el dominio variable de cadena beta tienen los siguientes grupos de mutaciones, respectivamente:

Cadena Alfa			Cadena Beta		
Grupo 4	M50L, F52Y, E54I, S95A, S98L	T51D, S53A, H94R G96D,	Grupo 1	M27A, H29L, F95S, M97Q,	D28P, E30S, N31K L96D, T98N
Grupo 4	M50L, F52Y, E54I, S95A, S98L	T51D, S53A, H94R G96D,	Grupo 5	M27A, H29L, N31K, F95S, M97Q,	D28P, E30S, M54L, L96D, T98N
Grupo 2	H94S, G96N,	S95A, S98L	Grupo 2	Y50R, V52A, M54G, L96D,	D51F, K53T, F95S, M97Q, T98N
Grupo 6	M50L, S95A, S98L	H94S, G96Q,	Grupo 4	M27L, D51F, K53T, F95S, M97Q,	Y50R, V52A, M54G, L96D, T98N
Grupo 5	M50L, S95A, S98L	H94S, G96S,	Grupo 4	M27L, D51F, K53T, F95S, M97Q,	Y50R, V52A, M54G, L96D, T98N

7. Un TCR según cualquier reivindicación anterior, en donde el dominio variable de cadena alfa tiene al menos una de las siguientes mutaciones respecto a la numeración de la SEQ ID NO: 2:

Residuo	
C19	V
K1	A

(Tabla 3)

8. Un TCR según cualquier reivindicación anterior, en donde, en el dominio variable de cadena alfa, la secuencia de residuos de aminoácido 27 - 32, 50 - 56 y 91 - 103 se selecciona entre las siguientes:

Residuos 27 - 32 (CDR1)	Residuos 50 - 56 (CDR2)	Residuos 91 - 103 (CDR3)
VSPFSN	MTFSENT	VVNHSGGSYIPTF
VSPFSN	MTFSENT	VVNSANGLYIPTF
VSPFSN	MTFSENT	VVNRADGLYIPTF
VSPFSN	LDYAIN	VVNHSGGSYIPTF
VSPFSN	LDYAIN	VVNRADGLYIPTF
VSPFSN	LTFSENT	VVNSASGLYIPTF
VSPFSN	LTFSENT	VVNSAQGLYIPTF

9. Un TCR según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y 7, en donde el dominio variable de cadena alfa comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una identidad del 90%, tal como una identidad del 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% con las SEQ ID NO: 16 - 24 o 46 - 64.

10. Un TCR según cualquier reivindicación anterior, en donde, en el dominio variable de cadena beta, la secuencia de residuos de aminoácido 27 - 31, 49 - 54 y 92 - 107 se selecciona entre las siguientes:

Residuos 27 - 31 (CDR1)	Residuos 49 - 54 (CDR2)	Residuos 92 - 107 (CDR3)
MDHEN	SYDVKM	ASSFLMTSGDPYEQYF
MDHEN	SRFATG	ASSSDQNSGDPYEQYF
MDHEN	SYDVKM	ASSSDQNSGDPYEQYF

Residuos 27 - 31 (CDR1)	Residuos 49 - 54 (CDR2)	Residuos 92 - 107 (CDR3)
LDHEN	SRFATG	ASSSDQNSGDPYEQYF
APLSK	SYDVKM	ASSSDQNSGDPYEQYF
APLSK	SYDVKL	ASSSDQNSGDPYEQYF

(Tabla 5)

11. Un TCR según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, 7 y 9, en donde el dominio variable de cadena beta comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una identidad del 90%, tal como una identidad del 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100%, con las SEQ ID NO: 25 - 29 o 65 - 81.

12. Un TCR según cualquier reivindicación anterior, en donde la secuencia de residuos de aminoácido 27-32, 50-56 y 91-103 del dominio variable de cadena alfa y la secuencia de residuos de aminoácido 27-31, 49-54 y 92-107 del dominio variable de cadena beta se seleccionan entre las siguientes:

Cadena alfa			Cadena beta		
27-32	50-56	91-103	27-31	49-54	92-107
VSPFSN	LDYAIN	VVNRADGLYIPT	APLSK	SYDVKM	ASSSDQNSGDPYEQY
	T	F			F
VSPFSN	LDYAIN	VVNRADGLYIPT	APLSK	SYDVKL	ASSSDQNSGDPYEQY
	T	F			F
VSPFSN	MTFSEN	VVNSANGLYIPT	MDHEN	SRFATG	ASSSDQNSGDPYEQY
	T	F			F
VSPFSN	LTFSEN	VVNSAQGLYIPT	LDHEN	SRFATG	ASSSDQNSGDPYEQY
	T	F			F
VSPFSN	LTFSEN	VVNSASGLYIPT	LDHEN	SRFATG	ASSSDQNSGDPYEQY
	T	F			F

(Tabla 6)

13. Un TCR según cualquier reivindicación anterior, en donde el dominio variable de cadena alfa comprende una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 16 a 24 o 46 a 64 y el

dominio variable de cadena beta comprende una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 25 a 29 o 65 a 81.

14. Un TCR según cualquier reivindicación anterior, en donde el dominio variable de cadena alfa y el dominio variable de cadena beta se seleccionan entre las secuencias de aminoácidos de:

Dominio variable de cadena alfa	Dominio variable de cadena beta
SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 26
SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 27
SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 28
SEQ ID NO: 24	SEQ ID NO: 29
SEQ ID NO: 23	SEQ ID NO: 29

15. Un TCR según cualquier reivindicación anterior, que es un heterodímero alfa-beta, que tiene una secuencia de dominio constante TRAC de cadena alfa y una secuencia de dominio constante TRBC1 o TRBC2 de cadena beta.

16. Un TCR según la reivindicación 15, en donde las secuencias de dominio constante de cadena alfa y beta están modificadas por truncamiento o sustitución para eliminar un enlace disulfuro nativo entre la Cys4 del exón 2 de TRAC y la Cys2 del exón 2 de TRBC1 o TRBC2.

17. Un TCR según la reivindicación 15 o la reivindicación 16, en donde la(s) secuencia(s) de dominio constante de cadena alfa y/o beta están modificadas por sustitución con residuos de cisteína de la Thr 48 de TRAC y la Ser 57 de TRBC1 o TRBC2, formando dichas cisteínas un enlace disulfuro no nativo entre los dominios constantes alfa y beta del TCR.

18. Un TCR según cualquier reivindicación anterior, que está en un formato monocatenario del tipo $V\alpha$ -L- $V\beta$, $V\beta$ -L- $V\alpha$, $V\alpha$ - $C\alpha$ -L- $V\beta$, $V\alpha$ -L- $V\beta$ - $C\beta$, en donde $V\alpha$ y $V\beta$ son regiones variables α y β de TCR, respectivamente, $C\alpha$ y $C\beta$ son regiones constantes α y β de TCR, respectivamente, y L es una secuencia enlazadora.

19. Un TCR según cualquier reivindicación anterior asociado a un marcador detectable, un agente terapéutico o un resto modificador de PK.

20. Un TCR según la reivindicación 19, en donde un anticuerpo anti-CD3 está unido covalentemente al extremo C o N de la cadena alfa o beta del TCR.

21. Un TCR según la reivindicación 20, en donde el anticuerpo anti-CD3 está unido covalentemente al extremo C o N de la cadena beta del TCR a través de una secuencia enlazadora.

22. Un TCR según la reivindicación 21, en donde la secuencia enlazadora se selecciona del grupo que consiste en GGGGS (SEQ ID NO: 30), GGGSG (SEQ ID NO: 31), GGSGG (SEQ ID NO: 32), GSGGG (SEQ ID NO: 33), GSGGGP (SEQ ID NO: 34), GGEPS (SEQ ID NO: 35), GGEGGGP (SEQ ID NO: 36) y GGEGGGSEGGGS (SEQ ID NO: 37).

23. Una molécula de fusión de TCR-anti-CD3 en donde el dominio variable de cadena alfa comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre las SEQ ID NO: 16-24 o 46-64 y el dominio variable de cadena beta comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre las SEQ ID NO: 25-29 o 65-81, y en donde el anticuerpo anti-CD3 está unido covalentemente al extremo N o al extremo C de la cadena beta de TCR a través de una secuencia enlazadora seleccionada entre las SEQ ID NO: 30-37.

24. Una molécula de fusión de TCR-anti-CD3 según la reivindicación 23, que comprende

una secuencia de aminoácidos de cadena alfa seleccionada entre las SEQ ID NO: 38-41, o una secuencia de aminoácidos de cadena alfa que tiene al menos una identidad del 90%, tal como una identidad del 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100%, con las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 38 a 41,

y una secuencia de aminoácidos de cadena beta seleccionada entre las secuencias de las SEQ ID NO: 42-45 o una secuencia de aminoácidos de cadena beta que tiene al menos una identidad del 90%, tal como una identidad del 90%, 91%, 92%, 93%,

94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100%, con las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 42 a 45.

25. Una molécula de fusión de TCR-anti CD3 según la reivindicación 24, que comprende

(a) una secuencia de aminoácidos de cadena alfa que corresponde a la SEQ ID NO: 38 y una secuencia de aminoácidos de cadena beta que corresponde a la SEQ ID NO: 42;

(b) una secuencia de aminoácidos de cadena alfa que corresponde a la SEQ ID NO: 38 y una secuencia de aminoácidos de cadena beta que corresponde a la SEQ ID NO: 43;

(c) una secuencia de aminoácidos de cadena alfa que corresponde a la SEQ ID NO: 39 y una secuencia de aminoácidos de cadena beta que corresponde a la SEQ ID NO: 44;

(d) una secuencia de aminoácidos de cadena alfa que corresponde a la SEQ ID NO: 40 y una secuencia de aminoácidos de cadena beta que corresponde a la SEQ ID NO: 45; o

(e) una secuencia de aminoácidos de cadena alfa que corresponde a la SEQ ID NO: 41 y una secuencia de aminoácidos de cadena beta que corresponde a la SEQ ID NO: 45.

26. Un ácido nucleico que codifica una cadena alfa de TCR y/o una cadena beta de TCR según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores.

27. Un vector de expresión que comprende el ácido nucleico de la reivindicación 26.

28. Una célula que alberga

(a) un vector de expresión según la reivindicación 27 que codifica cadenas alfa y beta de TCR según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25, en una sola fase de lectura abierta o dos fases de lectura abierta distintas; o

(b) un primer vector de expresión que comprende ácido nucleico que codifica la cadena alfa de un TCR según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25, y un segundo vector de expresión que comprende ácido nucleico que codifica la cadena beta de un TCR según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25.

29. Una célula no natural y/o purificada y/o modificada por ingeniería genética, especialmente una célula T, que presenta un TCR según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22.

30. Una composición farmacéutica que comprende un TCR según una cualquiera de las reivindicaciones 1-22, una molécula de fusión de TCR-anti CD3 según una cualquiera de las reivindicaciones 23-25, un ácido nucleico según la reivindicación 26 y/o una célula según la reivindicación 28 o 29, junto con uno o más vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables.

31. El TCR de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22, molécula de fusión de TCR-anti-CD3 de una cualquiera de las reivindicaciones 23-25, ácido nucleico de la reivindicación 26, composición farmacéutica de la reivindicación 30 y/o célula de la reivindicación 28 o 29, para uso en medicina, preferentemente en un sujeto humano.

32. El TCR de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22, molécula de fusión de TCR-anti-CD3 de una cualquiera de las reivindicaciones 23-25, ácido nucleico de la reivindicación 26, composición farmacéutica de la reivindicación 30 y/o célula de la reivindicación 28 o 29, para uso en un método de tratamiento de un cáncer o un tumor, preferentemente en un sujeto humano.

33. El TCR, molécula de fusión de TCR anti-CD3, ácido nucleico, composición farmacéutica y/o célula para uso de acuerdo con la reivindicación 32, en donde el sujeto humano tiene un tumor que expresa MAGE A4.

34. El TCR, molécula de fusión de TCR anti-CD3, ácido nucleico, composición farmacéutica y/o célula para uso de acuerdo con las reivindicaciones 32 o 33, en donde el tumor es un tumor sólido.

35. El TCR, molécula de fusión de TCR anti-CD3, ácido nucleico, composición farmacéutica y/o célula para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 32 a 34, en donde el sujeto humano es del subtipo HLA-A*02.

36. El TCR, molécula de fusión de TCR-anti-CD3, ácido nucleico, composición farmacéutica y/o célula para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 32 a 35, que se administra por inyección, tal como inyección intravenosa o intratumoral directa.

37. Un método para el tratamiento de un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar a dicho sujeto una dosis farmacéuticamente eficaz de una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 30.

38. Un método según la reivindicación 37, que comprende además administrar por separado, en combinación o secuencialmente, un agente antineoplásico.

39. Una formulación inyectable para administrar a un sujeto humano, que comprende un TCR de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 o una molécula de fusión de TCR-anti-CD3 de una cualquiera de las reivindicaciones 23-25.

40. Un método para producir un TCR de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22, o una molécula de fusión de TCR-anti-CD3 de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 23-25, que comprende a) mantener una célula de acuerdo con la reivindicación 28 en condiciones óptimas para la expresión del ácido de las cadenas de TCR y b) aislar las cadenas de TCR.