

REIVINDICACIONES

1. Un constructo reconocedor de antígeno recombinante que se une específicamente al péptido antigénico denominado Antígeno Expresado Preferencialmente en el Melanoma (PRAME, por sus siglas en inglés), de acuerdo con la SEQ ID NOs: 97, caracterizado porque comprende un dominio variable alfa de TCR o un dominio variable beta TCR o un dominio variable gamma de TCR y un dominio variable delta de TCR, y en el que
 - (i) el dominio variable alfa de TCR o el dominio variable gamma de TCR comprende la región determinante complementaria (CDR) 1 según la SEQ ID NO: 1 y CDR3 según la SEQ ID NO: 3; y el dominio variable beta de TCR o el dominio variable delta de TCR comprende CDR1 según la SEQ ID NO: 7 y CDR3 según la SEQ ID NO: 9; o
 - (ii) el dominio variable alfa de TCR o el dominio variable gamma de TCR comprende CDR1 según la SEQ ID NO: 13 y CDR3 según la SEQ ID NO: 15; y el dominio variable beta de TCR o el dominio variable delta de TCR comprende CDR1 según la SEQ ID NO: 19 y CDR3 según la SEQ ID NO: 21; o
 - (iii) el dominio variable alfa de TCR o el dominio variable gamma de TCR comprende CDR1 según la SEQ ID NO: 25 y CDR3 según la SEQ ID NO: 27; y el dominio variable beta de TCR o el dominio variable delta de TCR comprende CDR1 según la SEQ ID NO: 31 y CDR3 según la SEQ ID NO: 33; o
 - (iv) el dominio variable alfa de TCR o el dominio variable gamma de TCR comprende CDR1 según la SEQ ID NO: 37 y CDR3 según la SEQ ID NO: 39; y el dominio variable beta de TCR o el dominio variable delta de TCR comprende CDR1 según la SEQ ID NO: 43 y CDR3 según la SEQ ID NO: 45; o
 - (v) el dominio variable alfa de TCR o el dominio variable gamma de TCR comprende CDR1 según la SEQ ID NO: 49 y CDR3 según la SEQ ID NO: 51; y el dominio variable beta de TCR o el dominio

variable delta de TCR comprende CDR1 según la SEQ ID NO: 55 y CDR3 según la SEQ ID NO: 57; o

(vi) el dominio variable alfa de TCR o el dominio variable gamma de TCR comprende CDR1 según la SEQ ID NO: 61 y CDR3 según la SEQ ID NO: 63; y el dominio variable beta de TCR o el dominio variable delta de TCR comprende CDR1 según la SEQ ID NO: 67 y CDR3 según la SEQ ID NO: 69; o

(vii) el dominio variable alfa de TCR o el dominio variable gamma de TCR comprende CDR1 según la SEQ ID NO: 73 y CDR3 según la SEQ ID NO: 75; y el dominio variable beta de TCR o el dominio variable delta de TCR comprende CDR1 según la SEQ ID NO: 79 y CDR3 según la SEQ ID NO: 81; y

en el que

- (1) dicho constructo reconocedor de antígeno recombinante comprende las respectivas secuencias de aminoácidos de los CDRs con no más de una o dos modificaciones de aminoácidos; y
- (2) dicha modificación de aminoácido es una sustitución con un aminoácido conservativo.

2. El constructo reconocedor de antígeno recombinante acorde con la reivindicación 1, caracterizado porque la sustitución con un aminoácido conservativo ocurre en la primera o la última posición de aminoácido del respectivo CDR.

3. El constructo reconocedor de antígeno recombinante acorde con la reivindicación 1 o 2, caracterizado porque comprende además una secuencia de CDR2 según la SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 196, SEQ ID NO: 197, SEQ ID NO: 198, SEQ ID NO: 199, SEQ ID NO: 200, SEQ ID NO: 201, SEQ ID NO: 202, y SEQ ID NO: 204.

P-37912

Rta. a Oficio No. 14578

Enero 26 de 2022

4. El constructo reconocedor de antígeno recombinante acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que las células T que expresan el constructo reconocedor de antígeno recombinante
 - (i) secretan al menos 200 pg/ml o más de interferón γ (IFN- γ) tras el cocultivo con células diana positivas para HLA-A*02 pulsadas con una concentración baja del antígeno PRAME; o
 - (ii) secretan al menos el doble de IFN- γ que el nivel de fondo no transducido de IFN- γ tras el cocultivo con células diana pulsadas con una concentración baja de un antígeno asociado a tumor (TAA).
5. El constructo reconocedor de antígeno recombinante acorde con la reivindicación 4, en el que la baja concentración del péptido PRAME es de alrededor de 10^{-11} mol/l, 10^{-10} mol/l, 10^{-9} mol/l, 10^{-8} mol/l, 10^{-7} mol/l, 10^{-6} mol/l o 10^{-5} mol/l.
6. El constructo reconocedor de antígeno recombinante acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque comprende una región del dominio variable de la cadena alfa de TCR y una región del dominio variable de la cadena beta de TCR
 - (i) en el que dicha región del dominio variable de la cadena alfa de TCR tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4; o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 4 y en la que la región del dominio variable de la cadena alfa de TCR comprende las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID NOs: 1, 2 y 3; y en el que dicha región del dominio variable de la cadena beta de TCR tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10; o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 10 y en la que la región del dominio variable de la cadena beta de TCR comprende las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID NOs: 7, 8 y 9; o

P-37912

Rta. a Oficio No. 14578

Enero 26 de 2022

- (ii) en el que dicha región del dominio variable de la cadena alfa de TCR tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 16 y en la que la región del dominio variable de la cadena alfa de TCR comprende las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID NOs: 13, 14 y 15; y
en el que dicha región del dominio variable de la cadena beta de TCR tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22; o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 22 y en la que la región del dominio variable de la cadena beta de TCR comprende las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID NOs: 19, 20 y 21; o
- (iii) en el que dicha región del dominio variable de la cadena alfa de TCR tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28; o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 28 y en la que la región del dominio variable de la cadena alfa de TCR comprende las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID NOs: 25, 26 y 27; y
en el que dicha región del dominio variable de la cadena beta de TCR tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 34; o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 34 y en la que la región del dominio variable de la cadena beta de TCR comprende las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID NOs: 31, 32 y 33; o
- (iv) en el que dicha región del dominio variable de la cadena alfa de TCR tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40; o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 40 y en la que la región del dominio variable de la cadena alfa de TCR comprende las secuencias de

aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID NOs: 37, 38 y 39; y

en el que dicha región del dominio variable de la cadena beta de TCR tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 46; o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 46 y en la que la región del dominio variable de la cadena beta de TCR comprende las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID NOs: 43, 44 y 45; o

- (v) en el que dicha región del dominio variable de la cadena alfa de TCR tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 52; o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 52 y en la que la región del dominio variable de la cadena alfa de TCR comprende las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID NOs: 49, 50 y 51; y

en el que dicha región del dominio variable de la cadena beta de TCR tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 58; o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 58 y en la que la región del dominio variable de la cadena beta de TCR comprende las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID NOs: 55, 56 y 57; o

- (vi) en el que dicha región del dominio variable de la cadena alfa de TCR tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64; o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 64 y en la que la región del dominio variable de la cadena alfa de TCR comprende las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID NOs: 61, 62 y 63; y

en el que dicha región del dominio variable de la cadena beta de TCR tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 70; o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 70 y en la que la región del dominio

P-37912

Rta. a Oficio No. 14578

Enero 26 de 2022

variable de la cadena beta de TCR comprende las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID NOs: 67, 68 y 69; o

- (vii) en el que dicha región del dominio variable de la cadena alfa de TCR tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 76; o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 76 y en la que la región del dominio variable de la cadena alfa de TCR comprende las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de la SEQ ID NOs: 73, 74 y 65; y

en el que dicha región del dominio variable de la cadena beta de TCR tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 82; o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 82 y en la que la región del dominio variable de la cadena beta de TCR comprende las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID NOs: 79, 80 y 81; o

- (viii) en el que dicha región del dominio variable de la cadena alfa de TCR tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 130; o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 130 y en la que la región del dominio variable de la cadena alfa de TCR comprende las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de las SEQ ID NOs: 1, 2 y 3; y en el que dicha región del dominio variable de la cadena beta de TCR tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136; o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90% de identidad con la SEQ ID NO: 136 y en la que la región del dominio variable de la cadena beta de TCR comprende las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3 de la SEQ ID NOs: 7, 8 y 9.

7. El constructo reconocedor de antígeno recombinante acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque el constructo reconocedor de antígeno es:

P-37912
Rta. a Oficio No. 14578
Enero 26 de 2022

- (i) un TCR que comprende una cadena variable alfa de TCR y una cadena variable beta de TCR o una cadena variable gamma de TCR y una cadena variable delta de TCR;
 - (ii) un TCR recombinante y comprende un dominio alfa de TCR y un dominio beta de TCR, que además comprende una región constante que tiene al menos 90%, 95%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con un aminoácido seleccionado entre las SEQ ID NO: 5 y 11; SEQ ID NO: 17 y 23; SEQ ID NO: 29 y 35; SEQ ID NO: 41 y 47; SEQ ID NO: 53 y 59; SEQ ID NO: 65 y 71; SEQ ID NO: 77 y 83; SEQ ID NO: 131 y 137;
 - (iii) un TCR recombinante monocatenario (mcTCR);
 - (iv) un TCR heterodimérico $\alpha\beta$ o $\gamma\delta$ recombinante, en el que un enlace disulfuro está presente entre los residuos de los dominios constantes.
8. Un TCR recombinante caracterizado porque comprende o consiste en una cadena alfa de acuerdo con la SEQ ID NO: 132 y una cadena beta de acuerdo con la SEQ ID NO: 138.
9. Un TCR recombinante que comprende o consiste en una cadena alfa de acuerdo con la SEQ ID NO: 6 y una cadena beta de acuerdo con la SEQ ID NO: 12.
10. Un TCR recombinante que comprende o consiste en una cadena alfa de acuerdo con la SEQ ID NO: 18 y una cadena beta de acuerdo con la SEQ ID NO: 24.
11. Un TCR recombinante que comprende o consiste en una cadena alfa de acuerdo con la SEQ ID NO: 30 y una cadena beta de acuerdo con la SEQ ID NO: 36.
12. Un TCR recombinante que comprende o consiste en una cadena alfa de acuerdo con la SEQ ID NO: 42 y una cadena beta de acuerdo con la SEQ ID NO: 48.

P-37912

Rta. a Oficio No. 14578

Enero 26 de 2022

13. Un TCR recombinante que comprende o consiste en una cadena alfa de acuerdo con la SEQ ID NO: 54 y una cadena beta de acuerdo con la SEQ ID NO: 60.
14. Un TCR recombinante que comprende o consiste en una cadena alfa de acuerdo con la SEQ ID NO: 66 y una cadena beta de acuerdo con la SEQ ID NO: 72.
15. Un TCR recombinante que comprende o consiste en una cadena alfa de acuerdo con la SEQ ID NO: 78 y una cadena beta de acuerdo con la SEQ ID NO: 84.
16. Un ácido nucleico recombinante o dos ácidos nucleicos recombinantes separados, caracterizados porque codifican un constructo reconocedor de antígeno acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o un TCR recombinantes acorde con cualquiera de las reivindicaciones 8 a 15.
17. Un vector caracterizado porque comprende el ácido nucleico recombinante o los dos ácidos nucleicos recombinantes separados acordes con la reivindicación 16.
18. Una línea de células hospedadoras caracterizada porque comprende el constructo reconocedor de antígeno recombinante acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o el TCR recombinante acorde con cualquiera de las reivindicaciones 7 a 14, o el ácido nucleico recombinante o los dos ácidos nucleicos recombinantes separados acordes con la reivindicación 16, o el vector recombinante acorde con la reivindicación 17.
19. Una línea de células hospedadoras acorde con la reivindicación 18, caracterizada porque la célula hospedadora es un linfocito, un linfocito T, una célula progenitora de linfocitos T, un linfocito T CD4 positivo o un linfocito T CD8 positivo.

P-37912

Rta. a Oficio No. 14578

Enero 26 de 2022

20. Una composición farmacéutica que comprende el constructo reconocedor de antígeno acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o el TCR recombinante acorde con cualquiera de las reivindicaciones 8 a 15, o el ácido nucleico recombinante o los dos ácidos nucleicos recombinantes separados acordes con la reivindicación 16, o el vector recombinante acorde con la reivindicación 17, o la línea de células hospedadoras acorde con la reivindicación 18 o 19, y un vehículo, estabilizante y/o excipiente que sean farmacéuticamente aceptables.
21. Un método *in vitro* para detectar un péptido antigénico asociado a tumor (TAA, por sus siglas en inglés) PRAME, solo o en complejo con una molécula de MHC, en una muestra biológica, caracterizado porque el método comprende las etapas de:
 - a. poner en contacto la muestra con un constructo reconocedor de antígeno o un TCR recombinante que se une específicamente a dicho péptido PRAME, o al complejo péptido PRAME/MHC, y
 - b. detectar la unión entre dicho constructo reconocedor de antígeno y dicho péptido PRAME, o al complejo péptido PRAME/MHC.
22. Un método *in vitro* para detectar cáncer en una muestra biológica, caracterizado porque el método comprende las etapas pasos de:
 - a. poner en contacto la muestra biológica con un constructo reconocedor de antígeno recombinante acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o el TCR recombinante acorde con cualquiera de las reivindicaciones 8 a 15; y
 - b. detectar la unión del constructo reconocedor de antígeno a la muestra biológica.
23. Un método para producir una línea celular que exprese un constructo reconocedor de antígeno específico de PRAME, caracterizado porque el método comprende:
 - a. proporcionar una célula hospedadora adecuada,

P-37912

Rta. a Oficio No. 14578

Enero 26 de 2022

- b. proporcionar un constructo genético que comprenda una secuencia codificante que codifica un constructo reconocedor de antígeno recombinante acorde con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17 o el TCR recombinante acorde con cualquiera de las reivindicaciones 8 a 15,
 - c. introducir en dicha célula hospedadora adecuada dicho constructo genético, y
 - d. expresar el citado constructo genético por la citada célula hospedadora adecuada.
- 24. El método acorde con la reivindicación 23, caracterizado porque además comprende
 - e. aislar y purificar el constructo reconocedor de antígeno recombinante o el TCR a partir de la célula hospedadora adecuada.
- 25. El método acorde con la reivindicación 24, caracterizado porque además comprende
 - f. reconstituir el constructo reconocedor de antígeno recombinante o el TCR recombinante en un linfocito T.