

CAPÍTULO REIVINDICATORIO MODIFICADO
(Modificaciones Voluntarias Posteriores a la Concesión)

1. Un receptor de linfocitos T (TCR) recombinante que se une específicamente al péptido antigénico del Antígeno Expresado Preferencialmente en el Melanoma (PRAME) de acuerdo con la SEQ ID NO: 97, que comprende un dominio variable alfa de TCR y un dominio variable beta de TCR o un dominio variable gamma de TCR y un dominio variable delta de TCR, y en donde

el dominio variable alfa de TCR o el dominio variable gamma de TCR comprende la región determinante de la complementariedad CDR1 de acuerdo con la SEQ ID NO: 1, la CDR2 de acuerdo con la SEQ ID NO: 2 o la SEQ ID NO: 196 y la CDR3 de acuerdo con la SEQ ID NO: 3; y el dominio variable beta de TCR o el dominio variable delta de TCR comprende la CDR1 de acuerdo con la SEQ ID NO: 7, la CDR2 de acuerdo con la SEQ ID NO: 8 y la CDR3 de acuerdo con la SEQ ID NO: 9.

2. El TCR recombinante de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde los linfocitos T que expresan el TCR 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).

3. El TCR recombinante de acuerdo con la Reivindicación 2, en donde 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.

4. El TCR recombinante de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, que comprende una región del dominio variable de la cadena alfa de TCR y una región del dominio variable de la cadena beta de TCR

en donde dicha región del dominio variable de la cadena alfa de TCR tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 130 y en donde dicha región del dominio variable de la cadena beta de TCR tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136.

5. El TCR recombinante de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4, en

donde el TCR

- (i) comprende un dominio alfa de TCR y un dominio beta de TCR, y comprende además una región constante que tiene una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la SEQ ID NO: 131 y 137;
- (ii) es un TCR recombinante monocatenario (mcTCR); o
- (iii) es un TCR heterodimérico $\alpha\beta$ o $\gamma\delta$ recombinante, en donde un enlace disulfuro está presente entre los residuos de los dominios constantes.

6. Un TCR recombinante que 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.

7. Un ácido nucleico recombinante que codifica el TCR recombinante de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 6.

8. Dos ácidos nucleicos recombinantes separados que codifican el TCR recombinante de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 6.

9. Un vector que comprende el ácido nucleico recombinante o los dos ácidos nucleicos recombinantes separados de acuerdo con la Reivindicación 7 u 8.

10. Una línea de células hospedadoras que comprende el TCR recombinante de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 6, o el ácido nucleico recombinante o los dos ácidos nucleicos recombinantes separados de acuerdo con la Reivindicación 7 u 8, o el vector recombinante de acuerdo con la Reivindicación 9.

11. La línea de células hospedadoras de acuerdo con la Reivindicación 10, en donde 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.

12. Una composición farmacéutica que comprende el TCR recombinante de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 6, o el ácido nucleico recombinante o los dos ácidos nucleicos recombinantes separados de acuerdo con la Reivindicación 7 u 8, o el vector recombinante de acuerdo con la Reivindicación 9, o la línea de células hospedadoras de acuerdo con la Reivindicación 10 u 11, y un vehículo, estabilizante y/o excipiente farmacéuticamente aceptable.

13. Un método *in vitro* para detectar un péptido antigénico asociado a tumor (TAA) PRAME de acuerdo con la SEQ ID NO: 97, en complejo con una molécula del complejo

mayor de histocompatibilidad (MHC), en una muestra biológica, que comprende las etapas de:

- a. poner en contacto la muestra con un TCR recombinante de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 6, que se une específicamente a dicho complejo péptido PRAME/MHC, y
- b. detectar la unión entre dicho TCR recombinante y dicho complejo péptido PRAME/MHC.

14. Un método *in vitro* para detectar cáncer en una muestra biológica, en donde el método comprende las etapas de:

- a. poner en contacto la muestra biológica con el TCR recombinante de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 6; y
- b. detectar la unión del TCR a la muestra biológica.

15. Un método para producir una línea celular que exprese un TCR recombinante específico del péptido diana PRAME de acuerdo con la SEQ ID NO: 97, que comprende:

- a. proporcionar una célula hospedadora adecuada,
- b. proporcionar un constructo genético que comprenda una secuencia codificante que codifica el TCR recombinante de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 6,
- c. introducir en dicha célula hospedadora adecuada dicho constructo genético, y
- d. expresar dicho constructo genético mediante dicha célula hospedadora adecuada.

16. El método de acuerdo con la Reivindicación 15, que comprende además

- e. aislar y purificar el TCR recombinante a partir de la célula hospedadora adecuada.

17. El método de acuerdo con la Reivindicación 16, que comprende además

- f. reconstituir el TCR recombinante en un linfocito T.

ANEXO EXPLICATIVO DE LAS MODIFICACIONES

- Se eliminan las Reivindicaciones 18 a 34.