202334398

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202334398 A

(43)公開日： 中華民國 112 (2023) 年 09 月 01 日

(21)申請案號：111149337 (22)申請日： 中華民國 111 (2022) 年 12 月 22 日

(51)Int. Cl.： *C12N5/0783 (2010.01)* *C12N15/12 (2006.01)*
C12N15/63 (2006.01) *C12N15/64 (2006.01)*
A61K35/17 (2015.01) *A61P35/00 (2006.01)*
A61P25/00 (2006.01)

(30)優先權：2021/12/22 英國 2118797.6

(71)申請人：英商圭爾醫療有限公司 (英國) QUELL THERAPEUTICS LIMITED (GB)
英國

(72)發明人：瑪蒂尼斯 勞德拉 馬克 MARTINEZ-LLORDELLA, MARC (ES)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：37 項 圖式數：10 共 224 頁

(54)名稱

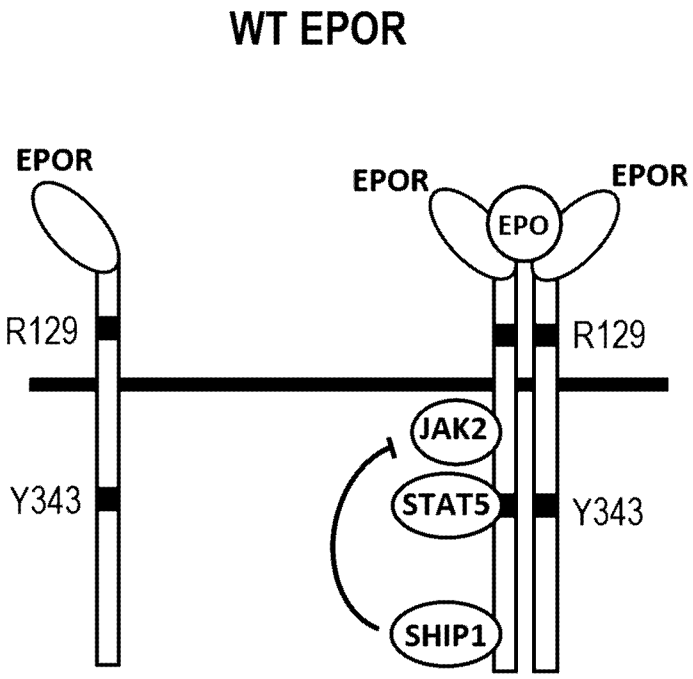
組成型細胞激素受體

(57)摘要

本文提供一種包含胞外域(exodomain)之重組蛋白，該胞外域至少一部分係衍生自 EPOR 之胞外區，其中該胞外域包含允許在缺乏信號誘導分子的情況下使該重組蛋白與第二蛋白二聚化並將信號提供至該 T 細胞之二聚域。本發明亦提供編碼此類重組蛋白之核酸分子、重組構築體、含有該核酸分子之載體及細胞、產生此類細胞之方法及其治療性用途。

There is provided herein a recombinant protein comprising an exodomain, at least a portion of which is derived from the extracellular region of EPOR, wherein the exodomain comprises a dimerisation domain allowing dimerisation of said recombinant protein with a second protein and provision of a signal into said T cell in the absence of a signal inducer molecule. Nucleic acid molecules encoding such a recombinant protein, recombinant constructs, vectors and cells containing the nucleic acid molecule, methods of producing such cells, and therapeutic uses thereof are also provided.

指定代表圖：


WT EPOR
EPOR
EPOR
EPOR
EPO
R129
R129
JAK2
STAT5
Y343
Y343
SHIP1

【圖1】

【發明摘要】

【中文發明名稱】

組成型細胞激素受體

【英文發明名稱】

CONSTITUTIVE CYTOKINE RECEPTORS

【中文】

本文提供一種包含胞外域(exodomain)之重組蛋白，該胞外域至少一部分係衍生自EPOR之胞外區，其中該胞外域包含允許在缺乏信號誘導分子的情況下使該重組蛋白與第二蛋白二聚化並將信號提供至該T細胞之二聚域。本發明亦提供編碼此類重組蛋白之核酸分子、重組構築體、含有該核酸分子之載體及細胞、產生此類細胞之方法及其治療性用途。

【英文】

There is provided herein a recombinant protein comprising an exodomain, at least a portion of which is derived from the extracellular region of EPOR, wherein the exodomain comprises a dimerisation domain allowing dimerisation of said recombinant protein with a second protein and provision of a signal into said T cell in the absence of a signal inducer molecule. Nucleic acid molecules encoding such a recombinant protein, recombinant constructs, vectors and cells containing the nucleic acid molecule, methods of producing such cells, and therapeutic uses thereof are also provided.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

組成型細胞激素受體

【英文發明名稱】

CONSTITUTIVE CYTOKINE RECEPTORS

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種重組蛋白及其在授受性細胞療法(ACT)中之用途。特定言之，重組蛋白可提供表現具有所需組成型信號(例如組成型STAT介導信號)之蛋白質的細胞。信號可賦予細胞所需作用或特性，例如增加之功能、活性、活力或存活期，例如移植之宿主個體中之持久性。亦提供編碼此類重組蛋白之核酸分子、重組構築體、含有核酸分子之載體及細胞、產生此類細胞之方法及其治療性用途。

【先前技術】

【0002】 作為向個體投與功能性免疫細胞之授受性細胞療法(ACT)已成為用於各種醫學病狀(包括尤其惡性或感染性疾病)之已建立及進化的免疫治療方法。最初展示腫瘤浸潤淋巴球在治療轉移性黑色素瘤中有效，且隨後已研發及採用表現嵌合抗原受體(CAR)或異源T細胞受體(TCR)之再定向T細胞或NK細胞以靶向不同細胞目標分子以用於臨床用途。最初的方法使用具有細胞毒性特性之免疫細胞，例如細胞毒性T細胞或NK細胞，以靶向且殺死體內非所需之或有害細胞，但最近已研發出用於ACT之調節性T細胞(Treg)。Treg具有免疫抑制功能。其用於控制細胞病變免疫反應且為維持免疫耐受性所必需的。Treg之抑制特性可在治療上用於例如改善及/或預防發炎性病症、自體免疫疾病及移植中免疫介導之器官損傷。

【0003】 為了適用於ACT，所移植或投與之細胞需要在受體(ACT療法之個體)中以功能狀態存活且持續足夠長的時間，以發揮有用的治療效果。此外，為了以足夠數目製備以供治療用途，需要活體外產生(例如工程改造)、培養及擴增細胞。

【0004】 生長因子介白素-2 (IL-2)對免疫細胞(尤其包括Treg (產生、增殖、存活))之穩態以及其抑制功能及表型穩定性而言至關重要。活化習知T細胞(Tcon)為活體內IL-2之主要來源。相比之下，Treg不能產生IL-2，且依賴於微環境中存在的Tcon產生的IL-2的旁分泌途徑。

【0005】 IL-2之可用性對活體外擴增且轉移至患者中之Treg的治療效果具有重要影響。此係由於以下：1)活體外擴增方案通常需要高濃度IL-2，其使Treg高度依賴於此細胞激素；2)患者中IL-2之濃度由於投與免疫抑制藥物而通常降低；及3)在發炎組織微環境中，IL-2的獲取往往受到限制。鑒於已知發炎肝臟中之IL-2含量降低，肝臟移植構成一個特別具有挑戰性的適應症，而鈣調神經磷酸酶抑制劑的常規使用進一步加劇了該情況，其大大降低Tcon產生IL-2的能力。投與低劑量之外源性IL-2可恢復藉由鈣調神經磷酸酶抑制劑誘導之Treg功能異常且促進Treg在肝臟中積聚。然而，低劑量IL-2之治療用途的一個問題為同時活化Tcon之風險，其可增強組織損傷。

【0006】 在WO 2020/044055中，描述一種方法以避免投與外源性IL-2之需要。在此情況下，Treg細胞經工程改造以表現CAR，CAR已經修飾以使得其能夠在結合至其目標抗原後向細胞提供富有成效的IL-2信號。換言之，CAR之胞內信號傳導域(胞內域(endodomain))包括來源於IL受體之序列或域，其允許其在無內源性IL-2存在下傳輸「IL-2信號」且無

需IL-2結合。IL-2經由轉錄因子STAT5 (信號轉導與轉錄活化因子5)傳導信號，其在其活性狀態下藉由激酶JAK1及/或JAK2磷酸化，該等激酶通常在介白素(例如IL-2)結合至其受體時經活化。因此，WO 2020/044055中之CAR包含胞內域，其包含STAT5締合模體及JAK1-結合模體及/或JAK2-結合模體。

【0007】 類似地，用於ACT之其他免疫細胞，例如細胞毒性T細胞或其他T效應細胞，包括CAR-T細胞，亦可需要或受益於向細胞提供額外信號傳導能力以增加功能之存活或持久性。因此，對額外信號傳導(或更特定而言，經工程改造之信號傳導)之需要(無論係增加存活抑或持久性，抑或改良ACT之細胞之功能活性或治療效果)不限於Treg細胞。

【0008】 儘管WO 2020/04405提供了重要進展，但ACT領域仍需要新的及改良的方法，且特別地繼續需要避免或減少針對每一目標研發改良的CAR之方法，且可具有更普遍應用。

【0009】 紅血球生成素(EPO)為由胚胎肝臟製得之醣蛋白，或在成人中由腎臟血管周間質纖維母細胞製造。EPO產生主要藉由組織低氧刺激活體內，其引起低氧誘導因子(HIF)-1α轉錄因子之穩定及EPO之後續轉錄。EPO藉由結合至紅血球系前驅體細胞上之紅血球生成素受體(EPOR)而誘導紅血球生成，但在非造血組織中額外表現。EPOR為508個胺基酸跨膜受體，包括含有WSXWS模體之細胞外域、單一跨膜疏水區及細胞質域。EPOR在EPO結合時形成均二聚體且能夠經由JAK2、MAPK及PI3激酶及STAT5磷酸化之活化而信號傳導。在文獻中亦已表明EPOR可能夠與CD131雜二聚化。

【0010】 WO2019/169290描述使用嵌合受體以誘導方式將信號引入

至細胞的方法，該等嵌合受體包含能夠在藥劑存在下二聚化之二聚域。WO2019/169290中所揭示之某些構築體包含來自EPOR或IL2RB之域，但僅可在配位體存在下誘導信號傳導。儘管誘導性可允許控制細胞內之信號傳導且可在某些疾病病狀中在配位體可能缺乏或以低含量存在之條件下具有效用，但可減少此等構築體之信號傳導，導致缺乏細胞持久性。因此，需要研發能夠向細胞提供組成型信號之細胞激素受體，其在可誘導性不可能及/或不合乎需要之條件下具有效用。

【發明內容】

【0011】 本發明人已鑑別一種重組蛋白，其能夠在缺乏配位體之情況下均二聚化且向表現重組蛋白之細胞提供組成型信號。詳言之，重組蛋白具有衍生自細胞激素受體之經修飾之細胞外域的胞外域(exodomain)，其中該修飾在缺乏細胞激素受體之天然配位體之情況下促進均二聚化及組成型信號傳導。重組蛋白尤其可額外包含胞內域且可於若干細胞類型中使用以提供恆定信號，例如STAT信號，其可允許細胞(尤其在ACT之情形下)在細胞激素受體配位體被限制或可能被限制之環境中存活。在此類環境中，使用誘導蛋白向細胞提供存活信號可能並不適當，且本發明在此具有特定效用，解決了此特定問題。

【0012】 特定言之，經識別以供本發明人使用之重組蛋白可包含衍生自EPOR之胞外區的胞外域，但額外包含允許在缺乏EPO之情況下經由受體組成型信號傳導的修飾。胞外區亦可保留其結合EPO (若存在於環境中)之能力，潛在地經由經修飾之體細胞激素受體提供增強信號傳導。因此，有利地，重組蛋白能夠二聚化且向細胞提供組成型信號，且亦可能夠在可用時結合環境配位體，從而產生增強信號傳導之可能性。然而，在缺

乏配位體之情況下僅組成型信號傳導足以提供表現具有所需功能性/存活益處之重組蛋白的細胞。在一個實施例中，重組蛋白可包含EPOR之經修飾之人類胞外區，該胞外區在殘基154處的胺基酸經取代為半胱胺酸，其在缺乏EPO及組成型信號傳導的情況下促進單體重組蛋白鏈之均二聚化。

【0013】 儘管用於本發明中之重組蛋白可向表現重組蛋白之細胞中提供任何信號，但尤其設想重組蛋白可用於使細胞能夠(尤其在細胞療法之情況下)在向個體投與之後存活或持久存在，以便為治療提供最佳機會，使其對患病個體產生療效。特定言之，經由重組蛋白之信號傳導涉及酪胺酸激酶活性及蛋白質磷酸化，且更特定言之，信號傳導涉及詹納斯(Janus)激酶(JAK)磷酸化及活性，例如涉及JAK1及/或JAK2之JAK-STAT信號傳導路徑之活化。因此，尤其本文所論述之重組蛋白之胞內域可衍生自或部分衍生自與胞外域(EPOR，其包含JAK2結合模體及STAT5締合模體)相同之蛋白質或可來自一或多種不同蛋白(重組蛋白可為嵌合重組蛋白)，其中不同蛋白允許轉導與EPOR相同或類似之信號，或可能允許提供與天然EPOR受體不同之細胞信號。有利地，當重組蛋白之胞內域衍生自EPOR時，本發明人已進一步確定，有可能利用一種經修飾之胞內域，其結合至SHP1之能力降低，而SHP1一旦被活化則可抑制JAK2磷酸化，且亦具有影響諸如IL2R之其他內源性受體的能力。另外，當重組蛋白之胞內域衍生自EPOR時，本發明人已進一步確定插入胺基酸序列，例如衍生自EPOR之胞內域之一部分胞內域的C端處的細胞質尾，可增加或穩定重組蛋白之細胞表面表現及/或可增加對EPO之敏感性。

【0014】 本文所描述之重組蛋白在T細胞中具有特定效用，該等T細胞可能在投與之後在個體內持續一段時間且更特定言之在Treg中具有效

用，該等細胞需要STAT5信號傳導來存活(通常經由其內源性IL2R)且完全依賴於外源性配位體之供應來觸發此信號傳導。鑒於受體之組成型信號傳導能力，Treg需要恆定STAT5信號傳導及在特定疾病病狀(例如，1型糖尿病)內缺乏天然可用配位體(例如，IL2)，在Treg內使用重組蛋白係尤其有利的。本發明人已有利地展示表現本文所描述之重組蛋白之Treg維持其常見表型及抑制功能，且因此可保留細胞之穩定性。

【0015】 因此，本發明提供一種包含重組蛋白之T細胞，其中該重組蛋白包含胞外域，該胞外域之至少一部分衍生自EPOR之胞外區，其中該胞外域包含二聚域，其允許在缺乏信號誘導分子之情況下該重組蛋白與第二蛋白二聚化且將信號提供至該T細胞中。

【0016】 二聚域可為在缺乏信號誘導分子之情況下允許重組分子結合至第二蛋白且向細胞進行信號傳導之任何二聚域。二聚域應因此允許向細胞提供組成型信號。二聚域可在衍生自EPOR之胞外區的胞外域部分之外(亦即，在此部分之胞外域中之不同位置中)，或特定言之，可包含在衍生自EPOR之胞外區的胞外域部分內。

【0017】 因此，在此態樣中，本發明提供一種包含重組蛋白之T細胞，其中該重組蛋白包含胞外域，該胞外域之至少一部分衍生自EPOR之胞外區，其中該部分包含相對於EPOR之胞外區的修飾，使得在缺乏信號誘導分子的情況下該重組蛋白與第二蛋白發生二聚化且將信號提供至該T細胞中。

【0018】 因此，存在於T細胞內之重組蛋白可自已經轉導至細胞中或轉導至前驅體細胞中之核酸分子在T細胞中表現，或可自內源性核酸序列表現，該內源性核酸序列已使用基因編輯技術修飾。

【0019】 在一特定實施例中，重組蛋白包含允許重組蛋白與第二蛋白之二硫鍵連接之二聚化的胞外域。因此，重組蛋白包含至少一個二聚域，其尤其允許二硫鍵連接之二聚化。

【0020】 熟習此項技術者應進一步瞭解，二聚化可為均二聚化，其中重組蛋白結合至如本文所描述之另一重組蛋白；或雜二聚化，其中重組蛋白與不同蛋白二聚化。應瞭解，對於發生雜二聚化，第二蛋白應包含能夠結合於重組蛋白內存在之二聚域的同源二聚域。其典型地為重組蛋白之二聚化，使得可產生信號至T細胞。在本發明之一特定實施例中，二聚化為均二聚化，且在此態樣，本發明提供一種包含重組蛋白之T細胞，其中該重組蛋白包含胞外域，該胞外域之至少一部分衍生自EPOR之胞外區，其中該胞外域包含二聚域，其允許在缺乏信號誘導分子的情況下該重組蛋白之均二聚化且將信號提供至該T細胞中。特定言之，如上文所論述，衍生自EPOR之胞外區的胞外域之至少一部分可包含相對於EPOR之胞外區的修飾，其可允許在缺乏信號誘導分子的情況下該重組蛋白之均二聚化且將信號提供至該T細胞中。

【0021】 重組蛋白之二聚化自發地在第二蛋白存在下發生且不需要存在信號誘導分子，例如紅血球生成素，且更特定言之，任何信號誘導分子(包括任何配位體或二聚化誘導分子)。

【0022】 就此而言，本發明提供一種包含重組蛋白之T細胞，其中該重組蛋白包含胞外域，該胞外域之至少一部分衍生自EPOR之胞外區，其中該胞外域包含二聚域，其允許在缺乏EPO之情況下該重組蛋白與第二蛋白二聚化且將信號提供至該T細胞中。特定言之，如上文所論述，衍生自EPOR之胞外區的胞外域之至少一部分可包含相對於EPOR之胞外區的

修飾，其可允許在缺乏EPO的情況下該重組蛋白之均二聚化且將信號提供至該T細胞中。

【0023】 特定言之，本發明提供一種包含重組蛋白之T細胞，其中該重組蛋白包含胞外域，該胞外域之至少一部分衍生自EPOR之胞外區，其中該胞外域包含二聚域，其允許在缺乏EPO之情況下該重組蛋白之均二聚化且將信號提供至該T細胞中。特定言之，如上文所論述，衍生自EPOR之胞外區的胞外域之至少一部分可包含相對於EPOR之胞外區的修飾，其可允許在缺乏EPO的情況下該重組蛋白之均二聚化且將信號提供至該T細胞中。

【0024】 衍生自EPOR之胞外區之胞外域部分可包含EPOR之全長胞外區或其部分或變異體序列。特定言之，存在之EPOR胞外區序列可包含至少一個修飾，其允許在缺乏信號誘導分子(尤其EPO)之情況下重組蛋白二聚化且進行組成型信號傳導。因此，至少一個修飾可為引起重組蛋白之組成型信號傳導的任何修飾。重組蛋白內所存在之EPOR胞外區序列除至少一個修飾之外可包含其他修飾，其允許在缺乏信號誘導分子(尤其EPO)之情況下重組蛋白二聚化且提供組成型信號。特定言之，衍生自EPOR之胞外區的胞外域部分可衍生自SEQ ID NO. 1，更特定言之，來自SEQ ID NO. 1之胺基酸1-250 (SEQ ID NO. 5)。至少一個修飾可為對EPOR之胞外區之胺基酸序列的突變，從而允許二聚化，特定言之，二硫鍵連接之二聚化，及/或可插入允許在缺乏信號誘導分子的情況下二聚化之序列，例如白胺酸拉鏈。更特定言之，重組蛋白包含SEQ ID NO. 5之位置154處的精胺酸成為半胱胺酸(R154C)的修飾。在一最特定實施例中，胞外域可包含SEQ ID NO. 2或SEQ ID NO. 4之胺基酸序列或由其組成。

【0025】 因此，在另一實施例中，本發明提供一種包含重組蛋白之T細胞，其中該重組蛋白包含胞外域，該胞外域包含EPOR之胞外區或其一部分或變異體，該胞外域已經修飾以允許在缺乏下信號誘導分子(尤其EPO)之情況下該重組蛋白與第二蛋白二聚化且將信號提供至該T細胞中。

【0026】 在一個實施例中，EPOR之胞外區之部分或變異體可保留EPOR胞外區之功能且因此能夠結合於EPO。以此方式，如先前所論述，可以在EPO存在的情況下，為提供給細胞的信號提供增加。替代地或另外，此類部分或變異體可與EPOR胞外區具有至少70%、80%或90%一致性。在特定實施例中，變異體及部分可包含至少一個提供二聚域之修飾，從而允許在缺乏信號誘導分子(例如EPO)之情況下重組蛋白與第二蛋白二聚化且將信號提供至表現細胞。

【0027】 在另一實施例中，本發明提供一種包含重組蛋白之T細胞，其中該重組蛋白包含胞外域，該胞外域包含SEQ ID NO. 2或SEQ ID NO. 4或一部分或與SEQ ID NO. 2或SEQ ID NO. 4具有至少90%一致性之其變異體，且包含在SEQ ID NO. 2之位置130處之半胱胺酸或在SEQ ID NO. 4之位置154處之半胱胺酸，其中該重組蛋白能夠在缺乏信號誘導分子(尤其EPO)之情況下與第二蛋白二聚化且能夠在該T細胞中提供信號。

【0028】 除衍生自EPOR之胞外區之部分(例如自殺模體或標籤)以外，重組蛋白之胞外域可包含不與二聚化相關之其他異源域或區(亦即非二聚域或區，其缺乏於野生型EPOR中)，且因此胞外域可不僅由衍生自EPOR之胞外區之部分組成。

【0029】 如上文所論述，如本文所描述之重組蛋白的胞外域包含至少一個二聚域(例如至少2、3、4或5個二聚域)，其允許在缺乏信號誘導分

子之情況下二聚化且進行組成型信號傳導。特定言之，二聚域可例如藉由對胺基酸序列進行一或多個修飾，例如至少2、3、4或5個修飾而引入至衍生自EPOR之胞外區的胞外域之部分中。因此，信號誘導分子(例如EPO)不需要在包含如本文所描述之重組蛋白的細胞中發生信號傳導。特定言之，重組蛋白能夠在缺乏EPO (EPOR之天然配位體)之情況下二聚化且提供組成型信號。儘管因此不需要組成型信號傳導，但本文中所描述之重組蛋白的胞外域可包含一或多個二聚域，其允許重組蛋白與第二蛋白之誘導型二聚化。此類「誘導型二聚域」要求存在二聚化誘導分子以進行二聚化。在一個實施例中，至少一個誘導型二聚域之存在可提供經由重組蛋白增強或增加之信號傳導，如下文詳細論述。通常，一或多個誘導型二聚域可與EPOR異源(亦即，可能不出現於野生型EPOR中)。熟習此項技術者應瞭解，一或多個誘導型二聚域可包含於重組蛋白內任何位置(包括於任何胞內域或胞外域內)，但尤其可包含於胞外域內，例如在衍生自EPOR之胞外區的胞外域部分內或在胞外域內但不在衍生自EPOR之胞外區的部分內，例如作為獨立域或區。

【0030】 本發明之重組蛋白可包含跨膜域以將胞外域錨定於細胞膜內。跨膜域可來源於具有跨膜域之任何蛋白質，包括例如EPOR、IL2RB、CD28、CD8等。在一個實施例中，跨膜域可以與另一蛋白質之跨膜域結合，例如跨膜域可以來自能夠與DAP10/12締合的TREM蛋白質。

【0031】 可由重組蛋白提供之信號可為改良或增加細胞之功能特性或活性的信號。因此，可增加細胞之功能或作用，其可為活體外或活體內之功能或作用，亦即在產生或擴增針對ACT所製備之細胞期間或細胞已投

與個體後的功能或作用。此可為例如細胞存活、細胞持久性、細胞功能持久性、活力、功能性作用(例如免疫抑制作用或細胞毒性作用)、細胞表型(包括細胞之記憶表型、增殖能力及/或治療功效)。相對於不包含蛋白質之細胞，包含重組蛋白之細胞中可見增加。如上文所論述之信號尤其為組成型信號。

【0032】 在一個特定實施例中，信號為促存活信號，其幫助細胞在培養期間及之後存活且維持其功能能力，且在治療過程中投與個體後持續存在且保持其功能能力。其可替代地被稱作持久性信號。因此，重組蛋白可在細胞中表現以向細胞賦予誘導性促存活信號傳導能力。其在製備用於ACT療法之細胞中具有特定效用，且可與抗原受體(諸如TCR或CAR或任何嵌合受體)一起表現於此類細胞中。因此，該蛋白質在工程改造ACT之細胞中具有效用。

【0033】 在一實施例中，信號為STAT介導之信號(例如STAT3或STAT5介導之信號)，且更特定言之，可正常在細胞中藉由介白素(諸如IL-2)或藉由EPO誘導之STAT5介導之信號。

【0034】 本發明之重組蛋白尤其包含胞內域或能夠與包含胞內域之另一信號傳導蛋白質締合以將信號提供至細胞。因此，胞內域可為如本文所描述之重組蛋白之一部分或例如可包含於與重組蛋白結合之信號傳導蛋白質內，例如經由其各別跨膜域，例如其中重組蛋白之跨膜域可來自骨髓受體且信號傳導蛋白之跨膜域可來源於DAP10或DAP12。

【0035】 在一特定實施例中，胞內域包含至少一個JAK 1及/或JAK2結合模體及至少一個STAT締合模體(例如STAT3及/或STAT5締合模體)。特定言之，胞內域可包含至少一個JAK2結合模體及至少一個STAT5

締合模體、或至少一個JAK1結合模體及至少一個STAT5締合模體。胞內域可包含其他域，例如可包含至少一個JAK 3結合模體。

【0036】 本發明進一步提供一種包含核酸分子(或者稱為聚核苷酸)之T細胞，該核酸分子包含編碼如本文所定義之重組蛋白的核苷酸序列。

【0037】 核酸分子可呈構築體形式，或更特定言之，重組構築體，其包含核酸分子及一或多個其他核苷酸序列(所關注之核苷酸序列)。舉例而言，構築體可包含核酸分子及調節序列，例如表現控制序列，及/或編碼另一功能蛋白(或更一般而言，所關注之蛋白質)，例如受體，例如CAR或TCR等之序列。當胞內域存在於另一信號傳導蛋白質內時，編碼重組蛋白及信號傳導蛋白質之核苷酸序列可提供於同一構築體中。替代地，單獨核酸分子或構築體可提供用於重組蛋白及信號傳導蛋白質。構築體可包含一或多個連接核酸分子與一或多個其他編碼核苷酸序列之共表現序列。

【0038】 如本文所定義之核酸分子或構築體可包含於載體內。當單獨重組蛋白及其他表現蛋白質(例如，功能性蛋白質或信號傳導蛋白質)在獨立分子或構築體中編碼時，其可各自包含於獨立載體中。因此，可存在一組載體，其各自包含編碼單獨所需蛋白質之序列。

【0039】 載體可為病毒或非病毒載體。在一實施例中，載體可包含如本文所定義之核酸分子及編碼所關注之蛋白質(尤其受體，例如CAR或TCR)之另一核苷酸序列。

【0040】 細胞(T細胞)在其細胞膜上表現重組蛋白。

【0041】 亦根據本發明提供一種細胞群體，其包含如本文所定義之細胞，例如T細胞群體。

【0042】 在一實施例中，細胞為T細胞，包括CD4+或CD8+ T細胞

或其任何前驅體。細胞可因此為幹細胞，或更特定言之，造血幹細胞(HSC)或多能幹細胞(PSC)，例如誘導型多能幹細胞(iPSC)，亦即在分化或轉化為T細胞之前的細胞。特定言之，T細胞可為Treg細胞。細胞可為初級細胞或來自細胞株。

【0043】 本發明進一步提供一種製備如本文所定義之T細胞(亦即，包含重組蛋白或編碼重組蛋白之核酸分子的細胞)之方法，該方法包含用如本文所定義之核酸分子、構築體或載體向T細胞中引入(例如，轉導或轉染細胞)。方法可包括允許重組蛋白在細胞中表現。此可包括例如培養細胞。

【0044】 此類方法可進一步包含前述分離、富集提供或產生用於該方法之細胞的步驟。此外，細胞可在引入核酸分子之步驟之後經分離或富集或產生。舉例而言，核酸分子可引入至前驅體或祖細胞，例如幹細胞中，且細胞可隨後經誘導或使得以分化或改變成T細胞。舉例而言，iPSC細胞可分化成Treg或其他T細胞或Tcon細胞可轉化成Treg細胞等。

【0045】 此態樣亦可包括製備如本文所定義之重組蛋白之方法，該方法包含將如本文所定義之核酸分子、構築體或載體引入至T細胞中，使嵌合蛋白由細胞表現，且視情況偵測及/或收集嵌合蛋白。

【0046】 本發明另外提供一種製備如本文所定義之T細胞之方法，其包含基因工程改造編碼EPOR之內源性核酸以包含修飾，使得所表現EPOR包含胞外區，其在缺乏EPO的情況下均二聚化，因此提供信號至T細胞。特定言之，該方法可在分化成T細胞之前使用T細胞前驅體(諸如iPSC)進行，且更特定言之，自基因工程改造之內源性核酸所表現之EPOR包含在位置154處自R至C之胺基酸取代。

【0047】 本發明進一步提供一種促進細胞存活或持久性之方法，該方法包含將如本文所定義之核酸分子、構築體或載體或藉由如上文所描述之基因工程改造內源性核酸引入至細胞中。

【0048】 此態樣可包含向個體投與如本文所定義之細胞且視情況向個體投與信號誘導分子(例如EPO，其中需要對組成型信號之增強)的額外步驟。任何誘導劑可在細胞投與之前、期間或之後投與。因此，在此態樣中，該方法可在活體內進行。或者，該方法可在活體外/離體進行。

【0049】 替代地看，本發明另外提供如本文所描述之重組分子的用途，其用於促進表現該重組分子之細胞的存活或持久性。

【0050】 如上文所提及，重組蛋白可有利地在細胞中在療法之情況下表現。儘管細胞可為未經修飾之細胞，即不為治療用途而進一步進行基因工程，例如自個體分離之T細胞，或來源於此分離之細胞的細胞(但當然細胞將藉由本發明方法修飾以表現重組蛋白)，細胞通常將為另外經修飾或經工程改造以表現另一分子(亦即另一蛋白質)，尤其受體(例如CAR或TCR)的細胞。

【0051】 因此，本發明進一步提供一種製備用於授受性細胞轉移療法(ACT)之細胞的方法，該方法包含向該細胞提供如本文所定義之重組蛋白。更特定言之，此方法可包含將如本文所定義之核酸分子、構築體或載體引入該細胞中。該方法亦可包含向細胞中引入單獨核酸分子、構築體或載體，例如其包含編碼單獨(例如第二)蛋白或治療蛋白(尤其受體，例如CAR或TCR)之核苷酸序列。

【0052】 另外，本發明提供一種醫藥組合物，其包含細胞、細胞群體或包含編碼如本文所定義之重組蛋白之核酸分子的載體，以及至少一種

醫藥學上可接之載劑或賦形劑。在一實施例中，細胞或載體包含編碼另一蛋白質(尤其嵌合蛋白質)或受體(例如CAR或TCR)之額外核苷酸序列。在另一實施例中，細胞包含單獨核酸分子、構築體或載體，其包含編碼另一蛋白質(尤其嵌合蛋白質)或受體(例如CAR或TCR)之核苷酸序列。

【0053】 此外，本發明提供一種包含編碼如本文所定義之重組蛋白之核酸分子或如本文所定義之醫藥組合物的細胞或細胞群體，或包含編碼如本文所定義之重組蛋白之核酸分子的載體，其用於療法中。特定言之，細胞、細胞群體或包含細胞或細胞群體之醫藥組合物可用於ACT。載體或包含載體之醫藥組合物可用於基因療法。ACT或基因療法可用於治療或預防對ACT或基因療法起反應之任何病狀，尤其ACT或基因療法之免疫療法。

【0054】 本發明進一步提供一種細胞、細胞群體、包含編碼如本文所定義之重組蛋白之核酸分子的載體或如本文所定義之醫藥組合物，其用於治療或預防癌症，或感染性、神經退化性、發炎性、自體免疫性或過敏性疾病或與非所需或有害免疫反應相關的任何病狀。特定言之，在細胞為Treg或其他免疫抑制細胞的情況下，細胞可用於誘導免疫抑制(亦即，用於抑制非所需或有害免疫反應)，例如以改良及/或預防發炎性病症、自體免疫性或過敏性疾病或病狀及移植中之免疫介導之器官損傷。

【0055】 此態樣亦提供一種授受性細胞轉移療法之方法，該方法包含向需要該療法之個體投與細胞或細胞群體，該細胞或細胞群體包含編碼如本文所定義之重組蛋白的核酸分子或如本文所定義之醫藥組合物，特定言之有效量之該細胞、細胞群體或醫藥組合物。

【0056】 亦提供一種治療或預防癌症或感染性、神經退化性、發炎

性、自體免疫性或過敏性疾病或與非所需或有害免疫反應相關之病狀的方法，該方法包含向有需要之個體投與細胞、細胞群體或包含編碼如本文所定義之重組蛋白之核酸分子的載體、或如本文所定義之醫藥組合物，特定言之有效量之該細胞、細胞群體、載體或醫藥組合物。

【0057】 此外，提供細胞、細胞群體或包含編碼如本文所定義之重組蛋白之核酸分子的載體之用途，其用於製造用於治療或預防癌症或感染性、神經退化性、發炎性、自體免疫性或過敏性疾病或與非所需或有害免疫反應相關之病狀的藥劑。

【0058】 在此等治療態樣之一些實施例中，用途可用於誘導對移植之耐受性；治療及/或預防細胞及/或體液移植排斥反應；治療及/或預防移植物抗宿主病(GvHD)、自體免疫性或過敏性疾病；促進組織修復及/或組織再生；或改善發炎。特定言之，在此類實施例中，細胞可為Treg細胞。

【0059】 在陳述於上文之各種治療態樣中，細胞、細胞群體、載體或醫藥組合物可與信號誘導分子(尤其EPO)組合使用或共同使用。

【0060】 因此，另一態樣提供組合產品，其包含(a)細胞、細胞群體或包含編碼如本文所定義之重組蛋白的核酸分子的載體，或如本文所定義之醫藥組合物，及(b)信號誘導分子(尤其EPO)，用於療法、尤其ACT或基因療法。療法可為如上文所定義且本文進一步描述之任何療法。

【0061】 組合產品之組分(a)及(b)可單獨、依序使用或同時使用。

【圖式簡單說明】

【0062】

圖1描繪野生型鼠類EPOR，其展示在EPO存在下EPOR鏈之均二聚化。當受體已藉由EPO活化時，JAK2能夠與受體之胞內域締合，引起

Y343之磷酸化及STAT5之募集及二聚化。SHP1為控制經由EPOR的信號傳導提供了一個負回饋迴路，且可直接抑制JAK2。

圖2展示如本文所描述之不同重組蛋白。**圖2A**展示一種重組蛋白，其包含來自EPOR之胞外域，其在位置129處具有半胱胺酸之修飾(鼠類序列編號)，EPOR之跨膜域及包含Y343 (鼠類序列編號)的EPOR之胞內域。重組蛋白能夠均二聚化且能夠經由STAT5向細胞提供組成型信號。**圖2B**展示一種重組蛋白，其包含來自EPOR之胞外域，其在位置129處具有半胱胺酸之修飾(鼠類序列編號)，EPOR之跨膜域及EPOR之截短胞內域，移除SHP1之結合位點，且因此移除SHP1對JAK2之負回饋，增強STAT5信號傳導。**圖2C**展示一種重組蛋白，其包含來自EPOR之胞外域，其在位置129處具有半胱胺酸之修飾(鼠類序列編號)，EPOR之跨膜域及包含來自IL2RB之截短胞內域的胞內域，該截短胞內域保留JAK1結合模體及STAT5締合模體(具有Y510)。

圖3展示實例5中所測試之構築體。來源於EPOR胞外域的胞外域使用EPOR抗體允許表現蛋白質的細胞被鑑別。

圖4A提供顯示用各種構築體轉導之新鮮Treg之轉導效率的FACS圖。轉導效率使用HLA-A2抗原決定基肽多聚體及EPOR表現量測。

圖4B提供顯示用各種構築體轉導之冷凍Treg之轉導效率的FACS圖。轉導效率使用HLA-A2抗原決定基肽多聚體及EPOR表現量測。

圖5顯示經或未經EPO處理之細胞的經轉導及未經轉導的部分的pSTAT5 MFI。

圖6A展示在具有或不具有IL2之情況下6天內經轉導細胞在細胞群體中之比例(%) (由A2 CAR之存在判定)。

圖6B展示在具有或不具有IL2之情況下6天內經轉導(A2 Dex+)及未經轉導(A2 Dex-)之細胞部分的FoxP3表現。

圖6C顯示5天及7天內用658或786構築體轉導之Treg的擴增倍數。

圖7展示各種Treg標記物在經轉導及未經轉導之細胞部分中及經模擬轉導之細胞中的表現。

圖8顯示使用aCD3/CD28珠粒、HLA-A2- B細胞及HLA-A2+ B細胞之不同刺激，Treg對T效應細胞增殖的抑制%。

圖9顯示死亡目標細胞之百分比，指示經不同構築體轉導之Treg對目標細胞的細胞毒性。

圖10顯示模擬Treg及用658或786構築體轉導之Treg (經轉導及未經轉導之細胞部分)中各種細胞內細胞激素之含量。

【實施方式】

【0063】 本文中之產物、方法及用途之主題為重組蛋白，其可用於促進表現其之細胞之功能性或存活或實際上任何特性。因此，蛋白質在授受性細胞轉移中具有效用，以輔助製備用於ACT之細胞及/或有助於使細胞在轉移至個體之後存活及功能性。細胞之治療功效可得到改良。

【0064】 本文中所描述之重組蛋白係基於胞外域之存在，該胞外域之至少一部分衍生自EPOR之胞外區，其中該胞外域包含二聚域(例如至少一個二聚域)，從而允許在缺乏信號誘導分子(尤其EPO)之情況下重組蛋白與另一蛋白質(第二蛋白)二聚化且將信號提供至包含重組蛋白之細胞。如本文中所描述之重組蛋白能夠自發地與第二蛋白(例如另一重組蛋白)二聚化，且能夠向表現其之細胞提供組成型信號。特定言之，信號可經由胞內域轉導至細胞，該胞內域在特定實施例中可包含於重組分子內或在替代實

施例中可提供於單獨蛋白質(「信號傳導蛋白質」)上。

【0065】 因此，本發明係基於重組分子向細胞提供組成型信號之能力。詳言之，本文所提供之重組蛋白之二聚化活化了由JAK激酶活性，尤其包括JAK1或JAK2活性，且尤其JAK1-STAT或JAK2-STAT信號傳導路徑介導之信號傳導路徑。以此方式，重組蛋白可模擬由天然細胞激素受體，例如EPOR或介白素(例如IL-2)受體活化誘導的信號傳導。藉由「模擬」，意指藉由本發明之重組蛋白活化的信號傳導級聯與由天然細胞激素受體活化的信號傳導級聯類似，而本發明之重組蛋白誘導的活化程度可不同於天然細胞激素受體之活化程度。

【0066】 如本文中所描述，重組蛋白包含胞外域。如本文所用之「胞外域」係指重組蛋白之一部分或部分，其當表現為膜結合蛋白時可於細胞外發現。因此，通常，胞外域係指在細胞外而非在細胞膜或細胞質內發現之蛋白質部分。熟習此項技術者應瞭解重組蛋白之表現起初將在細胞內發生且在此過程期間整個蛋白質將於細胞內發現。此外，重組蛋白有可能可被內化且週期性地循環(例如，對配位體(諸如EPO)之結合作出反應)。然而，在表現之後，重組蛋白通常呈膜結合蛋白，且作為此蛋白之一部分的胞外域可見於細胞膜及細胞外。術語「胞外域」及「細胞外域」及「胞外區」在本文中可互換地使用。

【0067】 重組蛋白之胞外域包含衍生自EPOR之胞外區之序列。舉例而言，重組蛋白之胞外域可由衍生自EPOR之胞外區之序列組成。如本文所用，「源自」意謂重組蛋白之胞外域包含與EPOR之胞外區至少70%一致的序列，更特定言之，與EPOR之胞外區至少80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致的序列。包含於重組蛋白之胞外域內之衍生

自EPOR之胞外區之序列可相對於EPOR之野生型胞外區包含至少一個修飾(例如至少一個胺基酸取代、插入、缺失或易位)。就此而言，在一個實施例中，重組蛋白之胞外域可不包含例如SEQ ID NO. 3或SEQ ID NO. 5中所示之EPOR之野生型胞外區。因此，包含於胞外域內之EPOR胞外區序列可包含一個修飾，或多於一個修飾，例如至少兩個、三個、四個、五個、十個、十五個或二十個修飾。特定言之，修飾中之至少一者可在缺乏任何信號誘導分子之情況下(尤其在缺乏EPO之情況下)引起二聚域之引入及重組蛋白二聚化，尤其均二聚化之能力，且將信號提供至表現重組蛋白之細胞。包含於胞外域內之EPOR胞外區序列可另外地或可替代地包含不引起二聚域之引入且因此在缺乏任何信號誘導分子之情況下引起重組蛋白二聚化及/或信號傳導之能力的修飾。然而，在二聚域係在胞外域中之別處(亦即，不在衍生自EPOR之細胞外域之部分內)提供的情況下，胞外域內之EPOR胞外區序列可包含野生型序列或由其組成，或可包含一或多個不引起二聚域之引入的修飾。

【0068】 EPOR為結合於呈天然構形之紅血球生成素(EPO)之受體，其中EPO結合觸發二聚化及JAK2/STAT5信號傳導級聯。因此，野生型EPOR向表現受體之細胞提供誘導型而非組成型信號。野生型人類EPOR包含508個胺基酸，包括信號肽((SEQ ID NO. 6，來自SEQ ID NO. 1胺基酸1-24)、胞外區(SEQ ID NO. 3 (無信號肽)來自SEQ ID NO. 1之胺基酸殘基25-250)、跨膜域(SEQ ID NO. 7，來自SEQ ID NO. 1之胺基酸殘基251-273)及細胞質域(SEQ ID NO. 8，來自SEQ ID NO. 1之胺基酸殘基274-508)。EPOR之人類全長野生型序列顯示於SEQ ID NO. 1中。

【0069】 如本文所使用之「EPOR之胞外區」係指通常在EPOR的胞

外，即在細胞以外發現的EPOR的區域。特定言之，當考慮人類或鼠類EPOR時，「EPOR之胞外區」可指如SEQ ID NO. 3或5 (對於人類)中所闡述或如SEQ ID NO. 11 (對於鼠類)中所闡述之序列。因此，EPOR之胞外區可包含或缺乏信號肽。

【0070】 如先前所描述，本文所描述之重組蛋白的胞外域包含衍生自EPOR之胞外區的序列，其可包含一或多個修飾。特別地，修飾中之至少一個可在缺乏信號誘導分子的情況下使重組蛋白與第二蛋白二聚化，且向包含重組蛋白之細胞提供信號(更特定言之，與在缺乏信號誘導分子(尤其EPO)的野生型EPOR相比，重組蛋白在缺乏信號誘導分子(尤其EPO)的情況下與第二蛋白二聚化的能力增強，及/或與在缺乏信號誘導分子(尤其EPO)的野生型EPOR相比，向包含重組蛋白的細胞提供信號的能力增強)。因此，重組蛋白在缺乏信號誘導分子(例如EPO)之情況下，相較於野生型EPOR，可二聚化及/或提供信號的能力至少增加10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。二聚化及/或信號傳導之增加可如下文進一步所論述進行確定。

【0071】 通常，可對本發明中之EPOR之胞外區進行一或多個修飾，從而引起所陳述之功能(在缺乏信號誘導分子之情況下進行信號傳導，亦即組成型信號傳導)。此類一或多個修飾可基於同源二聚域允許在重組蛋白與第二蛋白之間二聚化，該等同源二聚域在接近時締合，例如以任何方式結合或相互作用。因此，EPOR之胞外區之修飾可引入二聚域，允許在缺乏信號誘導分子之情況下二聚化。

【0072】 在一個特定實施例中，一或多個修飾可藉由重組蛋白與第二蛋白之二硫鍵結合(二硫鍵連接之二聚化)而實現二聚化，且更特定言之

可允許二硫鍵連接之均二聚化。通常，一或多個非天然產生之半胱胺酸殘基可插入或取代至EPOR之胞外區中以實現此效應。就此而言，包含於來源於EPOR之胞外區之胞外域內的序列可在SEQ ID NO. 3之位置130處，在SEQ ID NO. 5之位置154處或在SEQ ID NO. 11之位置129處具有胺基酸修飾。更特定言之，修飾可為精胺酸至半胱胺酸之胺基酸取代，且因此可在SEQ ID NO. 3、SEQ ID NO. 5 (或SEQ ID NO. 1)或SEQ ID NO. 11 (或SEQ ID NO. 9)之情形下分別稱為R130C、R154C或R129C。熟習此項技術者應瞭解，此實施例特別提供重組蛋白鏈之間的二硫鍵鍵結，提供重組蛋白之均二聚化。因此，重組蛋白之胞外域可包含或由以下組成：在R至C之130位置處具有胺基酸取代的SEQ ID NO. 3之胺基酸序列、在R至C之154位置處具有胺基酸取代的SEQ ID NO. 5之胺基酸序列或在R至C之129位置處具有胺基酸取代的SEQ ID NO. 11之胺基酸序列。

【0073】 替代地看，胞外域可包含SEQ ID NO. 2或SEQ ID NO. 4或SEQ ID NO. 10之序列或由其組成。

【0074】 參考如本文所用之「二聚域」係指能夠結合於第二域之第一域，其中第一及第二域可相同(均二聚域)或不同(雜二聚域)。由於在缺乏信號誘導分子(例如二聚化誘導分子)之情況下發生其同源搭配物的二聚化，因此本發明之二聚域亦可稱為組成型二聚域。如上文所論述，二聚域可存在於胞外域之任何部分內，例如存在於衍生自EPOR之胞外區之部分內或胞外域內之其他地方。因此，二聚域可藉由如上文所描述對EPOR之胞外區之修飾形成，或可基於如下文所論述之此項技術中已知之其他組成型二聚化系統(其可位於來源於EPOR之胞外區之序列內、位於EPOR之胞外區之N端或C端末端處或胞外域中之其他地方)。

【0075】 在此方面可尤其提及此項技術中廣泛已知及描述之白胺酸拉鏈。白胺酸拉鏈域為一類通常發現於轉錄因子中的蛋白質-蛋白質相互作用域，其特徵在於經由a-螺旋均勻間隔之白胺酸殘基。因此，在一實施例中，本文中二聚域為或包含白胺酸拉鏈序列。根據所用白胺酸拉鏈序列，此等可用於雜二聚化或均二聚化。衍生自Fos或Jun蛋白分子之白胺酸拉鏈域描述於Patel等人, 1996, J. Biol. Chem. 271(8), 30386-30391；Stuhlmann-Laeisz等人, 2006, Mol. Biol. Cell 17, 2986-2995中。基於人類c-Jun之代表性白胺酸拉鏈序列展示於SEQ ID NO. 20中(此可包括N端處之GG)且Fos白胺酸拉鏈序列展示於SEQ ID NO. 21中。

【0076】 可分別使用包含Jun及Fos白胺酸拉鏈之雜二聚域。或者，可使用包含Jun白胺酸拉鏈之均二聚域。

【0077】 此項技術中已知之其他白胺酸拉鏈二聚域包括基於ZIP蛋白(一類轉錄因子)之彼等者。ZIP域為含有排列以形成白胺酸拉鏈模體之白胺酸的α-螺旋區。ZIP域可與其他ZIP域上之白胺酸相互作用以可逆地將α-螺旋保持在一起(亦即使α-螺旋二聚化)。因此，本文中二聚域可包含bZIP或aZIP白胺酸拉鏈域。舉例而言，雜二聚域可為或包含與AZIP(EE)域雜二聚化之BZIP(RR)域。白胺酸拉鏈為捲曲螺旋結構蛋白模體之實例，其可用於產生二聚域。基於bZIP之雜二聚域及合成捲曲螺旋肽描述於Reinke等人,2010, J. Am. Chem. Soc. 132(17), 6025-6031，且此等中之任一者均可使用。舉例而言，適合白胺酸拉鏈域可包括SYNZIP 1至SYNZIP 48。白胺酸拉鏈域之其他實例包括BATF、ATF4、ATF3、BACH1、JUND、NFE2L3及HEPTAD。BZip(RR)白胺酸拉鏈域之序列展示於SEQ ID NO. 22中。AZip (EE)白胺酸拉鏈域之序列展示於SEQ ID

NO. 23中。

【0078】 在一些實施例中，適合之白胺酸拉鏈域對的解離常數(Kd)為1000 nM或更低，例如100 nM或更低、10 nM或更低或1 nM或更低。

【0079】 其他例示性二聚域對可包括PSD95-Dlgl-zo-1 (PDZ)域或鏈黴抗生物素蛋白域及鏈黴抗生物素蛋白結合蛋白(SBP)域。其他二聚域可獲自或衍生自已知會彼此相互作用或結合之其他蛋白質。舉例而言，雜二聚域對可包含CD80及PDL-1。

【0080】 均二聚域之又另一實例為免疫球蛋白G之Fc區。Fc區已廣泛用於融合蛋白中，包括用於提供二聚域，且可二聚化之Fc區的各種片段及突變異體已描述於文獻中，例如缺乏Fc區之前5個胺基酸的片段。

【0081】 如上文所論述，包含在胞外域內之來自EPOR的胞外區序列可以包含額外的修飾，該等修飾可以或可以不在缺乏信號誘導分子的情況下有助於重組分子二聚化且信號傳導的能力。特定言之，本發明人設想，EPOR之胞外區之變異體或片段可用於本發明中，只要重組蛋白具有自發地二聚化(亦即在缺乏信號誘導分子之情況下與能夠二聚化的第二蛋白一起二聚化)之所需能力且向包含重組蛋白(及第二蛋白，其中此不同於重組蛋白)之細胞提供信號即可。如上文所指示，特定言之，此類變異體或片段/部分可與EPOR之野生型胞外區(例如SEQ ID NO. 3、5或11)具有至少70%序列一致性。因此，EPOR之其他經修飾胞外區可用於本發明中，例如包含額外胺基酸取代、缺失、添加或易位，例如至少1、2、3、4或5個胺基酸取代、缺失、添加或易位。就此而言，胞外域可包含SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 4或SEQ ID NO. 10之變異體或片段或由其組成(例如，與SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 4或SEQ ID NO. 10具有至少60%、

70%、80%、90%或95%一致性之變異體或片段)，其限制條件為該重組蛋白具有在缺乏信號誘導分子之情況下與第二蛋白二聚化之所需功能且提供信號至表現該重組蛋白之細胞。應瞭解，包含此類變異體或片段之重組蛋白可具有與重組蛋白(其包含有包含SEQ ID NO. 2、4或10的胞外域)相同或類似的與第二蛋白二聚化的能力及/或提供信號的能力，或可以具有經修飾之與第二蛋白二聚化的能力。特定言之，包含該變異體或片段之重組蛋白可具有與重組蛋白(其包含有包含SEQ ID NO. 2的胞外域)至少40、50、60、70、80、90、95、120、150、170、190或200%的二聚化能力及/或信號傳導的能力。可如以下進一步偵測及量測二聚化。

【0082】 更特定言之，胞外域可包含SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 4或SEQ ID NO. 10之變異體或片段或由其組成(例如，與SEQ ID NO. 2、SEQ ID NO. 4或SEQ ID NO. 10具有至少60%、70%、80%、90%或95%一致性之變異體或片段)，其限制條件為SEQ ID NO. 2之變異體或片段包含R130C、SEQ ID NO. 4之變異體或片段包含R154C及SEQ ID NO.10之變異體或片段包含R129C。此外，該等變異體或片段應提供能夠在缺乏信號誘導分子之情況下與第二蛋白二聚化之重組蛋白且提供信號至包含該重組蛋白之細胞。

【0083】 對此項技術中報導的EPOR之胞外區之修飾包括T114A、S115A、S116A、F117A、F117L、F117W、F117Y、V118A、L120A、E121A、R165A、M174A、S176A、H177A及R179A。此等修飾中之任何一或多者可與本發明中源自EPOR胞外區的胞外域一起存在。

【0084】 儘管在一些實施例中較佳，衍生自包含重組蛋白之胞外域之EPOR胞外區之序列保持其結合於EPO之能力並不必需。因此，對

EPOR之胞外區之EPO結合位點的修飾以減少(例如，減少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%以上)或移除結合EPO之能力在本發明之範疇內。可替代地，如所論述，在一個實施例中，可期望胞外域(且因此，EPOR之胞外區)能夠結合EPO以向細胞提供額外信號，超過考慮到對該區域進行之修飾提供之組成型信號。本發明進一步涵蓋提供EPOR之胞外區，其中與未經修飾之野生型EPOR胞外區相比，EPO結合位點已經特定修飾以提供與EPO之增強的結合。就此而言，EPO結合位點之修飾可允許EPO對於結合位點之親和力增加至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。發現EPO結合位點在SEQ ID NO. 1或SEQ ID NO. 5之位置117處且因此本發明涵蓋此位置之修飾。

【0085】 除衍生自EPOR之胞外區之序列之外及/或除任何組成型二聚域之外，胞外域亦可進一步包含其他異源域或標籤。因此，如本文所用提及之胞外域，其至少一部分衍生自EPOR之胞外區，意謂儘管胞外域包含衍生自EPOR之胞外區之胺基酸序列，但可存在額外異源序列(亦即野生型EPOR中缺乏之序列)。舉例而言，胞外域可進一步包含自殺部分以允許誘導細胞死亡，該細胞死亡可為必需或合乎需要的，例如在細胞療法投與期間或之後發生不良事件期間。可能的自殺部分之實例包括CD20抗原決定基，其中細胞死亡可藉由投與利妥昔單抗(Rituximab)來誘導。WO2013/15339描述可以此方式使用之CD20抗原決定基。可使用之其他域包括標籤，其可用於鑑別及分選表現重組分子之細胞，例如Strep標籤或myc標籤。

【0086】 另外，在一些情況下，可能需要在重組分子之胞外域內包括一或多個其他可誘導二聚域，以允許可能增強信號傳導(例如相較於具

有相同胺基酸序列但不具有一或多個其他可誘導二聚域之重組分子，增加至少10%、20%、30%、40%或50%之信號傳導)。替代地看，相比於不含其他誘導型二聚域之重組蛋白，一或多個其他誘導型二聚域之存在可允許如本文所定義之重組蛋白與第二蛋白之間的二聚化的量增加(例如至少10、20、30、40或50%之增加)。任何其他誘導型二聚域可允許藉由任何手段進行二聚化，例如二聚化可為直接或間接締合且不意謂需要將兩個二聚域結合或直接連接在一起，但不排除此情況。典型地，誘導型二聚域可各自結合於二聚化誘導分子。熟習此項技術者應瞭解，當任何其他誘導型二聚域之間需要二聚化誘導分子時，信號傳導或所得二聚體之比例增加可僅在二聚化誘導分子存在下發生。此類其他誘導型二聚域可為來源於EPOR之胞外區之序列內EPO結合位點之存在或可置換此類EPO結合位點之損失。

【0087】 化學誘導之二聚化系統為此項技術中已知，使用各種二聚化誘導分子及用於二聚化之不同蛋白域，且進一步描述於下文中。

【0088】 由小分子誘導劑介導之化學誘導型二聚化之概念已知多年，且已用作工具來控制與誘導劑結合域融合之相關蛋白質之間的二聚化。已描述此類系統用於不同應用之細胞生物學，以使蛋白質接近，例如研究信號傳導路徑及其他生物學機制，在醫學上降解或滅活病原蛋白，及用於基因及細胞療法中。使用本文中之術語的二聚化(CID)或二聚化誘導劑之典型化學誘導劑具有能夠與兩個蛋白質或蛋白域相互作用或結合於兩個蛋白質或蛋白域的特徵，一個在分子之任一側上。因此其具有兩個結合位點或結合表面(或更一般而言，相互作用位點)。在雜二聚化之情況下，二聚化誘導劑能夠與兩種不同蛋白質或二聚域相互作用或結合至該兩種不

同蛋白質或二聚域。在均二聚化之情況下，二聚化誘導劑能夠與相同二聚域之兩個複本或分子相互作用或結合至該兩個複本或分子。原始系統係基於巨環內酯FK506及雷帕黴素(rapamycin)，其能夠結合至不同蛋白質或蛋白域且因此誘導其雜二聚化，該等不同蛋白質或蛋白域包括FK506-結合蛋白(FKBP)、mTOR之FKBP-雷帕黴素域(FRB)、鈣調神經磷酸酶及親環素，其可用於不同組合以實現雜二聚域對及CID組合。此類系統可包括使用環孢黴素，其結合至鈣調神經磷酸酶或親環素，隨後，已開發出基於不同分子之其他CID雜二聚化系統且描述於文獻中。此外，已開發出基於FK506衍生物之均二聚化系統，其能夠結合兩個FKBP分子，亦即基於對稱或二聚化誘導劑，其包含兩個用於相同二聚域之結合位點。

【0089】 在一個實施例中，二聚化誘導分子為雷帕黴素或其類似物，且二聚域為結合於其上之蛋白域。雷帕黴素及雷帕黴素類似物藉由產生mTOR之FRB域與FK506結合蛋白(FKBP)之間的界面來誘導雜二聚化。此締合導致FKBP阻斷進入mTOR活性位點，抑制其功能。雖然mTOR為極大蛋白質，但已知且可使用與雷帕黴素相互作用所需之mTOR的精確小區段。

【0090】 巨環內酯雷帕黴素及FK506藉由誘導細胞蛋白質之雜二聚化而發揮作用。各藥物以高親和力結合至FKBP12蛋白，產生隨後分別結合且不活化mTOR/FRAP及鈣調神經磷酸酶之藥物-蛋白複合物。mTOR之FKBP-雷帕黴素結合(FRB)域已經定義且以可融合至所關注之蛋白質之經分離之89胺基酸蛋白質部分形式施用。雷帕黴素可隨後誘導FRB融合至FKBP12或與FKBP12融合之蛋白質之近似值。

【0091】 術語「FRB」及「FKBP」包括其變異體。此類變異體可

以包括相對於天然序列具有一或多個胺基酸修飾(例如取代、添加及/或缺失)之胺基酸序列。術語「FKBP」包括FKBP12。

【0092】 雷帕黴素具有理想誘導型二聚體之若干特性：當結合於FKBP時其對FRB具有高親和力(KD<1 nM)，且對mTOR之FRB域具有高度特異性。雷帕黴素為在哺乳動物中具有有利藥物動力學及藥效學概況之有效治療性免疫抑制劑。亦可根據臨床配置使用具有不同藥物動力學及動態特性之雷帕黴素的藥理學類似物，諸如依維莫司(Everolimus)、坦羅莫司(Temsirolimus)及德佛莫司(Deforolimus) ((Benjamin等人, Nature Reviews, Drug Discovery, 2011)。

【0093】 為了防止雷帕黴素與內源性mTOR的結合及失活，可修飾接觸FRB之雷帕黴素之表面。對FRB域進行補償性突變，以形成可容納「凸起」的雷帕黴素的表面，僅恢復與FRB突變異體的二聚化相互作用，而不恢復與內源性mTOR蛋白的二聚化相互作用。

【0094】 Bayle等人(Chem Bio; 2006; 13; 99-107)描述各種雷帕黴素類似物或「雷帕黴素類似物(rapalog)」及其對應經修飾之FRB結合域。舉例而言，Bayle等人(2006)描述雷帕黴素類似物：C-20-methyllyrlrapamycin (MaRap)、C16(S)-Butylsulfonamidorapamycin (C16-BS-Rap)及C16-(S)-7- methylindolerapamycin (AP21976/C16-AiRap)，如圖2中所示，以及各者之各別互補結合域。其他雷帕黴素/雷帕黴素類似物包括西羅莫司(sirolimus)及他克莫司(tacrolimus) (FK506)。

【0095】 因此，在此類實施例中，如本文所描述之重組蛋白內之誘導型二聚域可包含FKBP且第二蛋白可包含同源二聚域FRB，或反之亦然。FKBP/FRB可具有或可包含如SEQ ID NO. 15至SEQ ID NO. 19中之

任一者中所示之序列或其變異體。

【0096】 如本文中可互換地使用，「信號誘導分子(signal inducer molecule」或「信號誘導分子(signal inducing molecule)」係指能夠經由包含胞外域、跨膜域及胞內域之蛋白質或受體誘導信號傳導至包含此類蛋白質或受體之細胞的分子。信號誘導分子可能夠誘導任何種類之信號，且熟習此項技術者應瞭解，所誘導之信號將視存在於蛋白質或受體內之胞內域而定。典型地，信號誘導分子結合至蛋白質或受體以誘導信號。在一個態樣中，信號誘導劑可結合至蛋白質或受體且誘導二聚化或多聚化，導致經由蛋白質或受體之胞內域轉導信號。在此態樣中，信號誘導分子可為二聚化誘導分子。然而，亦有可能使信號誘導子結合至受體或蛋白質且誘導構形變化，使得產生由蛋白質或受體之胞內域易位的信號。就此而言，信號誘導分子可結合至已經二聚化之受體或蛋白質(例如非信號傳導或弱信號傳導)以經由胞內域在細胞中產生信號。在本發明中，重組蛋白能夠在此類信號誘導分子缺乏的情況下提供信號至細胞。因此，重組蛋白不需要存在信號誘導分子以向細胞提供信號(及/或與第二蛋白二聚化)。特定言之，信號誘導分子可為EPO。

【0097】 如本文所用，「EPO」係指紅血球生成素，且包含SEQ ID NO. 14之胺基酸序列。EPO通常在SEQ ID NO. 1之胺基酸位置117處結合於EPOR。如詳細論述，本發明之重組蛋白不需要存在EPO以向包含重組蛋白之細胞產生信號。

【0098】 如本文所用之「二聚化誘導分子」可在兩個誘導型二聚域(例如重組蛋白及第二蛋白內)之間產生界面以使其呈二聚體形式結合在一起或允許在兩個誘導型二聚域(例如重組蛋白及第二蛋白內)之間化學交聯

允許形成二聚體。如本文中廣泛論述，重組蛋白能夠在缺乏信號誘導分子之情況下，包括在缺乏二聚化誘導分子之情況下，與第二蛋白二聚化，且能夠在包含重組蛋白之細胞中提供信號。然而，不排除一或多個其他誘導型二聚域可存在於重組分子內。二聚化誘導分子之實例包括如上文所論述之雷帕黴素。

【0099】 如本文所描述之重組蛋白與第二蛋白之二聚化(藉由如本文所論述之修飾及/或藉由一或多個誘導型二聚域之存在)可藉由此項技術中熟知之非變性SDS PAGE或藉由動態光散射技術測定或量測。因此，因為單體之尺寸及蛋白質(及本發明中為重組蛋白)之二聚化形式的差異，通常可偵測到二聚化。因此，重組蛋白與第二蛋白二聚化(尤其均二聚化)之能力可藉由偵測細胞或細胞群體內重組蛋白二聚體之存在來量測(或測定)。如本文所描述之重組蛋白具有在缺乏信號誘導分子(尤其EPO)之情況下與第二蛋白二聚化之能力。因此，此二聚化能力可藉由在細胞內表現時偵測重組蛋白之二聚化形式(單獨用於均二聚化或與不同第二蛋白一起用於雜二聚化)來測定。通常，本發明之重組蛋白可在缺乏信號誘導分子之情況下二聚化，其程度與野生型EPOR在存在EPO之情況下的二聚化程度相同或類似。或者，重組蛋白與野生型EPOR相比在EPO存在下可具有經修飾之向第二蛋白二聚化的能力。二聚化之修飾能力因此可指與參考相比，例如與EPO存在下的野生型EPOR相比，或針對SEQ ID NO. 2的變異體或片段，與SEQ ID NO. 2相比，細胞或細胞群體中呈二聚體或單體形式之重組蛋白之相對量的增加或減少(例如呈二聚體形式之重組蛋白增加或減少至少40、50、60、70、80、90、95%)。熟習此項技術者應瞭解，與EPO存在下的野生型EPOR相比，在缺乏EPO之情況下的重組蛋白之二聚化/信號

傳導之減少(例如減少至少10%、20%、30%、40%或50%)仍將足夠的信號傳送至細胞以提供所需結果(例如持久性)且在特定實施例中可為較佳的。

【0100】 如本文中所提及，「與第二蛋白」的二聚化意謂重組蛋白能夠與第二蛋白形成二聚體(亦即，重組蛋白單體可與第二蛋白的單體締合以形成二聚體(包含各單體的一個複本))。在一個態樣中，第二蛋白為重組蛋白，且因此在此實例中，重組蛋白能夠均二聚化例如與其自身二聚化，其中二聚體包含兩種重組蛋白單體。因此，在此實施例中，重組蛋白在細胞中之表現足以進行二聚化(不同蛋白質之表現對於二聚化係不必要的)，且如先前所論述，不需要信號誘導分子。可如上文所描述偵測二聚化。

【0101】 或者或另外，如本文所定義之重組蛋白可能夠與不同的第二蛋白雜二聚化，該第二蛋白可能不為本發明之重組蛋白。第二蛋白可因此包含與重組蛋白不同之域或部分。然而，第二蛋白應能夠在缺乏信號誘導分子之情況下與重組蛋白二聚化且能夠提供信號。因此，第二蛋白應包含與重組蛋白同源的二聚域，其能夠在缺乏信號誘導分子之情況下締合且進行信號傳導。在一個實施例中，舉例而言，在重組蛋白包含有包含EPOR之經修飾之胞外區的胞外域之情況下，其中修飾包含將胺基酸殘基插入或取代為半胱胺酸(出於二硫鍵連接之二聚化目的)，第二蛋白應在適當位置包含同源半胱胺酸殘基以允許在缺乏信號誘導分子之情況下進行二聚化。或者(或另外)，在重組蛋白包含具有白胺酸拉鏈之胞外域的情況下，第二蛋白亦可包含同源白胺酸拉鏈以允許在缺乏信號誘導分子下二聚化。舉例而言，重組蛋白可包含Jun或Fos白胺酸拉鏈，且第二蛋白可包含

Jun白胺酸拉鏈(或反之亦然)。熟習此項技術者應瞭解，如本文所描述之重組蛋白可能夠均二聚化及雜二聚化。因此，表現重組蛋白及第二不同蛋白之細胞可包含重組蛋白之均二聚體以及重組蛋白與第二不同蛋白之雜二聚體。

【0102】 因此，在一個實施例中，第二蛋白可為重組分子之變異體或部分，特定言之，第二蛋白可包含胞外域，其為重組分子之胞外域之變異體或部分(例如與其可具有至少70%、80%、90%或95%序列一致性)。或者，第二蛋白可包含胞內域，其為重組分子之胞內域之變異體或部分(例如與其可具有至少70%、80%、90%或95%一致性)。第二蛋白必須能夠在無信號誘導分子存在下結合至重組蛋白。特定言之，對於包含其他誘導型二聚域(例如誘導型雜二聚域)之重組蛋白而言，重組蛋白內存在之額外誘導型二聚域可不同於第二蛋白(例如FRB/FKBP或其功能變異體)中存在之額外誘導型二聚域，在此實施例中，重組蛋白可另外包含FRB且第二蛋白可包含FKBP，且反之亦然)。

【0103】 另外或替代地，重組蛋白及第二蛋白可包含不同標籤，例如重組蛋白可包含strep標籤且第二蛋白可包含myc標籤，或反之亦然。熟習此項技術者應瞭解，第二蛋白通常可重組且本發明可另外需要該重組第二蛋白與本發明之重組蛋白一起表現於細胞中。因此，本發明另外提供將包含編碼第二蛋白之核苷酸序列的第二核酸分子引入細胞中，例如連同包含編碼如本文所定義之重組蛋白之核苷酸序列的核酸一起。

【0104】 除非另外說明，否則本文中所呈現之任何胺基酸序列之變異體可與參考序列(亦即如本文中所指定之參考SEQ ID NO.)具有至少80%、85%、90%、95%、98%或99%序列一致性。特定言之，此類變異

體保留其所衍生的親本分子(亦即參考序列)的所要或所需特性。因此，變異體序列可以具有所陳述序列一致性%，其限制條件為變異體序列提供有效二聚化系統及信號。

【0105】 相對於本發明蛋白質或多肽，如本文中可互換使用之術語「衍生物」或「變異體」包括來自或向序列之一個(或多個)胺基酸殘基之任何取代、變化、修飾、置換、缺失及/或添加，其限制條件為所得蛋白質或多肽保留所需功能。舉例而言，在衍生物或變異體為胞內域之情況下，所需功能可為該域進行信號傳導(例如使下游分子活化或不活化)之能力，其中衍生物或變異體為二聚域，所需功能為與同源二聚域相互作用(直接或間接)。替代地看，本文所提及之變異體或衍生物係典型地功能變異體或衍生物。舉例而言，與對應參考序列相比，變異體或衍生物可具有至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或至少90%的功能。變異體或衍生物與相對應的參考序列相比可具有類似或相同的功能水平，或可具有提高的功能水平(例如提高至少10%、至少20%、至少30%、至少40%或至少50%)。

【0106】 通常，可由例如1、2或3至10個或20個取代進行胺基酸取代，其限制條件為經修飾序列保留所需活性或能力。胺基酸取代可包括使用非天然存在之類似物。舉例而言，變異體或衍生物與相對應的參考序列相比可具有至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或至少90%活性或能力。變異體或衍生物與相對應的參考序列相比可具有類似或相同的活性或能力水平，或可具有提高的活性或能力水平(例如提高至少10%、至少20%、至少30%、至少40%或至少50%)。

【0107】 蛋白質或肽亦可具有胺基酸殘基之缺失、插入或取代，此產生沉默的變化且產生功能等效的蛋白質。可基於殘基之極性、電荷、溶解性、疏水性、親水性及/或兩親性的相似性進行有意的胺基酸取代，只要保留內源功能即可。舉例而言，帶負電胺基酸包括天冬胺酸及麩胺酸；帶正電胺基酸包括離胺酸及精胺酸；且具有類似親水值之不帶電極性頭基之胺基酸包括天冬醯胺、麩醯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸及酪胺酸。

【0108】 可例如根據下表1進行保守性取代。

表1

脂族	非極性	GAP
		ILV
	極性-不帶電	CSTM
		NQ
	極性-帶電	DE
		KR
芳族		HFWY

【0109】 衍生物可為同系物。如本文所用，術語「同系物」意謂與野生型胺基酸序列及野生型核苷酸序列具有一定同源性的實體。術語「同源性」可等同於「一致性」。

【0110】 同源或變異體序列可包括與目標序列可為至少80%、85%或90%一致、較佳至少95%、96%、97%、98%或99%一致的胺基酸序列。通常，變異體將與目標胺基酸序列包含相同活性位點等。儘管亦可根據類似性(亦即，具有類似化學特性/功能之胺基酸殘基)考慮同源性，但在本文之上下文中，較佳根據序列一致性來表示同源性。

【0111】 同源性比較可藉由眼睛，或更通常藉助於容易獲得的序列比較程式進行。此等市售電腦程式可計算兩個或更多個序列之間的同源性或一致性百分比。

【0112】 同源性或序列一致性百分比可在連續序列上計算，即一個

序列與另一個序列對準，且一個序列中之各胺基酸直接與另一個序列中之相對應胺基酸進行比較，一次一個殘基。此稱作「無間隙(ungapped)」比對。通常，該等無間隙對準僅在相對較少的殘基上進行。

【0113】 儘管此為一種極簡單且一致的方法，但其未考慮，例如在另一對相同的序列中，核苷酸序列中之一個插入或缺失可導致之後的密碼子未對準，因此在進行全域對準時可能導致同源性百分比大幅降低。因此，大多數序列比較方法經設計以產生最佳對準，其考慮可能的插入及缺失而不過度地使整體同源性得分不利。此藉由在序列對準中插入「間隙(gap)」來達成，以試圖最大化局部同源性。

【0114】 然而，此等更複雜的方法將「間隙罰分(gap penalty)」分配給對準中出現之各間隙，使得對於相同數目的相同胺基酸，具有儘可能少的間隙的序列對準(反映兩個所比較序列之間的較高相關性)將獲得比具有許多間隙之序列對準更高的得分。「仿射間隙成本(Affine gap cost)」典型地用於對間隙之存在收取相對較高的成本且對間隙中之各後續殘基收取較小的罰分。此為最常用的間隙評分系統。高間隙罰分當然將產生具有更少間隙之最佳化對準。大多數對準程式允許修改間隙罰分。然而，當使用此類軟體進行序列比較時，較佳使用預設值。舉例而言，當使用GCG Wisconsin Bestfit套裝時，胺基酸序列之預設間隙罰分對於間隙為-12且對於各延伸部為-4。

【0115】 因此，計算最大同源性/序列一致性百分比首先需要產生最佳對準，從而考慮間隙罰分。用於實現該對準之適合的電腦程式為GCG Wisconsin Bestfit套裝(University of Wisconsin, U.S.A.；Devereux等人(1984) Nucleic Acids Res. 12: 387)。可進行序列比較之其他軟體之實例

包括但不限於BLAST套裝(參見Ausubel等人, (1999) 同上-第18章)、FASTA (Atschul等人, (1990) J. Mol. Biol. 403-410)及GENEWORKS比較工具套件。BLAST及FASTA兩者可用於離線及在線檢索(參見Ausubel等人, (1999) 同上, 第7-58至7-60頁)。然而，對於一些應用，較佳使用GCG Bestfit程式。另一個被稱作BLAST 2 Sequences之工具亦可供用於比較蛋白質及核苷酸序列(參見FEMS Microbiol. Lett. (1999) 174: 247-50；FEMS Microbiol. Lett. (1999) 177: 187-8)。

【0116】 儘管可根據一致性量測最終同源性百分比，但對準過程自身通常不基於全有或全無的(all-or-nothing)成對比較。相反，通常使用經縮放類似性得分矩陣，該矩陣基於化學類似性或進化距離向各成對比較分配得分。常用之此類矩陣之實例為BLOSUM62矩陣-BLAST程式套件之預設矩陣。若供應，則GCG Wisconsin程式通常使用公開預設值或自定義符號比較表(其他細節參見使用者手冊)。對於一些應用，較佳使用GCG套裝之公開預設值，或在其他軟體之情況下，使用諸如BLOSUM62之預設矩陣。適合地，一致性百分比係在整個參考及/或查詢序列中確定的。

【0117】 一旦軟體產生了最佳對準，有可能計算同源性百分比，較佳序列一致性百分比。軟體通常將此作為序列比較之部分且生成數值結果。

【0118】 「片段」通常係指多肽或聚核苷酸之選定區，該區在功能上係所關注的，例如係功能性的或編碼功能片段。因此，「片段」係指作為全長多肽或聚核苷酸之一部分(或部分)的胺基酸或核酸序列。

【0119】 該等變異體、衍生物及片段可使用諸如定點突變誘發之標準重組DNA技術製備。在要進行插入之情況下，可製得編碼插入之合成

DNA以及對應於插入位點任一側的天然存在序列的5'及3'側接區。側接區將含有與天然存在之序列中位點相對應的便利限制位點，以便可用適當的酶切割序列且將合成DNA接合至切口。隨後根據本發明表現DNA以製得編碼蛋白質。此等方法僅說明此項技術中已知的用於操作DNA序列的眾多標準技術，且亦可使用其他已知技術。

【0120】 如本文中所描述之重組蛋白尤其包含跨膜域，其通常將重組蛋白之胞外域錨定至細胞膜。跨膜域可來源於具有跨膜域之任何蛋白質，包括I型、II型或III型跨膜蛋白中之任一者。

【0121】 嵌合蛋白之跨膜域亦可包含人工疏水性序列。其他跨膜域對熟習此項技術者而言將為顯而易見。TM域可例如選自重組跨膜蛋白中通常使用之彼等域中之任一者。可使用之跨膜(TM)區之實例為：1) CD28 TM區(Pule等人, Mol Ther, 2005, 11月;12(5):933-41；Brentjens等人, CCR, 2007, Sep 15;13(18 Pt 1):5426-35；Casucci等人, Blood, 2013, Nov 14;122(20):3461-72.)；2) OX40 TM區(Pule等人, Mol Ther, 2005, Nov;12(5):933-41)；3) 41BB TM區(Brentjens等人, CCR, 2007, Sep 15;13(18 Pt 1):5426-35); 4) CD3ζ TM區(Pule等人, Mol Ther, 2005年11月;12(5):933-41；Savoldo B, Blood, 2009年6月8日;113(25):6392-402.)；5) CD8a TM區(Maher等人, Nat Biotechnol, 2002年1月;20(1):70-5.；Imai C, Leukemia, 2004年4月;18(4):676-84；Brentjens等人, CCR, 2007年9月15日;13(18 Pt 1):5426-35；Milone等人, Mol Ther, 2009年8月;17(8):1453-64.)。可使用之其他跨膜域包括來自CD4、CD45、CD9、CD16、CD22、CD33、CD64、CD80、CD86或CD154之彼等跨膜域。跨膜域可進一步衍生自IL2RB或EPOR。

【0122】 舉例而言，跨膜域可以來源於CD28跨膜域，且可以包含SEQ ID NO. 34所示之胺基酸序列或與SEQ ID NO. 24至少80%一致之變異體或由其組成。

【0123】 變異體可與SEQ ID NO. 24至少80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%一致。

【0124】 在一特定實施例中，跨膜域可衍生自EPOR跨膜域，且可包含SEQ ID NO. 7所示之胺基酸序列或與SEQ ID NO. 7至少80%一致之變異體或由其組成。變異體可與SEQ ID NO. 7至少80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%一致。

【0125】 或者，跨膜域可以來源於IL2RB跨膜域，且可以包含SEQ ID NO. 25所示之胺基酸序列或與SEQ ID NO. 25至少80%一致之變異體或由其組成。

【0126】 變異體可與SEQ ID NO. 25至少80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%一致。

【0127】 或者，重組蛋白可包含衍生自CD8 α跨膜域之域。因此，跨膜域可包含或由以下組成：SEQ ID NO. 26所示之胺基酸序列，其表示人類CD8 α之胺基酸183至203；或與SEQ ID NO. 26至少80%一致之變異體。適宜地，變異體可與SEQ ID NO. 26至少85%、90%、95%、97%、98%或99%一致。

【0128】 跨膜域或者可來源於骨髓受體蛋白之跨膜域，例如來源於TREM蛋白，諸如TREM1或TREM2。因此，重組蛋白可包含跨膜域，該跨膜域包含SEQ ID NO. 27或SEQ ID NO. 28中所示之胺基酸序列或與SEQ ID NO. 27或SEQ ID NO. 28至少80%一致之變異體或由其組成。適

宜地，變異體可與SEQ ID NO. 27或SEQ ID NO. 28至少85%、90%、95%、97%、98%或99%一致。

【0129】 如本文所描述之重組蛋白能夠將信號提供至表現重組蛋白之細胞(在均二聚化情況下係單獨提供或在雜二聚化情況下係與第二蛋白一起提供)。信號通常藉由胞內域提供至細胞。因此，在一個實施例中，本發明之重組蛋白進一步包含胞內域。在一替代實施例中，胞內域可藉由信號傳導蛋白質提供，該傳導蛋白對重組蛋白而言是個獨立蛋白質。在此態樣中，重組蛋白及信號傳導蛋白質係一起提供信號至細胞。因此，如本文所描述之重組蛋白可將信號直接(例如經由其自身之胞內域)或間接(經由信號傳導蛋白之胞內域)提供至細胞。

【0130】 因此，如本文中所描述之「信號傳導蛋白」係指能夠與如本文中所定義之重組蛋白締合且能夠將信號轉導至細胞之蛋白質。通常，信號傳導蛋白因此包含跨膜域及胞內域且可與重組蛋白(及/或第二蛋白)一起表現於細胞中。在此實施例中，尤其設想信號傳導蛋白質可經由其各別跨膜域與重組蛋白締合，其中此類締合可導致信號經由信號傳導蛋白之胞內域轉導。在一個特定實施例中，信號傳導域可包含如SEQ ID NO所示之來自DAP10或DAP12之跨膜域或與SEQ ID NO. 27或SEQ ID NO. 28至少80%一致之變異體。適宜地，變異體可與SEQ ID NO. 27或SEQ ID NO. 28至少85%、90%、95%、97%、98%或99%一致。熟習此項技術者應瞭解，當信號傳導蛋白之跨膜域來自DAP10或DAP10時，重組蛋白之跨膜域可源於骨髓受體，特定言之來源於如上文所論述之TREM受體。

【0131】 如上文所論述，如本文中所描述之「胞內域」可提供於重組蛋白內或各別信號傳導蛋白內。然而尤其，重組蛋白可包含胞內域。胞

內域包含有包含至少JAK1結合模體及/或JAK2結合模體之酪胺酸激酶活化域及可藉由JAK1及/或JAK2激酶磷酸化之酪胺酸效應域。酪胺酸效應域之磷酸化允許實現信號級聯，例如以允許信號級聯中之其他蛋白質結合至效應域及/或變得活化以在細胞中傳輸信號。換言之，在磷酸化後，酪胺酸效應域可募集信號轉導因子。如本文所論述，重組蛋白能夠在缺乏信號誘導分子之情況下將信號提供至包含該重組蛋白之細胞，且因此可替代地查看產生組成型信號。組成型信號意謂，細胞不斷地接受來自重組蛋白之信號。與野生型EPOR相比，信號可增加或減少，但重組蛋白能夠連續地提供信號。術語「胞內域」、「細胞內域或區」及「細胞質域或區」在本文中可互換使用。

【0132】 在一些實施例中，酪胺酸激酶活化域亦可包括JAK3結合模體。詳言之，其可包括JAK1結合模體及JAK3結合模體。

【0133】 在一個實施例中，舉例而言，當重組蛋白在胞內域中不包括JAK3結合模體時，重組蛋白可與第二蛋白結合使用，該第二蛋白包含胞內域，該胞內域包含JAK3結合模體。

【0134】 胞內域可經由JAK-STAT信號傳導路徑進行信號傳導，或換言之，信號可藉由JAK-STAT信號傳導路徑之啟動來調節。

【0135】 STAT蛋白質為募集至活化受體之轉錄因子，且因此特定言之，酪胺酸效應域可包含STAT締合模體，亦即STAT之結合位點。STAT可為STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5或STAT6或其任何組合。STAT締合模體可獲自或衍生自受體，包括細胞激素受體及受體酪胺酸激酶(RTK)。酪胺酸效應域可含有一或多個，例如兩個或更多個，例如3個、4個、5個或更多個STAT締合模體，其可相同或不同。

【0136】 舉例而言，STAT5為涉及IL-2信號傳導路徑之轉錄因子，其藉由促進基因(諸如*FOXP3*、*IL2RA*及*BCLXL*)之表現而在Treg功能、穩定性及存活中起關鍵作用。為了成為功能性且易位至細胞核中，STAT5需要經磷酸化。IL-2接合藉由經由分別存在於IL-2Rβ及IL-2Rγ鏈中之特定信號傳導域活化Jak1/Jak2及Jak3激酶而引起STAT5磷酸化。儘管JAK1(或JAK2)可在不需要JAK3的情況下使STAT5磷酸化，但STAT5活性係藉由JAK1/JAK2及JAK3兩者之磷酸化而增加，其穩定其活性。

【0137】 如本文所用之「STAT締合模體」係指包含酪胺酸且在酪胺酸之磷酸化後能夠結合STAT多肽的胺基酸模體。此項技術中已知用於測定蛋白質:蛋白質相互作用之任何方法可用於測定締合模體是否能夠結合至STAT。舉例而言，共免疫沈澱後接著進行西方墨點法。

【0138】 STAT締合模體可例如為STAT5締合模體，其能夠在磷酸化後結合STAT5多肽(且對於其他STAT多肽類似)。

【0139】 在一個實施例中，STAT締合模體係STAT5締合模體。

【0140】 適當地，胞內域可包含兩個(例如至少兩個)或更多個如本文所定義之STAT5締合模體。舉例而言，信號傳導域可包含兩個、三個、四個、五個或更多個如本文所定義之STAT5締合模體。在一實施例中，信號傳導域可包含兩個或三個如本文所定義之STAT5相締合模體。

【0141】 適合地，STAT5締合模體可內源性存在於跨膜蛋白之細胞質域中，該跨膜蛋白提可用於供本文中之胞內域。舉例而言，STAT5締合模體可來自介白素受體(IL)受體胞內域或激素受體。

【0142】 胞內域可包含選自其中STAT5為下游組分之介白素受體的任何鏈的胺基酸序列，例如包含以下之細胞質域可供使用：IL-2受體β鏈

之胺基酸編號266至551 (NCBI REFSEQ: NP_000869.1, SEQ ID NO. 31)、IL-9R鏈之胺基酸編號292至521 (NCBI REFSEQ: NP_002177.2, SEQ ID NO. 33)、IL-4R α鏈之胺基酸編號257至825 (NCBI REFSEQ: NPJD00409.1, SEQ ID NO. 34)、IL-3RB鏈之胺基酸編號461至897 (NCBI REFSEQ: NP_000386.1, SEQ ID NO. 35)及/或IL-17R β鏈之胺基酸編號314至502 (NCBI REFSEQ: NP_061195.2, SEQ ID NO. 36)。熟習此項技術者應瞭解，可使用此等序列中之任何一或多者。可使用介白素受體鏈之細胞質域的整個區。

【0143】 信號傳導域可包含一或多個STAT5締合模體，該一或多個締合模體包含SEQ ID NO. 31-37所示之胺基酸序列或與SEQ ID NO. 31-37至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致之變異體。舉例而言，該變異體可能夠將STAT5與SEQ ID NO. 31至37中之一者所示之胺基酸序列之含量的至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或至少90%結合。該變異體或衍生物可能夠使STAT5與SEQ ID NO. 31至37中之一者結合至類似或相同之程度，或可能夠使STAT5與SEQ ID NO. 31至37中之一者所示之胺基酸序列結合至更高程度(例如增加至少10%、至少20%、至少30%、至少40%或至少50%)。

【0144】 舉例而言，STAT5締合模體可來自以下各者中之任何一或多者：IL2Rβ、IL-3Rβ (CSF2RB)、IL-9R、IL-17Rβ、紅血球生成素受體(EPOR)、血小板生成素受體、生長激素受體及促乳素受體。胞內域可例如包含來自IL2RB及EPOR兩者之STAT締合模體。

【0145】 STAT5締合模體可包含胺基酸模體YXXF/L (SEQ ID NO.

38；其中X係任何胺基酸)。

【0146】 適合地，STAT5締合模體可包含胺基酸模體YCTF (SEQ ID NO. 39)、YFFF (SEQ ID NO: 40)、YLSL (SEQ ID NO. 41)或YLSLQ (SEQ ID NO. 42)。

【0147】 胞內域可包含一或多個包含胺基酸模體YCTF (SEQ ID NO. 39)、YFFF (SEQ ID NO. 40)、YLSL (SEQ ID NO. 41)及/或YLSLQ (SEQ ID NO. 42)的STAT5締合模體。

【0148】 胞內域可包含有包含胺基酸模體YLSLQ (SEQ ID NO. 42)之第一STAT5締合模體及包含胺基酸模體YCTF (SEQ ID NO. 39)或YFFF (SEQ ID NO. 40)之第二STAT5締合模體。

【0149】 胞內域可包含以下STAT5締合模體：YLSLQ (SEQ ID NO. 42)、YCTF (SEQ ID NO. 39)及YFFF (SEQ ID NO. 40)。

【0150】 其他STAT多肽之締合模體為此項技術中已知的，且可使用該等締合模體。舉例而言，為向細胞(尤其Tcon細胞)提供STAT3信號，胞內域之酪胺酸效應域可包含YXXQ (SEQ ID NO. 57)，其中X為任何胺基酸，例如YRHQ (SEQ ID NO. 58)。STAT3締合模體存在於例如IL-6R、IL10R及IL21R之信號傳導蛋白中。在一個實施例中，如本文所定義之胞內域可包含IL21R α鏈之細胞質域，例如包含IL-21R α鏈之胺基酸編號256至538 (NCBI RefSeq: NP_068570.1)；或其截短片段，該截短片段包含與JAK1締合所需的盒1模體(NCBI RefSeq:NP_068570.1之胺基酸編號266至274)，及STAT締合模體，其包含酪胺酸殘基500 (NCBI RefSeq:NP_000869.1之胺基酸編號519)且側接酪胺酸殘基500之C端側處的3個殘基，亦即YLRQ (SEQ ID NO. 59)，需要用於STAT1/3締合。或

者，STAT1或STAT4信號傳導可以類似方式提供。舉例而言，STAT1締合模體可見於IL2Rb之胺基酸335-365 (胞域2)處，如由以下序列表示：

QLLLQQDKVPEPASLSSNHSLTSCFTNQGYF (SEQ ID NO. 60)

[0151] 如本文中所使用之「JAK1結合模體」係指允許酪胺酸激酶JAK1締合之BOX模體。類似地，如本文所用之「JAK2結合模體」係指允許酪胺酸激酶JAK2締合之BOX模體。適合的JAE1-結合模體及JAK2-結合模體描述於例如Ferrao及Lupardus (Frontiers in Endocrinology; 2017; 8(71)；其以引用的方式併入本文中)。

[0152] 如上文所指出，JAK1及/或JAK2結合模體可內源性發生於跨膜蛋白之細胞質域中。

[0153] 舉例而言，JAK1及/或JAK2結合模體可為干擾素λ受體1 (IFNLR1)、干擾素α受體1 (IFNAR)、干擾素γ受體1 (IFNGR1)、IL10RA、IL20RA、IL22RA、干擾素γ受體2 (IFNGR2)或IL10RB。

[0154] JAK1結合模體可包含SEQ ID NO. 43-49所示之胺基酸模體或能夠結合JAK1之其變異體或由其組成。

KVIKCNTPDPSKHSQLSSIHGGDVQKWLSSPHPSSSISPGGLAPEISPLEVLERDK (SEQ ID NO: 43)

NPWIQRAKMPRALDPSGHTIPVATLQPSRPLSVNDLLTCPQKLIT (SEQ ID NO: 44)

GYICLRNSLPKVLNEHNLAWPLPNLPPLEAMDMVLVIYINR (SEQ ID NO: 45)

PLKEKSILPKSLSVVRSATLETKPLSKYVSLLTSYQPLSL (SEQ ID NO: 46)

RRRKKLPSVLLEKKPSPLFISQRPSPLTQDTLHPLDEEAFLK (SEQ ID NO: 47)

YILVGKSKLPANLILYGNLEDKREMVPALKVLNLTLNISDDS (SEQ ID NO: 48)

RYVLKPAPPNSLVQRVLTHQPLRHQLTVLIPVHLSGP (SEQ ID NO: 49)

[0155] SEQ ID NO. 43-49之變異體與SEQ ID NO. 21-27中之任一者相比可包含一個、兩個或三個胺基酸差異且保持結合JAK1之能力。

[0156] 變異體可與SEQ ID NO. 43-49中之任一者至少80%、

85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致且保持結合JAK1之能力。

[0157] 在一較佳實施例中，JAK1結合域包含或由SEQ ID NO. 43或能夠結合JAK1之其變異體組成。

[0158] 舉例而言，變異體可能夠結合JAK1至相對應參考序列之程度的至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或至少90%。變異體或衍生物可能夠結合JAK1至與對應參考序列類似或相同之程度或能夠結合JAK1至比對應參考序列更大之程度(例如增加至少10%、至少20%、至少30%、至少40%或至少50%)。

[0159] JAK2結合模體可包含或由SEQ ID NO. 50-52所示之胺基酸模體或因此能夠結合JAK2之變異體組成。

NYVHTPSIKPSSSIDIYISIQPIKNIDISTSHIQIEKCHIIN (SEQ ID NO: 50)

YWHTHPPSIPIQIEYIKDPTQPIIIAIDKDSSPKDDVWDSVSIISIPE (SEQ ID NO: 51)

YAISPRNSIPQHIKETGHPHINTIIHSHPISDINDVIDKISVIADSIS (SEQ ID NO: 52)

[0160] SEQ ID NO. 50-52之變異體與SEQ ID NO. 50-52中之任一者相比可包含一個、兩個或三個胺基酸差異且保留結合JAK2之能力。

[0161] 舉例而言，變異體可能夠結合JAK2至相對應參考序列之程度的至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或至少90%。變異體或衍生物可能夠結合JAK2至與對應參考序列類似或相同之程度或能夠結合JAK2至比對應參考序列更大之程度(例如增加至少10%、至少20%、至少30%、至少40%或至少50%)。

[0162] 此項技術中已知用於測定蛋白質:蛋白質相互作用之任何方

法可用於測定JAK1-結合模體或JAK2-結合模體是否能夠結合至JAK1或JAK2。舉例而言，共免疫沈澱後接著進行西方墨點法。

【0163】 適當地，胞內域可包含SEQ ID NO. 31所示之IL2Rβ胞內域；或與SEQ ID NO. 31具有至少80%序列一致性之變異體。

【0164】 變異體可與SEQ ID NO. 31至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致。

【0165】 適合地，胞內域可包含SEQ ID NO. 53或54中之任一者所示之截短IL2Rβ胞內域或與其具有至少80%序列一致性之SEQ ID NO. 53或54中之任一者的變異體。SEQ ID NO. 53表示具有Y510突變之IL2RB截短變異體。SEQ ID NO. 54表示具有Y510及Y392突變之IL2RB截短變異體。

【0166】 變異體可與SEQ ID NO. 53或54至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致。

【0167】 在此實施例中，本發明提供重組蛋白，其中該重組蛋白包含(i)胞外域，該胞外域之至少一部分衍生自EPOR之胞外區，其中該部分包含相對於EPOR之胞外區的修飾，使得在缺乏信號誘導分子的情況下該重組蛋白與第二蛋白發生二聚化且將信號提供至該T細胞中，及(ii)胞內域，該胞內域包含SEQ ID NO. 53或SEQ ID NO. 54之截短IL2Rβ胞內域，或與其具有至少80%序列一致性之其變異體。

【0168】 在一特定實施例中，重組蛋白包含胞內域，其至少一部分衍生自EPOR (SEQ ID NO. 8)之胞內域(細胞質)區。在一特定實施例中，胞內域可包含SEQ ID NO. 8所示之EPOR胞內域；或與SEQ ID NO. 8具有至少40%序列一致性之變異體。舉例而言，變異體可與SEQ ID NO. 8至少

45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%一致。

【0169】 對胞內域之修飾可視STAT5信號的所要程度而定進行選擇。

【0170】 變異體可與SEQ ID NO. 8具有至少80%序列一致性。變異體可與SEQ ID NO. 8至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致。任何變異體可為功能變異體且因此可保留將信號提供至表現重組蛋白之細胞中的能力。特定言之，在其中重組蛋白之胞內域除變異體EPOR胞內域之外不包含任何其他功能性(信號傳導)胞內域之實施例中，例如其中重組蛋白之胞內域由變異體EPOR胞內域組成，變異體將為功能變異體且因此將保留提供信號至表現重組蛋白之細胞中的能力。信號可尤其經由JAK-STAT信號傳導路徑(特定言之尤其JAK2-STAT5信號傳導路徑)進行信號傳導，且因此可包含至少一個如本文所描述之JAK-結合模體(例如JAK2-結合模體)及至少一個STAT-締合模體(例如STAT5-締合模體)。變異體EPOR胞內域可例如至少在SEQ ID NO. 1之位置368處保留酪胺酸(Y)殘基(SEQ ID NO. 8之Y95)及/或至少在SEQ ID NO. 1之位置426處保留酪胺酸(Y)殘基(SEQ ID NO. 8之Y153)。舉例而言，變異體EPOR胞內域可在SEQ ID NO. 1之位置368處僅保留酪胺酸(Y)殘基中之一者或兩者(SEQ ID NO. 8之Y95)且至少在SEQ ID NO. 1之位置426處保留酪胺酸(Y)殘基(SEQ ID NO. 8之Y153)。

【0171】 適當地，變異體可包含至少一種修飾以減少(例如消除)SHP1與EPOR胞內域序列之結合，且因此減少SHP1對JAK2之負面影響。SHP1亦可稱為SHIP1且為含有SH2域且具有如SEQ ID NO. 61中所示之胺基酸序列的酪胺酸磷酸酶蛋白。已知SHP1與經活化EPOR相締合且負面地

調節由JAK2之磷酸化誘導的信號傳導。SHP1可與SEQ ID NO. 8之EPOR胞內域之Y181及Y183締合。因此，本發明涵蓋使用其中SEQ ID NO. 8之Y181及/或Y183已經修飾的EPOR胞內域序列以減少SHP1之負面影響(例如，減少至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%，例如多達100%)。替代地看，SEQ ID NO. 8之Y181及/或Y183之修飾可使對細胞之信號傳導增加至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。特定言之，Y181及/或Y183可自本文中之胞內域內所使用的EPOR胞內域序列缺失，或可經不同胺基酸取代。舉例而言，變異體EPOR胞內域可包含缺失涵蓋SEQ ID NO. 8之Y181及Y183的連續胺基酸序列。涵蓋SEQ ID NO. 8之Y181及Y183的連續胺基酸序列的長度可為至少3、4、5、6、7、8、9、10或更多個胺基酸。舉例而言，涵蓋SEQ ID NO. 8之Y181及Y183的連續胺基酸序列的長度可為至少55個胺基酸，例如長度為至少60、65、70或75個胺基酸。舉例而言，涵蓋SEQ ID NO. 8之Y181及Y183的連續胺基酸序列的長度可為至多140、135、130、125、120、115、110、105、100、95、90、85或80個胺基酸。舉例而言，變異體EPOR胞內域可包含SEQ ID NO. 8之胺基酸181至235 (SEQ ID NO. 1之胺基酸454至508)的缺失或由其組成。舉例而言，變異體EPOR胞內域可包含SEQ ID NO. 8之胺基酸106至235 (SEQ ID NO. 1之胺基酸379至508)的缺失或由其組成。舉例而言，變異體EPO胞內域可包含SEQ ID NO. 8之胺基酸161至235 (SEQ ID NO. 1之胺基酸434至508)的缺失或由其組成。替代地，可不修飾Y181及/或Y183，尤其在不需要對細胞增加信號的情況下。

【0172】 或者，胞內域可包含SEQ ID NO. 62所示之截短EPOR胞內

域或與其具有至少80%序列一致性之其變異體或由其組成。變異體可與SEQ ID NO. 62至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%%或99%一致。因此，通常，截短EPOR胞內域可截短包含SEQ ID NO. 8之Y181及Y183的胞內域的至少一部分。變異體可例如包括與SEQ ID NO. 62相同的截短且因此與SEQ ID NO. 62的區別僅在於SEQ ID NO.62序列內的缺失、取代或插入。任何變異體可為如上文所描述之功能性EPOR胞內域變異體。

【0173】 重組蛋白之胞內域可包含SEQ ID NO. 106所示之截短EPOR胞內域或與其具有至少80%序列一致性之其變異體或由其組成。變異體可與SEQ ID NO. 106至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致。變異體可截短包含SEQ ID NO. 8之Y181及Y183的胞內域的至少一部分。變異體可例如包括與SEQ ID NO. 106相同的截短且因此與SEQ ID NO. 106的區別僅在於SEQ ID NO.106序列內的缺失、取代或插入。任何變異體可為如上文所描述之功能性EPOR胞內域變異體。

【0174】 重組蛋白之胞內域可包含SEQ ID NO. 107所示之截短EPOR胞內域或與其具有至少80%序列一致性之其變異體或由其組成。變異體可與SEQ ID NO. 107至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致。變異體可截短包含SEQ ID NO. 8之Y181及Y183的胞內域的至少一部分。變異體可例如包括與SEQ ID NO. 107相同的截短且因此與SEQ ID NO. 107的區別僅在於SEQ ID NO.107序列內的缺失、取代或插入。任何變異體可為如上文所描述之功能性EPOR胞內域變異體。

【0175】 變異體EPOR胞內域可例如包含一或多個胺基酸之插入。在特定實施例中，插入可位於變異體EPOR胞內域之C端，若變異體EPOR

胞內域位於重組蛋白之C端，則插入可位於重組蛋白之C端。然而，插入亦可在變異體EPOR胞內域內之其他處。舉例而言，變異體EPOR胞內域可包含兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個或更多個胺基酸之插入。舉例而言，變異體EPOR胞內域可包含一至三十個胺基酸，例如二至二十個，例如五至十五個胺基酸之插入。舉例而言，變異體EPOR胞內域可包含例如在其C端處至少五個、六個、七個、八個、九個或十個胺基酸之插入。至少五個胺基酸可具有(包含或由以下組成)序列MDTVP (SEQ ID NO. 108)或與SEQ ID NO. 108相差不超過一個或不超過兩個胺基酸的序列(例如缺失及/或取代)。至少六個胺基酸可具有(包含或由以下組成)序列SMDTVP (SEQ ID NO. 109)或與SEQ ID NO. 109相差不超過一個或不超過兩個胺基酸的序列(例如缺失及/或取代)。至少七個胺基酸可具有(包含或由以下組成)序列ASMDTVP (SEQ ID NO. 110)或與SEQ ID NO. 110相差不超過一個或不超過兩個胺基酸的序列(例如缺失及/或取代)。至少八個胺基酸可具有(包含或由以下組成)序列LASMDTVP (SEQ ID NO. 111)或與SEQ ID NO. 111相差不超過一個或不超過兩個胺基酸的序列(例如缺失及/或取代)。至少九個胺基酸可具有(包含或由以下組成)序列ALASMDTVP (SEQ ID NO. 112)或與SEQ ID NO. 112相差不超過一個或不超過兩個胺基酸的序列(例如缺失及/或取代)。至少十個胺基酸可具有(包含或由以下組成)序列PALASMDTVP (SEQ ID NO. 113)或與SEQ ID NO. 113相差不超過一個或不超過兩個胺基酸的序列(例如缺失及/或取代)。舉例而言，變異體EPOR胞內域可例如在其C端包含五個胺基酸(例如SEQ ID NO. 108)、六個胺基酸(例如SEQ ID NO. 109)、七個胺基酸(例如SEQ ID NO. 110)、八個胺基酸(例如SEQ ID NO. 111)、九個胺基酸(例如

SEQ ID NO. 112)或十個胺基酸(例如SEQ ID NO. 113)之插入。在特定實施例中，變異體EPOR胞內域可例如在其C端處包含插入至少十個，例如十個胺基酸，例如其中至少十個胺基酸具有SEQ ID NO. 113之序列或與SEQ ID NO. 113相差不超過一個或不超過兩個胺基酸不同之序列。所描述之插入胺基酸可位於野生型EPOR胞內域之C端(亦即SEQ ID NO. 8之C端)或可位於亦具有其他修飾之EPOR胞內域之C端，例如位於如本文所描述之截短EPOR胞內域之C端(例如在SEQ ID NO. 62、106或107之C端)。或者，插入可位於EPOR胞內域內，該EPOR胞內域在其他情況下為野生型EPOR胞內域(除插入以外)，或位於亦具有其他修飾之EPOR胞內域內，例如在截短EPOR胞內域內(例如在SEQ ID NO. 62、106或107內)。

【0176】 與表現相同重組蛋白但無插入之相同細胞相比，在變異體EPOR胞內域之C端處插入的一或多個胺基酸可例如增加或穩定重組蛋白之細胞表面表現及/或可增加對EPO之敏感性及/或可增加JAK-STAT信號傳導路徑在細胞(例如Treg細胞)中表現時之活化。增加可為至少10%、20%、30%、40%或50%。因此，在變異體EPOR胞內域之C端處插入之一或多個胺基酸可尤其適用於其中衍生自EPOR之細胞外域的胞外域部分保持其結合EPO之能力的實施例中，如本文中之例示性實施例中所描述。可藉由如本文中其他地方所描述量測JAK-STAT信號傳導之活化來判定對EPO之敏感性增加。對於EPO具有增加之敏感性的重組蛋白將在相同濃度之EPO下(尤其在諸如等於或小於約0.1 U/ml，例如等於或小於約0.01 U/ml或等於或小於約0.001 U/ml之EPO的低濃度下)提供更大的JAK-STAT信號。

【0177】 重組蛋白之胞內域可例如包含SEQ ID NO. 114、SEQ ID

NO. 115或SEQ ID NO. 116中所示之變異體EPOR胞內域或與其具有至少80%序列一致性的其變異體或由其組成。變異體可分別與SEQ ID NO. 114、115或116至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致。變異體可截短包含SEQ ID NO. 8之Y181及Y183的胞內域的至少一部分。任何變異體可為如上文所描述之功能性EPOR胞內域變異體。

【0178】 例如STAT5之STAT活性藉由JAK1/2及JAK3兩者之轉磷酸化增加，因為此穩定其活性。如上文所指出，胞內域或更特定言之其酪胺酸激酶活化域可進一步包含JAK3結合模體。如本文中所使用之「JAK3結合模體」係指允許酪胺酸激酶JAK3締合之BOX模體。適合的JAK3-結合模體描述於例如Ferrao及Lupardus (Frontiers in Endocrinology; 2017; 8(71)；其以引用的方式併入本文中)。

【0179】 此項技術中已知用於測定蛋白質:蛋白質相互作用之任何方法可用於測定模體是否能夠結合至JAK3。舉例而言，共免疫沈澱後接著進行西方墨點法。

【0180】 JAK3結合模體可內源性出現在跨膜蛋白之細胞質域中。

【0181】 舉例而言，JAK3結合模體可來自IL-2Rγ多肽。功能性截短或變異體IL2Rγ多肽可用於胞內域內，其中功能性截短或變異體IL2Rγ多肽保持JAK3結合活性(例如IL2Rγ之結合活性的至少20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或95%)。特定言之，包含JAK3結合模體之截短IL2Rγ及包含STAT5締合模體的截短IL2Rβ及JAK1結合模體可包含於如本文所定義之胞內域中。功能性截短可提供降低構築體尺寸以便表現之優點。

【0182】 JAK3結合模體可包含或由SEQ ID NO. 55或SEQ ID NO.

56所示之胺基酸模體序列或其能夠結合JAK3之變異體(例如與SEQ ID NO. 55或56具有至少80、85、90、95或99%一致性之功能變異體或片段)組成。

【0183】 變異體可與SEQ ID NO. 55或SEQ ID NO. 56至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致。

【0184】 在一特定實施例中，信號傳導域包含一或多個JAK1結合域及至少一個JAK3結合域/模體(例如至少2或3個JAK3結合域/模體)。

【0185】 熟習此項技術者應瞭解，編碼JAK3結合域之聚核苷酸序列可定位於編碼酪胺酸效應域(例如STAT(例如STAT 5)、締合模體及JAK1及/或JAK2結合模體)之聚核苷酸序列的上游或下游(5'或3')。通常，JAK1及/或JAK2結合模體將在酪胺酸效應域上游(5')，例如STAT/STAT5，但此可變化。特定言之，編碼JAK3結合域之聚核苷酸可定位於編碼STAT締合模體及JAK1/JAK2結合模體之聚核苷酸的下游(3')。因此，或者在如本文中所描述之胞內域中，JAK3結合域可為酪胺酸效應域(例如STAT締合模體)及JAK1及/或JAK2結合域之N或C端(較佳C端)。在一個實施例中，JAK3結合域及STAT締合模體/JAK1/2結合域直接彼此相鄰定位(亦即不按順序向遠端分離)。在一特定實施例中，JAK3結合域以反向定向轉譯，因此JAK3結合模體可包含與SEQ ID NO. 55或56反向定向的序列(例如如SEQ ID NO. 63中所示)。編碼信號傳導域之聚核苷酸可因此按以下次序包含核苷酸序列：5'-3' JAK1、5'-3' STAT締合模體、3'-5' JAK3。

【0186】 在一特定實施例中，連接子或鉸鏈可存在於JAK3結合模體與STAT締合模體/JAK1或JAK2結合模體之間。連接子或鉸鏈可包含至

少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25或30個胺基酸，例如至少2、3、4、5、6、7、8、9或10個胺基酸殘基或由其組成。在一最特定實施例中，胞內域包含衍生自IL2Rγ之第一胺基酸序列，其包含JAK3結合域(例如SEQ ID NO. 55或56)，及衍生自IL2Rβ之第二胺基酸序列，其包含STAT5締合模體及JAK1結合模體(例如SEQ ID NO. 43或44)，其中第一及第二胺基酸序列藉由連接子或鉸鏈連接或接合。

[0187] 胞內域可提供其他信號傳導功能(例如，能夠提供促進存活或持久性信號之信號，除提供STAT信號外，亦能維持細胞表型或誘導活化或功能的信號)，且因此可包含能夠提供此類信號傳導功能之其他域。

[0188] 舉例而言，胞內域可另外包含胞內信號傳導域，諸如T細胞受體之ζ鏈胞內域或其同系物(例如η鏈、FcεR1γ及β鏈、MB1 (Igα)鏈、B29 (Igβ)鏈等)中之任一者；CD3多肽域(Δ、δ及ε)；syk家族酪胺酸激酶(Syk、ZAP 70等)；src家族酪胺酸激酶(Lck、Fyn、Lyn等)；及涉及T細胞轉導之其他分子，諸如CD2、CD5及CD28。胞內信號傳導域可包含人類CD3 ζ鏈胞內域、FcγRIII、FcεRI、Fc受體之細胞質尾、攜帶基於免疫受體酪胺酸之活化模體(ITAM)之細胞質受體，或其組合。

[0189] 因此，胞內域可包含人類CD3 ζ鏈之胞內信號傳導域，其在一個實施例中包含以下序列或由以下序列組成：

UNIPROT: P20963, CD3Z_人類，位置31-143

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPQRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO:64)

[0190] 在一個實施例中，胞內域包含胞內信號傳導域，該胞內信

號傳導域包含與SEQ ID NO. 64具有至少85%、90%、95%、97%、98%或99%一致性之胺基酸序列。

[0191] 嵌合蛋白之胞內信號傳導域可包含以下CD28信號傳導域：

RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS (SEQ ID NO: 65)

[0192] 在一個實施例中，胞內信號傳導域包含信號傳導模體，其與SEQ ID NO. 65具有至少85%、90%、95%、97%、98%或99%一致性。

[0193] 胞內域之胞內信號傳導域可包含以下CD27信號傳導域：

QRRKYRSNKGESPVEPAEPCHYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP (SEQ ID NO: 66)。

[0194] 在一個實施例中，胞內信號傳導域包含信號傳導模體，其與SEQ ID NO. 66具有至少85%、90%、95%、97%、98%或99%一致性。

[0195] 其他胞內信號傳導域將對於熟習此項技術者而言為顯而易見的，且可與本發明之替代實施例結合使用。

[0196] 在此態樣中，胞內域可包含向表現其之細胞提供轉錄因子活性的額外域或序列，例如對細胞之表型或功能具有重要性之轉錄因子。舉例而言，對於Treg，信號傳導域可另外能夠向細胞提供FOXP3、c-Rel、Runx、Ets-1、CREB、NFAT及/或JunB（直接地或間接地）。特定言之，胞內域可能夠將活化或誘導信號之FOXP3提供至細胞。在一個態樣中，胞內域可包含FOXP3（或其任何功能變異體、截短或同功異型物），其中FOXP3可在用CID誘導(例如使用Notch系統)時自嵌合蛋白質裂解。在此情況下，任何可裂解部分(例如FOXP3)將存在於胞內域之C端處。

[0197] 如上所指出，各種域及域之個別部分(例如，胞內域中之模體)可藉由連接子彼此連接。

【0198】 如本文所提及之連接子係將蛋白質之一個域或部分連接至另一個的胺基酸序列。連接子序列可為任何胺基酸序列，以用於將兩個域或其部分連接在一起以使得其可執行其功能。因此，連接子可使連接之元件間隔開。

【0199】 連接子之性質就其胺基酸組成及/或胺基酸序列而言可變化且不受限制。連接子可為可撓性連接子。其可因此包含或由已知賦予連接子可撓性特徵之胺基酸(相對於剛性連接子)組成。

【0200】 可撓性連接子為此項技術中熟知及描述之一類連接子序列。連接子序列一般已知為可用於將蛋白質或蛋白質域連接或接合在一起以產生例如融合蛋白或嵌合蛋白或多功能蛋白或多肽之序列。其可具有不同特徵，且例如可為可撓性、剛性或可裂解的。蛋白質連接子綜述於例如Chen等人, 2013, Advanced Drug Delivery Reviews 65, 1357-1369中，其將可撓性連接子類別與剛性及可裂解連接子類別進行比較。可撓性連接子亦描述於Klein等人, 2014, Protein Engineering Design and Selection, 27(10), 325-330；van Rosmalen等人, 2017, Biochemistry, 56,6565-6574；及Chichili等人, 2013, Protein Science, 22, 153-167中。

【0201】 可撓性連接子為允許在所連接之域或組分之間有一定程度移動的連接子。其一般由小型非極性(例如Gly)或極性(例如Ser或Thr)胺基酸殘基構成。胺基酸之小尺寸提供可撓性且允許連接部分(域或組分)之遷移。極性胺基酸之併入可藉由與水分子形成氫鍵來維持連接子在水性環境中之穩定性。最常用的可撓性連接子具有主要由Ser及Gly殘基構成之序列(所謂的「GS連接子」)。然而，亦已描述許多其他可撓性連接子(參見例如Chen等人, 2013, 同上)，其可含有額外胺基酸，諸如Thr及/或Ala，及/

或Lys及/或Glu，其可提高溶解度。可使用此項技術中已知及報導之任何可撓性連接子。

【0202】 使用GS連接子或更尤其連接子中之GS（「Gly-Ser」)域可藉由改變GS域重複序列之數目來容易地改變連接子之長度，且因此此類連接子代表一類適合的連接子。然而，可撓性連接子不限於基於「GS」重複序列之連接子，且已報導包含分散於整個連接子序列之Ser及Gly殘基的其他連接子，包括在Chen等人, 同上中。

【0203】 在一個較佳實施例中，連接子序列包含至少一個僅由Ser及Gly殘基構成之Gly-Ser域。在此類實施例中，連接子可含有不超過15個其他胺基酸殘基，例如不超過14、13、12、11、10、9、8、6、7、5或4個其他胺基酸殘基。

【0204】 Gly-Ser域可具有下式：

(S)q-[(G)m-(S)m]n-(G)p

其中q為0或1；m為1至8之整數；n為至少1 (例如1至8，或更特定言之1至6)之整數；且p為0或1至3之整數。

【0205】 更特定言之，Gly-Ser域可具有下式：

(i) S-[(G)m-S]n；

(ii) [(G)m-S]n；或

(iii) [(G)m-S]n-(G)p

其中m為2至8 (例如3至4)之整數；n為至少1 (例如1至8，或更特定言之1至6)之整數；且p為0或1至3之整數。

【0206】 在代表性實例中，Gly-Ser域可具有下式：

S-[G-G-G-G-S]n

其中n為至少一(較佳1至8、或1至6、1至5、1至4、或1至3)之整數。在上式中，序列GGGGS為SEQ ID NO. 70。

【0207】 然而，所有連接子均不需要可撓性的，且在一些情況下，連接子序列不為可撓性連接子序列。當連接子將相互作用域或D1/Ht1或D2/Ht2連接至信號傳導域時，其較佳為可撓性連接子。

【0208】 儘管連接子之長度可能並非關鍵，但在一些情況下，視所連接的域等而定，可能需要具有較短連接子序列或較長連接子序列。

【0209】 在一些情況下，連接子之長度可為2、3、4、5或6中之任一者至24、23、22或21個胺基酸中之任一者。在其他情況下，其可為2、3、4、5或6中之任一者至21、20、19、18、17、16或15個胺基酸長度中之任一者。在其他情況下，其可在此等範圍之間為中間的，例如6至21、6至20、7至20、8至20、9至20、10至20、8至18、9至18、10至18、9至17、10至17、9至16、10至16等。其可因此在由上文所列之整數中之任一者組成的範圍內。

【0210】 在其他情況下，連接子之長度可為更長，例如長度為4、5、6、7、8、9、10、12、15、20至100、90、80、70、60、50、45、40、30、28、25或24個胺基酸中之任一者。在其他情況下，其可為介於此範圍與上文所指示之範圍中之任一者之間的中間。其可因此在由上文所列之整數中之任一者組成的範圍內。

【0211】 使用GS連接子或更尤其連接子中之GS（「Gly-Ser」)域可藉由改變GS域重複序列之數目來容易地改變連接子之長度，且因此此類連接子代表使用之有利類型的連接子。然而，可撓性連接子不限於基於「GS」重複序列之連接子，且已報導包含分散於整個連接子序列之Ser及

Gly殘基的其他連接子，包括在Chen等人，同上中。

[0212] 連接子序列可僅由如上文所描述或所定義之一或多個Gly-Ser域構成，或可由該一或多個Gly-Ser域組成。然而，如上文所指出，連接子序列可包含一或多個Gly-Ser域及額外胺基酸。額外胺基酸可在Gly-Ser域之一端或兩端，或在一段重複Gly-Ser域之一端或兩端。因此，額外胺基酸，可為其他胺基酸，可位於連接子序列之一端或兩端，例如其可側接一或多個Gly-Ser域。在其他實施例中，額外胺基酸可位於Gly-Ser域之間。舉例而言，兩個Gly-Ser域可側接連接子序列中之一段其他胺基酸。此外，如上述，在其他連接子中，GS域不必重複，且G及/或S殘基或諸如GS之短結可簡單地沿長度或序列分佈。

[0213] 下面列出代表性例示性連接子序列：

HTSGGGGSRI (SEQ ID NO. 66)

SGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO. 69)

$S(GGGGS)_{1-5}$（其中GGGGS為SEQ ID NO. 70）

$(GGGGS)_{1-5}$（其中GGGGS為SEQ ID NO. 70）

SGGGGSGGGGS (SEQ ID NO. 71)

$S(GGGS)_{1-5}$（其中GGGS為SEQ ID NO. 67）

$(GGGS)_{1-5}$（其中GGGS為SEQ ID NO. 67）

SCCCCCSCCCCCSCCCCCSCCCCCS (SEQ ID NO. 72)

SCCCCCSCCCCCSCCCCCSCCCCCSCCCCCS (SEQ ID NO. 73)

S(CCCCCCS)$_{m1}$ (其中 CCCCCS 係 SEQ ID NO. 74)

(CCCCCCS)$_{m2}$ (其中 CCCCCS 係 SEQ ID NO. 74)

S(CCCCCCCS)$_{m3}$ (其中 CCCCCCS 係 SEQ ID NO. 75)

(CCCCCCCS)$_{m4}$ (其中 CCCCCCS 係 SEQ ID NO. 76)

C_{n1} (SEQ ID NO. 76)

C_{n2} (SEQ ID NO. 77)

KUSCSVSSUCUAQUKSUD (SEQ ID NO. 78)

UCKSSCSCSUSKSU (SEQ ID NO. 79)

CSACSAACSCU (SEQ ID NO. 80)

SCCCCCSACSAACSCU (SEQ ID NO. 81)

SCCCUUUUUCCCCS (SEQ ID NO. 82)

SCCCAAAAAAAACCCCS (SEQ ID NO. 83)

SCCCAAAAAAAAAAAAAAAACCCCS (SEQ ID NO. 84)

SCAUCCUALACUUACUCUCAACCS (SEQ ID NO. 85)

SUSUSPCCCCCCPAR (SEQ ID NO. 86)

SUSUSPCCCCCCPARSUSUSPCCCCCC (SEQ ID NO. 87)

CSSCCSS (SEQ ID NO. 88)

CSSSSSS (SEQ ID NO. 89)

CCSSSS (SEQ ID NO. 90)

CSSSSS (SEQ ID NO. 91)

SCCCCS (SEQ ID NO. 92)。

〔0214〕 為了在信號傳導域內連接模體，可提及以下連接子：

GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO. 93)

GGGGG (SEQ ID NO. 94)

GGGGSGGGGS (SEQ ID NO. 95)

GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO. 96)

GGGGGGG (SEQ ID NO. 97)

GGGGGGGGG (SEQ ID NO. 98)。

〔0215〕 如本文所用，術語「聚核苷酸」及「核酸」既定為彼此同義。

〔0216〕 技術人員應理解，由於遺傳密碼之簡併，大量不同聚核苷酸及核酸可編碼相同的多肽。另外，應理解，技術人員可使用常規技術進

行不影響由本文所描述之聚核苷酸編碼之多肽序列的核苷酸取代，以反映多肽將在其中表現之任何特定宿主生物體之密碼子用途。編碼本文所描述之各種域及模體等之核苷酸序列為此項技術中已知且可獲得的，且此等核苷酸序列中之任一者可用於或經修飾以用於本文中。

【0217】 根據本發明之核酸可包含DNA或RNA。其可為單股或雙股。其亦可為在其內包括合成性或經修飾之核苷酸的聚核苷酸。多個不同類型之修飾為此項技術中已知的。此等修飾包括甲基膦酸酯及硫代磷酸酯主鏈，在分子之3'端及/或5'端處添加吖啶或聚離胺酸鏈。出於本文所描述之用途之目的，應瞭解，聚核苷酸可藉由此項技術中可獲得之任何方法修飾。可進行此類修飾以便增強所關注之聚核苷酸之活體內活性或壽命。關於核苷酸序列之術語「變異體」、「同系物」或「衍生物」包括來自或關於序列之一個(或多個)核酸之任何取代、變化、修飾、置換、缺失或添加。

【0218】 諸如DNA核酸分子/聚核苷酸/序列之核酸分子/聚核苷酸/核苷酸序列可以重組、合成或藉由熟習此項技術者可用的任何方式產生。其亦可藉由標準技術選殖。

【0219】 較長的核酸分子/聚核苷酸/核苷酸序列將一般使用重組方式，例如使用聚合酶鏈反應(PCR)選殖技術生成。此將涉及側接需要選殖之目標序列的一對引子(例如約15至30個核苷酸)，使引子與自動物或人類細胞獲得之mRNA或cDNA接觸，在引起所需區域擴增之條件下進行聚合酶鏈反應，分離擴增之片段(例如藉由用瓊脂糖凝膠純化反應混合物)且回收擴增之DNA。引子可設計成含有適合的限制酶識別位點，以使得可將擴增的DNA選殖至適合載體中。

【0220】 核酸構築體可包含核酸分子以及一或多個其他核苷酸序列，例如調節序列，例如表現控制序列及/或其他編碼序列。特定言之，其他編碼序列可編碼所關注之蛋白質。此可為治療蛋白。

【0221】 如上所指出，重組蛋白可與另一種所關注之蛋白質共表現，例如第二蛋白或受體，尤其抗原受體，例如CAR或TCR或其衍生物(例如TCR-CAR構築體或單鏈TCR構築體等)。此類另一蛋白質(例如受體)之編碼序列可包含於如上文所提及之構築體內。

【0222】 重組蛋白亦可與安全開關多肽共表現。安全開關多肽向在細胞中或細胞上表現該多肽之細胞提供自殺部分。此可用作一種安全機制，若需要，或實際上更一般地，根據需求或需要，例如一旦細胞已執行或完成其療效，該機制允許刪除已向個體投與之細胞。或者，如上文所論述，重組蛋白可包含自殺部分。

【0223】 自殺部分具有導致細胞死亡或更一般而言消除或刪除細胞的誘導能力。自殺部分之一實例為藉由自殺基因編碼之自殺蛋白質，其可與所需轉殖基因一起表現於細胞中或細胞上，在此情況下重組蛋白(及視情況由細胞與本發明重組蛋白共同表現之CAR或其他受體)，當表現時，其允許細胞缺失以關閉轉殖基因(CAR)之表現。本文中之自殺部分係自殺多肽，亦即在允許的條件下，即經誘導或開啟的條件下，能夠導致細胞被刪除的多肽。

【0224】 自殺部分可為多肽或胺基酸序列，其可藉由向個體投與之活化劑活化以執行細胞刪除活性，或在可向個體投與之受質存在下具有活性以執行細胞刪除活性。在一特定實施例中，自殺部分可表示向個體投與之單獨的細胞刪除劑之靶標。藉由結合自殺部分，細胞刪除劑可靶向待刪

除之細胞。特定言之，自殺部分可被抗體識別，且抗體與在細胞表面上表現時之安全開關多肽的結合導致細胞被去除，或刪除。

【0225】 自殺部分可為此項技術中已知之HSV-TK或iCasp9。然而，在其它實例中自殺部分可為或可包含由細胞刪除抗體或其他能夠引發細胞刪除之結合分子識別的抗原決定基。

【0226】 如本文所用，在細胞刪除之情形下，術語「刪除」與「移除」或「消除」或「去除」同義。該術語用於涵蓋細胞殺死或抑制細胞增殖，使得個體中之細胞數目可減少。100%完全移除可為理想的，但非必須達成。減少個體內之細胞數目或抑制細胞增殖可足以產生有益效果。

【0227】 特定言之，自殺部分可為由抗體利妥昔單抗(Rituximab)識別之CD20抗原決定基。因此，在安全開關多肽中，自殺部分可包含基於由抗體利妥昔單抗識別之CD20之抗原決定基的最小抗原決定基。更特定言之，該多肽可包含由連接子L間隔開之兩個CD20抗原決定基R1及R2。

【0228】 基於利妥昔單抗抗原決定基之安全開關描述於WO2013/15339中。已開發出模擬由利妥昔單抗識別之抗原決定基的肽(所謂的模擬抗原決定基)，且此等肽在WO2013/15339中用作組合自殺-標記多肽構築體中之自殺部分，該構築體亦包含CD34最小抗原決定基作為標記部分。特定言之，WO2013/15339揭示稱為RQR8之多肽，其具有SEQ ID NO.99中所闡述之序列，其包含兩個CD20最小抗原決定基，該等兩個最小抗原決定基藉由間隔序列及中間CD34標記序列彼此分隔，且進一步連接至柄序列，該柄序列允許多肽自表現多肽之細胞的表面突出。安全開關多肽可為RQR8或與其具有至少80%序列一致性，例如與其具有至少85%、88%、90%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之其變

異體。可用作安全開關域之基礎的其他安全開關多肽包括吾人同在申請中之PCT專利申請案第PCT/EP2021/064053 (WO 2021/239812)號中所描述的彼等。

【0229】 可與本文所描述之嵌合蛋白或重組蛋白共表現之其他多肽包括轉錄因子、生長因子或可幫助增強細胞存活之功能性的其他因子。舉例而言，轉錄因子FOXP3可用於維持Treg細胞之抑制表型。「FOXP3」為叉頭框P3蛋白之簡稱。FOXP3為轉錄因子之FOX蛋白家族之成員，且充當調節T細胞之發育及功能中之調節路徑的主調節因子。如本文所用之「FOXP3」涵蓋FOXP3之變異體、同功異型物及功能片段。「FOXP3多肽」為具有FOXP3活性之多肽，亦即能夠結合FOXP3目標DNA且充當轉錄因子調節Treg發育及功能的多肽。FOXP3連同本文所描述之重組蛋白在Treg中之表現可進一步幫助維持Treg表型。

【0230】 FOXP3與組成型活性重組受體之共表現可幫助增加細胞內之FOXP3表現且維持Treg細胞或具有調節表型之細胞的抑制表型。

【0231】 「增加FOXP3表現」意謂與未藉由引入核酸分子或載體來修飾之相對應細胞(或細胞群體)相比，增加細胞(或細胞群體)中FOXP3 mRNA及/或蛋白質之含量。舉例而言，根據本發明修飾之細胞(或該等細胞之群體)中之FOXP3 mRNA及/或蛋白質之含量可增加至比未根據本發明修飾之相對應細胞(或該等細胞之群體)中之含量大至少1.5倍、至少2倍、至少5倍、至少10倍、至少50倍、至少100倍、至少150倍。較佳地，細胞為Treg，或細胞群體為Treg群體。

【0232】 適合地，經修飾細胞(或該等細胞之群體)中之FOXP3 mRNA及/或蛋白質之含量可增加至比未如此修飾之相對應細胞(或該等細

胞之群體)中之含量大至少1.5倍、大2倍或大5倍。較佳地，細胞為Treg，或細胞群體為Treg群體。

【0233】 量測特定mRNA及蛋白質之含量之技術為此項技術中所熟知的。可藉由諸如Affymetrix ebioscience prime flow RNA分析、北方墨點法(Northern blotting)、基因表現系列分析(SAGE)或定量聚合酶鏈反應(qPCR)之技術量測諸如Treg之細胞群體中的mRNA含量。可藉由諸如流式細胞術、高效液相層析(HPLC)、液相層析-質譜分析(LC/MS)、西方墨點法或酶聯免疫吸附分析(ELISA)之技術量測細胞群體中之蛋白質含量。

【0234】 「FOXP3多肽」為具有FOXP3活性之多肽，亦即能夠結合FOXP3目標DNA且充當轉錄因子調節Treg發育及功能之多肽。特定言之，FOXP3多肽可具有與野生型FOXP3 (SEQ ID NO. 129)相同或類似的活性，例如可具有野生型FOXP3多肽之活性的至少40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、100%、110%、120%、130%、140%或150%。因此，由本文所描述之核酸或載體中之核苷酸序列編碼之FOXP3多肽與野生型FOXP3相比可具有增加或減少的活性。用於量測轉錄因子活性之技術為此項技術中所熟知的。舉例而言，可藉由ChIP量測轉錄因子DNA結合活性。轉錄因子之轉錄調節活性可藉由定量其所調節之基因之表現量來量測。可藉由使用諸如北方墨點法、SAGE、qPCR、HPLC、LC/MS、西方墨點法或ELISA之技術量測產生自基因之mRNA及/或蛋白質的含量來定量基因表現。由FOXP3調節之基因包括諸如IL-2、IL-4及IFN-γ之細胞激素(Siegler等人Annu. Rev. Immunol. 2006, 24: 209-26，以引用之方式併入本文中)。如下文詳細論述，FOXP3或FOXP3多肽包括其功能片段、變異體及同功異型物，例如SEQ ID NO. 32之功能片段、變異

體及同功異型物。

【0235】「FOXP3之功能片段」可指與全長FOXP3多肽或聚核苷酸具有相同或類似活性之FOXP3多肽或編碼FOXP3多肽之聚核苷酸(亦即核苷酸序列)的部分或區。功能片段可具有全長FOXP3多肽或聚核苷酸之活性的至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、或100%。熟習此項技術者將能夠基於FOXP3之已知結構及功能特性生成功能片段。此等描述於例如Song, X., 等人, 2012. Cell reports, 1(6), 第665-675頁；Lopes, J.E., 等人, 2006. The Journal of Immunology, 177(5), 第3133-3142頁；及Lozano, T., 等人, 2013. Frontiers in oncology, 3, 第294頁中。此外，N及C端截短FOXP3片段描述於WO2019/241549(以引用之方式併入本文中)內，該片段例如具有如下文所論述之序列SEQ ID NO. 37。

【0236】「FOXP3變異體」可包括可與FOXP3多肽或編碼FOXP3多肽之聚核苷酸，例如與SEQ ID NO. 129至少50%、至少55%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%或至少90%一致、較佳至少95%或至少97%或至少99%一致的胺基酸序列或核苷酸序列。FOXP3變異體可具有與野生型FOXP3多肽或聚核苷酸相同或類似的活性，例如可具有野生型FOXP3多肽或聚核苷酸之活性的至少40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、100%、110%、120%、130%、140%或150%。熟習此項技術者將能夠基於FOXP3之已知結構及功能特性及/或使用保守取代生成FOXP3變異體。相比於野生型FOXP3，FOXP3變異體在Treg細胞內可具有類似或相同的移轉時間(或降解速率)，例如為野生型FOXP3在Treg中之移轉時間(或降解速率)的至少40%、50%、60%、

70%、80%、90%、95%、99%或100%。一些FOXP3變異體相較於野生型FOXP3可具有減少之移轉時間(或降解速率)，例如在SEQ ID NO. 32之胺基酸418及/或422具有胺基酸取代之FOXP3變異體，例如S418E及/或S422A，如WO2019/241549 (以引用的方式併入本文中)中所描述。

【0237】 適合地，由如本文所描述之核酸分子或載體編碼之FOXP3多肽可包含以下或由以下組成：諸如UniProtKB寄存Q9BZS1 (SEQ ID NO. 32)之人類FOXP3之多肽序列，或其功能片段或變異體。

【0238】 在本發明之一些實施例中，FOXP3多肽包含與SEQ ID NO. 32至少70%一致之胺基酸序列或其功能片段或由其組成。適當地，FOXP3多肽包含與SEQ ID NO. 32至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%一致之胺基酸序列或其功能片段或由其組成。在一些實施例中，FOXP3多肽包含SEQ ID NO. 32或其功能片段或由其組成。

【0239】 在一些實施例中，如上文所論述，FOXP3多肽可包含SEQ ID NO. 32之殘基418及/或422處之突變。

【0240】 在本發明之一些實施例中，FOXP3多肽可在N及/或C端截短，導致產生功能片段。特定言之，FOXP3之N及C端截短功能性片段可包含SEQ ID NO. 37之胺基酸序列或與其具有至少80%、85%、90%、95%或99%一致性的其功能變異體或由其組成。

【0241】 適合地，FOXP3多肽可為SEQ ID NO. 32之變異體，例如天然變異體。適合地，FOXP3多肽為SEQ ID NO. 32之同功異型物。舉例而言，FOXP3多肽可包含相對於SEQ ID NO. 32之胺基酸位置72-106之缺失。替代地，FOXP3多肽可包含相對於SEQ ID NO. 32之胺基酸位置246-

272之缺失。

【0242】 本發明核酸分子或構築體可進一步包含編碼可篩選標記之核酸序列。適合可篩選標記為此項技術中所熟知且包括但不限於螢光蛋白-諸如GFP。適合地，可篩選標記可為螢光蛋白，例如GFP、YFP、RFP、tdTomato、dsRed或其變異體。在一些實施例中螢光蛋白為GFP或GFP變異體。

【0243】 適當地，可篩選標記/報導子域可為基於螢光素酶之報導子、PET報導子(例如碘酸鈉同向運輸蛋白(NIS))或膜蛋白(例如CD34、低親和力神經生長因子受體(LNGFR))。

【0244】 使用可篩選標記為有利的，因為其允許已成功引入核酸分子、構築體或載體(使得編碼之嵌合蛋白及任何其他編碼之蛋白質或多肽經表現)的細胞(例如Treg)使用常見方法(例如流式細胞術)自起始細胞群體選擇及分離。

【0245】 在另一實施例中，重組蛋白可與對至少一種鈣調神經磷酸酶抑制劑具有抗性之突變鈣調神經磷酸酶蛋白，且尤其對至少一種鈣調神經磷酸酶抑制劑具有抗性且對至少一種鈣調神經磷酸酶抑制劑敏感之突變鈣調神經磷酸酶蛋白共表現。此類鈣調神經磷酸酶突變異體在下文中進一步論述。在此類實施例中，核酸分子或構築體可另外包含編碼此類突變鈣調神經磷酸酶之核苷酸序列。

【0246】 在兩個或更多個編碼序列由單個核酸分子或構築體表現的情況下，其可藉由允許兩個或更多個編碼序列共表現的序列連接。特定言之，共表現序列或替代地稱為共表現位點可以能夠使所編碼蛋白質或多肽表現為離散實體。舉例而言，構築體可包含內部啟動子、內部核糖體進入

序列(IRES)序列或編碼裂解位點之序列。

【0247】 特定言之，共表現序列可編碼所編碼多肽之間的自裂解序列。特定言之，自裂解序列可為自裂解肽。該等序列在蛋白質生產期間自裂解。可使用之自裂解肽係2A肽或2A樣肽，其在此項技術中已知且描述，例如在Donnelly等人, Journal of General Virology, 2001, 82, 1027-1041中，其以引用之方式併入本文中。咸信2A及2A樣肽引起核糖體跳躍且導致一種裂解形式，其中核糖體跳過2A肽末端與下游胺基酸序列之間的肽鍵形成。「裂解」在2A肽之C端之甘胺酸與脯胺酸殘基之間發生，意謂上游順反子將具有經添加至末端之少量額外殘基，而下游順反子將以脯胺酸開始。

【0248】 適合的自裂解域包括分別如SEQ ID NO. 100-103中示出之P2A、T2A、E2A及F2A序列。序列可經修飾以在2A肽之N端包括胺基酸GSG。因此，亦包括作為可能選項的係對應於SEQ ID NO. 100-103之序列但在其N端具有GSG。該等經修飾之替代的2A序列在此項技術中已知且報導。可使用之替代的2A樣序列在Donnelly等人(前述)中展示，例如TaV序列。

【0249】 核酸分子中包括之自裂解序列可能相同或不同。

【0250】 自裂解序列可包括額外裂解位點，其可由細胞中存在之常見酶裂解。此可協助在轉譯後達成完全移除2A序列。此類額外裂解位點可例如包含弗林蛋白酶裂解位點。此類裂解位點為此項技術中已知的，且可包括例如RXXR (SEQ ID NO. 104)，例如RRKR (SEQ ID NO. 105)。

【0251】 本文所用之核酸分子/聚核苷酸可為經密碼子最佳化的。密碼子最佳化先前已描述於WO 1999/41397及WO 2001/79518中。不同細胞

不同之處在於其對特定密碼子之使用。此密碼子偏差對應於特定tRNA在細胞類型中之相對豐度的偏差。藉由改變序列中之密碼子使得其經定製以與相應的tRNA之相對豐度匹配，有可能增加表現。同樣地，有可能藉由故意選擇滿足以下條件之密碼子來降低表現：已知與其對應的tRNA在特定細胞類型中係罕見的。因此，可實現額外轉譯控制程度。

【0252】 編碼重組蛋白之核苷酸序列及任何其他編碼核苷酸序列可提供於其中可操作地連接於啟動子之構築體中。在一些情況下，不同核苷酸序列可操作地連接至相同啟動子。「啟動子」係引起基因轉錄起始的DNA區。啟動子位於基因轉錄起始位點附近，位於DNA上游(朝向有義股之5'區)。可使用任何適合的啟動子，啟動子之選擇可由熟習此項技術者容易地完成。啟動子可來自任何來源，且可為病毒啟動子或真核啟動子，包括哺乳動物或人類啟動子(即生理啟動子)。在一實施例中啟動子為病毒啟動子。特定啟動子包括LTR啟動子、EFS(或其功能截短)、SFFV、PGK及CMV。在一實施例中啟動子為SFFV或病毒LTR啟動子。「可操作地連接至相同啟動子」意謂聚核苷酸序列之轉錄可自相同啟動子起始，且核苷酸序列經定位及定向以用於自啟動子起始轉錄。聚核苷酸在啟動子之轉錄調節下可操作地連接於啟動子。

【0253】 載體係允許或促進實體自一個環境轉移至另一個環境的工具。如本文所用，且藉助於實例，重組核酸技術中使用之一些載體允許將諸如核酸片段(例如諸如異源cDNA片段之異源DNA片段)之實體轉移至目標細胞中。載體可為非病毒或病毒性。重組核酸技術中使用之載體之實例包括但不限於質體、mRNA分子(例如活體外經轉錄mRNA)、染色體、人工染色體及病毒。載體亦可為例如裸核酸(例如DNA)。在其最簡單形式

中，載體自身可為所關注的核苷酸序列。

【0254】 本文所用之載體可為例如質體、mRNA或病毒載體且可包括用於表現核酸分子/聚核苷酸之啟動子(如上文所描述)及視情況存在之啟動子之調節子。

【0255】 在一實施例中，載體為病毒載體，例如反轉錄病毒，例如慢病毒載體或γ反轉錄病毒載體。

【0256】 載體可進一步包含額外啟動子，舉例而言，在一個實施例中，啟動子可為LTR，例如反轉錄病毒LTR或慢病毒LTR。長末端重複序列(LTR)係相同的DNA序列，發現其在反轉錄轉位子或由反轉錄病毒RNA之反轉錄形成的前病毒DNA的任一端重複數百或數千次。病毒利用它們將其遺傳物質插入宿主基因體中。在LTR中發現基因表現信號：增強子、啟動子(可同時具有轉錄增強子或調節元件)、轉錄起始(諸如加帽)、轉錄終止子及聚腺苷酸化信號。

【0257】 適合地，載體可包括5'LTR及3'LTR。

【0258】 載體可包含一或多個額外的調節序列，其可在轉錄前或轉錄後發揮作用。「調節序列」係促進多肽表現之任何序列，例如用於增加轉錄物表現或增強mRNA穩定性。適合的調節序列包括例如增強子元件、轉錄後調控元件及聚腺苷酸化位點。適合地，LTR中可存在額外的調節序列。

【0259】 適合地，載體可包含土拔鼠肝炎病毒轉錄後調節元件(WPRE)，例如可操作地連接於啟動子。

【0260】 可使用諸如轉形及轉導之此項技術中已知的多種技術將包含本發明核酸分子/聚核苷酸之載體引入細胞中。數種技術為此項技術中

已知的，例如用諸如反轉錄病毒、慢病毒、腺病毒、腺相關病毒、桿狀病毒及單純疱疹病毒載體之重組病毒載體感染；直接注射核酸及基因槍轉形。

【0261】 非病毒遞送系統包括但不限於DNA轉染方法。此處，轉染包括使用非病毒載體遞送基因至目標細胞之方法。非病毒遞送系統可包括脂質或兩親媒性的細胞穿透肽，較佳與核酸分子或構築體錯合。

【0262】 典型的轉染方法包括電穿孔、DNA基因槍、脂質介導之轉染、壓縮DNA介導之轉染、脂質體、免疫脂質體、脂質體(lipofectin)、陽離子試劑介導之轉染、陽離子面部兩親分子(cationic facial amphiphiles；CFA) (Nat. Biotechnol. (1996) 14: 556)及其組合。

【0263】 在一些情況下，本發明核酸分子可經設計以用作編碼重組蛋白及任何其他多肽(例如受體或標記或其他相關功能性多肽或蛋白質)之單一構築體且此將被包含於單一載體中，不排除其與其他載體一起引入細胞中，例如編碼其他多肽，亦可能需要引入細胞中。

【0264】 如上文所指出，重組蛋白可與CAR共表現於細胞中或細胞上。如本文所用，術語「嵌合抗原受體」或「CAR」係指可賦予細胞(例如Treg)抗原特異性之經工程改造之受體。CAR亦稱為人工T細胞受體、嵌合T細胞受體或嵌合免疫受體。CAR通常包含有包含抗原特異性靶向區之細胞外域(在本文中稱為抗原結合域)、跨膜域及細胞內域(其視情況包含一或多個共刺激域及胞內信號傳導域)。抗原結合域典型地藉由鉸鏈域接合至跨膜域。CAR之設計及其可含有的各種結構域為此項技術中所熟知。

【0265】 當CAR結合其目標抗原時，此導致活化信號穿透表現目標

抗原之細胞。因此，CAR引導經工程改造細胞之特異性朝向目標抗原，特定言之朝向表現目標抗原之細胞。

【0266】 CAR之抗原結合域可衍生自或獲自結合(亦即對其具有親和力)所需目標抗原或更一般而言所需目標分子之任何蛋白質或多肽。此可為例如配位體或受體，或針對目標分子之生理學結合蛋白，或其一部分，或合成或衍生蛋白。目標分子通常可表現於細胞(例如目標細胞)或目標細胞附近之細胞(用於旁觀者效應)之表面上，但不必如此。視抗原結合域之性質及特異性而定，CAR可識別可溶性分子，例如其中抗原結合域係基於或衍生自細胞受體。

【0267】 抗原結合域最常衍生自抗體可變鏈(例如其通常呈scFv形式)，但亦可由T細胞受體可變域或如上文所提及之其他分子(諸如配位體或其他結合分子之受體)產生。

【0268】 CAR通常表現為亦包含信號序列(亦稱為前導序列)且尤其將CAR靶向細胞之質膜之信號序列的多肽。該信號序列將一般位於緊鄰抗原結合域或附近，一般在抗原結合域之上游。CAR之細胞外域或胞外域可因此包含信號序列及抗原結合域。

【0269】 抗原結合域為CAR提供結合所關注的預定相關抗原之能力。抗原結合域較佳地靶向所關注之抗原或疾病部位之抗原。

【0270】 如上文所指出，抗原結合域可為具有特異性識別且結合至生物分子(例如細胞表面受體或其組分)之能力的任何蛋白質或肽。抗原結合域包括所關注生物分子的任何天然存在、合成、半合成或以重組方式生產之結合搭配物。說明性抗原特異性靶向域包括抗體或抗體片段或衍生物、受體之細胞外域、細胞表面分子/受體之配位體或其受體結合域及腫

瘤結合蛋白。儘管如下文所論述，抗原特異性靶向域較佳可為抗體或衍生自抗體，但涵蓋其他抗原特異性靶向域，例如由抗原肽/MHC或HLA組合形成之抗原特異性靶向域，其能夠結合至移植、發炎或疾病部位處具有活性之Tcon細胞之TCR。

【0271】 CAR可針對任何所需目標抗原或分子。此可根據預期療法及需要治療之病狀來選擇。其可例如為與特定病狀相關之抗原或分子，或與希望以治療該病狀為目標的細胞相關的抗原或分子。典型地，抗原或分子為細胞表面抗原或分子。

【0272】 術語「針對」與「具有特異性」或「抗」係同義的。換言之，CAR識別目標分子。因此，其意謂CAR能夠特異性結合至指定或給定抗原或目標。特定言之，CAR之抗原結合域能夠特異性地結合至目標分子或抗原(更特定言之，當CAR表現於細胞，尤其免疫效應細胞之表面上時)。特異性結合可區別於非特異性結合非靶分子或抗原。因此，表現CAR之細胞係針對或重定向以特異性結合於表現目標分子或抗原之目標細胞，特定言之在細胞表面上表現目標抗原或分子之目標細胞。

【0273】 可由本發明CAR靶向之抗原包括(但不限於)表現於與移植器官、自體免疫性疾病、過敏性疾病及發炎疾病(例如神經退化性疾病)相關之細胞上的抗原。熟習此項技術者應瞭解，在經工程改造以表現CAR之細胞為Treg細胞或其前驅體時，歸因於Treg細胞之旁觀者效應，抗原可僅僅存在於及/或表現於移植、炎症或疾病的部位。

【0274】 表現於與神經退化性疾病相關之細胞上的抗原包括呈遞於膠細胞上之彼等抗原(例如MOG)。

【0275】 與器官移植體相關及/或與移植器官相關之細胞的抗原包括

(但不限於)存在於移植器官中但缺乏於患者中之HLA抗原，或在移植排斥反應期間表現上調之抗原，諸如CCL19、MMP9、SLC1A3、MMP7、HMMR、TOP2A、GPNMB、PLA2G7、CXCL9、FABP5、GBP2、CD74、CXCL10、UBD、CD27、CD48、CXCL11。

【0276】 在實施例中，CAR係針對HLA抗原，且尤其HLA-A2抗原。

【0277】 針對此類抗原之抗體為此項技術中已知的，且可方便地在已知或可用抗體的基礎上獲得或生成scFv。就此而言，VH及VL及CDR序列為公開可用的，以輔助製備此類抗體結合域，例如WO 2020/044055中，其揭示內容以引用的方式併入本文中。可使用WO 2020/044055中所揭示之抗原結合域或CDR、VH及/或VL序列中之任一者。

【0278】 舉例而言，CAR可包含能夠結合HLA-A2 (HLA-A2在本文中亦可稱為HLA-A*02、HLA-A02及HLA-A*2)之抗原結合域。HLA-A*02為HLA-A基因座處之一個特別I級主要組織相容複合體(MHC)對偶基因組。

【0279】 抗原識別域可結合，宜特異性結合HLA-A2內之一或多個區或抗原決定基。抗原決定基，亦稱為抗原決定子，係由抗原識別域(例如抗體)識別之抗原的部分。換言之，抗原決定基係抗體所結合之抗原的特異片。適合地，抗原識別域結合，宜特異性結合HLA-A2內之一個區或抗原決定基。

【0280】 經工程改造之細胞(尤其T細胞)可藉由引入如本文所定義之核酸分子、構築體或載體，藉由許多方式中之一者產生，包括用病毒載體轉導及用DNA或RNA轉染。

【0281】 本發明細胞可藉由以下來製備：將如本文所定義之核酸分子、構築體或載體引入細胞(例如藉由轉導或轉染)。

【0282】 適合的細胞在下文進一步論述，但細胞可來自分離自個體之樣品。個體可為供給個體或用於療法的個體(亦即，細胞可為自體細胞，或供體細胞，用於引入另一個受體，例如同種異體細胞)。

【0283】 細胞可藉由包含以下步驟之方法來產生：

(i) 自個體分離含有細胞之樣品或提供含有細胞之樣品；及

(ii) 將如本文所定義之核酸分子、構築體或載體引入(例如藉由轉導或轉染)含有細胞之樣品中，以提供工程改造細胞群體。

【0284】 將引入核酸分子、構築體或載體之細胞可稱為目標細胞。在該方法之步驟(ii)之前及/或之後，可自含有細胞之樣品中分離、富集及/或產生富含目標細胞的樣品。舉例而言，可在步驟(ii)之前及/或之後進行分離、富集及/或產生Treg (或其他目標細胞)以分離、富集或產生富含Treg的樣品。可在步驟(ii)之後自含有細胞之樣品進行分離及/或富集，以富集包含如本文所描述之CAR、核酸分子/聚核苷酸、構築體及/或載體之細胞及/或Treg (或其他目標細胞)。

【0285】 可藉由熟習此項技術者已知的任何方法分離或富集富含Treg的樣品，例如藉由FACS及/或磁珠分選。可藉由熟習此項技術者已知的任何方法自含有細胞之樣品產生富含Treg的樣品，例如，來自藉由引入編碼FOXP3之DNA或RNA的Tcon細胞及/或來自誘導型祖細胞或胚胎祖細胞之活體外分化。用於分離及/或富集其他目標細胞之方法為此項技術中已知的。

【0286】 目標細胞可為Treg細胞，或其前驅體或祖細胞。

【0287】「工程改造細胞」意謂經修飾以包含或表現非該細胞天然編碼的聚核苷酸的細胞。用於工程改造細胞之方法為此項技術中已知的且包括但不限於細胞之基因修飾，例如藉由諸如反轉錄病毒或慢病毒轉導之轉導、包括脂質體轉染、聚乙二醇、磷酸鈣及電穿孔之轉染(諸如基於DNA或RNA的瞬時轉染)，如上文所論述。可使用任何適合的方法將核酸序列引入細胞中。諸如兩親媒性細胞穿透肽之非病毒技術可用於引入核酸。細胞亦可例如使用任何已知基因編輯技術(例如使用CRISPR、TALEN或Zn指)進行遺傳修飾，以將如本文所描述之核苷酸、聚核苷酸或核酸序列插入至基因體中。

【0288】因此，如本文所描述之核酸分子並非由相應的未修飾細胞天然表現的。實際上，編碼重組蛋白之核酸分子為人工構築體，且不可天然地存在或表現。適合地，工程改造細胞為已例如藉由轉導或藉由轉染進行修飾的細胞。適合地，工程改造細胞為已經修飾或其基因體已例如藉由轉導或藉由轉染修飾的細胞。適合地，工程改造細胞為已經修飾或其基因體已藉由反轉錄病毒轉導修飾的細胞。適合地，工程改造細胞為已經修飾或其基因體已藉由慢病毒轉導修飾的細胞。

【0289】如本文所使用，術語「引入」係指用於將例如DNA或RNA之外來核酸插入細胞中之方法。如本文所使用，術語引入包括轉導及轉染方法二者。轉染係藉由非病毒方法將核酸引入細胞中之方法。轉導係經由病毒載體將外來DNA或RNA引入細胞中之方法。工程改造細胞可藉由包括用病毒載體轉導、用DNA或RNA轉染之多種方式中的一種引入如本文所描述之核酸來產生。

【0290】細胞可在引入如本文所描述之核酸之前或之後進行活化及/

或擴增，例如藉由用抗CD3單株抗體或抗CD3及抗CD28單株抗體二者處理。細胞亦可在抗CD3及抗CD28單株抗體與IL-2組合存在下擴增。適合地，IL-2可以用IL-15取代。細胞(例如Treg)擴增方案中可用之其他組分包括但不限於雷帕黴素、全反式視黃酸(ATRA)及TGFβ。如本文所用，「活化」意謂細胞已被刺激，導致細胞增殖。如本文所用，「擴增」意謂細胞或細胞群體已被誘導增殖。細胞群體之擴增可例如藉由計算群體中存在的細胞數量來量測。細胞之表型可藉由諸如流式細胞術之此項技術中已知之方法確定。在一個實施例中，細胞可在EPO存在下進行培養及/或活化。

【0291】 細胞可為免疫細胞或其前驅體。前驅體細胞可為祖細胞。因此，代表性免疫細胞包括T細胞，尤其細胞毒性T細胞(CTL；CD8+ T細胞)、輔助T細胞(HTL；CD4+ T細胞)及調節T細胞(Treg)。其他T細胞群體在本文中亦為可用的，例如初始T細胞及記憶T細胞。其他免疫細胞包括NK細胞、NKT細胞、樹突狀細胞、MDSC、嗜中性白血球及巨噬細胞。免疫細胞之前驅體包括多能幹細胞，例如誘導型PSC (iPSC)，或更多定向祖細胞，包括多能幹細胞，或定向於譜系之細胞。前驅體細胞可經誘導以在活體內或活體外分化為免疫細胞。在一個態樣中，前驅體細胞可為能夠轉分化為所關注免疫細胞之體細胞。

【0292】 最值得注意的是，免疫細胞可為NK細胞、樹突狀細胞、MDSC或T細胞，諸如細胞毒性T淋巴球(CTL)或Treg細胞。

【0293】 特定言之，免疫細胞可為Treg細胞。「調節T細胞(Treg)或T調節細胞」為具有控制細胞病變免疫反應且為維持免疫耐受性所必需的免疫抑制功能之免疫細胞。如本文所用，術語Treg係指具有免疫抑制功

能之T細胞。

【0294】 如本文所用之T細胞為包括任何類型T細胞之淋巴球，諸如αβ T細胞(例如CD8或CD4+)、γδ T細胞、記憶T細胞、Treg細胞。

【0295】 適合地，免疫抑制功能可指Treg減少或抑制因免疫系統回應於諸如病原體、同種異體抗原或自體抗原之刺激物所促進之許多生理及細胞效應中之一或多者的能力。此類效應之實例包括增加習知T細胞(Tcon)之增殖及促炎性細胞激素之分泌。任何此類效應均可用作免疫反應強度之指標。Tconv在Treg存在下之相對較弱的免疫反應表明Treg抑制免疫反應之能力。舉例而言，細胞激素分泌之相對減少表明免疫反應較弱，且因此表明Treg抑制免疫反應之能力。Treg亦可藉由調節共刺激分子在諸如B細胞、樹突狀細胞及巨噬細胞之抗原呈現細胞(APC)上之表現來抑制免疫反應。CD80及CD86之表現量可用於評定共培養後活體外活化之Treg的抑制效力。

【0296】 此項技術中已知用於量測免疫反應強度之指標且由此量測Treg之抑制能力的分析。特定言之，抗原特異性Tconv細胞可與Treg共培養，且將相應抗原之肽添加至共培養物中以刺激Tconv細胞之反應。Tconv細胞之增殖程度及/或其回應於肽添加而分泌之細胞激素IL-2的數量可用作共培養之Treg之抑制能力的指標。

【0297】 與如本文中所提及之Treg共培養之抗原特異性Tconv細胞可比在無Treg存在下培養之相同Tconv細胞少增殖5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、90%、95%或99%。舉例而言，與本發明Treg共培養之抗原特異性Tconv細胞可比在未經工程改造之Treg存在下培養之相同Tconv細胞少增殖5%、10%、20%、30%、40%、50%、

60%、70%、90%、95%或99%。包含如本文所定義之核酸、表現構築體或載體之細胞，例如Treg，相比於未經工程改造之Treg可具有增加的抑制活性(例如抑制活性增加至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%)。

【0298】 與本文中之Treg共培養之抗原特異性Tconv細胞可比在無該等Treg存在下(例如在未經工程改造之Treg存在下)培養之相對應Tconv細胞少表現至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%或至少60%的效應細胞激素。效應細胞激素可選自IL-2、IL-17、TNFα、GM-CSF、IFN-γ、IL-4、IL-5、IL-9、IL-10及IL-13。適當地，效應細胞激素可選自IL-2、IL-17、TNFα、GM-CSF及IFN-γ。

【0299】 已鑑別可表現不同或不同含量之特定標記的數種不同Treg亞群。Treg一般為表現標記CD4、CD25及FOXP3 ($CD4^+CD25^+FOXP3^+$)之T細胞。

【0300】 Treg亦可表現CTLA-4 (細胞毒性T淋巴球相關分子4)或GITR (糖皮質激素誘導之TNF受體)。

【0301】 Treg細胞存在於外周血液、淋巴結及組織中，且本文中使用之Treg包括胸腺來源的天然Treg (nTreg)細胞、外周產生的Treg及誘導的Treg (iTreg)細胞。

【0302】 Treg可使用細胞表面標記CD4及CD25在表面蛋白CD127缺乏或表現量低組合之情況下鑑別 ($CD4^+CD25^+CD127^-$ 或 $CD4^+CD25^+CD127^{低}$)。使用此類標記鑑別Treg為此項技術中已知的且描述於例如Liu等人(JEM; 2006; 203; 7(10); 1701-1711)中。

【0303】 Treg可為$CD4^+CD25^+FOXP3^+$ T細胞、

$CD4^+CD25^+CD127^-$ T細胞或$CD4^+CD25^+FOXP3^+CD127^{-/低}$T細胞。

【0304】 適合地，Treg可為天然Treg (nTreg)。如本文所使用，術語「天然Treg」意謂胸腺來源的Treg。天然Treg係$CD4^+CD25^+FOXP3^+$ $Helios^+$神經纖毛蛋白1^+。與iTreg相比，nTreg具有較高的PD-1 (計劃性細胞死亡-1，pdcd1)、神經纖毛蛋白1 (Nrp1)、Helios (Ikzf2)及CD73表現。基於Helios蛋白或神經纖毛蛋白1 (Nrp1)各自的表現可區別nTreg與iTreg。

【0305】 Treg可具有去甲基化之Treg特異性去甲基化區(TSDR)。TSDR為調節Foxp3表現之重要甲基化敏感元件(Polansky, J.K.等人, 2008. European journal of immunology, 38(6), 第1654-1663頁)。

【0306】 其他適合的Treg包括但不限於Tr1細胞(其不表現Foxp3，且具有高IL-10產生)；$CD8^+FOXP3^+$ T細胞；及γδ $FOXP3^+$ T細胞。

【0307】 已知存在不同的Treg亞群，包括初始Treg ($CD45RA^+FoxP3^{低}$)、效應/記憶Treg ($CD45RA^-FoxP3^{高}$)及產生細胞激素之Treg ($CD45RA^-FoxP3^{低}$)。「記憶Treg」為表現CD45RO且視為$CD45RO^+$之Treg。此等細胞與初始Treg相比，CD45RO含量增加(例如CD45RO多至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%)，且與初始Treg相比，較佳不表現或具有低含量之CD45RA (mRNA及/或蛋白質)(例如與初始Treg相比，CD45RA少至少80%、90%或95%)。「產生細胞激素之Treg」為與初始Treg相比不表現或具有極低含量之CD45RA (mRNA及/或蛋白質)(例如與初始Treg相比，CD45RA少至少80%、90%或95%)，且與記憶Treg相比具有低含量之FOXP3 (例如與記憶Treg相比，少於50%、60%、70%、80%或90%之FOXP3)的Treg。產

生細胞激素之Treg可產生干擾素γ且與初始Treg相比，活體外抑制性可能較低(例如與初始Treg相比，低於50%、60%、70%、80%或90%之抑制性)。本文中提及之表現量可指mRNA或蛋白質表現。特定言之，對於諸如CD45RA、CD25、CD4、CD45RO等之細胞表面標記，表現可指細胞表面表現，亦即在細胞表面上表現之標記蛋白之量或相對量。表現量可藉由此項技術之任何已知方法測定。舉例而言，mRNA表現量可藉由北方墨點法/陣列分析測定，且蛋白質表現可藉由西方墨點法或較佳藉由FACS使用針對細胞表面表現之抗體染色測定。

【0308】特定言之，Treg可為初始Treg。如本文中可互換使用之「初始調節性T細胞、初始T調節細胞或初始Treg」係指表現CD45RA之Treg細胞(特定言之，其在細胞表面上表現CD45RA)。初始Treg因此描述為$CD45RA^+$。初始Treg一般表示尚未經由其內源性TCR由肽/MHC活化之Treg，而效應/記憶Treg係關於已經由其內源性TCR刺激活化之Treg。通常，初始Treg可比非初始Treg細胞(例如記憶Treg細胞)多表現至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%之CD45RA。可替代地理解，與非初始Treg細胞(例如記憶Treg細胞)相比，初始Treg細胞可表現至少2、3、4、5、10、50或100倍量之CD45RA。CD45RA之表現量可藉由此項技術之方法容易地測定，例如藉由使用市售抗體之流動式細胞測量術。通常，非初始Treg細胞不表現CD45RA或CD45RA表現量低。

【0309】特定言之，初始Treg可不表現CD45RO，且可視為$CD45RO^-$。因此，與記憶Treg相比，初始Treg可表現少至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%之CD45RO，或可替代地理解為比記憶Treg細胞少至少2、3、4、5、10、50或100倍之CD45RO。

【0310】 儘管如上文所論述，初始Treg表現CD25，但CD25表現量視初始Treg之來源而定，可低於記憶Treg之表現量。舉例而言，對於自外周血液分離之初始Treg，CD25之表現量可比記憶Treg低至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。此類初始Treg可視為中等至低表現量之CD25。然而，熟習此項技術者應瞭解，自臍帶血分離之初始Treg可能不會顯示此差異。

【0311】 通常，如本文所定義之初始Treg可為$CD4^+$、$CD25^+$、$FOXP3^+$、$CD127^{低}$、$CD45RA^+$。

【0312】 如本文所用，CD127之低表現係指與來自同一個體或供體之CD4+非調節性或Tcon細胞相比，CD127之表現量較低。特定言之，與來自同一個體或供體之$CD4^+$非調節性或Tcon細胞相比，初始Treg可表現低於90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%或10%之CD127。CD127之含量可藉由此項技術中之標準方法來評定，包括藉由用抗CD127抗體染色之細胞的流式細胞術。

【0313】 通常，初始Treg不表現或表現低含量之CCR4、HLA-DR、CXCR3及/或CCR6。特定言之，初始Treg可比記憶Treg表現更低含量之CCR4、HLA-DR、CXCR3及CCR6，例如低至少10、20、30、40、50、60、70、80或90%之表現量。

【0314】 初始Treg可進一步表現額外標記，包括$CCR7^+$及$CD31^+$。

【0315】 經分離之初始Treg可藉由此項技術中已知的方法鑑別，包括藉由確定經分離細胞之細胞表面上是否存在一組上文所論述之標記中之任一或多者。舉例而言，CD45RA、CD4、CD25及CD127低可用於確定細胞是否為初始Treg。確定經分離細胞是否為初始Treg或具有所需表型之

方法可如下文關於可進行的額外步驟所論述進行，且用於確定細胞標記之存在及/或表現量的方法為此項技術中眾所周知的，且包括例如使用市售抗體之流式細胞術。

【0316】 適合地，自獲自個體之外周血液單核細胞(PBMC)分離諸如Treg之細胞。適合地，獲得PBMC之個體係哺乳動物，較佳人類。適合地，細胞與將投與工程改造細胞之個體匹配(例如HLA匹配)或為自體的。適合地，待治療之個體係哺乳動物，尤其為人類。細胞可自患者自身外周血液(第1方)或在造血幹細胞移植的環境中自供體外周血液(第2方)或來自未連接供體的外周血液(第3方)中體外產生。適合地，該細胞對於將投與工程改造細胞之個體係自體的。

【0317】 適合地，Treg係細胞群體之一部分。適合地，Treg之群體包含至少70% Treg，諸如至少75%、85%、90%、95%、97%、98%或99% Treg。該群體可被稱為「富集之Treg群體」。

【0318】 在一些態樣中，Treg可來源於誘導型祖細胞(例如iPSC)或胚胎祖細胞活體外分化成Treg。如本文所描述之核酸分子、構築體或載體可在誘導型祖細胞或胚胎祖細胞分化成Treg之前或之後引入其中。適合的用於分化的方法為此項技術中已知的且包括Haque等人, J Vis Exp., 2016, 117, 54720 (以引用之方式併入本文中)中所揭示的方法。在另一態樣中，當重組蛋白為具有在缺乏信號誘導分子之情況下提供二聚化及信號傳導之修飾的EPOR時，內源性EPOR核酸可藉由基因編輯技術(例如CRISPR)修飾以提供本發明之細胞。

【0319】 如本文所使用，術語「習知T細胞」或Tcon或Tconv (在本文中可互換使用)意謂表現αβ T細胞受體(TCR)以及可為分化叢集4 (CD4)

或分化叢集8(CD8)且不具有免疫抑制功能之輔受體的T淋巴球。習知T細胞存在於外周血液、淋巴結及組織中。適合地，經工程改造之Treg可由Tcon藉由引入包括編碼FOXP3之序列的核酸來產生，或者經工程改造之Treg可由Tcon藉由在IL-2及TGF-β存在下活體外培養CD4+ CD25-FoxP3-細胞而產生。

【0320】 當表現重組蛋白時，與無重組蛋白之Treg細胞相比，本文中之Treg可具有增加之持久性。如本文所用之「持久性」定義Treg可在特定環境中，例如活體內(例如在人類患者或動物模型中)存活的時間長度。如本文所揭示之Treg與不表現本文中之重組蛋白之Treg相比可具有至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%之增加持久性。持久性可藉由例如測定隨時間推移個體或患者內所投與之細胞的量或數目來量測，其中表現本發明之重組蛋白的細胞與不表現重組蛋白之等效細胞類型相比，或與未經工程改造之細胞相比。有可能例如使用標記蛋白，例如CD34，追蹤所投與之細胞，亦表現RQR8安全開關之細胞。

【0321】 在另一實施例中，引入核酸分子、構築體或載體之目標細胞不為意欲用於療法之細胞。在一實施例中細胞為生產宿主細胞。細胞可用於產生核酸，例如選殖，或載體，或多肽。

【0322】 本文亦提供包含如本文所定義或描述之細胞的細胞群體。應瞭解，細胞群體可包含以下兩者：本發明細胞，其包含如本文所定義之核酸分子、構築體或載體；及細胞，其不包含核酸分子、構築體或載體，例如未經轉導或未經轉染之細胞。儘管在一特定實施例中，群體中之所有細胞可包含核酸、表現構築體或載體，但提供至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%或99%的包含核酸、表現構

築體或載體之細胞群體。

【0323】 亦提供包含如本文所定義或描述之細胞或細胞群體、如本文所定義之載體的醫藥組合物。載體可用於基因療法。因此，相對於投與細胞，取而代之可投與載體，以修飾個體內之內源性細胞以表現所引入的核酸分子。適合用於基因療法之載體為此項技術中已知的，且包括病毒載體。

【0324】 醫藥組合物為包含以下或由以下組成之組合物：治療有效量之醫藥活性劑，亦即細胞(例如Treg)、細胞群體或載體。其較佳包括醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑(包括其組合)。用於醫療用途之可接受之載劑或稀釋劑在醫藥學技術中為熟知的，且描述於例如Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro編. 1985)中。可關於預期投與途徑及標準醫藥實踐來選擇醫藥學載劑、賦形劑或稀釋劑之選擇。醫藥組合物可包含任何適合之黏合劑、潤滑劑、懸浮劑、塗佈劑或增溶劑作為載劑、賦形劑或稀釋劑，或作為除載劑、賦形劑或稀釋劑以外的部分。

【0325】 「醫藥學上可接受」包括調配物為無菌及無熱原的。載劑、稀釋劑及/或賦形劑在與細胞或載體相容且對其接受者無害之意義上必須為「可接受的」。通常，載劑、稀釋劑及賦形劑將為生理鹽水或輸注介質，其將為無菌及無熱原的，然而，可使用其他可接受的載劑、稀釋劑及賦形劑。

【0326】 醫藥學上可接受之載劑之實例包括例如水、鹽溶液、酒精、矽酮、蠟、石油膏、植物油、聚乙二醇、丙二醇、脂質體、糖、明膠、乳糖、直鏈澱粉、硬脂酸鎂、滑石、界面活性劑、矽酸、黏稠鏈烷

烴、香料油、脂肪酸單甘油酸酯及二甘油酯、石油醚脂肪酸酯、羥甲基-纖維素、聚乙烯吡咯啶酮及其類似載劑。

【0327】 細胞、細胞群體或醫藥組合物可以適合於治療及/或預防所需疾病或病狀之方式投與。投與之數量及頻率將由諸如個體之狀況、及個體疾病或病狀之類型及嚴重程度等因素確定，但適當的劑量可藉由臨床試驗確定。可因此調配醫藥組合物。

【0328】 如本文所描述之細胞、細胞群體或醫藥組合物可非經腸投與，例如經靜脈內，或其可藉由輸注技術投與。細胞、細胞群體或醫藥組合物可以無菌水溶液之形式投與，該無菌水溶液可含有其他物質，例如足夠的鹽或葡萄糖以使溶液與血液等張。可適當地緩衝水溶液(較佳達pH 3至9)。可因此調配醫藥組合物。在無菌條件下製備適合的非經腸調配物易於藉由熟習此項技術者所熟知的標準醫藥技術來實現。

【0329】 醫藥組合物可在例如無菌等張溶液之輸注介質中包含細胞。可將醫藥組合物封裝於由玻璃或塑膠製成之安瓿、拋棄式注射器或多劑量小瓶中。

【0330】 細胞、細胞群體或醫藥組合物可以單劑量或多劑量形式投與。特定言之，細胞、細胞群體或醫藥組合物可以單次一次性劑量形式投與。可因此調配醫藥組合物。

【0331】 醫藥組合物可進一步包含一或多種活性劑。醫藥組合物可進一步包含一或多種諸如以下之其他治療劑：淋巴耗竭劑(例如胸腺球蛋白(thymoglobulin)、campath-1H、抗CD2抗體、抗CD3抗體、抗CD20抗體、環磷醯胺、氟達拉賓(fludarabine))、mTOR之抑制劑(例如西羅莫司、依維莫司、抑制共刺激路徑之藥物(例如抗CD40/CD40L、CTAL4Ig)

及/或抑制特定細胞激素(IL-6、IL-17、TNFα、IL18)之藥物。

【0332】 視待治療個體之疾病/病狀、以及投與途徑而定，可以變化的劑量(例如按細胞數/kg或細胞數/個體計量)投與細胞、細胞群體或醫藥組合物。在任何情況下，醫師會確定將最適於任何個別個體之實際劑量，且其將隨特定個體之年齡、體重及反應而變化。然而，通常，對於本文中之細胞，可向每名個體投與5×10^7至3×10^9個細胞、或10^8至2×10^9個細胞的劑量。

【0333】 細胞可恰當地經改性以用於醫藥組合物。舉例而言，在注入個體之前，可在適當的時間將細胞低溫保藏及解凍。

【0334】 本文進一步提供包含本文中之細胞、細胞群體及/或醫藥組合物之套組或組合產品的用途。較佳地該等套組用於如本文所描述之方法及用途中，例如本文所描述之治療方法。較佳地該等套組包含套組組分之使用說明書。套組或組合物可進一步包含誘導劑，例如雷帕黴素或其類似物。

【0335】 本文中之細胞、細胞群體、組合物及載體可用於治療或預防疾病或病狀之療法。如上文所指出，重組蛋白表現於其中或其上之細胞通常為經修飾或經工程改造以表現另一分子(例如另一蛋白質)，尤其受體(例如CAR或TCR)之細胞。因此，療法可用於預防或治療可藉由或用表現受體(例如CAR)之細胞治療的疾病或病狀。細胞及含有其之組合物用於授受性細胞療法(ACT)。可藉由投與細胞，包括特定言之表現根據本發明之CAR之Treg細胞來治療多種病狀。如上所指出，此可為對免疫抑制且尤其Treg細胞之免疫抑制效應有反應之病狀。因此本文所描述之細胞、細胞群體、組合物及載體可用於誘導或實現個體內之免疫抑制。所投與或活體

內經修飾之Treg細胞可藉由受體(例如CAR)之表現來靶向。適合於此類治療之病狀包括傳染性、神經退化性或發炎性疾病，或更廣泛地，與任何非所要或非所需或有害免疫反應相關之病狀。

【0336】 待治療或預防之病狀包括發炎，或替代而言，與發炎相關或涉及發炎之病狀。發炎可為慢性或急性。此外，發炎可為低層級或全身性發炎。舉例而言，發炎可為在代謝病症(例如代謝症候群)之情形下或在胰島素抗性，或II型糖尿病或肥胖及其類似者之情形下出現的發炎。

【0337】 特定言之，細胞、細胞群體、載體及醫藥組合物提供用於以下的方式：誘導對移植之耐受性；治療及/或預防細胞及/或體液移植排斥反應；治療及/或預防移植物抗宿主病(GvHD)、自體免疫性或過敏性疾病；或促進組織修復及/或組織再生；或改善發炎。細胞、細胞群體、載體及醫藥組合物可用於包含向個體投與如本文所描述之細胞、細胞群體、載體或醫藥組合物之步驟的方法中。

【0338】 如本文所用，「誘導對移植之耐受性」係指誘導對受體中之移植器官的耐受性。換言之，誘導對移植之耐受性意謂降低接收者對供體移植器官之免疫反應的水平。誘導對移植器官產生耐受性可減少移植接受體需要之免疫抑制藥物之量，或可能夠使免疫抑制藥物停止使用。

【0339】 舉例而言，可向患有疾病之個體投與經工程改造之細胞(例如Treg)，以便減輕、減少或改善至少一種疾病症狀，諸如黃疸、黑尿、瘙癢、腹部腫脹或觸痛、疲乏、噁心或嘔吐及/或食慾不振。該至少一種症狀可減輕、減少或改善至少10%、至少20%、至少30%、至少40%或至少50%，或該至少一種症狀可完全緩解。

【0340】 工程改造細胞，例如Treg，可向患有疾病之個體投與，以

減緩、減少或阻斷疾病進展。與其中未投與工程改造細胞之個體相比，疾病進展可減緩、減少或阻斷至少10%、至少20%、至少30%、至少40%或至少50%，或疾病進展可完全停止。

【0341】 在一個實施例中，個體為經受免疫抑制療法之移植受體。

【0342】 適合地，個體為哺乳動物。適合地，個體為人類。

【0343】 移植可選自肝臟、腎臟、心臟、肺、胰臟、腸、胃、骨髓、血管化複合組織移植及皮膚移植。

【0344】 適當地，細胞可表現CAR，該CAR包含能夠特異性結合於移植物(移植)供體中但缺乏於移植物(移植)接受體中之HLA抗原的抗原結合域。

【0345】 適當地，移植為肝臟移植。在移植為肝臟移植之實施例中，抗原可為存在於移植肝臟中但缺乏於患者中之HLA抗原，諸如NTCP之肝特異性抗原，或在移植排斥反應期間表現上調之抗原，諸如CCL19、MMP9、SLC1A3、MMP7、HMMR、TOP2A、GPNMB、PLA2G7、CXCL9、FABP5、GBP2、CD74、CXCL10、UBD、CD27、CD48、CXCL11。

【0346】 如上文所論述，在一個代表性及較佳實施例中，抗原為HLA-A2。

【0347】 一種用於治療疾病或病狀之方法係關於本文中細胞之醫療用途。就此而言，可向患有現存疾病或病狀之個體投與細胞以減輕、減少或改善與疾病或病狀相關之至少一種症狀，及/或減緩、減少或阻斷疾病進展。

【0348】 適當地，治療及/或預防細胞及/或體液移植排斥反應可指

投與有效量之細胞(例如Treg)，使得移植接受體需要之免疫抑制藥物的量減少，或可能夠使免疫抑制藥物停止使用。

【0349】 預防疾病或病狀係關於預防性使用本文中之細胞。就此而言，可向尚未感染或發展疾病或病狀及/或未展現出疾病或病狀之任何症狀的個體投與細胞，以預防疾病或病狀，或減少或預防與疾病或病狀相關之至少一種症狀的發展。個體可具有該疾病或病狀之易感性或被認為處於發生該疾病或病狀的風險。

【0350】 自體免疫性或過敏性疾病可選自發炎性皮膚病，包括牛皮癬及皮膚炎(例如異位性皮膚炎)；與發炎性腸病(諸如克羅恩氏病及潰瘍性結腸炎)相關之反應；皮膚炎；過敏性病狀，諸如食物過敏、濕疹及哮喘；類風濕性關節炎；全身性紅斑狼瘡(SLE) (包括狼瘡性腎炎、皮膚狼瘡)；糖尿病(例如1型糖尿病或胰島素依賴性糖尿病)；多發性硬化症；神經退化性疾病，例如肌肉萎縮性側索硬化(ALS)；慢性發炎性脫髓鞘多發性神經病變(CIPD)及幼年型糖尿病。

【0351】 如上文所指出，重組蛋白不限於在免疫抑制療法之情況下使用，且蛋白質可在用於治療諸如癌症或感染之病狀的細胞中表現。在此類情形下可能需要殺死或消除癌症或經感染細胞，且在此類情況下，嵌合蛋白可表現於細胞毒性細胞中，諸如細胞毒性T細胞或NK細胞或其前驅體中。在此類情況下與嵌合蛋白共表現之受體(例如CAR或TCR)可針對癌症抗原或來自病原體之抗原等。

【0352】 本文中之醫療用途或方法可涉及以下步驟：

(i) 分離含有細胞之樣品或提供含有細胞之樣品；

(ii) 向細胞引入如本文所定義之核酸分子、構築體或載體；及

(iii) 向個體投與來自(ii)之細胞。

【0353】 細胞可為如本文所定義之Treg。可在該方法之步驟(ii)之前及/或之後自含有細胞之樣品分離及/或產生富集的Treg群。舉例而言，可在步驟(ii)之前及/或之後進行分離及/或產生以分離及/或產生富集的Treg樣品。富集可在步驟(ii)後進行以富集包含如本文所描述之重組蛋白、核酸分子、構築體及/或載體之細胞及/或Treg。

【0354】 適合地，細胞可為自體的。適合地，細胞可為同種異體的。

【0355】 適合地，細胞(例如經工程改造之Treg)可與諸如淋巴耗竭劑之一或多種其他治療劑組合投與。工程改造細胞，例如Treg，可與該一或多種其他治療劑同時投與或連續(亦即之前或之後)投與。

【0356】 細胞，例如Treg，可在引入如本文所描述之核酸分子之前或之後例如藉由用抗CD3單株抗體或抗CD3及抗CD28單株抗體二者處理來活化及/或擴增。擴增方案在上文描述。

【0357】 細胞，例如Treg，可在該方法之各步驟之後，特定言之在擴增之後洗滌。

【0358】 經工程改造之細胞，例如Treg細胞之群體，可藉由熟習此項技術者已知之任何方法，例如藉由FACS或磁珠分選進一步富集。

【0359】 生產方法之步驟可在封閉及無菌的細胞培養系統中進行。

【0360】 本發明亦可提供一種用於增加細胞之穩定性及/或抑制功能之方法，其包含將如本文所提供之核酸分子、表現構築體或載體引入至細胞中之步驟。可如上文所論述量測抑制功能的增加，例如藉由將活化的抗原特異性Tconv細胞與本發明細胞共培養，且例如量測由Tconv細胞產生

的細胞激素的含量。抑制功能之增加可為相比於未經工程改造之Treg增加至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。

【0361】 例如本文所定義之Treg之細胞的穩定性的增加係指與未經工程改造之Treg相比，彼等細胞之持久性或存活率增加，或在一段時間內保留Treg表型之細胞的比例增加(例如，保留諸如FOXP3及Helios之Treg標記之細胞)。穩定性增加可為穩定性增加至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%，且可藉由此項技術中已知之技術來量測，例如，細胞群體內之Treg細胞標記之染色，且藉由FACS分析。

【0362】 本文中提供之另一態樣為組合產品，其包含(a)如本文所定義之細胞、細胞群體、載體或醫藥組合物及(b)用於療法(尤其ACT或基因療法)中之EPO。療法可為如上文所定義且本文進一步描述之任何療法。

【0363】 組合產品之組分(a)及(b)可單獨、依序使用或同時使用。

【0364】 組合產品之組分(a)及(b)將通常以單獨組合物形式提供，亦即其將分開調配。因此，組合產品可替代地定義為或被稱作套組。

【0365】 本發明不受本文所揭示之例示性方法及材料限制，且任何與本文所描述之彼等方法及材料類似或等效之方法及材料可用於實踐或測試本發明之實施例。數值範圍包括界定該範圍之數字。除非另外指示，否則任何核酸序列以5'至3'定向自左至右書寫；胺基酸序列分別以胺基至羧基定向自左至右書寫。

【0366】 在提供值之範圍下，應瞭解除非上下文另外明確規定，否則亦特別揭示在該範圍上限與下限之間的各插入值，精確至下限單位之十分位。本發明內涵蓋陳述範圍中之任何所陳述值或插入值之間的各較小範圍及所陳述範圍中之任何其他所陳述值或插入值。此等較小範圍之上限及

下限可獨立地包括或不包括在該範圍內，且任一界限、無界限或兩個界限包括於較小範圍中之各範圍亦涵蓋於本發明內，受制於所陳述範圍中之任何特定排除之界限。當所陳述範圍包括界限中之一者或兩者時，排除彼等所包括之界限中之任一者或兩者之範圍亦包括於本發明中。

【0367】 必須注意，除非上下文另外明確說明，否則如本文及隨附申請專利範圍所用之單數形式「一(a/an)」及「該(the)」包括複數個參照物。

【0368】 如本文所用之術語「包含(comprising)」、「包含(comprises)」及「包含(comprised of)」與「包括(including)」、「包括(includes)」或「含有(containing)」、「含有(contains)」同義，且為包括性或開放性的，且不排除其他未敍述部件、元件或方法步驟。術語「包含(comprising)」、「包含(comprises)」及「包含(comprised of)」亦包括術語「由…組成」。

【0369】 本文中論述之公開案僅僅提供在本申請案之申請日之前的揭示內容。本文中之任何內容均不應解釋為承認此類公開案構成在此隨附之申請專利範圍之先前技術。本文所提及之所有公開案均以引用的方式併入。

【0370】

序列表

SEQ ID NO. 1 (野生型人類EPOR)

MDHGASIWPQVGSICLLAGAAWAPPPNIPDPKFSKAALAARGPEFLCFTERLEDLV
CFWEEAASAGVGPGNYSFSYQLEDEPWKLCRLHQAPTARGAVRIWCSIPTADYSSLVPL
ERVTAASGAPRYHRVIHINEVVLLDAPVGLVARLADESGIVVRRWTPPSFTPMTSHIRYE
DVSAGNGAGSVQRVEFLGRTKCVLSNLRGKTRYLAVRARMAEPSFGGFWSAWSEPVS
LLTPSDLDP
SEQ ID NO. 2 (無信號肽之R130C經修飾之人類EPOR胞外區)
APPPNIPDPKFSKAALAARGPEFLCFTERLEDLVCFWEEAASAGVGPGNYSFSYQLE
DEPWKLCRLHQAPTARGAVRIWCSIPTADYSSLVPLERVTAASGAPRYHRVIHINEVVL
LDAPVGLVARLADESGIVVRRWTPPSFTPMTSHIRYEVDVSAGNGAGSVQRVEFLGRT
KCVLSNLRGKTRYLAVRARMAEPSFGGFWSAWSEPVSLLTPSDLDP
SEQ ID NO. 3 (無信號肽之野生型人類EPOR胞外區)
APPPNIPDPKFSKAALAARGPEFLCFTERLEDLVCFWEEAASAGVGPGNYSFSYQLE
DEPWKLCRLHQAPTARGAVRIWCSIPTADYSSLVPLERVTAASGAPRYHRVIHINEVVL
LDAPVGLVARLADESGIVVRRWTPPSFTPMTSHIRYEVDVSAGNGAGSVQRVEFLGRT
KCVLSNLRGKTRYLAVRARMAEPSFGGFWSAWSEPVSLLTPSDLDP
SEQ ID NO. 4 (具有信號肽之R154C經修飾之人類EPOR胞外區)
MDHGASIWPQVGSICLLAGAAWAPPPNIPDPKFSKAALAARGPEFLCFTERLEDLV
CFWEEAASAGVGPGNYSFSYQLEDEPWKLCRLHQAPTARGAVRIWCSIPTADYSSLVPL
ERVTAASGAPRYHRVIHINEVVLLDAPVGLVARLADESGIVVRRWTPPSFTPMTSHIRYE
DVSAGNGAGSVQRVEFLGRTKCVLSNLRGKTRYLAVRARMAEPSFGGFWSAWSEPVS
LLTPSDLDP
SEQ ID NO. 5 (具有信號肽之野生型人類EPOR胞外區)
MDHGASIWPQVGSICLLAGAAWAPPPNIPDPKFSKAALAARGPEFLCFTERLEDLV
CFWEEAASAGVGPGNYSFSYQLEDEPWKLCRLHQAPTARGAVRIWCSIPTADYSSLVPL
ERVTAASGAPRYHRVIHINEVVLLDAPVGLVARLADESGIVVRRWTPPSFTPMTSHIRYE
DVSAGNGAGSVQRVEFLGRTKCVLSNLRGKTRYLAVRARMAEPSFGGFWSAWSEPVS
LLTPSDLDP
SEQ ID NO. 6 (野生型人類EPOR信號肽)
MDHGASIWPQVGSICLLAGAAW
SEQ ID NO. 7 (野生型人類EPOR跨膜域)

LLETLSLLVVILVLLTVLALLS

SEQ ID NO. 8 (野生型人類EPOR細胞質域)

HRRALKQKIWPGIPSPESEFEGLFTTHKGNFQLWLYQNDGCLWWSPCTPFTEDPPASLEV
LSERCWGTMQAVEPGTDDEGPLLEPVGSEHAQDTYLVLDKWLLPRNPPSEDLPGPGGSV
DIVAMDEGSESASSCSSALASKEPSPGASASSEYTLDPSSQLLRPWTLCPELPPTPPHLK
YLYLVVSDSGISTDYSSGDSQGAQGGLSDGPYSNPYENSLIPAAEPLPPSYVACS

SEQ ID NO. 9 (野生型鼠類EPOR)

MDKLRVPLWPRVGPLCLLLAGAWAPSPSLPDPKLESKAALLASRGSELLLCFTQRLEDLV
CLWEIAASSGMDLNYSLVQLGLSRKSCSLIQAPLVRGSVRLWCSLPTADTSSLVPLELR
QVTLASGSPRYLRLHLNLVWLLDAPAGLLARRALELGSLVVLRWLPPPGAPMTLLHRYLVDV
SAGNRAGGTQRVLVLEGKTLCVLSNLRGGTRYLLAVRARMAEPSLGGLWSAWSLPASLL
TASDLDPLLLTLSLLVLSLLLTVLALLSLRRTLQQKIWPGIPSPESEFEGLFTTHKGNFQLWL
LQRDGCLWWSPGSSLPEDPPAFLLVLSEPRWAVTQAGDPGADDEGPLLEPVGSEHAQDT
YLVLDKWLLPRTPCSLNLSGPGGSVDPVLMDLASLTSSCPSDLASKPRPLGLSPSSLLYTL
LDPSSQLLCPRALPPELPPTPPHLKYLYLVVSDSGISTDYSSGGSQGVLHGDSSDGPYSHPY
LNSLVPDSLPLLHPGYVACS

SEQ ID NO. 10 (具有作減肽之R129C經修飾之鼠類EPOR胞外區)

MDKLRVPLWPRVGPLCLLLAGAWAPSPSLPDPKLESKAALLASRGSELLLCFTQRLEDLV
CLWEIAASSGMDLNYSLVQLGLSRKSCSLIQAPLVRGSVRLWCSLPTADTSSLVPLELR
QVTLASGSPRYLRLHLNLVWLLDAPAGLLACRALELGSLVVLRWLPPPGAPMTLLHRYLVDV
SAGNRAGGTQRVLVLEGKTLCVLSNLRGGTRYLLAVRARMAEPSLGGLWSAWSLPASLL
TASDLDP

SEQ ID NO.11 (具有作減肽之野生型鼠類EPOR胞外區)

MDKLRVPLWPRVGPLCLLLAGAWAPSPSLPDPKLESKAALLASRGSELLLCFTQRLEDLV
CLWEIAASSGMDLNYSLVQLGLSRKSCSLIQAPLVRGSVRLWCSLPTADTSSLVPLELR
QVTLASGSPRYLRLHLNLVWLLDAPAGLLARRALELGSLVVLRWLPPPGAPMTLLHRYLVDV
SAGNRAGGTQRVLVLEGKTLCVLSNLRGGTRYLLAVRARMAEPSLGGLWSAWSLPASLL
TASDLDP

SEQ ID NO. 12 (野生型鼠類EPOR跨膜區)

LLETLSLLVLISLLTVLALLS

SEQ ID NO. 13 (野生型鼠類EPOR細胞質區)

HRRT QQKWPGIPSP SEE GL FTTHKGNI QI WI QRDGGL WWSPGSSI PI DPPAHIL V
I SEPRWAVTQAGDPGADDE GPLEEPVGSE HAQDTYLVLDKWLLPRTPGSLNLSGPGGSV
DPVTMDEASLTSSCPSDLASKPRPLGTSPSSLYTLDPSSQLLCPRALPPEEPPTPPHLKY
LYLVVSDSGISTDYSSGGSQGVHGDSSDGPYSHIPYENSLVPDSEPLHPGYVACS

SEQ ID NO. 14 (EPO)

MGVHECPAWLWLLLSLLSLPLGLPVLGAPPRLICDSRVLERYLLEAKEAE
NITTGCAEHCSLNENITVPDTKVNFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEA
VLRGQALLVNSSQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLLRALGAQKEAISPPD
AASAAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKLKLYTGEACRTGDR

SEQ ID NO: 15 - 天然FKBP12域

MGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQE
VIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE

SEQ ID NO: 16 - mTOR之野生型FRB區段

MASRLWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN
QAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRRISKLES

SEQ ID NO. 17 - 在2098處具有T至L之取代的FRB

MASRLWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN
QAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRRISKLES

SEQ ID NO. 18 - 在殘基2098處具有T至H取代及殘基2101處具有W至F取代的mTOR的FRB區段

MASRLWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN
QAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLHQAFDLYYHVFRRISKLES

SEQ ID NO. 19為在殘基2095處具有K至P取代之mTOR的FRB區段

MASRLWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFN
QAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVPDLTQAWDLYYHVFRRISKLES

SEQ ID NO. 20 - c-Jun肽酸拉鏈

RIARLEEKVKTLKAQNSELASTANMLREQVAQLKQKVMN

SEQ ID NO. 21 Fos肽酸拉鏈

LTDTLQAETDQLEDKKSALQTEIANLLKEKEKLEFILAAY

SEQ ID NO. 22 - BZip (RR)肽酸拉鏈域

MDPDLTIRAATLRQRNTALRTTVAELLQEVQRLTNTVSQYLTRYGPLGGK

SEQ ID NO. 23 - AZip (EE)肽酸拉鏈域

MDPDLTIRAATLREENTALETRVAELRQRVQRLRNRVSQYRTRYGPLGGK

SEQ ID NO. 24 - CD28跨膜域

FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV

SEQ ID NO. 25 - IL2RB跨膜域

IPWIGCLLVGLSGALGILLVYLL

SEQ ID NO. 26 CD8a TM域

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVIT

SEQ ID NO. 27: TREM1 TM域

MILLAGGFLSKSLVLSVLLFA

SEQ ID NO. 28: TREM2 TM域

ILLLACFLLKLAASALWA

SEQ ID NO. 29: DAP10 TM域

LLAGLVAANAVASLLVGAVF

SEQ ID NO. 30: DAP12 TM域

GVLAGIVMGNLVLTVLALAV

SEQ ID NO. 31 （IL-2受體β鏈之胺基酸編號266至551(NCBI REFSEQ: NP_000869.1)

NCRNTGPWLKKVLKCNTPDPSKFFSQLSSEHGGDVQKWLSSPFPSSSFSPGGLAPEISPL
EVLERDKVTQLLLQQDKVPEPASLSSNHSLTSCFTNQGYFFFHLPDALEIEACQVYFTYDPY
SEEDPDEGVAGAPTGSSPQPLQPLSGEDDAYCTFPSRDDLLLFSPSLLGGPSPPSTAPGG
SGAGEERMPPSLQERVPRDWDPQPLGPPTPGVPDLVDFQPPPELVLREAGEEVPDAGPR
EGVSFPWSRPPGQGEFRALNARLPLNTDAYLSLQELQGQDPTHLV

SEQ ID NO. 32 (野生型FOXP3之胺基酸序列(UniProtKB登存號Q9BZS1)

MPNPRPGKPSAPSLALGPSPGASPSWRAAPKASDLLGARGPGGTFQGRDLRGGAHASSSSLNPMPPSQLQLPTLPLVMVAPSGARLGPLPHLQALLQDREPHLMHQLSTVDAHARTPVLQVHPLESPAMISLTPVTTATGVFSLKARPGLPPGINVASLEWVSREPALLCTFPNPSAPRKDSTLSAVPQSSYPLLANGVCKWPGCEKVFEEPEDFLKHCQADHLLDEKGRAQCLLQREMVQSLEQQLVLEKEKLSAMQAHLAGKMALTKASSVASSDKGSCCIVAAGSQGPVVPAWSGPREAPDSLEAVRRHLWGSHGNSTFPELLNMDYLKFHNMRPPLTYATLIRWAILEAPEKQRTLNEIYHWFTRMFAFFRNHPATWKNAIRHNLSLHKCFVRVESEKGAVWTVDELEFRKKRSQRPSRCSNPTPGP

SEQ ID NO. 33 - IL9R (NP_002177.2之AA 292至521)

KLSPRVKRLYQNVPSPAMFPLQPIYSVPHNGNFQTWMGAHGAGVLLSQDCAGTPQGALLPCVQLATALLTCGPARPWKSVALEEEQLGPGTRLPGNLSSLDVLPAGCTLWRVQTLAYLPQLDWAPLSLTRPAPPDSLGSRSSSSSSSSNNNNYCALGCYGGWLLSALPGNTQSSGPIPALACGLSCDLQGLADTQQGVAWVAGHCQRPGLLLDLQGMLLPSVLSKARSWTF

SEQ ID NO. 34 - IL4RA (NP_000409.1之AA 257至825)

KLKKLWWLPGLPNPARSRLVALLGLDAQGSQWLKRSRGGLPAKGPLHWKNGLFLLPGLLHLHNMKRDLDLHLKAVAKLMPLQCSGKSAWQPVLISKLVLWRLSLSVAKQWLLGLARVLQLLLEVLLLKQSLQASPLSSRLDLQLGLLVARLLLSLLLDLLGLLNGGLGQQDMGLSGLLGPSGSLSALHMPWLDLLPSAGPKLAPPWGKLQPLLLLLPSLPRASPLQSLDNLTGLLTLVIAGNLAYRSLSNSLSQSLPGRLDPLLARLLLKVLPLMPQVLQLSLPLLVLPQRLLLWLQLLRKNVLQLQLGAKAALPVSAPLSGYQQLLVLVLAVLQGGLQASAWGLGLPGLAGYKALSSLLASSAVSPLKGGLGASSGLLGYKPLQDLLPGGLPGDLPALVLSLLLLGLDLRLLPPRSPQSSLLLPSSSPLHLGLLPGLKVLHDMPKLPLPQLQAFLDPLVDSLGSGLVAYSALLGLLGLLKQGLLGQLDGGGLLPV

MASPGGGGGGGDRSSPPLLPLRAPDPSPGGVPLLASLGPASLAPSGLSLKSKSSSSLLPAPGNAQSSSQLLPKLVNLVSVGPLTYMRVS

SEQ ID NO. 35 - IL3RB (NP_000386.1之AA 461至897)

RLGGIYGYRLRRKWLLKLPNPSKSHLFQNGSAELWPPGSMSAFTSGSPPHQGPWGSRLPLLGVLPVGLGDSLVSPLTLDPKLVCDPPSGPDTTPAASDLPTLQPPSPQPGPPAASLTPLKQASSLDLNGPYLGPPHSRSLPDILGQPLPPQLGGSQKSPPPGSLLYLGLPAGGQVQLVPLAQAMGPGQAVLVLRRPSQGAAGSPSLLSGGGPAPPALGPRVGGQDQKDSPVALPMSSGDTLDPGVASGYVSSADLVLTPNSGASSVSLVPSLGLPSDQTPSLCPGLASGPPGAPGPVKSGLLGYVLLPPLGRSPRSPRNNLPVPPLAKSPVLNPGLRPADVSPTSPQPLGLLVLQQVGDYCFLPGLGPGPLSLRSKPSSPGPGPLIKNLDQALQVKKPPGQAVPQVPVIQLLKALKQQDYLSLPPWLVNKPGLVC

SEQ ID NO. 36 - IL17RB (NP_061195.2之AA 314含502)

RHERIKKCISESTTTIIPPIKVIVVYPSICFIITICYFTIFLQNHCRSIVIDKWQKKKIAEMG
PVQWIATQKKAADKVVFTLSNIDVNSVCDGTCGKSIGSPSINSQDIIPLAENITCSDIRSQI
HLHKYVVVYFREIDTKDDYNALSVCPKYHIMKDATAICAETLHVKQQVSAGKRSQACHDG
CCSL

SEQ ID NO. 37 WO2019/241549內描述之N及C端截短之FOXP3片段的胺基酸序列

GGAHASSSSLNPMPPSQLQLPTLPLVMVAPSGARLGPLPHLQALLQDRPH
HMHQLSTVDAHARTPVLQVHPLESPAMISLTPPTTATGVHSLKARPGLPPGINVASLEWV
SREPALLCTFPNPSAPRKDSTLSAVPQSSYPLLANGVCKWPGCEKVFEEP
EDFIKHCQADHLLDEKGRAQCLLQREMVQSLEQQLVLEKEKLSAMQAHLA
GKMALTKASSVASSDKGSCCIVAAGSQGPVVPAWSGPREAPDSLFAVRRH
LWGSHGNSTFPEFLHNMDYFKFHNMRPPFTYATLIRWAILEAPEKQRTLN
EIYHWFTRMFAFFRNHPATWKNAIRHNLSLHKCFVRVESEKGAVWTVDELEF

SEQ ID NO. 38 STAT5結合模體

YXXFL

SEQ ID NO. 39 STAT5結合模體

YCIF

SEQ ID NO. 40 STAT5結合模體

YIIF

SEQ ID NO. 41 STAT5結合模體

YISL

SEQ ID NO. 42 STAT5結合模體

YISLQ

SEQ ID NO. 43 JAK1結合模體

KVIKCNTPDPSKFSQISSIGGDVQKWISSPFPSSSISPGGLAPEISPLEVLERDK

SEQ ID NO. 44 JAK1結合模體

NPWIQRAKMPRALDESGFIFPVATLQPSRPLSVNDLFLCPQKET

SEQ ID NO. 45 JAK1結合模體

GYICLRNSLPKVLNLTHNLTAWPLTPNLPPLEAMDMVLVIYINR

SEQ ID NO. 46 JAK1結合模體

PLKLKSLLPKSLISVVRSATLEDKPLSKYVSLTLSYQPLSL

SEQ ID NO. 47 JAK1結合模體

RRRKKLPSVLLEKKPSPLELSQRPSPLTQDTLLPLDLEALLK

SEQ ID NO. 48 JAK1結合模體

YILVGKLKLPANLLIYGNLEDKRLTVPALKVLNLTLNISDDS

SEQ ID NO. 49 JAK1結合模體

KYVLKPPAPPNSLNVQRVLTLQPLRLQLELVLPVLDLSGP

SEQ ID NO. 50 JAK2結合模體

NYVLLPSLKPSSSIDLYLSLQPLKNLLLSTSLELQLKCLLLN

SEQ ID NO. 51 JAK2結合模體

YWLLTPPSLPLQLELYLKDPTQPLLEALDKDSSPKDDVWDSVSIISLPL

SEQ ID NO. 52 JAK2結合模體

YALSPRNSLPQHLKLELGLPLELNTLLELSPLSDLNDVLDKLSVIALDSLS

SEQ ID NO. 53 (IL2RB截短- Y510)

NCRNTGPWLKKVLKCNTPDPSKLLSQLSSLLGGDVQKWLSSPLPSSSLSPGGLAPEISPL

LVLLRDKVTQLLPLNTDAYLSLQELQGQDPTHLV

SEQ ID NO. 54 (IL2RB截短- Y510及Y392)

NCRNTGPWLKKVLKCNTPDPSKLLSQLSSLLGGDVQKWLSSPLPSSSLSPGGLAPEISPL

LVLLRDKVTQLLDAYCLLPSRDDLLLESPSLLGGPSPPSTAPGGSGAGLLRMPPSLQLRVP

RDWDPQPLGPPTPGVPDLVDLQPPPLLVLRLAGLLVPDAGPRLGVSLPWSRLPGQGLLR

ALNARLPLNTDAYLSLQELQGQDPTHLV

SEQ ID NO. 55 JAK3模體

LRTMPRIPTLKNLEDLVTEYHGNFSAWSGVSKGLAESLQPDYSERLCLVSE

SEQ ID NO. 56 JAK3模體

IERIMPRIPTIKNIIEDIVTIYIGNISAWSGVSKGIAISIQPDYSIRICIVSIEPKGGAIGI
GPGASPCNQHISPYWAPPCYTIKPET

SEQ ID NO. 57: STAT 3作號

YXXQ

SEQ ID NO. 58: STAT 3作號

YRHQ

SEQ ID NO. 59 - STAT3締合模體

YLRQ

SEQ ID NO. 60 - STAT1締合模體

QITIQQDKVPIPASISSNIISITSCFINQGYI

SEQ ID NO. 61 : SHP1

MVRWFHRDISGIDAFTIIKGRGVHGSHTARPSRKNQGDISISVRVGDQVTHIRIQNSGDF
YDLYGGEKFATLTELVEYYTQQQGVLQDRDGTIIHLKYPLNCSDPTSERWYHGHMSGGQA
ETLLQAKGEPWTFLVRESLSQPGDFVLSVLSDQPKAGPGSPLRVTHIKVMCEGGRYTVGG
LETFDSLTDLVEHFKKTGIEEASGAIYVFRQPYYATRVNAADIENRVLELNKKQESEDTA
KAGFWEIFHSLQKQLVKNFHQRLEGQRPENKGKNRYKNILPFDHSRVILQGRDSNIPGSD
YINANYIKNQLLGPDENAKTYIASQGCLEATVNDFWQMAWQENSRVIVMTTREVEKGRNK
CVPYWPEVGMQRAYGPYSVTNCGEHDTTEYKLRTLQVSPLDNGDLIREIWHYQYLSWPDH
GVPSEPGGVLSFLDQINQRQESLPHAGPIVIHCSAGIGRTGTIIVIDMLMENISTKGLDC
DIDIQKTIQMVRAQRSGMVQTEAQYKFIYVAIAQFIETTKKLEVLQSQKGQESEYGNIT
YPPAMKNAHAKASRTSSKHKEDVYENLHTKNKREEKVKKQRSADKEKSKGSLKRK

SEQ ID NO. 62: 截短EPOR胞內域

HRRAIKQKIWPGIPSPAEFEGLFTTHKGNFQLWLYQNDGCLWWSPCTPFTEDPPASIEV
ISERGWGTMQAVEFGTDPELIKTRWGSQEHAQDTYLVLDKWVLPRNPPSEDLPGPGGSV
DIVAMDEGSEASSCSSALASKPSPEGASAASFEYTILDPSSQLLRPWTLCPELPPTPPHLK

SEQ ID NO. 63 - JAK3反向定向

IESVICRLSYDPQISFAIGKSVGSWASENGHYFTVIDEINKITPRFMTRE

SEQ ID NO. 64 CD3ζ

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPQRRKNPQEG

LYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

SEQ ID NO. 65 CD28胞內信號傳導

RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS

SEQ ID NO. 66 CD27胞內信號傳導

QRRKYRSNKGESPVEPAEPCHYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP

SEQ ID NO. 67連接子序列

GGGS

SEQ ID NO. 68-98 - 連接子

ETSGGGGSRL (SEQ ID NO. 68)

SGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO. 69)

$S(GGGGS)_{1-5}$ (其中GGGGS為SEQ ID NO. 70)

$(GGGGS)_{1-5}$ (其中GGGGS為SEQ ID NO. 70)

SGGGGSGGGGS (SEQ ID NO. 71)

$S(GGGS)_{1-5}$ (其中GGGS為SEQ ID NO. 67)

$(GGGS)_{1-5}$ (其中GGGS為SEQ ID NO. 67)

SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO. 72)

SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO. 73)

$S(GGGGGS)_{1-5}$ (其中GGGGGS為SEQ ID NO. 74)

$(GGGGGS)_{1-5}$ (其中GGGGGS為SEQ ID NO. 74)

$S(GGGGGGS)_{1-5}$ (其中GGGGGGS為SEQ ID NO. 75)

$(GGGGGGS)_{1-5}$ (其中GGGGGGS為SEQ ID NO. 75)

G_6 (SEQ ID NO. 76)

G_8 (SEQ ID NO. 77)

KESGSVSSEQLAQFRSLD (SEQ ID NO. 78)

EGKSSGSGSESKST (SEQ ID NO. 79)

GSAGSAAGSGEF (SEQ ID NO. 80)

SGGGGSAGSAAGSGEF (SEQ ID NO. 81)

SGGGLLLLLLLLGGGS (SEQ ID NO. 82)

SGGGAAAAAAAAGGGS (SEQ ID NO. 83)

SGGGAAAAAAAAAAAAAAAGGGS (SEQ ID NO. 84)

SGALGGLALAGLLLAGLGLGAAGS (SEQ ID NO. 85)

SLSLSPGGGGGPAR (SEQ ID NO. 86)

SLSLSPGGGGGPARSLSLSPGGGGG (SEQ ID NO. 87)

GSSGSS (SEQ ID NO. 88)

GSSSSSS (SEQ ID NO. 89)

GGSSSS (SEQ ID NO. 90)

GSSSSS (SEQ ID NO. 91)

SGGGGS (SEQ ID NO. 92)

GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO. 93)

GGGGG (SEQ ID NO. 94)

GGGGSGGGGS (SEQ ID NO. 95)

GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO. 96)

GGGGGGG (SEQ ID NO. 97)

GGGGGGGGG (SEQ ID NO. 98)

SEQ ID NO. 99 RQR8:

ACPYSNPSLCSGGGGSLEPTQGTLSNVSTNVSPAKPTTTACPYSNPSLCSGGGGSPAPRP
PTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNH
RNRRRVCKCPRPVV

SEQ ID NO. 100 P2A肽-裂解域

ATNFSLLKQAGDVEENPGP

SEQ ID NO. 101 T2A肽-裂解域:

EGRGSLLTCGDVEENPGP

SEQ ID NO. 102 E2A肽-裂解域:

QCTNYALLKLAGDVESNPGP

SEQ ID NO. 103 F2A肽-裂解域:

VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

SEQ ID NO. 104弗林蛋白酶裂解位點

RXXR

SEQ ID NO. 105弗林蛋白酶裂解位點

REKR

SEQ ID NO. 106-截短EPOR胞內域(SEQ ID NO. 1之殘基247-378)

HRRALKQKLWPGLPSPAKSHLGSWTPHKGNFQLWEYQNDGGLWWSPCTPFTEDPPASLEV
LSERGWGTMQAVEPGTDDEGPLLEPVGSEHAQDTYLVLDKWLLPRE

SEQ ID NO. 107-截短EPOR胞內域(SEQ ID NO. 1之殘基247-433)

HRRALKQKLWPGLPSPAKSHLGSWTPHKGNFQLWEYQNDGGLWWSPCTPFTEDPPASLEV
LSERGWGTMQAVEPGTDDEGPLLEPVGSEHAQDTYLVLDKWLLPRNPPSEDLPGPGGSV
DIVAMDEGSEASSCSSALASKPSPEGASAASFEYTILDPSS

SEQ ID NO. 108-衍生自EPOR之胞內域之C端尾部

MDTVP

SEQ ID NO. 109-衍生自EPOR之胞內域之C端尾部

SMDTVP

SEQ ID NO. 110 - 衍生自EPOR之胞內域之C端尾部

ASMDTVP

SEQ ID NO. 111 - 衍生自EPOR之胞內域之C端尾部

LASMDTVP

SEQ ID NO. 112 - 衍生自EPOR之胞內域之C端尾部

ALASMDTVP

SEQ ID NO. 113 - 衍生自EPOR之胞內域之C端尾部

PALASMDTVP

SEQ ID NO. 114 - 具有10個胺基酸C端尾部之WT EPOR胞內域

HRRALKQKLWPGIPSPESEFGLFTTHKGNFQLWLYQNDGCLWWSPCTPFTEDPPASLEV

LSERCWGTMQAVEPGTDDEGPLLEPVGSEHAQDTYLVLDKWLLPRNPPSEDLPGPGGSV

DIVAMDEGSEASSCSSALASKPSPEGASAASFEYTILDPSSQLLRPWTLCPELPPTPPHLK

YLYLVVSDSGISTDYSSGDSQGAQGGLSDGPYSNPYENSLIPAAEPLPPSYVACSPALASM

DTVP

SEQ ID NO. 115 - 具有10個胺基酸C端尾部之截短EPOR胞內域

HRRALKQKLWPGIPSPESEFGLFTTHKGNFQLWLYQNDGCLWWSPCTPFTEDPPASLEV

LSERCWGTMQAVEPGTDDEGPLLEPVGSEHAQDTYLVLDKWLLPRPALASMDTVP

SEQ ID NO. 116 - 具有10個胺基酸C端尾部之截短EPOR胞內域

HRRALKQKLWPGIPSPESEFGLFTTHKGNFQLWLYQNDGCLWWSPCTPFTEDPPASLEV

LSERCWGTMQAVEPGTDDEGPLLEPVGSEHAQDTYLVLDKWLLPRNPPSEDLPGPGGSV

DIVAMDEGSEASSCSSALASKPSPEGASAASFEYTILDPSSPALASMDTVP

[(03/1)]

實例

實例1

[(03/2)]

材料及方法

選殖：

內部設計如圖2中所展示之本發明之構築體。選殖可至pMP71主鏈中進行且D5a高效細菌可經質體轉型且用選擇劑安比西林(ampicillin)生長。可使用Miniprep套組(Qiagen)萃取DNA。藉由PCR選殖將插入物轉移至慢病毒主鏈中。

【0373】

收集PBMC：

白血球錐體可藉由NHS血液及移植提供。可使用密度離心方案分離PBMC。簡言之，血液可以用1×PBS稀釋1:1且在Ficoll-Paque (GE Healthcare)上分層。可對樣品進行離心且移除白血球層且在PBS中洗滌。

【0374】

Treg及Tconv分離方案：

血液錐體可用於衍生Treg及Teff群體。可使用RosetteSep™人類CD4+ T細胞富集混合物經由負選擇來對血液錐體進行CD4富集。隨後，可使用密度離心分離CD4+細胞。CD4+ CD25+ T細胞可隨後經由正選擇使用CD25微珠II (Miltenyi)分離。可保留細胞之CD4+ CD25-部分以充當習知T細胞(Tconv)群體。CD4+CD25+部分可用流式細胞量測術抗體CD4 FITC (OKT4, Biolegend)、CD25 PE-Cy7 (BC96, Biolegend)、CD127 BV421 (A019D5, Biolegend)、CD45RA BV510 (HI100, Biolegend)及LIVE/DEAD™可固定近IR-死細胞染色(Thermofisher)來進行染色，隨後進行FACS分選。當指示時，可分選及使用CD4+CD25+ CD127低(整體Treg)或CD4+CD25+ CD127低CD45RA (CD45RA+ Treg)。

【0375】

Tconv培養基：

人類Tconv可生長於補充有10%熱滅活胎牛血清；青黴素；鏈黴素；L-麩醯胺酸(Gibco)的RPMI-1640 (Gibco)中。

【0376】

Treg培養基及擴增：

人類調節T細胞可在補充有IL-2之Texmacs培養基(Miltenyi)中培養且用人類T-活化子CD3/CD28 Dynabeads™ (Gibco)活化。細胞可每2至3天用補充有IL-2之Treg培養基再接種。可用Dynabeads™進行第二輪刺激以促進Treg細胞之進一步擴增。

【0377】

轉染及病毒粒子生產

可接種HEK293T細胞且於DMEM（達爾伯克改良伊格爾培養基)+10%胎牛血清(FBS)中培養24小時。將轉染試劑置於室溫且與所關注之DNA構築體/質體、輔助質體(pD8.91)及病毒套膜(pVSV-G)混合。可將PEI添加至經稀釋之DNA中且混合，且添加至HEK293T中。上清液可轉染後48小時收集，過濾且濃縮病毒。

【0378】

T細胞之轉導

Tconv可與抗CD3及抗CD28 Dynabead (Gibco)活化且再懸浮於T細胞培養基中。未經組織培養處理之24孔盤可藉由用Retronectin (Takahara-bio - Otsu, Japan)塗佈來製備，細胞懸浮液可與慢病毒上清液一起添加。可培育細胞且可在隔日進行培養基更換。細胞可用於轉導後7天之實驗。

【0379】

流式細胞測量術染色

T細胞可自培養物移除且在FACS緩衝液中洗滌，且首先用含LIVE/DEAD™可固定近IR-死細胞染色(Thermofisher)之PBS，接著用抗CD4 AF700 (RPA-T4, BD)及抗CD3 PE-Cy7之FACS染色緩衝液染色。對於FOXP3之細胞內染色，細胞可固定且透化且用抗Foxp3 PE (150D/E4，Thermofisher)抗體染色。細胞可在BD LSRII流式細胞儀上分析。

【0380】

經轉導細胞之流式細胞量測術表型分型

T細胞可自培養物中移除且使用如上文所描述之LIVE/DEAD™可固定近IR-死細胞染色對活細胞進行染色。細胞之表面染色可使用以下進行：抗CD4 AF700、抗CD25 PE-Cy7 (BC96, Biolegend)、抗CD39 PerCPCy5.5 (A1, Biolegend)、抗CD62L PE-CF594 (DREG-56, BD)、抗TIM3 BV786 (7D3, BD)、抗TIGIT BV605 (A15153G, Biolegend)、抗CD45RO BUV395 (UCHL1, BD)、抗CD279 BUV737 (EH12.1, BD)及抗CD223 BV711 (11C3C65, Biolegend)。可透化細胞且用抗Foxp3 PE (150D/E4，Thermofisher)進行染色。

【0381】

資料分析

流動式細胞量測資料可使用流動細胞測量術分析軟體FlowJo (Flowjo, LLC)分析。所有統計分析均可使用Graphpad Prism v.5 (Graphpad, Software)進行。

【0382】

實例1a：- Jurkat中之表現

可將構築體選殖至編碼嘌呤黴素抗性基因之慢病毒主鏈中，如上文所描述。病毒載體可產生且用於轉導Jurkat T細胞株。轉導後兩天，可以用4 μg/ml嘌呤黴素選擇Jurkat細胞一週。細胞可經計數且0.5*10^6個細胞可用抗EPOR抗體染色，以測定細胞中重組蛋白的表現量。表現可藉由如上文所描述之流式細胞量測術評估。

【0383】

實例2：構築體之STAT5信號傳導

將重組蛋白之不同構築體選殖至編碼嘌呤黴素抗性基因之慢病毒主鏈中。產生病毒載體且用於NFAT、NfkB及STAT5 Jurkat報導細胞株之轉導。此處，NFAT、NfkB或STAT5反應元件控制luc2報導基因之活性。轉導後兩天，用4 μg/ml嘌呤黴素選擇Jurkat細胞一週。使用ONE-Glo™螢光素酶分析系統(Promega)評估不同報導細胞株的螢光素酶。

【0384】

實例3：產生表現嵌合蛋白之調節T細胞

調節T細胞經純化且經FACS分選為健康供體之CD4+ CD25+ CD127-細胞。細胞在介白素-2 (1000 IU/ml)存在下在X-Vivo培養基(Lonza)中使用人類T-活化因子CD3/CD28 Dynabeads™ (ThermoFisher Scientific)活化。活化48小時後，細胞用編碼重組蛋白構築體之慢病毒粒子轉導。細胞進一步擴增，且在不同條件之間比較擴增速率。在第14天收集細胞且計數。將0.5*106個細胞用抗EPOR抗體染色。藉由流式細胞測量術觀察抗EPOR抗體之百分比來評估EPOR表現量及轉導效率。藉由用抗CD4、抗CD25、抗CD127、抗CD8、抗GITR、抗CD39、抗CD45RA、抗CD45RO、抗ICOS進行表面染色且用抗FOXP3及抗HELIOS進行胞內染

色，在固定及透化(轉錄因子染色緩衝液組，ThermoFisher Scientific)之後，來評估Treg表型。

【0385】

實例4：STAT5磷酸化分析作為IL2R信號傳導之指標

具有嵌合蛋白之經轉導Treg在無IL2之培養基中靜置隔夜。在單獨培養基或雷帕黴素培養10及120分鐘之後藉由FACS分析評估Treg之STAT5磷酸化。

【0386】

實例5：構築體783、784、785、786、787及788之分析

材料及方法

選殖：

內部設計如圖3中所示之構築體。選殖可至慢病毒載體主鏈中進行且NEB穩定高效細菌經質體轉型且用選擇劑卡那黴素(kanamycin)生長。使用Miniprep套組及Maxiprep套組(Qiagen)萃取DNA。藉由PCR選殖將插入物轉移至其他慢病毒或反轉錄病毒主鏈中。選殖藉由定點突變誘發或基於PCR的方法進行。

【0387】

構築體：

構築體pQTX 783 (EPOR WT)包含野生型EPO受體，其以可操作方式連結至對HLA-A2及FoxP3有特異性之CAR (由T2A及P2A自裂解域分離)。

【0388】 構築體pQTX 784 (EPOR mut)包含突變型EPO受體，其以可操作方式連結至對HLA-A2及FoxP3有特異性之CAR (藉由T2A及P2A自

裂解域分離)。突變型EPOR在胞外域中具有突變(在SEQ ID NO. 1之位置154處R突變成C)。突變型EPOR之跨膜域及胞內域分別為野生型EPOR跨膜域及胞內域。

【0389】 構築體pQTX 785 (EPOR trunc V1)包含突變型EPO受體，其以可操作方式連結至對HLA-A2及FoxP3具有特異性之CAR (藉由T2A及P2A自裂解域分離)。突變型EPOR在胞外域中具有突變(在SEQ ID NO. 1之位置154處R突變成C)，且胞內域在SEQ ID NO. 1之位置378之後已經截短。跨膜域為野生型EPOR跨膜域。

【0390】 構築體pQTX 786 (EPOR trunc V2)包含突變型EPO受體，其以可操作方式連結至對HLA-A2及FoxP3有特異性之CAR (藉由T2A及P2A自裂解域分離)。突變型EPOR在胞外域中具有突變(在SEQ ID NO. 1之位置154處R突變成C)，且胞內域在SEQ ID NO. 1之位置433之後已經截短。跨膜域為野生型EPOR跨膜域。

【0391】 構築體pQTX 787 (EPOR trunc V3 FS)包含突變型EPO受體，其以可操作方式連結至對HLA-A2及FoxP3有特異性之CAR (藉由T2A及P2A自裂解域分離)。突變型EPOR在胞外域中具有突變(在SEQ ID NO. 1之位置154處R突變成C)，且胞內域在SEQ ID NO. 1之位置433之後已經截短，且額外10個胺基酸尾部已插入C端(PALASMDTVP)。跨膜域為野生型EPOR跨膜域。

【0392】 構築體pQTX 788 (WT EPOR trunc V3 FS)包含突變型EPO受體，其以可操作方式連結至對HLA-A2及FoxP3有特異性之CAR (藉由T2A及P2A自裂解域分離)。胞外域及跨膜域分別為野生型EPOR胞外域及跨膜域。胞內域在SEQ ID NO. 1之位置433之後已經截短，且額外10個胺

基酸尾部已插入C端(PALASMDTVP)。

【0393】

收集PBMC：

白血球採集物由BioIVT供應。使用負選擇套組(StemCell Technologies)分離PBMC。簡言之，標記非所需部分，且用抗體複合物及磁性珠粒靶向移除，且隨後使用磁體分離。

【0394】

Treg及Tconv (Teff)分離方案：

白血球採集物可用於衍生Treg及Tconv群體。白血球採集物衍生之PBMC經歷CD25正選擇，隨後分別使用人類CD25正選擇混合物及人類CD4+ T細胞富集混合物(Stemcell Technologies)經由負選擇進行CD4富集。使用磁體分離所關注的細胞。保留細胞的CD4+CD25-部分以充當Tconv群體。CD127高耗竭混合物(Stemcell Technologies)用於進一步分離已使用磁體分離的CD4+CD25+CD127-/低細胞群體及所關注的細胞。細胞部分在FACS分選之前用流式細胞測量術抗體抗CD4 VioBlue (M-T466, Miltenyi Biotec)、抗CD25 PE (3G10, Miltenyi Biotec)、抗CD127 APC (MB15-18C9, Miltenyi Biotec)、抗CD45RA FITC (T6D11, Mitenyi Biotec)及LD 7AAD (BioLegend)染色。當指示時，分選及使用CD4+CD25+ CD127-/低(整體Treg)或CD4+CD25+ CD127-/低CD45RA+ (CD45RA+ Treg)。

【0395】

Treg培養基及擴增：

人類調節T細胞在補充有5%人類AB血清(熱滅活；Merck)、IL-2

(Proleukin, Clinigen Healthcare)之X-VIVO 15培養基(Lonza)中培養且藉由抗CD3/CD28珠粒活化。細胞每2至3天用補充有IL-2之Treg培養基再接種。用抗CD3/CD28珠粒進行第二輪刺激以促進Treg細胞之進一步擴增。

【0396】

轉染及病毒粒子生產：

接種HEK293T細胞且於DMEM (達爾伯克改良伊格爾培養基)+10%胎牛血清(FBS)中培養24小時。將轉染試劑置於室溫且與所關注之DNA構築體/質體、封裝質體(pMDLg pRRE)、調節質體(PRSV-REV)及病毒套膜(pMD2.G)混合。將FuGENE HD轉染試劑(Promega)添加至經稀釋之DNA中且混合且添加至HEK293T中。上清液轉染後48小時收集，過濾且濃縮病毒。

【0397】

T細胞之轉導：

Treg用抗CD3/CD28珠粒活化且再懸浮於T細胞培養基(X-Vivo 15培養基(Lonza)，5%人類AB血清及IL2)中。未經組織培養處理之24孔盤藉由用Retronectin (Takahara-bio - Otsu, Japan)塗佈來製備，細胞懸浮液與慢病毒上清液一起添加。使細胞培養物旋轉接種且在隔日進行培養基更換。細胞用於轉導後7天或更多天之實驗。

【0398】

轉導效率：

Treg首先在室溫下用HLA-A2抗原決定基肽多聚體-APC (Immudex)進行表面染色15分鐘。接著，經洗滌之細胞在室溫下用含LIVE/DEAD™可固定近IR-死細胞染色(Thermofisher)之PBS染色20分鐘。隨後經洗滌之

細胞在4℃下用含抗CD4 BV510 (A161A1; BioLegend)、抗CD25 PE-Cy7 (BC96; BioLegend)及抗EPOR PE (38409; Bio-Techne)之FACS染色緩衝液染色20分鐘。細胞在Attune™ NxT流式細胞儀上採集前經洗滌。使用FlowJo軟體分析細胞表面表現。使用以下閘控策略：*淋巴球>單細胞>活細胞> CD4+CD25+ > HLA-A2 Dex+ EPOR+*。

【0399】

pSTAT5分析：

在Treg分離後十四天，藉由耗竭抗CD3/CD28珠粒及移除IL2持續24-48小時來靜置經轉導之Treg，隨後設定分析。在開始染色之前，在37℃下用或不用1 IU/ml EPO (Stemcell Technologies UK)處理Treg 30分鐘。Treg首先在室溫下用HLA-A2抗原決定基肽多聚體-APC (Immudex)進行表面染色15分鐘。接著，經洗滌之細胞在室溫下用含LIVE/DEAD™可固定近IR-死細胞染色(Thermofisher)之PBS染色20分鐘。隨後經洗滌之細胞在4℃下用含抗CD4 BV510 (A161A1; BioLegend)及抗CD25 PE-Cy7 (BC96; BioLegend)之FACS染色緩衝液染色20分鐘。接著使用PerFix Expose套組(Beckman Coulter)固定及透化細胞，隨後用pSTAT5 PE-CF594進行細胞內染色(47/Stat5 pY694；BD Bioscience)。細胞在Attune™ NxT流式細胞儀上採集前經洗滌兩次。使用FlowJo軟體分析pSTAT5表現。使用以下閘控策略：*淋巴球>單細胞>活細胞> CD4+CD25+ > HLA-A2 Dex+ > pSTAT5+*。除模擬Treg以外，使用以下閘控策略：*淋巴球>單細胞>活細胞> CD4+CD25+ > pSTAT5+*。

【0400】

量測經轉導之細胞富集及FOXP3表現：

在Treg分離後十四天，藉由耗竭抗CD3/CD28珠粒及移除IL2持續24小時來靜置經轉導之Treg，隨後設定分析。針對第0天、第4天及第6天讀數，設定由培養基、CD3/CD28珠粒、0及300 IU/ml IL2組成的各種條件。Treg首先用HLA-A2抗原決定基肽多聚體-APC(Immudex)，接著用含LIVE/DEAD™可固定近IR-死細胞染色(Thermofisher)之PBS進行表面染色。隨後經洗滌之細胞在4℃下用含抗CD4 BV510 (A161A1; BioLegend)及抗CD25 PE-Cy7 (BC96; BioLegend)之FACS染色緩衝液染色30分鐘。接著根據製造商說明書使用FOXP3/轉錄因子染色緩衝液集(Thermo Fisher Scientific, UK)透化經洗滌細胞。用抗FoxP3 BV421 (206D；BioLegend)抗體染色經透化細胞。細胞在Attune™ NxT流式細胞儀上採集前經洗滌兩次。使用FlowJo軟體分析FoxP3表現。使用以下閘控策略：*淋巴球>單細胞>活細胞> CD4+CD25+ > HLA-A2 Dex+ > FoxP3+*。除模擬Treg以外，使用以下閘控策略：*淋巴球>單細胞>活細胞> CD4+CD25+ > FoxP3+*。

【0401】

量測細胞存活率/倍數擴增：

在Treg分離後十四天，藉由耗竭抗CD3/CD28珠粒及移除IL2持續24小時來靜置經轉導之Treg，隨後設定分析。針對第0天、第5天及第7天讀數，在缺乏IL2的情況下，設定由培養基、A1+K562 (其為A2-)或A2+K562細胞組成的各種條件。使用1:4之比率之K562:Treg。Treg用抗EPOR PE (38409; Bio-Techne)、抗CD34 FITC (QBEND10; Life Technologies)、抗CD4 BV510 (A161A1; BioLegend)及抗CD25 PE-Cy7 (BC96; BioLegend)進行表面染色。隨後使用磷脂結合蛋白V細胞凋亡偵

測套組與7-AAD (BioLegend)，用含磷脂結合蛋白V BV421及7-AAD之磷脂結合蛋白V結合緩衝液染色經洗滌細胞。在所有孔中獲得相等體積之細胞懸浮液以允許公平定量各孔中之活轉導細胞。細胞在Attune™ NxT流式細胞儀上採集。使用FlowJo軟體分析細胞存活率。使用以下閘控策略：*淋巴球>單細胞>磷脂結合蛋白V- 7-AAD-（活細胞）> CD4+CD25+ > CD34/QBEND+或EPOR+*。

【0402】

深度表型分型：

在Treg分離後十四天，藉由耗竭抗CD3/CD28珠粒及移除IL2持續24小時來靜置經轉導之Treg。Treg首先在室溫下用HLA-A2抗原決定基肽多聚體APC (Immudex)進行表面染色15分鐘。接著，經洗滌之細胞在室溫下用含LIVE/DEAD™可固定eFluor455-死細胞染色(Thermofisher)之PBS染色20分鐘。隨後在37℃下用含抗CCR4 BV480 (1G1; BD Biosciences)、抗CCR7 BUV395 (2-L1-A; BD Biosciences)、抗CD183/CXCR3 PE-Cy7 (G025H7; Biolegend)之Brilliant Stain Buffer Plus染色經洗滌細胞20分鐘。隨後在4℃下用含抗HLA-DR APC-Fire810 (G46-6; BD Bioscience)、抗PD-1 BV650 (EH12.2H7; Biolegend)、抗ICOS BV750 (DX29; BD Biosciences)、抗CD8a BUV805 (SK1; BD Biosciences)、抗TIM-3/CD366 BV711 (7D3; BD Biosciences)、抗CD27 PE-AF700 (0323; Biolegend)、抗CCR6 BV605 (G034E3; Biolegend)、抗CD95 PE-Cy5 (DX2; BD Biosciences)、抗TIGIT APC-Cy7 (VSTM3; Biolegend)、抗CD70 BV786 (Ki-24; BD Biosciences)、抗CD4 VioBlue (M-T466; Miltenyi Biotec)、抗CD34 PE (QBEND10; Life Technologies)及抗CD25

BUV563 (2A3; BD Biosciences)之Brilliant Stain Buffer Plus染色經洗滌細胞30分鐘。對於細胞之細胞內染色，將細胞固定且根據製造商說明書使用FOXP3/轉錄因子染色緩衝液集(Thermo Fisher Scientific, UK)透化。用含抗Helios PE-Dazzle594 (22F6; Biolegend)、抗CTLA-4 BB700 (BNI3; BD Biosciences)及抗FOXP3 AF647 (206D; BD Biosciences)之透化緩衝液染色經透化細胞。細胞在流式細胞儀上採集前經洗滌兩次。使用FlowJo軟體分析標記表現。

【0403】

抑制分析：

在Treg分離後十四天，藉由耗竭抗CD3/CD28珠粒及移除IL2持續24小時來靜置經轉導之Treg，隨後設定分析。根據製造商方案，使用CellTrace™ Violet (CTV)細胞增殖套組(ThermoFisher)染色Treg且使用CellTrace™ Yellow (CTY)細胞增殖套組(ThermoFisher)染色T-效應子。CTY染色T-效應子與CTV染色Treg按指定的不同比率進行培養。120 Gy經照射之HLA-A2+ B細胞或HLA-A2- B細胞以1:3.3之B細胞:T-效應子比率進行共培養。或者，以1:1珠粒:T-效應子比率添加人類T-活化因子CD3/CD28 Dynabeads™ (Gibco)。在染色之前，將細胞培養物在37℃下在5% CO_2下培育4天。細胞在PBS中洗滌，隨後在室溫下用含可固定近IF-死細胞染色(Thermofisher)之PBS染色20分鐘。隨後在4℃下用抗EPOR PE (38409; Bio-Techne)、抗CD34 FITC (QBEND10; Life Technologies)及HLA-A3 (REA950; Miltenyi Biotec)染色經洗滌細胞20分鐘。細胞在Attune™ NxT流式細胞儀上採集前經洗滌。使用FlowJo軟體分析資料。以下閘控策略：*淋巴球>單細胞>活細胞> HLA-A3- > CTY+*。

【0404】

細胞毒素分析：

根據製造商方案，HLA-A2+或HLA-A2-K562之目標細胞用CellTrace™ Violet (CTV)細胞增殖套組(ThermoFisher)標記。指定的Treg或自然殺手細胞(NK)之效應細胞以各種指定比率與目標細胞共培養。將抗CD107a PE (H4A3；BD Biosciences)添加至培養物且在37℃及5% CO_2下培育總共4小時。培育1小時之後，將GolgiSTOP工作溶液(BD Biosciences)添加至培養物。經洗滌之細胞在Attune™ NxT流式細胞儀上採集。使用FlowJo軟體分析資料。

【0405】

細胞內細胞激素染色：

Treg或T細胞在37℃下藉由白血球活化混合物與BD GolgiPlug™活化5小時。細胞接著在室溫下用含LIVE/DEAD™ Aqua之PBS染色20分鐘。隨後在4℃下用抗CD4 PerCPCy5.5 (SK3; Biolegend)、抗EPOR PE (38409; Bio-Techne)及抗CD34 FITC (QBEND10; Life Technologies)染色經洗滌細胞30分鐘。接著根據製造商說明書使用FOXP3/轉錄因子染色緩衝液集(Thermo Fisher Scientific, UK)固定且透化經洗滌細胞。接著用抗IL-17A BV605 (BL168: Biolgend)、抗TNFα APC-Cy7 (Mab11; Biolegend)、抗IFN-γ PE-Cy7 (4S.B3; Biolgend)及抗IL2 PE-PE/Dazzle 594 (MQ1-17H12; Biolegend)染色經透化細胞。細胞在流式細胞儀上採集前經洗滌。

【0406】

資料分析：

流動式細胞量測資料可使用流動細胞測量術分析軟體FlowJo (FlowJo, LLC)分析。所有統計分析均可使用Graphpad Prism v.9.4.1 (Graphpad Prism Software)進行。

【0407】

結果

圖4A- 構築體在經轉導之人類Treg中表現良好

FACS圖亦顯示了用658 (無技術)、783、784、785、786及模擬的各種構築體轉導之新鮮Treg的轉導效率。轉導效率使用HLA-A2抗原決定基肽多聚體及EPOR表現量測。各構築體均獲得類似轉導效率。此亦展示於下表中。

構築體	轉導效率(%)
658	50.6
783	40.5
784	40.3
785	50.7
786	53.3

【0408】

圖4B- 構築體在經轉導之人類Treg中表現良好

FACS圖亦顯示了用783、784、785、786、787、788及模擬的各種構築體轉導之冷凍Treg的轉導效率。轉導效率使用HLA-A2抗原決定基肽多聚體及EPOR表現量測。各構築體均獲得類似轉導效率。此亦展示於下表中。

構築體	轉導效率(%)
783	29.5
784	39.9
785	52.3
786	58.5
787	39.4
788	37.2

【0409】

圖5- 經EPOR衍生之蛋白質轉導的Treg特異性上調pSTAT5水平

在對pSTAT5表現量進行染色之前，用或不用EPO處理經轉導之Treg。細胞在定義為HLA-A2 CAR+的轉導部分上進行預閘控，而未經轉導之部分為HLA-A2 CAR-。與未經轉導之細胞部分相比，表現構築體783、784、785及786中之一者的細胞之經轉導部分具有較高的pSTAT5之MFI水平，表明EPOR衍生之蛋白質促進JAK-STAT信號傳導。表現構築體783、784、785及786中之一者的細胞之經轉導部分亦特異性地回應於外源性EPO，如藉由pSTAT5之更高MFI水平偵測，然而未經轉導之部分不回應於外源性EPO且此未經轉導之部分保持在pSTAT5之類似基底MFI水平。經構築體658轉導之細胞(其不具有EPOR衍生之蛋白質)在經轉導與未經轉導之部分中均具有類似的pSTAT5之MFI水平。應注意，所使用之培養基(X-vivo外加5%人類血清)可能含有EPO，因為於血清中發現EPO。此解釋了經構築體783 (WT EPOR)轉導之細胞的pSTAT5增加且在添加更多EPO時進一步增加。然而，在不使用額外EPO之情況下，784、785及786之經轉導部分的pSTAT5比783高。

【0410】

圖6A - 經EPOR衍生之蛋白質轉導之Treg隨時間推移富集且與對照Treg相比具有較佳生存優勢

經轉導之Treg在具有或不具有IL2之情況下一起培養。用784、785及786之組成型EPOR技術轉導的細胞隨時間推移顯示群體百分比之富集。相比之下，658 (無EPOR衍生之蛋白質)及783 (WT EPOR)構築體並不隨時間推移而優先富集。在缺乏IL2時，用組成型EPOR (784、785及786)轉導之細胞相對於783 (WT EPOR)及658 (無技術)顯示出存活優勢。786

(EPORtrunc V2)似乎具有最高優勢，因為此等轉導細胞與未經轉導相比，其百分比隨時間推移之增加。當存在IL2時，由於經由天然IL2R信號傳導，未經轉導之細胞部分可擴展，且因此經組成型EPOR技術轉導之細胞群體並不富集。

【0411】

圖6B -經EPOR衍生之蛋白質轉導之Treg隨時間推移維持FoxP3表現

經轉導之Treg在具有或不具有IL2之情況下一起培養。與658相比，783、784、785及786之經轉導部分中表現FoxP3之細胞百分比類似。在未經轉導之細胞部分內，FoxP3表現百分比略微低於經轉導之細胞部分。經EPOR衍生之蛋白質轉導之細胞隨時間推移表現且維持FoxP3表現量，指示Treg維持其表型。

【0412】

圖6C - 經786轉導之Treg識別同源A2抗原且以與658對照Treg類似之方式作出反應

存活率分析展示用658及786轉導之Treg與A2+ K562或A2-K562 (A1+ K562)細胞共培養。資料顯示經658及786轉導之Treg均能識別且藉由細胞擴增倍數變化顯示出能特異性回應於A2抗原。因此，用組成型EPOR技術(786)轉導並不會對細胞的功能產生負面影響。

【0413】

圖7 - 經EPOR衍生之蛋白質轉導之Treg維持關鍵Treg標記表現

對轉導之Treg進行各種Treg相關標記的深度表型分型。該圖展示模擬Treg、轉導之細胞部分(HLA-A2 Dex+)或未經轉導之細胞部分(HLA-A2 DEX-)內指定標記之表現百分比。相較於模擬轉導之Treg，EPOR轉導

之Treg (轉導及未經轉導之部分)維持關鍵Treg標記(諸如CD25、CD27、CD95、CTLA-4、CXCR3及FoxP3)之高表現量及類似表現量。結果表明用EPOR衍生之蛋白質轉導對Treg之表型不具有顯著作用。

【0414】

圖8 - 經EPOR衍生之蛋白轉導的Treg維持抑制能力

對轉導之Treg進行抑制能力的功能測試。該圖顯示在aCD3/28珠粒、HLA-A2-B細胞及HLA-A2+B細胞之各種刺激下，經轉導Treg (或模擬Treg)針對T-效應細胞增殖的抑制百分比。結果指示採用EPOR技術之Treg具有與模擬Treg類似之抑制能力。

【0415】

圖9- 經EPOR衍生蛋白轉導之Treg不殺死目標細胞

對轉導之Treg進行了對目標細胞的細胞毒性測試。將HLA-A2-或HLA-A2+ K562細胞與經轉導之Treg以各種比率共培養。作為陽性對照，使用HLA-A2+自然殺手(NK)細胞。結果指示，經模擬及EPOR轉導之Treg不殺死目標細胞或非目標細胞，且因此調節表型得以維持。

【0416】

圖10- 經EPOR衍生蛋白轉導之Treg具有類似的細胞內細胞激素概況以控制Treg

對於細胞內細胞激素存在，測試經658及786轉導之Treg。細胞用PMA/離子黴素刺激，隨後偵測細胞內細胞激素。T-效應細胞用作陽性對照。經786轉導之Treg (轉導及未經轉導之部分)均具有與經658轉導之Treg類似及低水平之細胞內細胞激素IL2、TNFα IL-17及IFNγ。此表明786構築體未引起細胞中之發炎反應且細胞維持其調節表型。

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en"
nonEnglishFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3" fileName="C252697SEQA.xml"
softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.2.0" productionDate="2023-04-
03">
 <ApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>WO</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText></ApplicationNumberText>
  <FilingDate></FilingDate>
 </ApplicationIdentification>
 <ApplicantFileReference>27.130.158342/01</ApplicantFileReference>
 <EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>GB</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>2118797.6</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2021-12-22</FilingDate>
 </EarliestPriorityApplicationIdentification>
 <ApplicantName languageCode="zh">英商圭爾醫療有限公司(QUELL THERAPEUTICS
LIMITED)</ApplicantName>
 <ApplicantNameLatin>QUELL THERAPEUTICS LIMITED</ApplicantNameLatin>
 <InventorName languageCode="zh">馬克　瑪蒂尼斯　勞德拉(MARTINEZ-LLORDELLA,
MARC)</InventorName>
 <InventorNameLatin>MARTINEZ-LLORDELLA, MARC</InventorNameLatin>
 <InventionTitle languageCode="zh">組成型細胞激素受體</InventionTitle>
 <SequenceTotalQuantity>116</SequenceTotalQuantity>
 <SequenceData sequenceIDNumber="1">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>508</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..508</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q2">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MDHLGASLWPQVGSLCLLLAGAAWAPPPNLPDPKFESKAALLAARGPEELLCFTERLEDLVC
FWEEAASAGVGPGNYSFSYQLEDEPWKLCRLHQAPTARGAVRFWCSLPTADTSSFVPLELRVTAASGAPRYHRVIHINEV
VLLDAPVGLVARLADESGHVVLRWLPPPETPMTSHIRYEVDVSAGNGAGSVQRVEILEGRTECVLSNLRGRTRYTFAVRA
RMAEPSFGGFWSAWSEPVSLLTPSDLDPLILTLSLILVVILVLLTVLALLSHRRALKQKIWPGIPSPESEFEGLFTTHKG
NFQLWLYQNDGCLWWSPCTPFTEDPPASLEVLSERCWGTMQAVEPGTDDEGPLLEPVGSEHAQDTYLVLDKWLLPRNPPS
EDLPGPGGSVDIVAMDEGSEASSCSSALASKPSPEGASAASFEYTILDPSSQLLRPWTLCPELPPTPPHLKYLYLVVSDS
GISTDYSSGDSQGAQGGLSDGPYSNPYENSLIPAAEPLPPSYVACS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>226</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..226</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q4">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
```

```
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>APPPNLPDPKFESKAALLAARGPEELLCFTERLEDLVCFWEEAASAGVGPGNYSFSYQLEDE
PWKLCRLHQAPTARGAVRFWCSLPTADTSSFVPLELRVTAASGAPRYHRVIHINEVVLLDAPVGLVACLADESGHVVLRW
LPPPETPMTSHIRYEVDVSAGNGAGSVQRVEILEGRTECVLSNLRGRTRYTFAVRARMAEPSFGGFWSAWSEPVSLLTPS
DLDP</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="3">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>226</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..226</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q6">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>APPPNLPDPKFESKAALLAARGPEELLCFTERLEDLVCFWEEAASAGVGPGNYSFSYQLEDE
PWKLCRLHQAPTARGAVRFWCSLPTADTSSFVPLELRVTAASGAPRYHRVIHINEVVLLDAPVGLVARLADESGHVVLRW
LPPPETPMTSHIRYEVDVSAGNGAGSVQRVEILEGRTECVLSNLRGRTRYTFAVRARMAEPSFGGFWSAWSEPVSLLTPS
DLDP</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="4">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>250</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..250</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q8">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MDHLGASLWPQVGSLCLLLAGAAWAPPPNLPDPKFESKAALLAARGPEELLCFTERLEDLVC
FWEEAASAGVGPGNYSFSYQLEDEPWKLCRLHQAPTARGAVRFWCSLPTADTSSFVPLELRVTAASGAPRYHRVIHINEV
VLLDAPVGLVACLADESGHVVLRWLPPPETPMTSHIRYEVDVSAGNGAGSVQRVEILEGRTECVLSNLRGRTRYTFAVRA
RMAEPSFGGFWSAWSEPVSLLTPSDLDP</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="5">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>250</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..250</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q10">
```

```
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MDHLGASLWPQVGSLCLLLAGAAWAPPPNLPDPKFESKAALLAARGPEELLCFTERLEDLVC
FWEEAASAGVGPGNYSFSYQLEDEPWKLCRLHQAPTARGAVRFWCSLPTADTSSFVPLELRVTAASGAPRYHRVIHINEV
VLLDAPVGLVARLADESGHVVLRWLPPPETPMTSHIRYEVDVSAGNGAGSVQRVEILEGRTECVLSNLRGRTRYTFAVRA
RMAEPSFGGFWSAWSEPVSLLTPSDLDP</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="6">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>24</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..24</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q12">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>MDHLGASLWPQVGSLCLLLAGAAW</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="7">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q14">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>LILTLSLILVVILVLLTVLALLS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="8">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>235</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..235</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q16">
```

```
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>HRRALKQKIWPGIPSPESEFEGLFTTHKGNFQLWLYQNDGCLWWSPCTPFTEDPPASLEVLS
ERCWGTMQAVEPGTDDEGPLLEPVGSEHAQDTYLVLDKWLLPRNPPSEDLPGPGGSVDIVAMDEGSEASSCSSALASKPS
PEGASAASFEYTILDPSSQLLRPWTLCPELPPTPPHLKYLYLVVSDSGISTDYSSGDSQGAQGGLSDGPYSNPYENSLIP
AAEPLPPSYVACS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="9">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>507</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..507</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q18">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Mus sp.</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>小鼠物種</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MDKLRVPLWPRVGPLCLLLAGAAWAPSPSLPDPKFESKAALLASRGSEELLCFTQRLEDLVC
FWEEAASSGMDFNYSFSYQLEGESRKSCSLHQAPTVRGSVRFWCSLPTADTSSFVPLELQVTEASGSPRYHRIIHINEVV
LLDAPAGLLARRAEEGSHVVLRWLPPPGAPMTTHIRYEVDVSAGNRAGGTQRVEVLEGRTECVLSNLRGGTRYTFAVRAR
MAEPSFSGFWSAWSEPASLLTASDLDPLILTLSLILVLISLLLTVLALLSHRRTLQQKIWPGIPSPESEFEGLFTTHKGN
FQLWLLQRDGCLWWSPGSSFPEDPPAHLEVLSEPRWAVTQAGDPGADDEGPLLEPVGSEHAQDTYLVLDKWLLPRTPCSE
```

NLSGPGGSVDPVTMDEASETSSCPSDLASKPRPEGTSPSSFEYTILDPSSQLLCPRALPPELPPTPPHLKYLYLVVSDSG
ISTDYSSGGSQGVHGDSSDGPYSHPYENSLVPDSEPLHPGYVACS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>249</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..249</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q20">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MDKLRVPLWPRVGPLCLLLAGAAWAPSPSLPDPKFESKAALLASRGSEELLCFTQRLEDLVC
FWEEAASSGMDFNYSFSYQLEGESRKSCSLHQAPTVRGSVRFWCSLPTADTSSFVPLELQVTEASGSPRYHRIIHINEVV
LLDAPAGLLACRAEEGSHVVLRWLPPPGAPMTTHIRYEVDVSAGNRAGGTQRVEVLEGRTECVLSNLRGGTRYTFAVRAR
MAEPSFSGFWSAWSEPASLLTASDLDP</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>249</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>

```
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..249</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q22">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Mus sp.</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>小鼠物種</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MDKLRVPLWPRVGPLCLLLAGAAWAPSPSLPDPKFESKAALLASRGSEELLCFTQRLEDLVC
FWEEAASSGMDFNYSFSYQLEGESRKSCSLHQAPTVRGSVRFWCSLPTADTSSFVPLELQVTEASGSPRYHRIIHINEVV
LLDAPAGLLARRAEEGSHVVLRWLPPPGAPMTTHIRYEVDVSAGNRAGGTQRVEVLEGRTECVLSNLRGGTRYTFAVRAR
MAEPSFSGFWSAWSEPASLLTASDLDP</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="12">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q24">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Mus sp.</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>小鼠物種</NonEnglishQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>LILTLSLILVLISLLLTVLALLS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="13">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>235</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..235</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q26">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Mus sp.</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>小鼠物種</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>HRRTLQQKIWPGIPSPESEFEGLFTTHKGNFQLWLLQRDGCLWWSPGSSFPEDPPAHLEVLS
EPRWAVTQAGDPGADDEGPLLEPVGSEHAQDTYLVLDKWLLPRTPCSENLSGPGGSVDPVTMDEASETSSCPSDLASKPR
PEGTSPSSFEYTILDPSSQLLCPRALPPELPPTPPHLKYLYLVVSDSGISTDYSSGGSQGVHGDSSDGPYSHPYENSLVP
DSEPLHPGYVACS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="14">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>193</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..193</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q28">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MGVHECPAWLWLLLSLLSLPLGLPVLGAPPRLICDSRVLERYLLEAKEAENITTGCAEHCSL
NENITVPDTKVNFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNSSQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLLRALGAQ
KEAISPPDAASAAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKLKLYTGEACRTGDR</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="15">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>108</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..108</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q30">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGWEE
GVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="16">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>100</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..100</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q32">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MASRILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDL
MEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRRISKLES</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="17">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>100</INSDSeq_length>
```

```
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..100</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q34">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MASRILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDL
MEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISKLES</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="18">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>100</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..100</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q36">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MASRILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDL
MEAQEWCRKYMKSGNVKDLHQAFDLYYHVFRRISKLES</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="19">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>100</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..100</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q38">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MASRILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDL
MEAQEWCRKYMKSGNVPDLTQAWDLYYHVFRRISKLES</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="20">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>39</INSDSeq_length>
```

```
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..39</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q40">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>RIARLEEKVKTLKAQNSELASTANMLREQVAQLKQKVMN</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="21">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>40</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..40</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q42">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>LTDTLQAETDQLEDKKSALQTEIANLLKEKEKLEFILAAY</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="22">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>51</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..51</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q44">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MDPDLEIRAAFLRQRNTALRTEVAELEQEVQRLENEVSQYETRYGPLGGGK</INSDSeq_s
equence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="23">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>51</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..51</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q46">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MDPDLEIEAAFLERENTALETRVAELRQRVQRLRNRVSQYRTRYGPLGGGK</INSDSeq_s
equence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="24">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>27</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..27</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q48">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="25">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q50">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>IPWLGHLLVGLSGAFGFIILVYLLI</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="26">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q52">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>IYIWAPLAGTCGVLLLSLVIT</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="27">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q54">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
```

```
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>IVILLAGGFLSKSLVFSVLFA</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="28">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q56">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ILLLLACIFLIKILAASALWA</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="29">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q58">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>LLAGLVAANAVASLLIVGAVF</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="30">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q60">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GVLAGIVMGNLVLTVLIALAV</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
```

```
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="31">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>286</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..286</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q62">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>NCRNTGPWLKKVLKCNTPDPSKFFSQLSSEHGGDVQKWLSSPFPSSSFSPGGLAPEISPLEV
LERDKVTQLLLQQDKVPEPASLSSNHSLTSCFTNQGYFFFHLPDALEIEACQVYFTYDPYSEEDPDEGVAGAPTGSSPQP
LQPLSGEDDAYCTFPSRDDLLLFSPSLLGGPSPPSTAPGGSGAGEERMPPSLQERVPRDWDPQPLGPPTPGVPDLVDFQP
PPELVLREAGEEVPDAGPREGVSFPWSRPPGQGEFRALNARLPLNTDAYLSLQELQGQDPTHLV</INSDSeq_sequen
ce>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="32">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>431</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..431</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q64">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MPNPRPGKPSAPSLALGPSPGASPSWRAAPKASDLLGARGPGGTFQGRDLRGGAHASSSSLN
PMPPSQLQLPTLPLVMVAPSGARLGPLPHLQALLQDRPHFMHQLSTVDAHARTPVLQVHPLESPAMISLTPPTTATGVFS
LKARPGLPPGINVASLEWVSREPALLCTFPNPSAPRKDSTLSAVPQSSYPLLANGVCKWPGCEKVFEEPEDFLKHCQADH
LLDEKGRAQCLLQREMVQSLEQQLVLEKEKLSAMQAHLAGKMALTKASSVASSDKGSCCIVAAGSQGPVVPAWSGPREAP
DSLFAVRRHLWGSHGNSTFPEFLHNMDYFKFHNMRPPFTYATLIRWAILEAPEKQRTLNEIYHWFTRMFAFFRNHPATWK
NAIRHNLSLHKCFVRVESEKGAVWTVDELEFRKKRSQRPSRCSNPTPGP</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="33">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>230</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..230</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q66">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>KLSPRVKRIFYQNVPSPAMFFQPLYSVHNGNFQTWMGAHGAGVLLSQDCAGTPQGALEPCVQ
EATALLTCGPARPWKSVALEEEQEGPGTRLPGNLSSEDVLPAGCTEWRVQTLAYLPQEDWAPTSLTRPAPPDSEGSRSSS
SSSSSNNNNYCALGCYGGWHLSALPGNTQSSGPIPALACGLSCDHQGLETQQGVAWVLAGHCQRPGLHEDLQGMLLPSVL
SKARSWTF</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="34">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>569</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..569</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q68">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>KIKKEWWDQIPNPARSRLVAIIIQDAQGSQWEKRSRGQEPAKCPHWKNCLTKLLPCFLEHNM
KRDEDPHKAAKEMPFQGSGKSAWCPVEISKTVLWPESISVVRCVELFEAPVECEEEEEVEEEKGSFCASPESSRDDFQEG
REGIVARLTESLFLDLLGEENGGFCQQDMGESCLLPPSGSTSAHMPWDEFPSAGPKEAPPWGKEQPLHLEPSPPASPTQS
PDNLTCTETPLVIAGNPAYRSFSNSLSQSPCPRELGPDPLLARHLEEVEPEMPCVPQLSEPTTVPQPEPETWEQILRRNV
LQHGAAAAPVSAPTSGYQEFVHAVEQGGTQASAVVGLGPPGEAGYKAFSSLLASSAVSPEKCGFGASSGEEGYKPFQDLI
PGCPGDPAPVPVPLFTFGLDREPPRSPQSSHLPSSSPEHLGLEPGEKVEDMPKPPLPQEQATDPLVDSLGSGIVYSALTC
HLCGHLKQCHGQEDGGQTPVMASPCCGCCCGDRSSPPTTPLRAPDPSPGGVPLEASLCPASLAPSGISEKSKSSSSFHPA
PGNAQSSSQTPKIVNFVSVGPTYMRVS</INSDSeq_sequence>
```

```
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="35">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>437</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..437</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q70">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RFCGIYGYRLRRKWEEKIPNPSKSHLFQNGSAELWPPGSMSAFTSGSPPHQGPWGSRFPELE
GVFPVGFGDSEVSPLTIEDPKHVCDPPSGPDTTPAASDLPTEQPPSPQPGPPAASHTPEKQASSFDFNGPYLGPPHSRSL
PDILGQPEPPQEGGSQKSPPPGSLEYLCLPAGGQVQLVPLAQAMGPGQAVEVERRPSQGAAGSPSLESGGGPAPPALGPR
VGGQDQKDSPVAIPMSSGDTEDPGVASGYVSSADLVFTPNSGASSVSLVPSLGLPSDQTPSLCPGLASGPPGAPGPVKSG
FEGYVELPPIEGRSPRSPRNNPVPPEAKSPVLNPGERPADVSPTSPQPEGLLVLQQVGDYCFLPGLGPGPLSLRSKPSSP
GPGPEIKNLDQAFQVKKPPGQAVPQVPVIQLFKALKQQDYLSLPPWEVNKPGEVC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="36">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>189</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..189</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q72">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RHERIKKTSFSTTTLLPPIKVLVVYPSEICFHHTICYFTEFLQNHCRSEVILEKWQKKKIAE
MGPVQWLATQKKAADKVVFLLSNDVNSVCDGTCGKSEGSPSENSQDLFPLAFNLFCSDLRSQIHLHKYVVVYFREIDTKD
DYNALSVCPKYHLMKDATAFCAELLHVKQQVSAGKRSQACHDGCCSL</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="37">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>362</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..362</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q74">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GGAHASSSSLNPMPPSQLQLPTLPLVMVAPSGARLGPLPHLQALLQDRPHFMHQLSTVDAHA
RTPVLQVHPLESPAMISLTPPTTATGVFSLKARPGLPPGINVASLEWVSREPALLCTFPNPSAPRKDSTLSAVPQSSYPL
LANGVCKWPGCEKVFEEPEDFLKHCQADHLLDEKGRAQCLLQREMVQSLEQQLVLEKEKLSAMQAHLAGKMALTKASSVA
SSDKGSCCIVAAGSQGPVVPAWSGPREAPDSLFAVRRHLWGSHGNSTFPEFLHNMDYFKFHNMRPPFTYATLIRWAILEA
PEKQRTLNEIYHWFTRMFAFFRNHPATWKNAIRHNLSLHKCFVRVESEKGAVWTVDELEF</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="38">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length/>
    <INSDSeq_moltype/>
    <INSDSeq_division/>
    <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="39">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q76">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
```

```
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>YCTF</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="40">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q78">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>YFFF</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="41">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q80">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>YLSL</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="42">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q82">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>YLSLQ</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
```

```
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="43">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>57</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..57</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q84">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>KVLKCNTPDPSKFFSQLSSEHGGDVQKWLSSPFPSSSFSPGGLAPEISPLEVLERDK</INS
DSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="44">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>45</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..45</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q86">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>NPWFQRAKMPRALDFSGHTHPVATFQPSRPESVNDLFLCPQKELT</INSDSeq_sequenc
e>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="45">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>42</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..42</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q88">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GYICLRNSLPKVLNFHNFLAWPFPNLPPLEAMDMVEVIYINR</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="46">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>42</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..42</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q90">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>PLKEKSIILPKSLISVVRSATLETKPESKYVSLITSYQPFSL</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="47">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>43</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..43</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>

```
      <INSDQualifier id="q92">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RRRKKLPSVLLFKKPSPFIFISQRPSPETQDTIHPLDEEAFLK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="48">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>45</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..45</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q94">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>YIHVGKEKHPANLILIYGNEFDKRFFVPAEKIVINFITLNISDDS</INSDSeq_sequenc
e>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="49">
  <INSDSeq>
```

```
    <INSDSeq_length>41</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..41</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q96">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RYVTKPPAPPNSLNVQRVLTFQPLRFIQEHVLIPVFDLSGP</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="50">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>43</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..43</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q98">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>NYVFFPSLKPSSSIDEYFSEQPLKNLLLSTSEEQIEKCFIIEN</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="51">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>49</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..49</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q100">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>YWFHTPPSIPLQIEEYLKDPTQPILEALDKDSSPKDDVWDSVSIISFPE</INSDSeq_seq
uence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="52">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>51</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..51</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q102">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>YAFSPRNSLPQHLKEFLGHPHHNTLLFFSFPLSDENDVFDKLSVIAEDSES</INSDSeq_s
equence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="53">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>94</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..94</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q104">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>NCRNTGPWLKKVLKCNTPDPSKFFSQLSSEHGGDVQKWLSSPFPSSSFSPGGLAPEISPLEV
LERDKVTQLLPLNTDAYLSLQELQGQDPTHLV</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="54">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>208</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..208</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q106">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>NCRNTGPWLKKVLKCNTPDPSKFFSQLSSEHGGDVQKWLSSPFPSSSFSPGGLAPEISPLEV
LERDKVTQLLDAYCTFPSRDDLLLFSPSLLGGPSPPSTAPGGSGAGEERMPPSLQERVPRDWDPQPLGPPTPGVPDLVDF
QPPPELVLREAGEEVPDAGPREGVSFPWSRPPGQGEFRALNARLPLNTDAYLSLQELQGQDPTHLV</INSDSeq_sequ
ence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="55">
  <INSDSeq>
```

```
    <INSDSeq_length>52</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..52</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q108">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ERTMPRIPTLKNLEDLVTEYHGNFSAWSGVSKGLAESLQPDYSERLCLVSEI</INSDSeq_
sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="56">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>86</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..86</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q110">
```

```
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ERTMPRIPTLKNLEDLVTEYHGNFSAWSGVSKGLAESLQPDYSERLCLVSEIPPKGGALGEG
PGASPCNQHSPYWAPPCYTLKPET</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="57">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length/>
   <INSDSeq_moltype/>
   <INSDSeq_division/>
   <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="58">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q112">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>YRHQ</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="59">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q114">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>YLRQ</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="60">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>31</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..31</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q116">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QLLLQQDKVPEPASLSSNHSLTSCFTNQGYF</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="61">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>595</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..595</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q118">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>MVRWFHRDLSGLDAETLLKGRGVHGSFLARPSRKNQGDFSLSVRVGDQVTHIRIQNSGDFYD
  LYGGEKFATLTELVEYYTQQQGVLQDRDGTIIHLKYPLNCSDPTSERWYHGHMSGGQAETLLQAKGEPWTFLVRESLSQP
```

GDFVLSVLSDQPKAGPGSPLRVTHIKVMCEGGRYTVGGLETFDSLTDLVEHFKKTGIEEASGAFVYLRQPYYATRVNAAD
IENRVLELNKKQESEDTAKAGFWEEFESLQKQEVKNLHQRLEGQRPENKGKNRYKNILPFDHSRVILQGRDSNIPGSDYI
NANYIKNQLLGPDENAKTYIASQGCLEATVNDFWQMAWQENSRVIVMTTREVEKGRNKCVPYWPEVGMQRAYGPYSVTNC
GEHDTTEYKLRTLQVSPLDNGDLIREIWHYQYLSWPDHGVPSEPGGVLSFLDQINQRQESLPHAGPIIVHCSAGIGRTGT
IIVIDMLMENISTKGLDCDIDIQKTIQMVRAQRSGMVQTEAQYKFIYVAIAQFIETTKKKLEVLQSQKGQESEYGNITYP
PAMKNAHAKASRTSSKHKEDVYENLHTKNKREEKVKKQRSADKEKSKGSLKRK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="62">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>180</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..180</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q120">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>HRRALKQKIWPGIPSPESEFEGLFTTHKGNFQLWLYQNDGCLWWSPCTPFTEDPPASLEVLS
ERCWGTMQAVEPGTDDEGPLLEPVGSEHAQDTYLVLDKWLLPRNPPSEDLPGPGGSVDIVAMDEGSEASSCSSALASKPS
PEGASAASFEYTILDPSSQLLRPWTLCPELPPTPPHLK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="63">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>52</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>

```
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..52</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q123">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>IESVLCLRESYDPQLSEALGKSVGSWASFNGHYETVLDELNKLTPIRPMTRE</INSDSeq_
sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="64">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>113</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..113</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q127">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
```

```
        <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPQRRKNPQEGLYNE
LQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="65">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>41</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..41</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q129">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="66">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>48</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..48</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q131">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QRRKYRSNKGESPVEPAEPCHYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP</INSDSeq_sequ
ence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="67">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q133">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGGS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="68">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q135">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ETSGGGGSRL</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="69">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
```

```
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q137">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SGGGGSGGGGSGGGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="70">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q139">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
```

```
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="71">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q141">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SGGGGSGGGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="72">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q143">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="73">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>26</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..26</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q195">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="74">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q196">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="75">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q197">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGGGGGS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="76">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q198">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGGGG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="77">
 <INSDSeq>
```

```
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q199">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGGGGGG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="78">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>18</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q200">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>KESGSVSSEQLAQFRSLD</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="79">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q201">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>EGKSSGSGSESKST</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="80">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q202">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GSAGSAAGSGEF</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="81">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q203">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SGGGGSAGSAAGSGEF</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="82">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q204">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SGGGLLLLLLLLGGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="83">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
    <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q205">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SGGGAAAAAAAAGGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="84">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>24</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..24</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q206">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
```

```
  <INSDSeq_sequence>SGGGAAAAAAAAAAAAAAAAGGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="85">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>24</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..24</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q207">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SGALGGLALAGLLLAGLGLGAAGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="86">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q208">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SLSLSPGGGGGPAR</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="87">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q209">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SLSLSPGGGGGPARSLSLSPGGGGG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="88">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q210">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GSSGSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="89">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>

```
      <INSDQualifier id="q211">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GSSSSSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="90">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q212">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGSSSS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="91">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
```

```
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q213">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GSSSSS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="92">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q214">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SGGGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="93">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q215">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGGSGGGGSGGGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="94">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q216">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGGGG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="95">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q217">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGGGSGGGGS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="96">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q218">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="97">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q219">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GGGGGGG</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="98">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q220">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GGGGGGGGG</INSDSeq_sequence>
```

```
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="99">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>137</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..137</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q221">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ACPYSNPSLCSGGGGSELPTQGTFSNVSTNVSPAKPTTTACPYSNPSLCSGGGGSPAPRPPT
PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCNHRNRRRVCKCPRPVV</INS
DSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="100">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q222">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>ATNFSLLKQAGDVEENPGP</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="101">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>18</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q223">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>EGRGSLLTCGDVEENPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="102">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q224">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QCTNYALLKLAGDVESNPGP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="103">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>22</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..22</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q225">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="104">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="105">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>4</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..4</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q226">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>RRKR</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="106">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>105</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..105</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q227">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>HRRALKQKIWPGIPSPESEFEGLFTTHKGNFQLWLYQNDGCLWWSPCTPFTEDPPASLEVLS
ERCWGTMQAVEPGTDDEGPLLEPVGSEHAQDTYLVLDKWLLPR</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="107">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>160</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..160</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q228">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>HRRALKQKIWPGIPSPESEFEGLFTTHKGNFQLWLYQNDGCLWWSPCTPFTEDPPASLEVLS
ERCWGTMQAVEPGTDDEGPLLEPVGSEHAQDTYLVLDKWLLPRNPPSEDLPGPGGSVDIVAMDEGSEASSCSSALASKPS
PEGASAASFEYTILDPSS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="108">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q229">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
```

```
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>MDTVP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="109">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q230">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SMDTVP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="110">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q231">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ASMDTVP</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="111">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q232">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

```
  <INSDSeq_sequence>LASMDTVP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="112">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q233">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ALASMDTVP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="113">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
```

```
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q234">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>PALASMDTVP</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="114">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>245</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..245</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q235">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>HRRALKQKIWPGIPSPESEFEGLFTTHKGNFQLWLYQNDGCLWWSPCTPFTEDPPASLEVLS
  ERCWGTMQAVEPGTDDEGPLLEPVGSEHAQDTYLVLDKWLLPRNPPSEDLPGPGGSVDIVAMDEGSEASSCSSALASKPS
  PEGASAASFEYTILDPSSQLLRPWTLCPELPPTPPHLKYLYLVVSDSGISTDYSSGDSQGAQGGLSDGPYSNPYENSLIP
  AAEPLPPSYVACSPALASMDTVP</INSDSeq_sequence>
```

```
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="115">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>115</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q236">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>HRRALKQKIWPGIPSPESEFEGLFTTHKGNFQLWLYQNDGCLWWSPCTPFTEDPPASLEVLS
ERCWGTMQAVEPGTDDEGPLLEPVGSEHAQDTYLVLDKWLLPRPALASMDTVP</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="116">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>170</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..170</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
```

```
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q237">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>HRRALKQKIWPGIPSPESEFEGLFTTHKGNFQLWLYQNDGCLWWSPCTPFTEDPPASLEVLS
ERCWGTMQAVEPGTDDEGPLLEPVGSEHAQDTYLVLDKWLLPRNPPSEDLPGPGGSVDIVAMDEGSEASSCSSALASKPS
PEGASAASFEYTILDPSSPALASMDTVP</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種包含重組蛋白之T細胞，其中該重組蛋白包含胞外域(exodomain)，該胞外域至少一部分係衍生自EPOR之胞外區，其中該胞外域包含允許於缺乏信號誘導分子之情況下使該重組蛋白與第二蛋白進行二聚化並將信號提供至該T細胞之二聚域。

【請求項2】

如請求項1之T細胞，其中該胞外域之該至少一部分包含與SEQ ID NO. 3或5具有至少70%序列一致性之胺基酸序列。

【請求項3】

如請求項1或2之T細胞，其中衍生自EPOR胞外區的該胞外域之該至少一部分包含該二聚域。

【請求項4】

如請求項1至3中任一項之T細胞，其中該二聚域為白胺酸拉鏈或半胱胺酸殘基。

【請求項5】

如請求項1至4中任一項之T細胞，其中該二聚化為二硫鍵連接之二聚化。

【請求項6】

如請求項1至5中任一項之T細胞，其中該二聚化為均二聚化或雜二聚化。

【請求項7】

如請求項1至6中任一項之T細胞，其中該信號誘導分子為EPO。

【請求項8】

如請求項1至7中任一項之T細胞，其中該胞外域包含或由以下組成：SEQ ID NO. 2中所闡述之胺基酸序列或與其具有至少80%序列一致性且在位置130具有半胱胺酸殘基的其變異體；或包含或由以下組成：SEQ ID NO. 4中所闡述之胺基酸序列或與其具有至少80%序列一致性且在位置154具有半胱胺酸殘基的其變異體。

【請求項9】

如請求項1至8中任一項之T細胞，其中該T細胞為T調節細胞或其前驅體。

【請求項10】

如請求項1至9中任一項之T細胞，其中該第二蛋白不同於該重組蛋白。

【請求項11】

如請求項10之T細胞，其中該T細胞進一步包含該第二蛋白。

【請求項12】

如請求項1至11中任一項之T細胞，其中該T細胞進一步包含嵌合抗原受體、異源TCR、安全開關多肽、異源FOXP3多肽及/或突變鈣調神經磷酸酶蛋白。

【請求項13】

如請求項1至12中任一項之T細胞，其中該胞外域包含一或多個與EPOR異源之域或序列。

【請求項14】

如請求項13之T細胞，其中該胞外域包含一或多個標籤肽、自殺部分

及/或誘導型二聚域。

【請求項15】

如請求項1至14中任一項之T細胞，其中EPOR之該胞外區能夠結合至EPO。

【請求項16】

如請求項1至15中任一項之T細胞，其中該重組蛋白包含胞內域(endodomain)。

【請求項17】

如請求項1至15中任一項之T細胞，其中該重組蛋白能夠與包含胞內域之信號傳導蛋白質締合。

【請求項18】

如請求項16或17之T細胞，其中該胞內域包含酪胺酸激酶活化域，該酪胺酸激酶活化域包含JAK1及/或JAK2結合模體(motif)及包含一或多個可由JAK1及/或JAK2磷酸化之酪胺酸殘基的酪胺酸效應域。

【請求項19】

如請求項18之T細胞，其中該酪胺酸效應域包含至少一個STAT締合模體，較佳地STAT5締合模體。

【請求項20】

如請求項16至19中任一項之T細胞，其中該胞內域進一步包含JAK3結合模體。

【請求項21】

如請求項16至20中任一項之T細胞，其中該胞內域包含或由以下組成：如SEQ ID NO. 8中所闡述之EPOR胞內域或與SEQ ID NO. 8具有至少

40%序列一致性之EPOR胞內域變異體。

【請求項22】

如請求項21之T細胞，其中該EPOR胞內域變異體包含至少一個修飾以減少SHP1與該EPOR胞內域序列之結合，尤其其中該修飾係針對SEQ ID NO. 8之Y181及/或Y183。

【請求項23】

如請求項21或22之T細胞，其中該EPOR胞內域變異體包含截短之EPOR胞內域或由其組成，該截短之EPOR胞內域截短至少包含SEQ ID NO. 8之Y181及/或Y183的該EPOR胞內域的一部分，例如其中該截短之EPOR胞內域包含或由以下組成：SEQ ID NO. 62、SEQ ID NO. 106或SEQ ID NO. 107之序列或與其具有至少80%序列一致性之其變異體。

【請求項24】

如請求項21至23中任一項之T細胞，其中該變異型EPOR胞內域變異體包含插入至少SEQ ID NO. 108之序列或與SEQ ID NO. 8相差不超過兩個胺基酸之序列，例如其中該變異體包含插入至少SEQ ID NO. 109、110、111、112或113之序列或與SEQ ID NO. 109、110、111、112或113分別相差不超過一個或不超過兩個胺基酸之序列。

【請求項25】

如請求項24之T細胞，其中該EPOR胞內域變異體包含或由以下組成：SEQ ID NO. 114、SEQ ID NO. 115或SEQ ID NO. 116之序列或與其具有至少80%序列一致性之其變異體。

【請求項26】

一種包含核酸分子之T細胞，該核酸分子包含編碼如請求項1至25中

任一項所定義的重組蛋白之核苷酸序列。

【請求項27】

一種包含構築體之T細胞，該構築體包含如請求項26所定義之核酸分子及一或多個其他核苷酸序列。

【請求項28】

如請求項27之T細胞，其中該其他核苷酸序列：(i)為調節序列；及/或(ii)編碼所關注之蛋白質；及/或其中該所關注之蛋白質為(iii)治療蛋白、(iv)抗原受體、(v) CAR或TCR、(vi)安全開關多肽或(vii) FOXP3多肽。

【請求項29】

一種包含載體之T細胞，該載體包含如請求項26至28所定義之核酸分子或構築體。

【請求項30】

一種細胞群體，其包含如請求項1至29中任一項所定義之T細胞。

【請求項31】

一種製備如請求項1至29中任一項之T細胞的方法，該方法包含將如請求項26至29中任一項所定義之核酸分子、構築體或載體引入至該細胞中的步驟。

【請求項32】

一種促進細胞存活或持久性之方法，該方法包含將如請求項26至29中任一項所定義之核酸分子、構築體或載體引入至該細胞中。

【請求項33】

如請求項32之方法，其進一步包含在EPO存在下培養該細胞之步

驟。

【請求項34】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至30中任一項之細胞或細胞群體。

【請求項35】

如請求項1至30中任一項之T細胞或細胞群體或如請求項34之醫藥組合物，其用於療法中。

【請求項36】

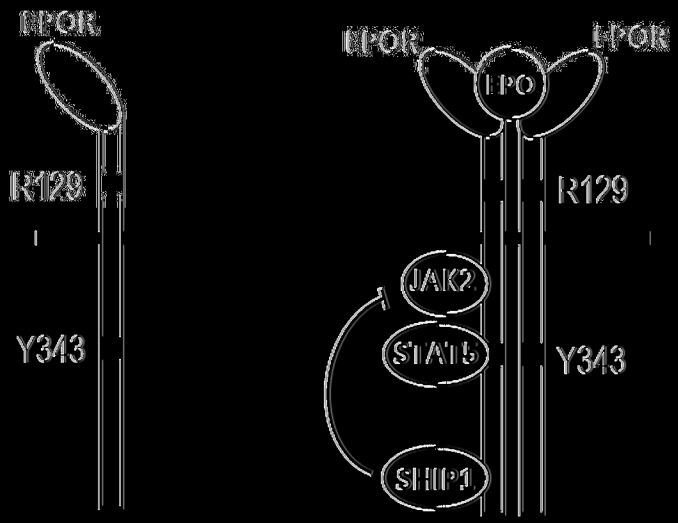
如請求項1至30中任一項之T細胞或細胞群體或如請求項34之醫藥組合物，其用於治療癌症、感染性、神經退化性或發炎性疾病或用於誘導免疫抑制。

【請求項37】

如請求項36之T細胞、細胞群體或醫藥組合物，其用於誘導對移植物之耐受性；治療及/或預防移植物抗宿主病(graft-versus-host disease；GvHD)、自體免疫性或過敏性疾病；促進組織修復及/或組織再生；或改善個體中之炎症，較佳其中該細胞為Treg細胞。

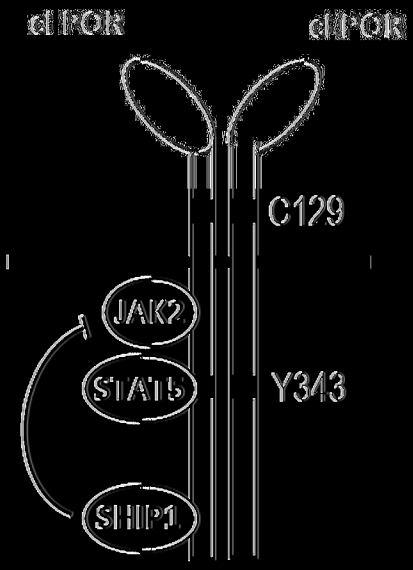
[發明圖式]

WT EPOR



[圖1]

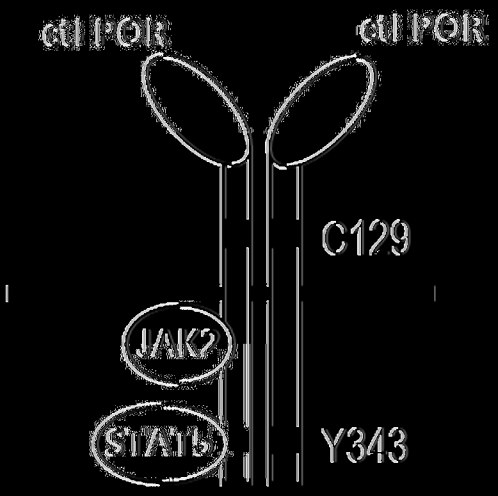
A 組成型EPOR



[圖2]

B

組成型EPOR



C

組成型EPOR-IL2RB

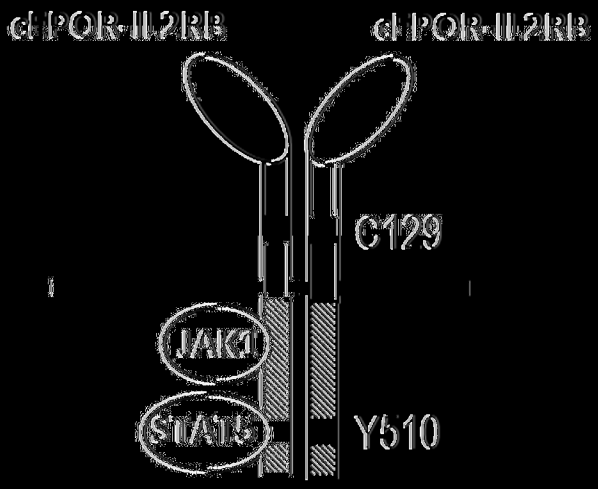


圖2 (續)

圖式之數三/位置與符號說明

2CX 783 (EOR W)

EOR 方法 (25~273ea)	EOR 方法 (274~508ea)	7A	A2 CA3	7A	Eox23

2CX 784 (EOR 5)

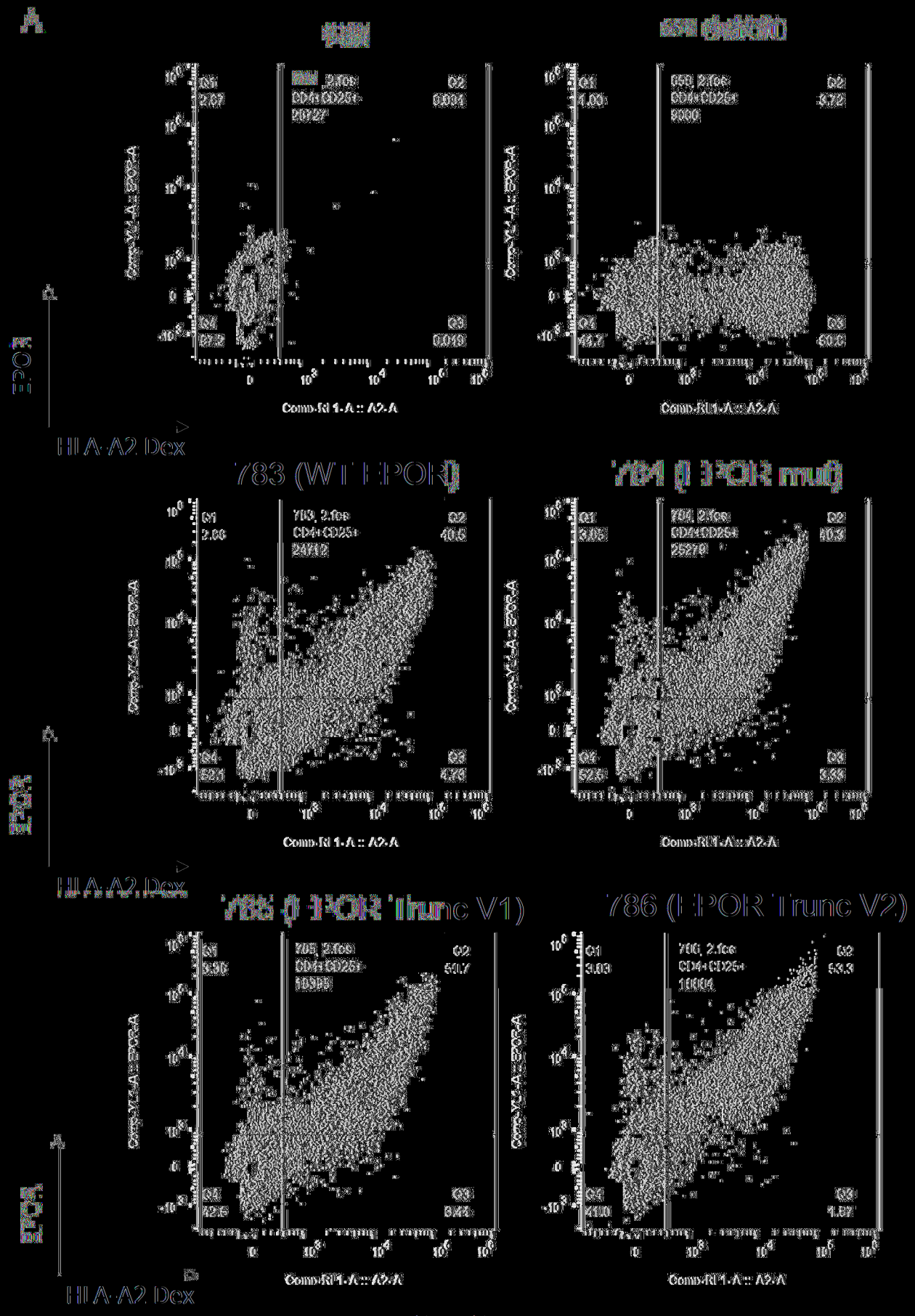
EOR 方法 (1~274ea)	EOR 方法 (55~250ea)	EOR 方法 (1~54ea)	EOR 方法 (55~250ea)	EOR 方法 (274~508ea)	_2A	A2 CA3	2A	Eox23

2CX 785 (EOR ETC V)

EOR 方法 (1~274ea)	EOR 方法 (1~54ea)	EOR 方法 (55~250ea)	EOR 方法 (55~250ea)	EOR 方法 (274~378ea)	_2A	A2 CA3	2A	Eox23

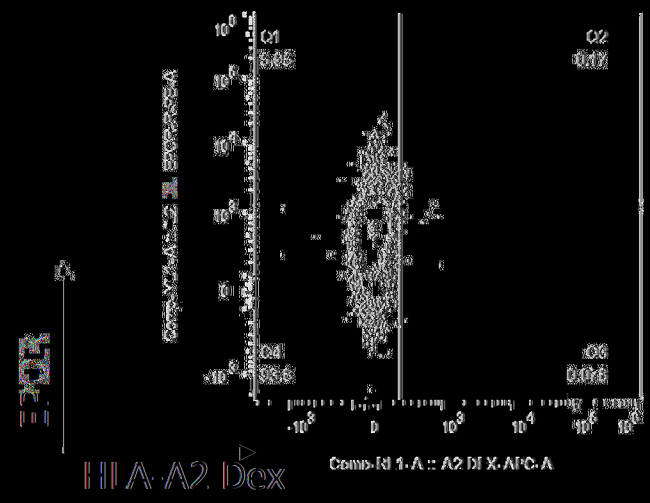
7 頁 31

EOR 786 (EOR 1779 V2)
EOR 787 (EOR 1779 V3 E6)
EOR 788 (WT EOR 1779 V3 E6)
EOR 1779 V2
EOR 1779 V3 E6
WT EOR 1779 V3 E6
EOR 1779 V2
EOR 1779 V3 E6
WT EOR 1779 V3 E6
EOR 1779 V2
EOR 1779 V3 E6
WT EOR 1779 V3 E6
T2A
A2 CAR
P2A
Fox23

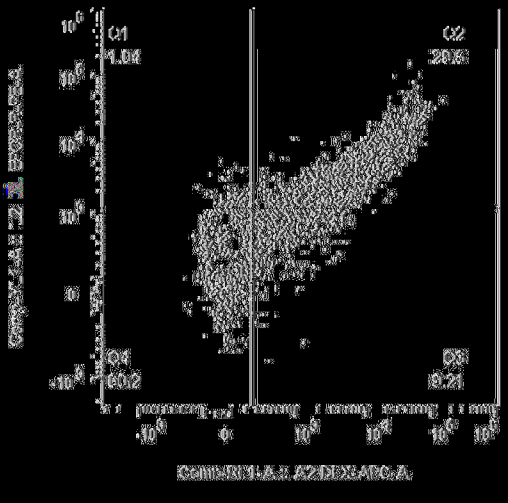

783 (WT FOXP3)
784 (FOXP3 mut)
785 (FOXP3 Trunc V1)
786 (FOXP3 Trunc V2)
Comp-V1-A :: FOXP3-A
Comp-RM1-A :: A2-A
HIA-A2 Dex
Q1
Q2
Q3
Q4

B

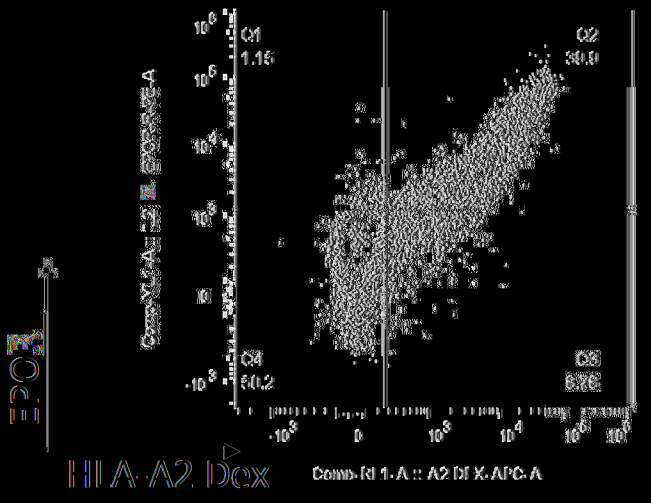
模擬



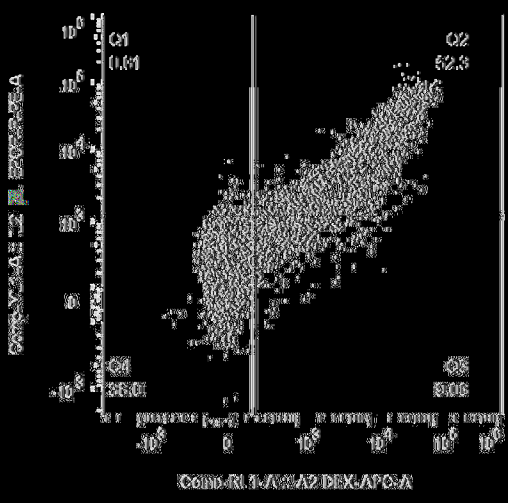
783 (WT EPOR)



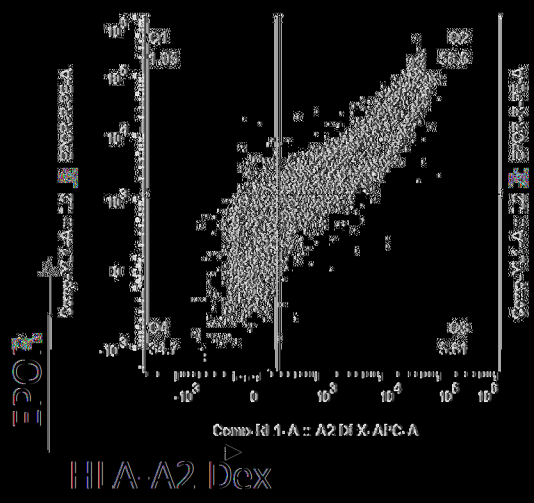
784 (EPOR mut)



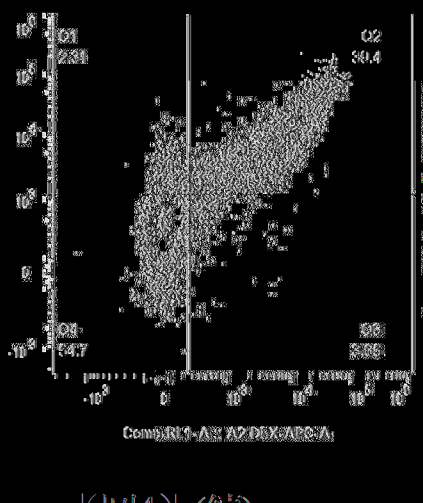
785 (EPOR Trunc V1)



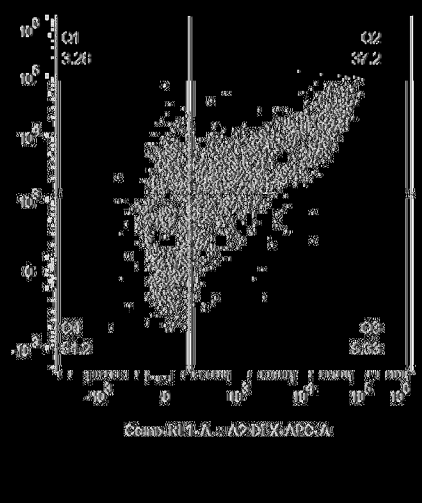
786 (EPOR Trunc V2)



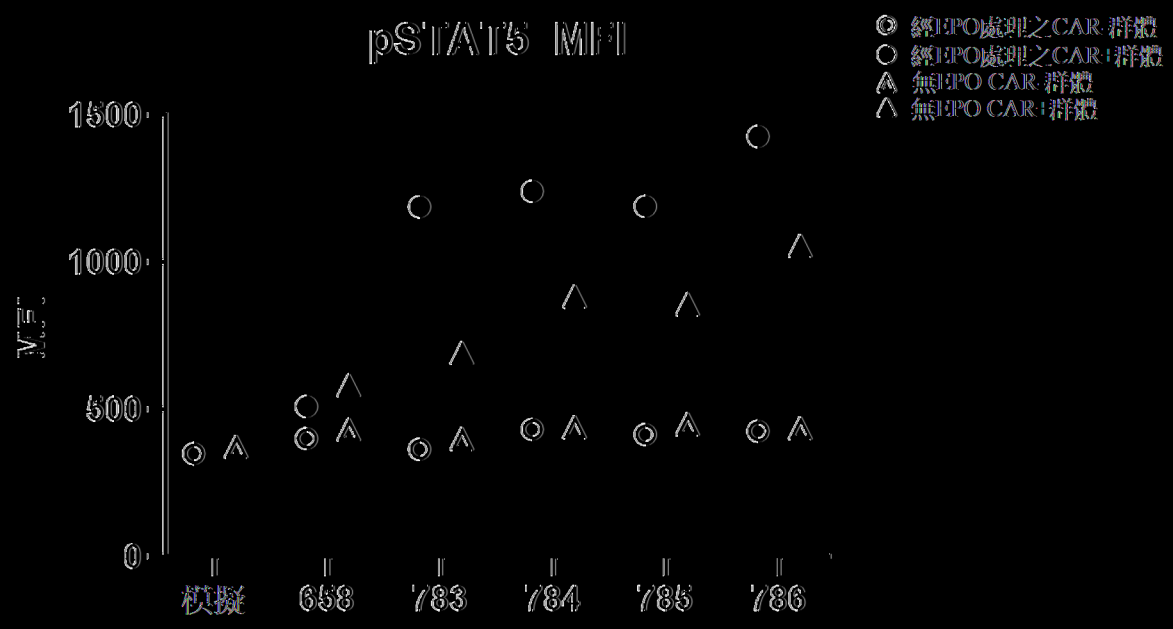
787 (EPOR Trunc V3 ES)



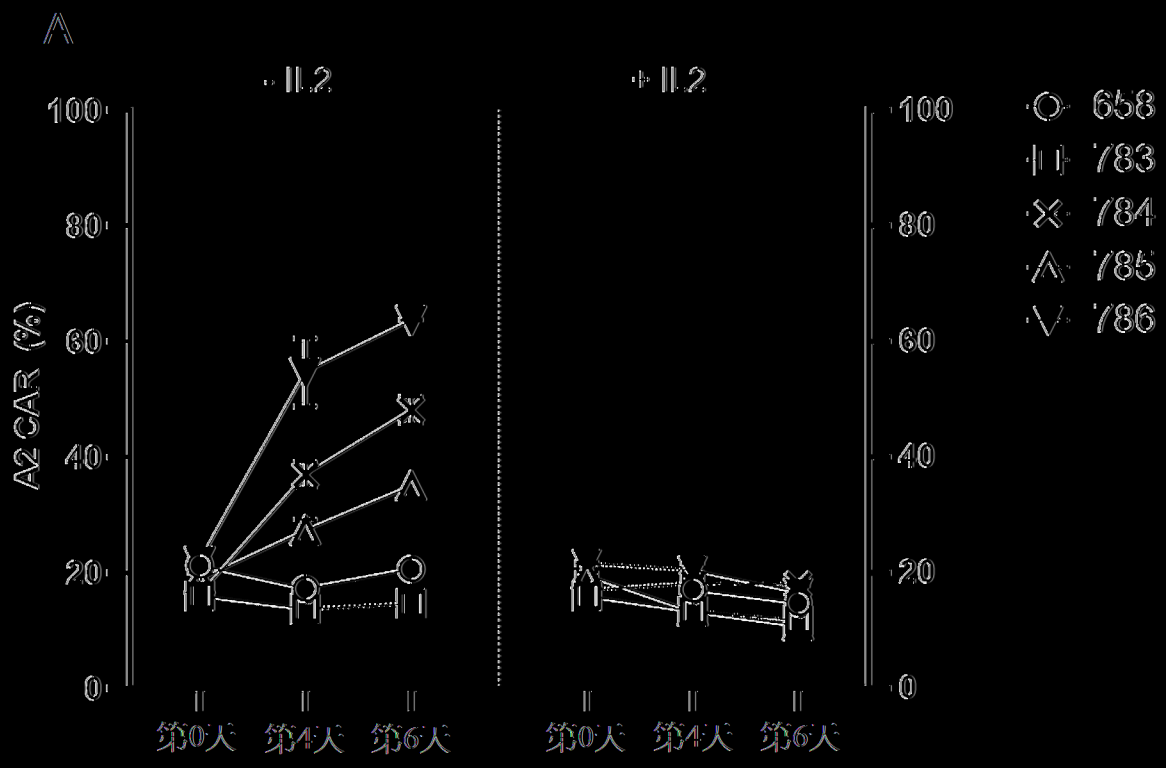
788 (EPOR Trunc V3 ES)



[圖4] (續)

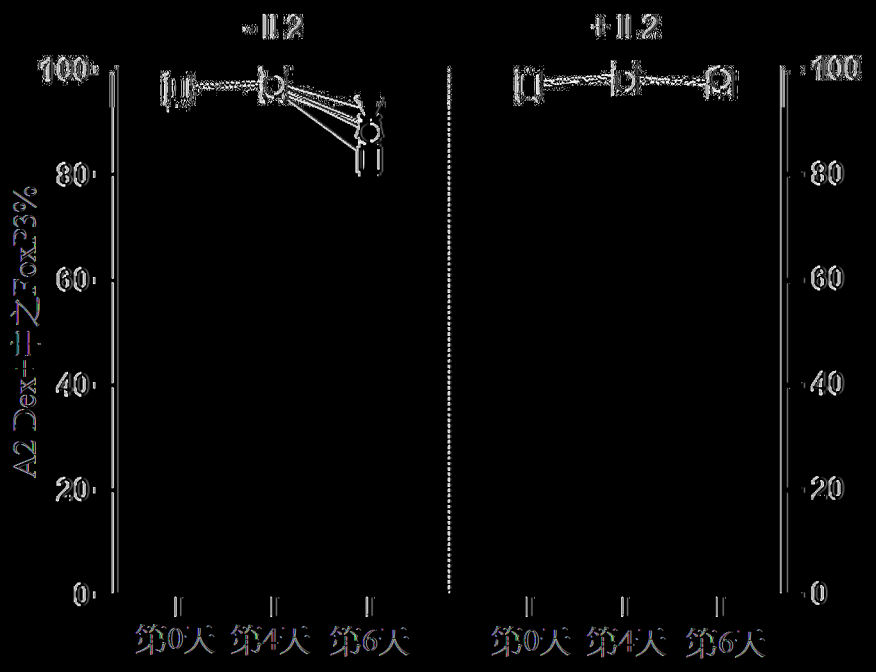

pSTAT5 MFI
經EPO處理之CAR+群體
經EPO處理之CAR-群體
無EPO CAR+群體
無EPO CAR-群體
1500
1000
500
0
模擬
658
783
784
785
786

|(圖5)|


A
+ IL2
+ IL2
A2 CAR (%)
100
80
60
40
20
0
658
783
784
785
786
第0天
第4天
第6天
第0天
第4天
第6天

|(圖6)|

B 經轉導之群體



未經轉導之群體

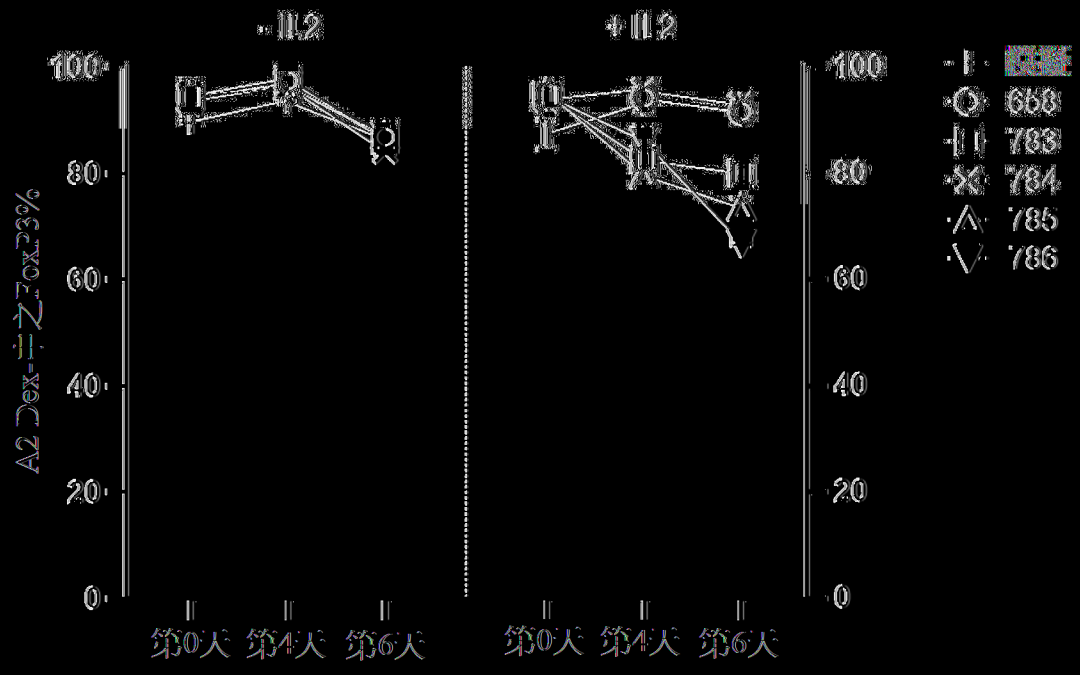


圖6 (續)

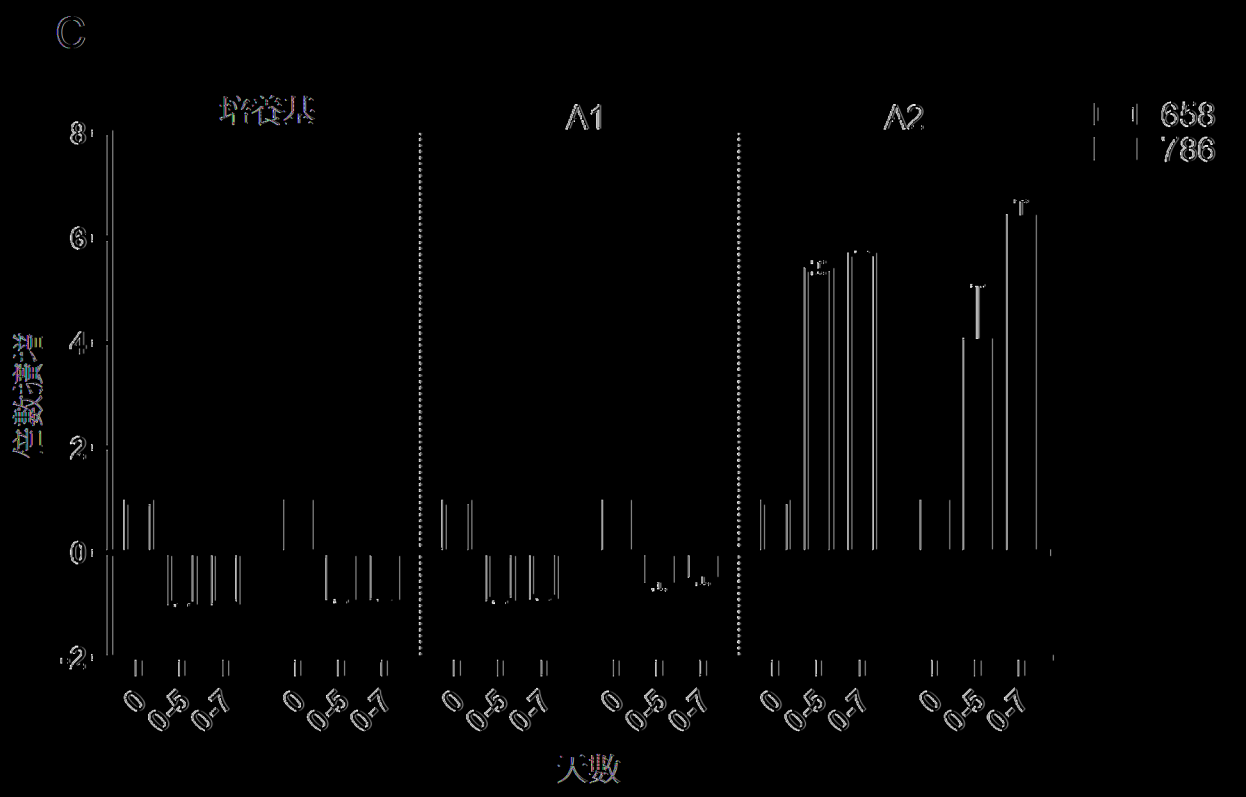

C
群
A1
A2
658
786
8
6
4
2
0
-2
0
0-5
0-7
天數

圖6 (續)

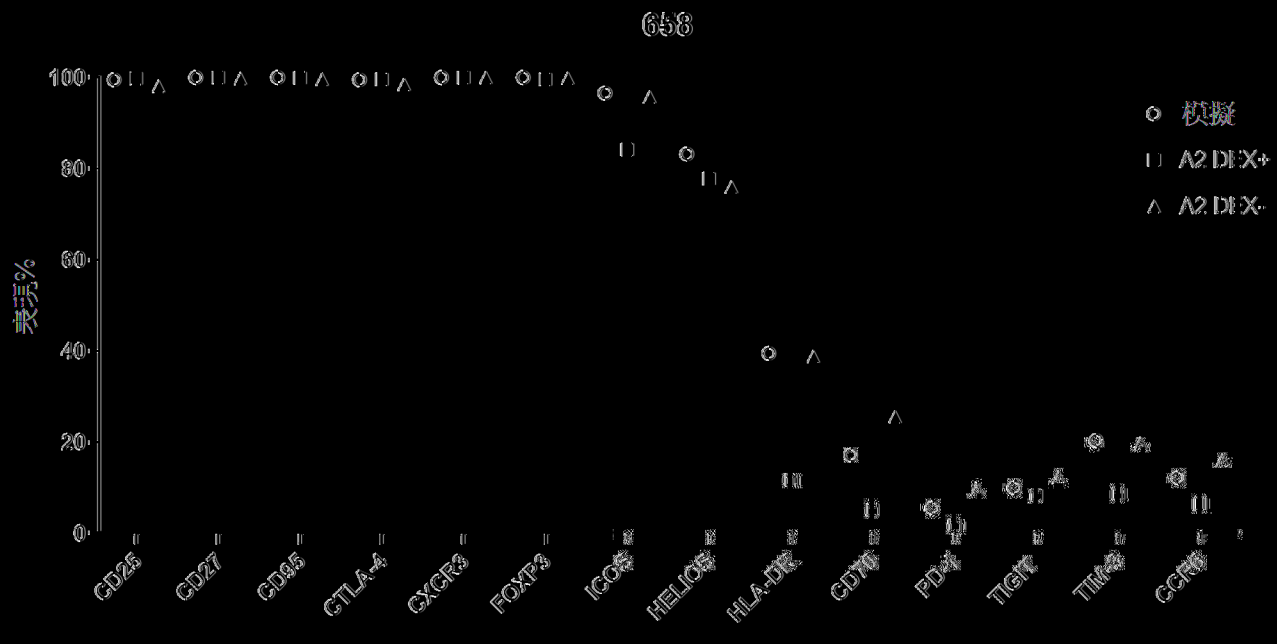
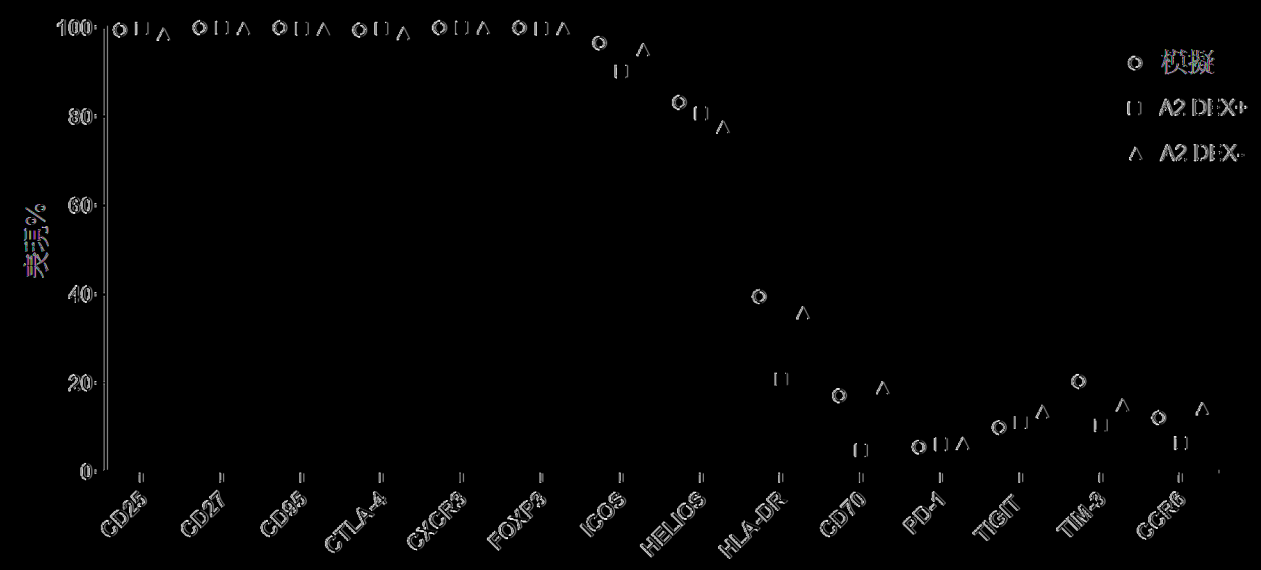
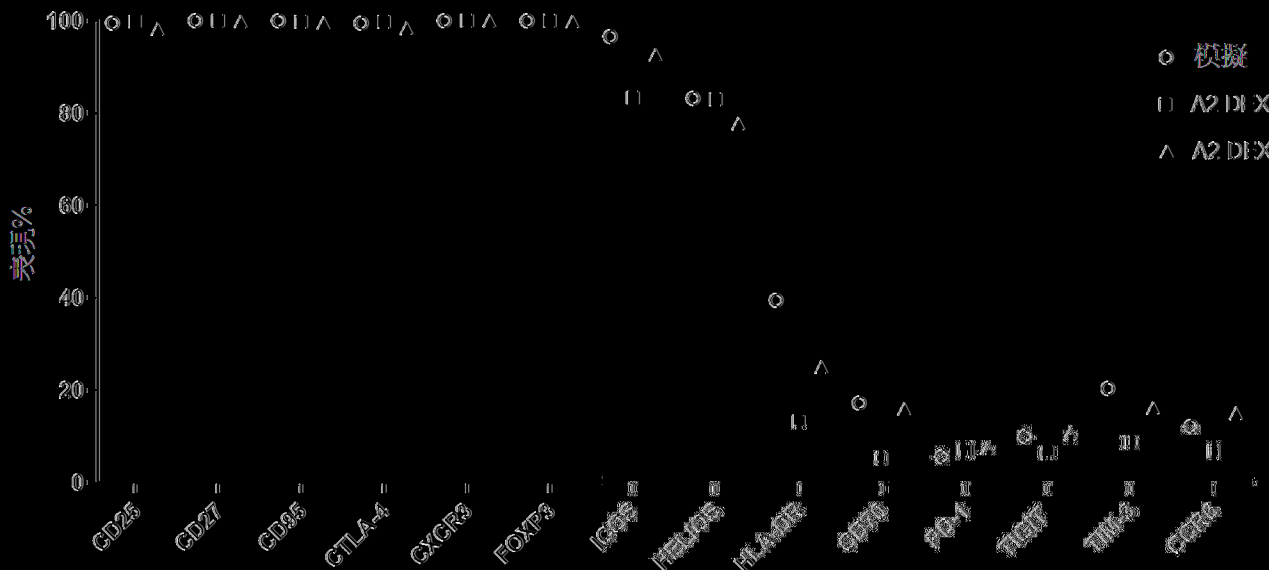

658
100
80
60
40
20
0
模擬
A2 DEX+
A2 DEX-
CD25
CD27
CD95
CTLA-4
CXCR3
FOXP3
ICOS
HELIOS
HLA-DR
CD70
PD-1
TIGIT
TIM3
CCR6

圖7

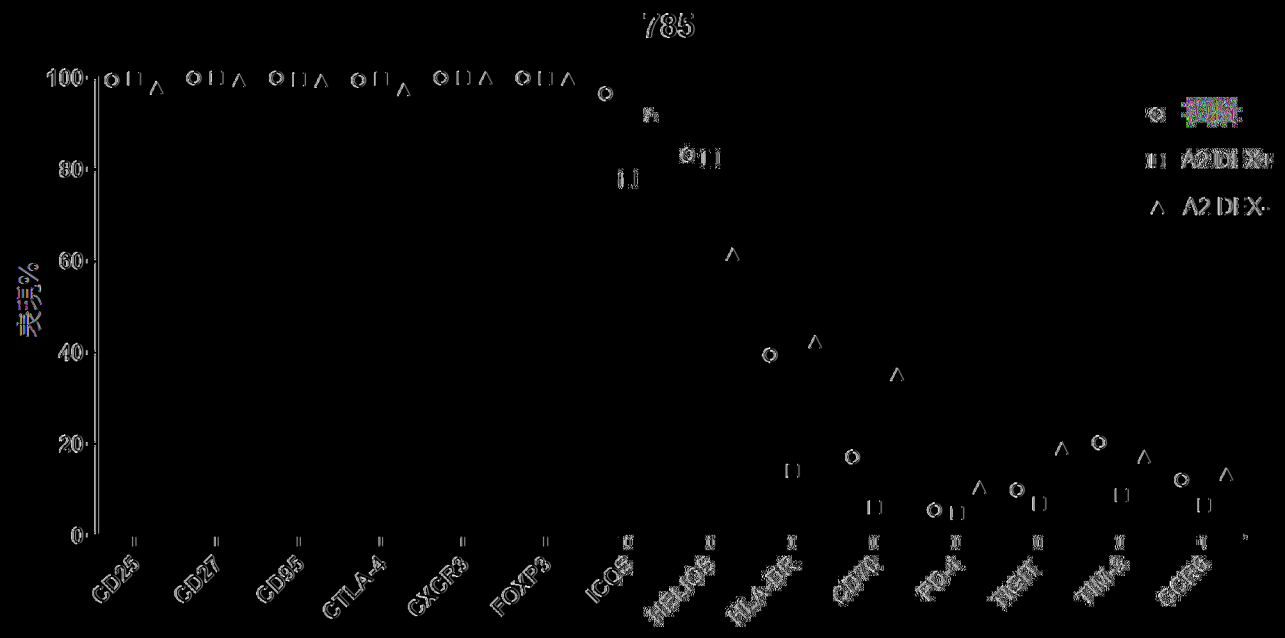
783

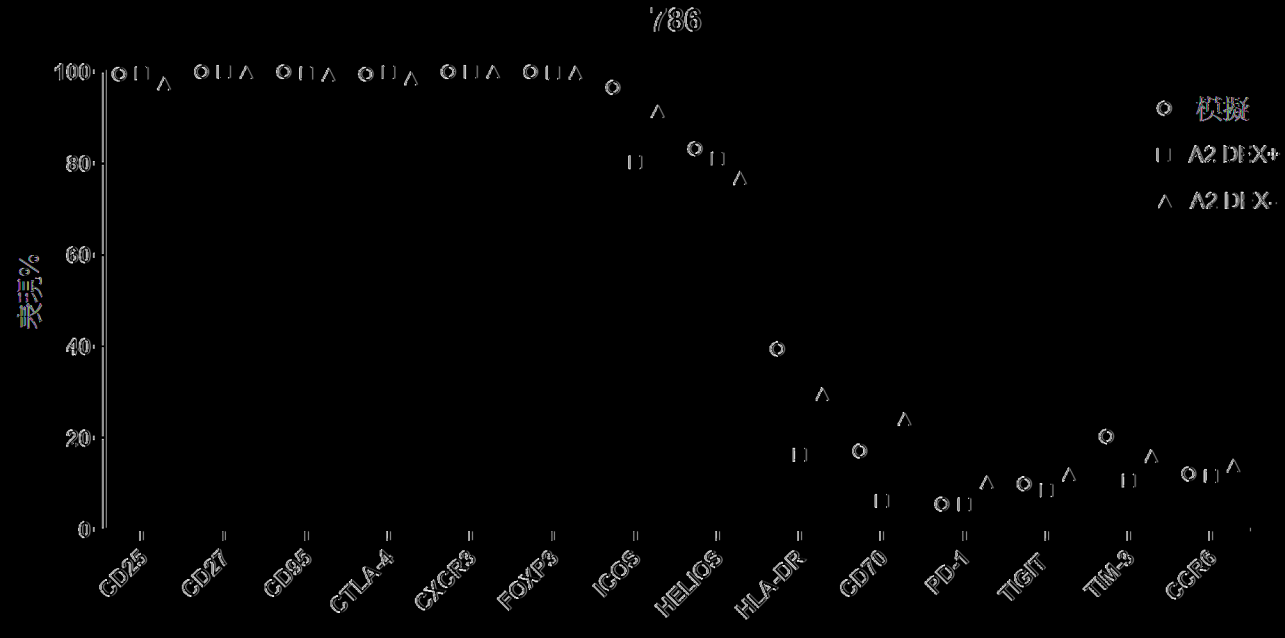

100
80
60
40
20
0
%
模擬
A2 DEX+
A2 DEX-
CD25
CD27
CD95
CTLA-4
CXCR3
FOXP3
ICOS
HELIOS
HLA-DR
CD70
PD-1
TIGIT
TIM-3
CCR6

784


100
80
60
40
20
0
%
模擬
A2 DEX+
A2 DEX-
CD25
CD27
CD95
CTLA-4
CXCR3
FOXP3
ICOS
HELIOS
HLA-DR
CD70
PD-1
TIGIT
TIM-3
CCR6

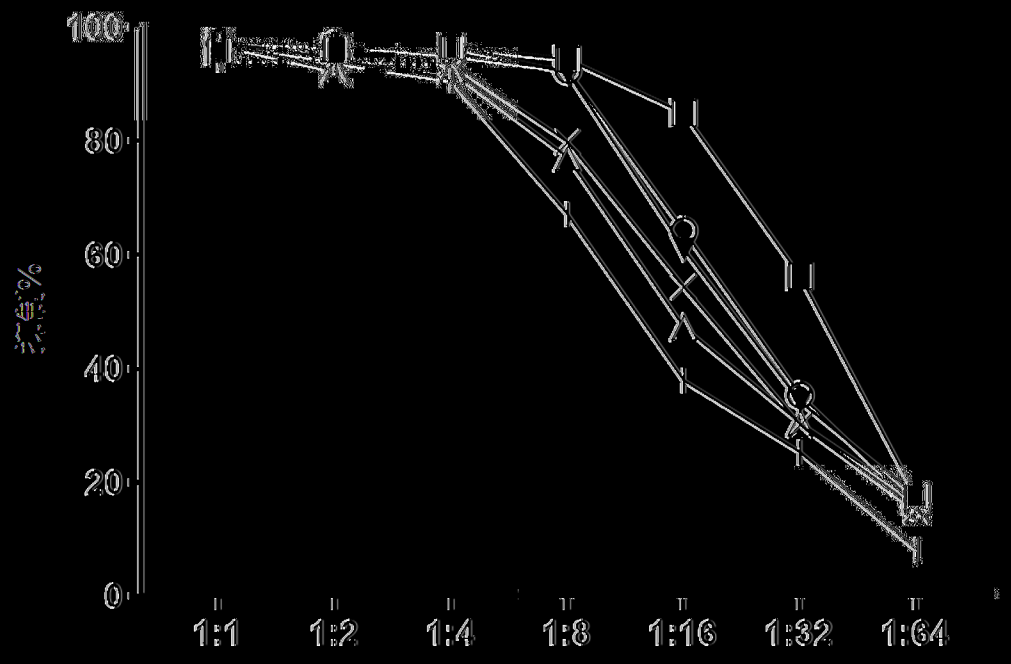
(圖7)(續)


100
80
60
40
20
0
CD25
CD27
CD95
CTLA-4
CXCR3
FOXP3
ICOS
HELIOS
HLA-DR
CD70
PD-1
TIGIT
TIM-3
CCR6
A2 DEX+
A2 DEX-


100
80
60
40
20
0
CD25
CD27
CD95
CTLA-4
CXCR3
FOXP3
IGOS
HELIOS
HLA-DR
CD70
PD-1
TIGIT
TIM-3
CCR6
模擬
A2 DEX+
A2 DEX-

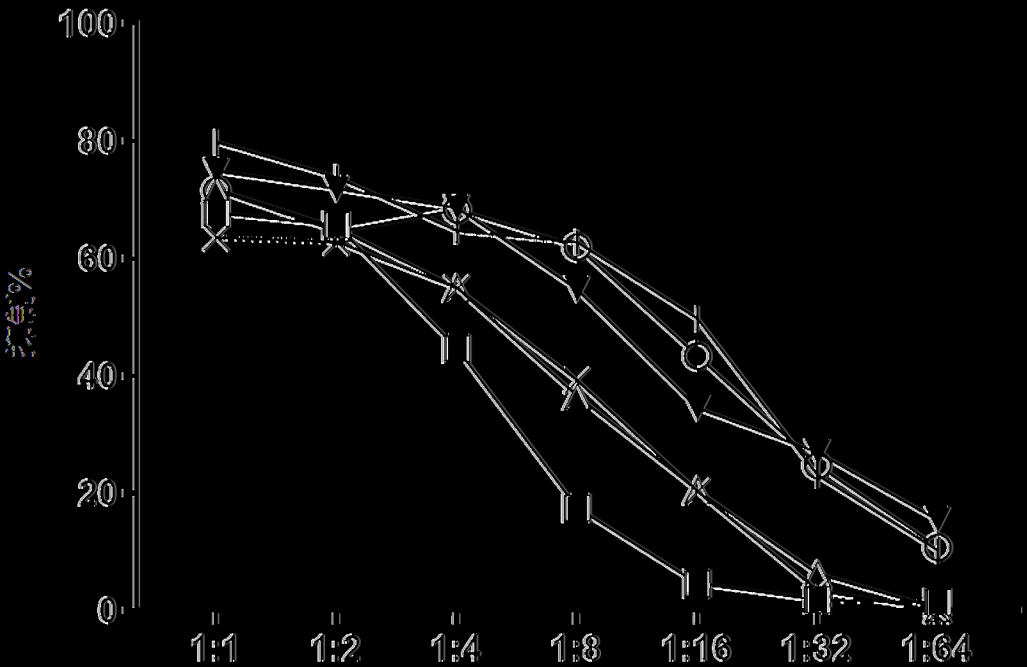
(續)

aCD3/28珠粒



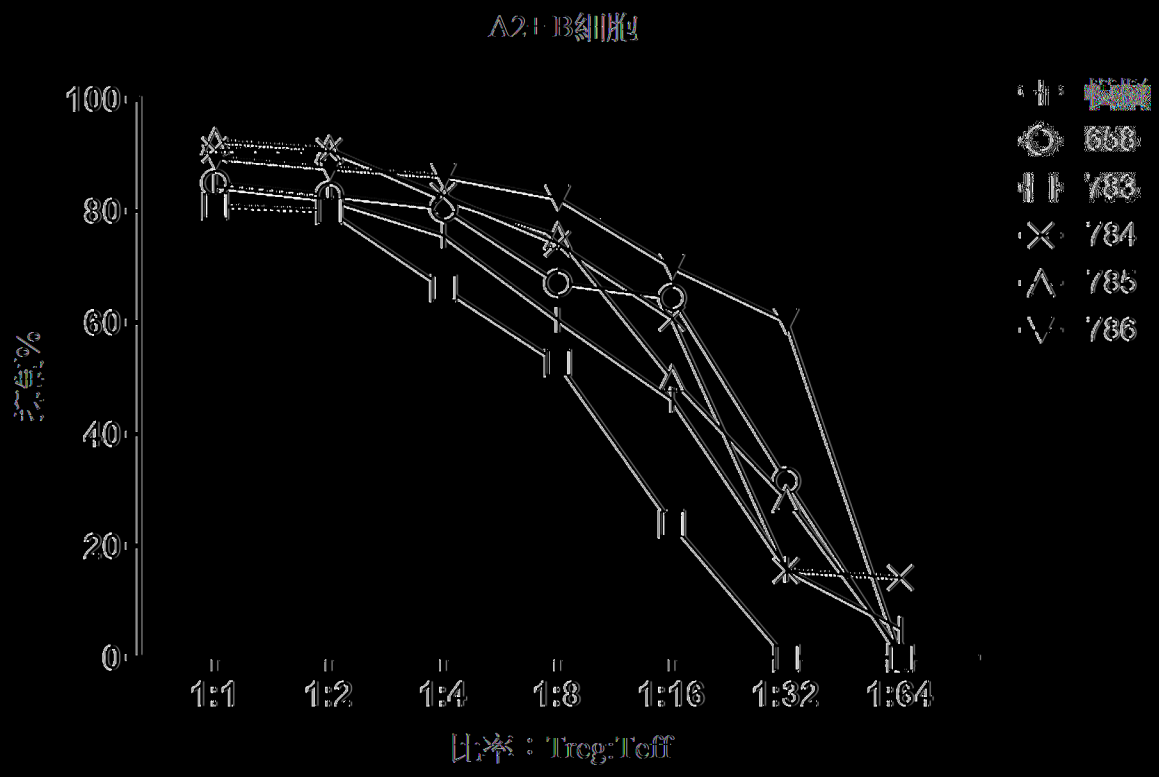
比率：Treg:Teff

A2- B細胞

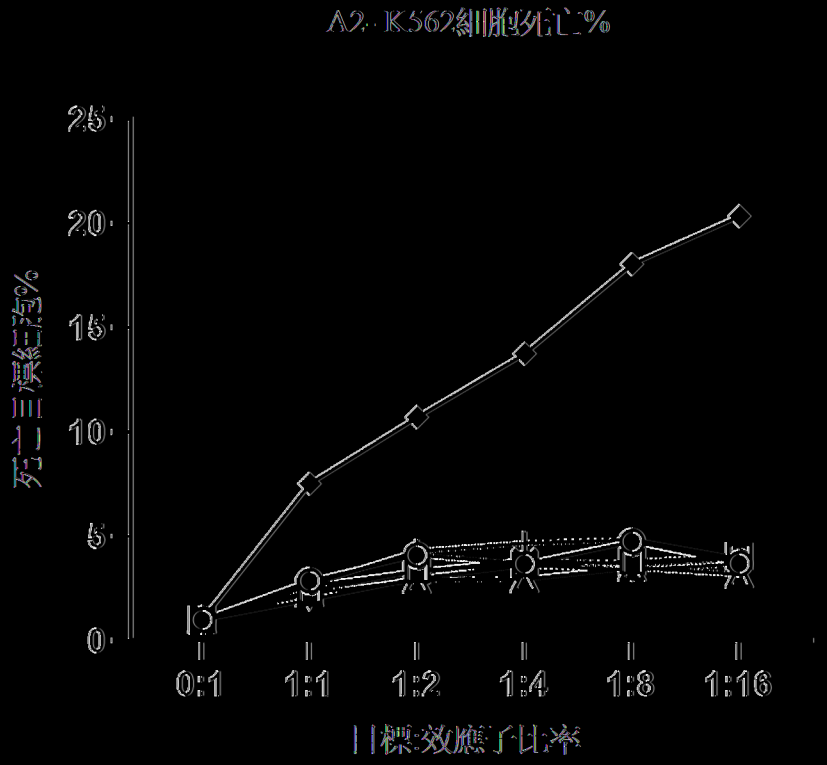


比率：Treg:Teff

|(圖8)|



|(圖8)| (續)


A2：K562細胞死亡%
25
20
15
10
5
0
0:1
1:1
1:2
1:4
1:8
1:16
標效應子比率

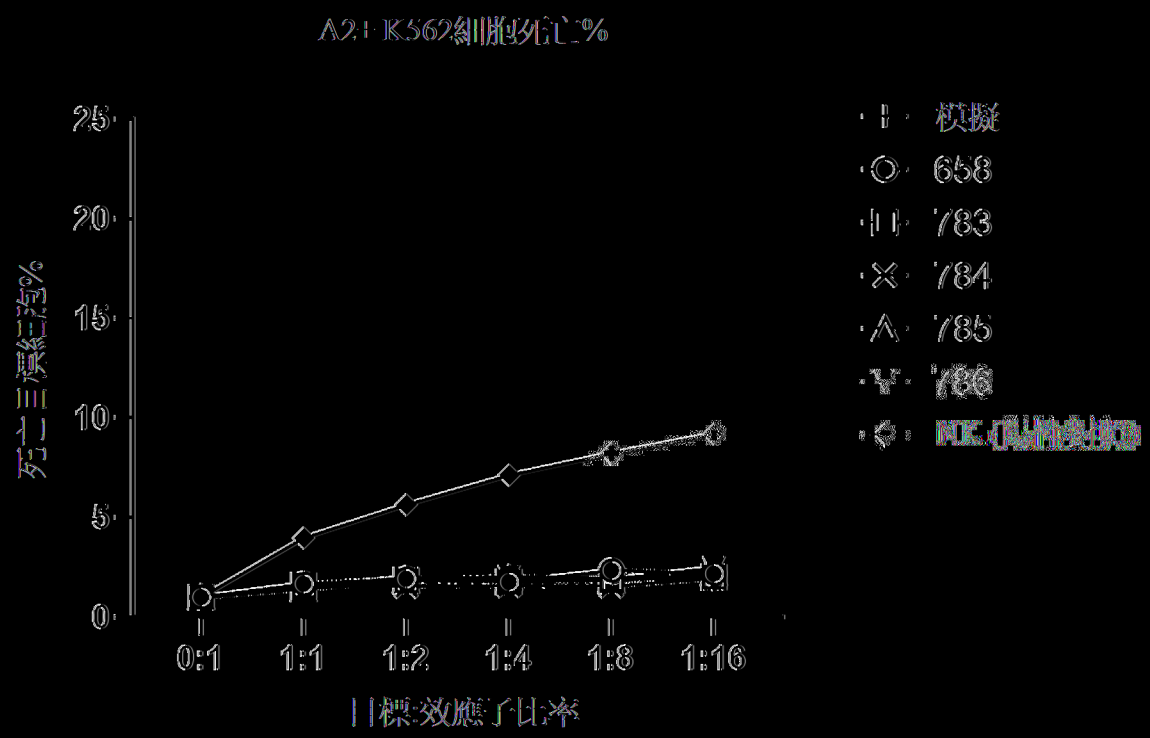
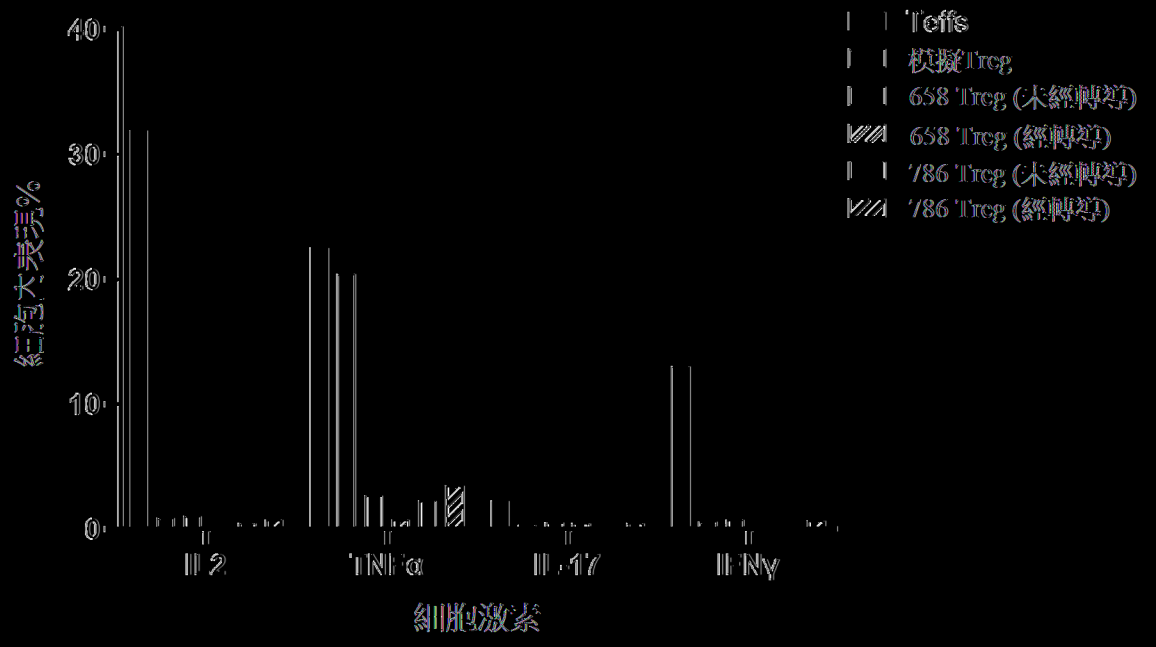

A2：K562細胞死亡%
25
20
15
10
5
0
0:1
1:1
1:2
1:4
1:8
1:16
標效應子比率
模擬
658
783
784
785
786
NK細胞對照組

圖9


Teffs
模擬Treg
658 Treg (未經轉導)
658 Treg (經轉導)
786 Treg (未經轉導)
786 Treg (經轉導)
40
30
20
10
0
細胞內表現%
IL-2
TNFα
IL-17
IFNγ
細胞激素

[圖10]