



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110191955 B

(45) 授权公告日 2024. 05. 31

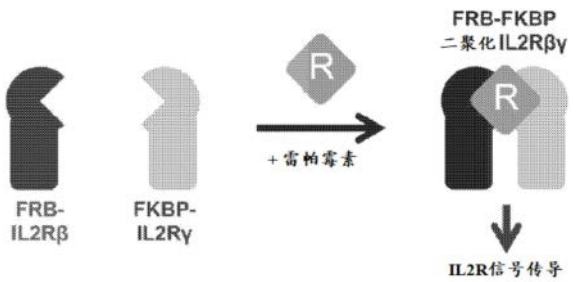
(21) 申请号 201780083150.5
(22) 申请日 2017.12.12
(65) 同一申请的已公布的文献号
 申请公布号 CN 110191955 A
(43) 申请公布日 2019.08.30
(30) 优先权数据
 62/433,540 2016.12.13 US
(85) PCT国际申请进入国家阶段日
 2019.07.11
(86) PCT国际申请的申请数据
 PCT/US2017/065746 2017.12.12
(87) PCT国际申请的公布数据
 W02018/111834 EN 2018.06.21
(73) 专利权人 西雅图儿童医院 (DBA西雅图儿童
 研究所)
 地址 美国华盛顿州
(72) 发明人 安德鲁·M·沙尔博格
(74) 专利代理机构 北京信慧永光知识产权代理
 有限责任公司 11290
 专利代理师 洪俊梅 杨国强
(51) Int.Cl.
 C12N 15/62 (2006.01)
 C12N 9/12 (2006.01)
(56) 对比文件
 W0 2016098078 A2,2016.06.23

WO 9802558 A2,1998.01.22
US 2015266973 A1,2015.09.24
US 2003206891 A1,2003.11.06
US 2015038684 A1,2015.02.05
WO 9641865 A1,1996.12.27
WO 2016135470 A1,2016.09.01
US 6103521 A,2000.08.15
US 2018244797 A1,2018.08.30
CN 112752767 A,2021.05.04
US 2018037630 A1,2018.02.08
CN 107207621 A,2017.09.26
US 2018312570 A1,2018.11.01
WO 2020264039 A1,2020.12.30
胡维弘.免疫生物学.厦门大学出版社,
1989,(第第1版版),第214页第5段.
赵富玺等.医学免疫学.人民军医出版社,
2013,(第第1版版),第119页第2段.
Mitsuhiro Kanamori等.Induced
Regulatory T Cells: Their Development,
Stability, and Application.《Trends in
Immunology》.2016,第37卷(第11期),
Robert Roskoski Jr.等.Signaling by
Kit protein-tyrosine kinase—The stem
cell factor receptor.《Biochemical and
Biophysical Research Communications》
.2005,第337卷(第1期), (续)

审查员 李晓

权利要求书2页 说明书47页
序列表31页 附图27页

(54) 发明名称
在体外和体内对工程化的细胞中表达的化
学物质诱导的信号传导复合物进行外源性药物
激活的方法
(57) 摘要
本申请涉及包含融合蛋白和表达所述蛋白
质的细胞的组合物。本申请还涉及使用融合蛋
白、细胞和组合物调节细胞信号传导和选择性扩
增细胞的方法。



CN 110191955 B

[接上页]

(56) 对比文件

孙栋勋等. EGFR/PI3K/Akt细胞信号传导通路与肿瘤.《检验医学》.2014,第29卷(第7期),

潘阳等. G蛋白 β γ 异二聚体与跨膜信号转导的保真.《国外医学(分子生物学分册)》.2003,(第5期),

1. 一种系统,所述系统包含编码二聚化可激活的化学物质诱导的信号传导复合物 CISC的组分的一种或多种多核苷酸,所述一种或多种多核苷酸包含:

第一核酸序列,所述第一核酸序列编码第一CISC组分,所述第一CISC组分包含第一细胞外结合结构域、白细胞介素-2受体亚基 γ (IL2R γ)跨膜结构域和包含IL2R γ 细胞质结构域的第一信号传导结构域;以及

第二核酸序列,所述第二核酸序列编码第二CISC组分,所述第二CISC组分包含第二细胞外结合结构域、白细胞介素-2受体亚基 β (IL2R β)跨膜结构域和包含IL2R β 细胞质结构域的第二信号传导结构域;

其中所述第一CISC组分和所述第二CISC组分在配体存在的情况下二聚化,以产生具有信号传导能力的CISC,其中所述配体结合至所述第一细胞外结合结构域和结合至所述第二细胞外结合结构域。

2. 如权利要求1所述的系统,其中所述第一和第二CISC组分各自还包含铰链结构域。

3. 如权利要求1所述的系统,其中所述第一和第二细胞外结合结构域位于所述跨膜结构域的N末端。

4. 如权利要求1所述的系统,其中:

(a) 所述第一细胞外结合结构域包含FK506结合蛋白 (FKBP) 结构域,所述第二细胞外结合结构域包含FKBP雷帕霉素结合 (FRB) 结构域;或

(b) 所述第一细胞外结合结构域包含FRB结构域,所述第二细胞外结合结构域包含FKBP结构域。

5. 如权利要求1所述的系统,其中所述第一细胞外结合结构域包含FK506结合蛋白 (FKBP) 结构域,所述第二细胞外结合结构域包含FKBP雷帕霉素结合 (FRB) 结构域。

6. 如权利要求5所述的系统,其中所述配体是雷帕霉素或雷帕霉素类似物,所述雷帕霉素类似物选自于依维莫司、CCI-779、C20-甲代烯丙基雷帕霉素、C16- (S) -3-甲基吡啶雷帕霉素、C16-iRap、AP21967。

7. 如权利要求5所述的系统,其中所述配体是雷帕霉素。

8. 如权利要求1所述的系统,其中一个细胞外结合结构域包含异二聚化蛋白质结构域对的一个成员,并且另一个细胞外结合结构域包含异二聚化结构域对的另一个组分,并且所述结构域被配置为与所述配体结合。

9. 如权利要求1所述的系统,其中所述配体是抗体、蛋白质、小分子或药物。

10. 如权利要求9所述的系统,其中所述配体选自于:雷帕霉素;雷帕霉素类似物,所述雷帕霉素类似物选自于依维莫司、CCI-779、C20-甲代烯丙基雷帕霉素、C16- (S) -3-甲基吡啶雷帕霉素、C16-iRap、AP21967;霉酚酸钠、盐酸贝尼地平、AP1903和AP23573;以及免疫调节性酰亚胺药物 (IMiD),所述免疫调节性酰亚胺药物 (IMiD) 选自于沙利度胺、泊马度胺、来那度胺。

11. 如权利要求1所述的系统,其中所述第一核酸编码如SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 7和SEQ ID NO: 11中任一者所示的氨基酸序列。

12. 如权利要求1所述的系统,其中所述第二核酸编码如SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 6和SEQ ID NO: 8中任一者所示的氨基酸序列。

13. 如权利要求1所述的系统,其中所述一种或多种多核苷酸含有如SEQ ID NO: 18-

SEQ ID NO: 20中任一者所示的核苷酸序列。

14. 如权利要求1-13中任一项所述的系统,其还包含表达载体,其中所述表达载体包含所述第一核酸序列和/或所述第二核酸序列。

15. 如权利要求14所述的系统,其中所述表达载体是RNA载体或DNA载体。

16. 如权利要求14所述的系统,其中所述表达载体是慢病毒载体或腺相关病毒(AAV)载体。

17. 如权利要求14所述的系统,其还包含可操作地连接至所述第一核酸序列和/或所述第二核酸序列的启动子。

18. 如权利要求17所述的系统,其中所述启动子是组成型启动子。

19. 一种细胞,所述细胞包含如权利要求1-13中任一项所述的系统。

20. 如权利要求19所述的细胞,其中所述细胞是T细胞、T细胞前体、细胞毒性T细胞、辅助T细胞、调节性T(T_{reg})细胞或造血干细胞。

21. 如权利要求20所述的细胞,其中所述细胞是细胞毒性T细胞。

22. 如权利要求20所述的细胞,其中所述细胞是调节性T(T_{reg})细胞。

23. 如权利要求20所述的细胞,其中所述细胞是CD4⁺ T细胞。

24. 如权利要求20所述的细胞,其中所述细胞是CD8⁺ T细胞。

25. 一种将信号转导至细胞内部的离体方法,所述方法包括:

提供如权利要求19所述的细胞;以及

使所述细胞与所述配体接触。

26. 如权利要求25所述的方法,其中所述细胞是T细胞、T细胞前体、细胞毒性T细胞、辅助T细胞、调节性T(T_{reg})细胞或造血干细胞。

27. 如权利要求26所述的方法,其中所述细胞是细胞毒性T细胞。

28. 如权利要求26所述的方法,其中所述细胞是调节性T(T_{reg})细胞。

29. 如权利要求26所述的方法,其中所述细胞是CD4⁺ T细胞。

30. 如权利要求26所述的方法,其中所述细胞是CD8⁺ T细胞。

在体外和体内对工程化的细胞中表达的化学物质诱导的信号 传导复合物进行外源性药物激活的方法

[0001] 通过引用优先权申请并入

[0002] 本申请要求2016年12月13日提交的美国临时专利申请第62/433,540号的优先权的权益。上述申请的全部公开内容在此明确地通过引用整体并入。

[0003] 对序列表的引用

[0004] 将本申请与电子格式的序列表一起提交。将序列表作为2017年12月8日创建的标题为SCRI.130W0.TXT的文件提供,其大小为80kb。信息是序列表的电子格式,并由此明确地通过引用整体并入。

技术领域

[0005] 本公开涉及用于合成化学物质诱导的信号传导的组合物和方法。特别地,该组合物包括用于产生生理功能性合成化学物质诱导的信号传导复合物以及功能性化学物质诱导的信号传导复合物的一般架构。一些实施方案提供了化学物质诱导的信号转导复合物,其包括多组分蛋白质,其中通常作为单体存在的两种组分在配体存在下聚集在一起以产生活性信号传导复合物,其激活细胞的细胞质中的信号传导途径。还提供了使用此类组合物激活细胞中的细胞信号传导途径的方法。还提供了使用该组合物选择性扩增细胞群的方法。

背景技术

[0006] 嵌合抗原受体(CAR)是用于遗传工程化T细胞以用于过继细胞免疫疗法的工程化的受体(参见Pule等,Cytother.5:3,2003;Restifo等,Nat.Rev.Immunol.12:269,2012)。抗原结合刺激CAR的细胞内区段上的信号传导结构域,从而激活信号传导途径。基于CAR的过继细胞免疫疗法已用于治疗患有常规标准护理治疗难以治愈的肿瘤的癌症患者(参见Grupp等,N.Engl.J.Med.368:1509,2013;Kalos等,Sci.Transl.Med.3:95ra73,2011)。

[0007] 细胞在其表面上具有各种受体,以用于响应于涉及细胞间通信的细胞外信号。已经广泛研究了受体的信号转导,并且受体参与许多信号传导途径。仍然需要新的组合物和方法,所述组合物和方法允许人们通过不能通过正常生理途径激活的合成复合物转导所需信号,从而提供仅在期望的和特异性工程化的细胞群内激活信号传导的机制。

发明内容

[0008] 已开发出二聚化激活的受体起始复合物(DARIC),其提供结合组分和信号传导组分,所述结合组分和信号传导组分各自表达为单独的融合蛋白,但含有细胞外多聚化机制(桥接因子),以用于重新耦合细胞表面上的两个功能组分(参见美国专利申请第2016/0311901号,在此明确地通过引用整体并入)。重要的是,DARIC系统中的桥接因子形成异二聚体受体复合物,其本身不产生显著的信号传导。所描述的DARIC复合物仅在与其它DARIC复合物进一步共定位后才启动生理学相关信号。因此,它们不允许在没有DARic复合物的进

一步多聚化的机制(诸如,通过例如与表达被整合至DARIC组分之一的结合结构域结合的配体的肿瘤细胞接触)的情况下选择性扩增所需的细胞类型。

[0009] 因此,本文描述的若干方面涉及包括化学物质诱导的信号传导复合物(CISC)的组合物和方法。在一些方面,组合物和方法可用于选择性扩增所需的细胞群。

[0010] 本文所述的一些实施方案涉及编码化学物质诱导的信号传导复合物(CISC)的蛋白质序列。在一些实施方案中,蛋白质序列包含第一序列,其中所述第一序列编码第一CISC组分。在一些实施方案中,第一CISC组分包含第一细胞外结合结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,蛋白质序列包含第二序列。在一些实施方案中,第二序列编码第二CISC组分。在一些实施方案中,第二CISC组分包含第二细胞外结合结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,第一CISC组分和第二CISC组分被定位成使得当表达时,它们在配体存在的情况下二聚化。在一些实施方案中,第一和第二CISC组分二聚化以形成异二聚体或同二聚体。在一些实施方案中,二聚CISC是合成CISC。在一些实施方案中,第一和第二细胞外结构域位于跨膜结构域的N末端。在一些实施方案中,第一细胞外结合结构域或其部分包含FK506结合蛋白(FKBP)结构域。在一些实施方案中,第二细胞外结合结构域或其部分包含FKBP雷帕霉素结合(FRB)结构域或其部分。

[0011] 在一些实施方案中,第一和第二CISC组分的跨膜结构域包含天然跨膜结构域。在一些实施方案中,第一和第二CISC组分的跨膜结构域包含IL-2受体跨膜结构域。在一些实施方案中,第一和第二CISC组分的信号传导结构域或其部分包含一个或多个串联细胞质信号传导结构域。在一些实施方案中,第一和第二CISC组分的信号传导结构域或其部分包含细胞因子信号传导结构域或抗原受体信号传导结构域。在一些实施方案中,第一CISC组分的信号传导结构域包含白细胞介素-2受体亚基 γ (IL2R γ)结构域。在一些实施方案中,第二CISC组分的信号传导结构域包含白细胞介素-2受体亚基 β (IL2R β)结构域。

[0012] 在一些实施方案中,细胞外结合结构域之一包含FKBP结构域,而另一个细胞外结合结构域包含FRB结构域。在一些实施方案中,细胞外结合结构域被配置为同时与配体结合。

[0013] 在一些实施方案中,一个细胞外结合结构域包含cereblon沙利度胺结合结构域,而另一个细胞外结合结构域包含当其IMID类药物(例如沙利度胺、泊马度胺、来那度胺或相关类似物)结合时与cereblon沙利度胺结合结构域相互作用的IMID配体。在一些实施方案中,细胞外结合结构域被配置为同时结合IMID配体。

[0014] 在一些实施方案中,细胞外结合结构域之一包含异二聚化蛋白结构域对的一个成员,而另一个细胞外结合结构域包含异二聚化结构域对的另一个组分,并且结构域被配置为例如通过同时结合来结合配体。

[0015] 在一些实施方案中,配体是抗体或其部分,诸如结合片段、蛋白质、小分子或药物。在一些实施方案中,配体是雷帕霉素或雷帕霉素类似物,诸如依维莫司、CCI-779、C20-甲代烯丙基雷帕霉素、C16-(S)-3-甲基吡啶雷帕霉素、C16-iRap、AP21967、霉酚酸钠、盐酸贝尼地平、AP23573、AP1903或其代谢物、衍生物和/或组合。在一些实施方案中,配体是IMID类药物(例如沙利度胺、泊马度胺、来那度胺或相关类似物)。在一些实施方案中,配体以0.05nM至100nM诸如,例如0.05nM、0.1nM、0.5.nM、1.0nM、5.0nM、10.0nM、15.0nM、20.0nM、25.0nM、

30.0nM、35.0nM、40.0nM、45.0nM、50.0nM、55.0nM、60.0nM、65.0nM、70.0nM、75.0nM、80.0nM、90.0nM、95.0nM或100nM的量或在由任意两个上述量限定的范围内的量存在或提供。

[0016] 在一些实施方案中,第一序列包含SEQ ID NO:1中所示的氨基酸序列。在一些实施方案中,第一序列包含SEQ ID NO:3、5或7中所示的氨基酸序列。在一些实施方案中,第二序列包含SEQ ID NO:2中所示的氨基酸序列。在一些实施方案中,第二序列包含SEQ ID NO:4、6、8或9中所示的氨基酸序列。一些实施方案涉及编码SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8和9的氨基酸序列的核酸。

[0017] 本文提供的一些实施方案涉及表达载体。在一些实施方案中,表达载体包含编码蛋白质序列的核酸,所述蛋白质序列编码二聚化学物质诱导的信号传导复合物(CISC)。在一些实施方案中,表达载体包含编码含有第一蛋白质序列的蛋白质序列的核酸,其中所述第一蛋白质序列编码第一CISC组分。在一些实施方案中,编码第一序列的核酸包含编码第一细胞外结合结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分的序列。在一些实施方案中,表达载体包含编码含有第二蛋白质序列的蛋白质序列的核酸,其中所述第二蛋白质序列编码第二CISC组分。在一些实施方案中,编码第二序列的核酸包含编码第二细胞外结合结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分的序列。在一些实施方案中,表达载体包含编码第一蛋白质序列或第二蛋白质序列的核酸。在一些实施方案中,表达载体包含编码第一序列或第二蛋白质序列的核酸。在一些实施方案中,载体是RNA或DNA。在一些实施方案中,载体是慢病毒载体或腺相关病毒(AAV)载体。在一些实施方案中,表达载体是SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:8中所示的核酸序列。

[0018] 在一些实施方案中,表达载体包含还包含启动子的核酸序列。在一些实施方案中,启动子是诱导型启动子或组成型启动子。

[0019] 本文提供的一些实施方案涉及用于化学物质诱导的信号复合物表达的细胞,诸如哺乳动物细胞。在一些实施方案中,细胞,诸如哺乳动物细胞,包含如本文所述的蛋白质序列或本文所述的表达载体。因此,在一些实施方案中,细胞,诸如哺乳动物细胞,包含编码化学物质诱导的信号传导复合物(CISC)的组分的蛋白质序列。在一些实施方案中,蛋白质序列包含第一序列,其中所述第一序列编码CISC的第一组分。在一些实施方案中,CISC的第一组分包含第一细胞外结合结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,蛋白质序列包含第二序列。在一些实施方案中,第二序列编码CISC的第二组分。在一些实施方案中,第二CISC组分包含第二细胞外结合结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,细胞,诸如哺乳动物细胞,包含含有编码蛋白质序列的核酸的表达载体,所述蛋白质序列编码CISC的组分。在一些实施方案中,表达载体包含编码含有第一蛋白质序列的蛋白质序列的核酸,其中所述第一蛋白质序列编码CISC的第一组分。在一些实施方案中,编码第一序列的核酸包含编码第一细胞外结合结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分的序列。在一些实施方案中,表达载体包含编码含有第二蛋白质序列的蛋白质序列的核酸,其中所述第二蛋白质序列编码CISC的第二组分。在一些实施方案中,编码第二序列的核酸包含编码第二细胞外结合结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分的序列。在一些实施方案中,表达载体包含编码第一蛋白质序列或第二蛋白质

序列的核酸。在一些实施方案中,表达载体包含编码第一序列或第二蛋白质序列的核酸。在一些实施方案中,载体是RNA或DNA。在一些实施方案中,载体是慢病毒载体或腺相关病毒(AAV)载体。

[0020] 在一些实施方案中,细胞,诸如哺乳动物细胞,是前体T细胞或T调节性细胞。在一些实施方案中,细胞,诸如哺乳动物细胞,是造血干细胞。在一些实施方案中,细胞是CD34+、CD8+或CD4+细胞。在一些实施方案中,细胞是选自由以下组成的组的CD8+T细胞毒性淋巴细胞:原初CD8+T细胞、中枢记忆性CD8+T细胞、效应记忆性CD8+T细胞和本体CD8+T细胞(bulk CD8+T cell)或其任意组合。在一些实施方案中,细胞是选自由以下组成的组的CD4+T辅助淋巴细胞:原初CD4+T细胞、中枢记忆性CD4+T细胞、效应记忆性CD4+T细胞和本体CD4+T细胞(bulk CD4+T cell)或其任意组合。

[0021] 本文提供的一些实施方案涉及激活信号进入细胞(诸如哺乳动物细胞)内部的方法。在一些实施方案中,该方法包括提供如本文所述的细胞(诸如哺乳动物细胞),表达编码如本文所述的合成CISC的组分的蛋白质序列,或在细胞中表达如本文所述的表达载体,以及使所述细胞与配体接触,从而引起第一和第二CISC组分二聚化,所述二聚化CISC组分将信号传导至细胞内部。

[0022] 因此,在一些实施方案中,将信号激活到细胞(诸如哺乳动物细胞)内部的方法包括提供包含编码CISC的组分的一种或多种蛋白质序列的细胞,诸如哺乳动物细胞。在一些实施方案中,蛋白质序列包含第一序列,其中所述第一序列编码CISC的第一组分。在一些实施方案中,CISC的第一组分包含第一细胞外结合结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,蛋白质序列包含第二序列。在一些实施方案中,第二序列编码CISC的第二组分。在一些实施方案中,CISC的第二组分包含第二细胞外结合结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,将信号激活到细胞(诸如哺乳动物细胞)内部的方法包括提供包含含有编码蛋白质序列的核酸的表达载体的细胞,诸如哺乳动物细胞,所述蛋白质序列编码二聚CISC。在一些实施方案中,表达载体包含编码含有第一蛋白质序列的蛋白质序列的核酸,其中所述第一蛋白质序列编码CISC的第一组分。在一些实施方案中,编码第一序列的核酸包含编码第一细胞外结合结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分的序列。在一些实施方案中,表达载体包含编码含有第二蛋白质序列的蛋白质序列的核酸,其中所述第二蛋白质序列编码CISC的第二组分。在一些实施方案中,编码第二序列的核酸包含编码第二细胞外结合结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分的序列。在一些实施方案中,表达载体包含编码第一蛋白质序列或第二蛋白质序列的核酸。在一些实施方案中,表达载体包含编码第一序列或第二蛋白质序列的核酸。在一些实施方案中,载体是RNA或DNA。在一些实施方案中,载体是慢病毒载体或腺相关病毒(AAV)载体。在一些实施方案中,无论细胞(诸如哺乳动物细胞)是否包含蛋白质序列或表达载体,该方法还包括表达编码异二聚CISC的蛋白质序列,或表达表达载体,以及使所述细胞与配体接触,从而引起CISC的第一和第二组分二聚化,所述二聚化CISC组分将信号转导到细胞内部。

[0023] 在一些实施方案中,配体是抗体或其结合部分、蛋白质、小分子或药物。在一些实施方案中,配体是雷帕霉素或雷帕霉素类似物,诸如依维莫司、CCI-779、C20-甲代烯丙基雷帕霉素、C16-(S)-3-甲基吡啶雷帕霉素、C16-iRap、AP21967、霉酚酸钠、盐酸贝尼地平、

AP23573或AP1903或其代谢物、衍生物和/或组合。在一些实施方案中,配体是免疫调节性酰亚胺药物(IMID)类药物(例如沙利度胺、泊马度胺、来那度胺或相关类似物)。在一些实施方案中,配体以0.05nM至100nM诸如,例如0.05nM、0.1nM、0.5.nM、1.0nM、5.0nM、10.0nM、15.0nM、20.0nM、25.0nM、30.0nM、35.0nM、40.0nM、45.0nM、50.0nM、55.0nM、60.0nM、65.0nM、70.0nM、75.0nM、80.0nM、90.0nM、95.0nM或100nM的量或在由任意两个上述量限定的范围内的量存在或提供。在一些实施方案中,信号的转导影响细胞因子信号传导。在一些实施方案中,信号的转导导致表型模拟白细胞介素-2受体(IL2R)信号传导的信号。在一些实施方案中,信号的转导影响细胞因子受体的下游靶标的磷酸化。在一些实施方案中,在与配体接触后,从异质细胞群中选择性扩增表达化学物质诱导的信号传导复合物的细胞(诸如哺乳动物细胞)。在一些实施方案中,配体包含雷帕霉素,并且通过在表达化学物质诱导的信号传导复合物的细胞中选择性诱导增殖来在体外或体内选择性扩增表达化学物质诱导的信号传导复合物的细胞,诸如哺乳动物细胞,而雷帕霉素优选地同时在表达非化学物质诱导的信号传导复合物的细胞诸如哺乳动物细胞中引起抗增殖作用。在一些实施方案中,选择性扩增的细胞,诸如哺乳动物细胞,已经历了两种不同的基因靶向事件。在一些实施方案中,每个基因靶向事件赋予细胞(诸如哺乳动物细胞)化学物质诱导的信号传导复合物对的一个组分,使得只有经历过两个基因靶向事件的细胞能够在与配体接触后扩增。

[0024] 本文提供的一些实施方案涉及蛋白质序列,所述蛋白质序列编码用于同二聚化的化学物质诱导的信号传导复合物组分的组分。在一些实施方案中,蛋白质序列包含第一序列。在一些实施方案中,第一序列编码第一化学物质诱导的信号传导复合物组分,其包含同二聚化结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和白细胞介素-2受体亚基 γ (IL2R γ)信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,蛋白质序列包含第二序列。在一些实施方案中,第二序列编码第二化学物质诱导的信号传导复合物组分,其包含同二聚化结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和白细胞介素-2受体亚基 β (IL2R β)信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,第一化学物质诱导的信号传导复合物组分和第二化学物质诱导的信号传导复合物组分被定位成使得当表达时,它们在配体存在的情况下形成25%的第一化学物质诱导的信号传导复合物同二聚体、25%的第二化学物质诱导的信号传导复合物同二聚体和50%的第一/第二化学物质诱导的信号传导复合物异二聚体的群体,所述配体被配置为桥接同二聚化结构域。

[0025] 在一些实施方案中,第一序列包含SEQ ID NO:11中所示的氨基酸序列。在一些实施方案中,第二序列包含SEQ ID NO:10或12中所示的氨基酸序列。一些实施方案涉及编码SEQ ID NO:10、11和12的氨基酸序列的核酸。

[0026] 在一些实施方案中,第一和第二化学物质诱导的信号传导复合物组分的信号传导结构域或其部分包含一个或多个串联细胞质信号传导结构域。在一些实施方案中,同二聚化结构域包含FKBP结构域或其突变体或其部分,其被配置为优选地同时与配体(诸如AP1903或相关雷帕霉素类似物、霉酚酸钠、盐酸贝尼地平或AP23573或其代谢物、衍生物和/或组合)结合。在一些实施方案中,配体是IMID类药物(例如沙利度胺、泊马度胺、来那度胺或相关类似物)。

[0027] 本文提供的一些实施方案涉及用于同二聚CISC组分表达的表达载体,其包含编码如本文提供的蛋白质序列的第一和/或第二序列的核酸。因此,在一些实施方案中,表达载

体包含编码蛋白质序列的核酸,所述蛋白质序列编码如SEQ ID NO:10、11和12中所示的化学物质诱导的信号传导复合物。在一些实施方案中,表达载体编码第一序列。在一些实施方案中,第一序列编码第一化学物质诱导的信号传导复合物组分,其包含同二聚化结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和白细胞介素-2受体亚基 γ (IL2Rg) 信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,表达载体编码第二序列。在一些实施方案中,第二序列编码第二化学物质诱导的信号传导复合物组分,其包含同二聚化结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和白细胞介素-2受体亚基 β (IL2Rb) 信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,载体是RNA或DNA。在一些实施方案中,载体是慢病毒载体或腺相关病毒(AAV) 载体。在一些实施方案中,表达载体还包含启动子。在一些实施方案中,启动子是诱导型启动子或组成型启动子。

[0028] 本文提供的一些实施方案涉及用于同二聚化学物质诱导的信号传导复合物表达的细胞,诸如哺乳动物细胞,。在一些实施方案中,细胞,诸如哺乳动物细胞,包含如本文所述的用于同二聚化组分表达的蛋白质序列或如本文所述的用于同二聚化组分表达的表达载体。因此,在一些实施方案中,提供了细胞,诸如哺乳动物细胞,其包含编码用于同二聚化的化学物质诱导的信号传导复合物组分的蛋白质序列。在一些实施方案中,蛋白质序列包含第一序列。在一些实施方案中,第一序列编码第一化学物质诱导的信号传导复合物,其包含同二聚化结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和白细胞介素-2受体亚基 γ (IL2Rg) 信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,蛋白质序列包含第二序列。在一些实施方案中,第二序列编码第二化学物质诱导的信号传导复合物组分,其包含同二聚化结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和白细胞介素-2受体亚基 β (IL2Rb) 信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,第一化学物质诱导的信号传导复合物组分和第二化学物质诱导的信号传导复合物组分被定位成使得当表达时,它们在配体存在的情况下形成约25%的第一化学物质诱导的信号传导复合物同二聚体、25%的第二化学物质诱导的信号传导复合物同二聚体和50%的第一/第二化学物质诱导的信号传导复合物异二聚体的群体,所述配体被配置为桥接同二聚化结构域。在一些实施方案中,提供了细胞,诸如哺乳动物细胞,其包含用于同二聚化学物质诱导的信号传导复合物表达的表达载体,所述表达载体包含编码如本文提供的蛋白质序列的第一和/或第二序列的核酸。因此,在一些实施方案中,表达载体包含编码蛋白质序列的核酸,所述蛋白质序列编码化学物质诱导的信号传导复合物。在一些实施方案中,表达载体编码第一序列。在一些实施方案中,第一序列编码第一化学物质诱导的信号传导复合物组分,其包含同二聚化结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和白细胞介素-2受体亚基 γ (IL2Rg) 信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,表达载体编码第二序列。在一些实施方案中,第二序列编码第二化学物质诱导的信号传导复合物组分,其包含同二聚化结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和白细胞介素-2受体亚基 β (IL2Rb) 信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,载体是RNA或DNA。在一些实施方案中,载体是慢病毒载体或腺相关病毒(AAV) 载体。

[0029] 在一些实施方案中,同二聚化学物质诱导的信号传导复合物的蛋白质序列包含SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:14中所示的氨基酸序列。一些实施方案涉及编码SEQ ID NO:13和SEQ ID NO:14的氨基酸序列的核酸。

[0030] 在一些实施方案中,化学物质诱导的信号传导复合物细胞,诸如哺乳动物细胞,是

前体T细胞或T调节性细胞。在一些实施方案中,细胞,诸如哺乳动物细胞,是造血干细胞。在一些实施方案中,细胞是CD34⁺、CD8⁺或CD4⁺细胞。在一些实施方案中,细胞是选自由以下组成的组的CD8⁺T细胞毒性淋巴细胞:原初CD8⁺T细胞、中枢记忆性CD8⁺T细胞、效应记忆性CD8⁺T细胞和本体CD8⁺T细胞。在一些实施方案中,细胞是选自由以下组成的组的CD4⁺T辅助淋巴细胞:原初CD4⁺T细胞、中枢记忆性CD4⁺T细胞、效应记忆性CD4⁺T细胞和本体CD4⁺T细胞。

[0031] 本文提供的一些实施方案涉及用同二聚化化学物质诱导的信号传导复合物将信号激活到细胞(诸如哺乳动物细胞)内部的方法。在一些实施方案中,该方法包括提供如本文提供的细胞,诸如哺乳动物细胞,表达编码如本文提供的同二聚化学物质诱导的信号传导复合物的蛋白质序列,或表达用于如本文提供的同二聚化学物质诱导的信号传导复合物的表达载体,以及使所述细胞与二聚化试剂接触,从而引起第一和第二化学物质诱导的信号传导复合物二聚化,所述二聚化复合物将信号转导至细胞内部。因此,在一些实施方案中,该方法包括提供细胞,诸如哺乳动物细胞,其包含如本文所述的用于同二聚CISC组分表达的蛋白质序列或如本文所述的用于同二聚CISC组分表达的表达载体。因此,在一些实施方案中,提供了细胞,诸如哺乳动物细胞,其中所述细胞包含编码用于同二聚化的化学物质诱导的信号传导复合物的蛋白质序列。在一些实施方案中,蛋白质序列包含第一序列。在一些实施方案中,第一序列编码第一化学物质诱导的信号传导复合物组分,其包含同二聚化结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和白细胞介素-2受体亚基 γ (IL2R γ) 信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,蛋白质序列包含第二序列。在一些实施方案中,第二序列编码第二化学物质诱导的信号传导复合物组分,其包含同二聚化结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和白细胞介素-2受体亚基 β (IL2R β) 信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,第一化学物质诱导的信号传导复合物组分和第二化学物质诱导的信号传导复合物组分被定位成使得当表达时,它们在配体存在的情况下形成约25%的第一化学物质诱导的信号传导复合物同二聚体、25%的第二化学物质诱导的信号传导复合物同二聚体和50%的第一/第二化学物质诱导的信号传导复合物异二聚体的群体,所述配体被配置为桥接同二聚化结构域。在一些实施方案中,提供了细胞,诸如哺乳动物细胞,其中所述细胞包含用于同二聚CISC组分表达的表达载体,所述表达载体包含编码如本文提供的蛋白质序列的第一和/或第二序列的核酸。因此,在一些实施方案中,表达载体包含编码蛋白质序列的核酸,所述蛋白质序列编码化学物质诱导的信号传导复合物或其组分。在一些实施方案中,表达载体编码第一序列。在一些实施方案中,第一序列编码第一化学物质诱导的信号传导复合物组分,其包含同二聚化结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和白细胞介素-2受体亚基 γ (IL2R γ) 信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,表达载体编码第二序列。在一些实施方案中,第二序列编码第二化学物质诱导的信号传导复合物组分,其包含同二聚化结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和白细胞介素-2受体亚基 β (IL2R β) 信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,载体是RNA或DNA。在一些实施方案中,载体是慢病毒载体或腺相关病毒(AAV)载体。在一些实施方案中,在提供所述细胞诸如哺乳动物细胞后,该方法还包括表达编码如本文提供的同二聚化学物质诱导的信号传导复合物组分的蛋白质序列,或表达用于如本文提供的同二聚化学物质诱导的信号传导复合物的表达载体,以及使所述细胞与二聚化试剂接触,从引起使第一和第二化学物质诱导的信号传导复合物组分二聚化,所述二聚化复合物组分将信号转导至细胞内部。

[0032] 在一些实施方案中,所使用的二聚化试剂是配体,诸如雷帕霉素或雷帕霉素类似物,诸如依维莫司、CCI-779、C20-甲代烯丙基雷帕霉素、C16-(S)-3-甲基咪唑雷帕霉素、C16-iRap、AP21967、霉酚酸钠、盐酸贝尼地平、或AP23573、AP1903或其代谢物、衍生物和/或组合。在一些实施方案中,配体是IMID类药物(例如沙利度胺、泊马度胺、来那度胺或相关类似物)。在一些实施方案中,信号的转导影响细胞因子信号传导。在一些实施方案中,信号的转导表型模拟白细胞介素-2受体(IL2R)信号传导。在一些实施方案中,在与二聚化试剂接触后,从异质细胞群中选择性扩增表达化学物质诱导的信号传导复合物的细胞(诸如哺乳动物细胞)。在一些实施方案中,雷帕霉素是二聚化试剂,并且用于通过在表达化学物质诱导的信号传导复合物的细胞中选择性诱导增殖,同时在表达非化学物质诱导的信号传导复合物的细胞中引起抗增殖作用来体外或体内选择性扩增细胞(诸如哺乳动物细胞)群。

[0033] 本文提供的一些实施方案涉及编码化学物质诱导的信号传导复合物组分的蛋白质序列。在一些实施方案中,蛋白质序列包含编码化学物质诱导的信号传导复合物组分的序列,所述复合物组分包含同二聚化结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,化学物质诱导的信号传导复合物组分被定位成使得当表达时,其在配体的存在的情况下形成同二聚CISC,所述配体被配置为桥接同二聚化结构域。在一些实施方案中,信号传导结构域或其部分包含一个或多个串联细胞质信号传导结构域。在一些实施方案中,同二聚化结构域包含被配置成优选地同时与配体诸如雷帕霉素结合的FKBP结构域或FRB或其部分。

[0034] 本文提供的一些实施方案涉及表达载体,其包含编码如本文提供的蛋白质序列的核酸。因此,在一些实施方案中,表达载体包含编码蛋白质序列的核酸,所述蛋白质序列编码化学物质诱导的信号传导复合物。在一些实施方案中,蛋白质序列包含编码化学物质诱导的信号传导复合物组分的序列,所述复合物组分包含同二聚化结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,化学物质诱导的信号传导复合物组分被定位成使得当表达时,其在配体存在的情况下形成同二聚体群体,所述配体被配置为桥接同二聚化结构域。在一些实施方案中,信号传导结构域或其部分包含一个或多个串联细胞质信号传导结构域。在一些实施方案中,同二聚化结构域包含被配置成优选地同时与配体诸如AP1903结合的FKBP结构域或FRB或其部分。在一些实施方案中,表达载体还包含启动子。在一些实施方案中,启动子是诱导型启动子或组成型启动子。在一些实施方案中,载体是RNA或DNA。在一些实施方案中,载体是慢病毒载体或腺相关病毒(AAV)载体。

[0035] 本文提供的一些实施方案涉及用于同二聚化学物质诱导的信号传导复合物表达的细胞,诸如哺乳动物细胞。在一些实施方案中,细胞,诸如哺乳动物细胞,包含如本文所述的同二聚化CISC组分蛋白质序列或编码如本文所述的同二聚蛋白质序列的核酸序列的表达载体。因此,在一些实施方案中,用于同二聚化学物质诱导的信号传导复合物表达的细胞,诸如哺乳动物细胞,包含编码化学物质诱导的信号传导复合物的蛋白质序列。在一些实施方案中,蛋白质序列包含编码化学物质诱导的信号传导复合物组分的序列,所述复合物组分包含同二聚化结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,化学物质诱导的信号传导复合物被定位成使得当表达时,其在配体存在的情况下形成同二聚体群体,所述配体被配置为桥接同二聚化结构域。在一些实施方案中,信号传导结构域或其部分包含一个或多个串联细胞质信号传导结构域。在一些实施方

案中,同二聚化结构域包含被配置成优选地同时与配体诸如AP1903结合的FKBP结构域或FRB或其部分。在一些实施方案中,用于同二聚化学物质诱导的信号传导复合物表达的细胞,诸如哺乳动物细胞,包含含有编码蛋白质序列的核酸的表达载体,所述蛋白质序列编码化学物质诱导的信号传导复合物。在一些实施方案中,蛋白质序列包含编码化学物质诱导的信号传导复合物组分的序列,所述复合物组分包含同二聚化结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,化学物质诱导的信号传导复合物组分被定位成使得当表达时,其在配体存在的情况下形成同二聚体群体,所述配体被配置为桥接同二聚化结构域。在一些实施方案中,信号传导结构域或其部分包含一个或多个串联细胞质信号传导结构域。在一些实施方案中,同二聚化结构域包含被配置成优选地同时与配体诸如AP1903结合的FKBP结构域或FRB或其部分。在一些实施方案中,表达载体还包含启动子。在一些实施方案中,启动子是诱导型启动子或组成型启动子。在一些实施方案中,载体是RNA或DNA。在一些实施方案中,载体是慢病毒载体或腺相关病毒(AAV)载体。

[0036] 在一些实施方案中,细胞,诸如哺乳动物细胞,是前体T细胞或T调节性细胞。在一些实施方案中,细胞,诸如哺乳动物细胞,是造血干细胞。在一些实施方案中,细胞是CD34+、CD8+或CD4+细胞。在一些实施方案中,细胞是选自以下组成的组的CD8+T细胞毒性淋巴细胞:原初CD8+T细胞、中枢记忆性CD8+T细胞、效应记忆性CD8+T细胞和本体CD8+T细胞。在一些实施方案中,细胞是选自以下组成的组的CD4+T辅助淋巴细胞:原初CD4+T细胞、中枢记忆性CD4+T细胞、效应记忆性CD4+T细胞和本体CD4+T细胞。

[0037] 本文提供的一些实施方案涉及用将信号激活到细胞(诸如哺乳动物细胞)内部的方法。在一些实施方案中,该方法包括提供用于如本文提供的同二聚化学物质诱导的信号传导复合物组分的细胞,诸如哺乳动物细胞,表达编码如本文提供的同二聚化学物质诱导的信号传导复合物复合物的蛋白质序列,或表达编码如本文提供的同二聚化学物质诱导的信号传导复合物组分的核酸的表达载体,以及使所述细胞与二聚化试剂接触,从而引起第一和第二化学物质诱导的信号传导复合物组分二聚化,所述二聚化复合物组分将信号转导至细胞内部。因此,在一些实施方案中,该方法包括提供细胞,诸如哺乳动物细胞,其包含如本文所述的同二聚化CISC组分蛋白质序列或编码如本文所述的同二聚CISC组分蛋白质序列的核酸序列的表达载体。因此,在一些实施方案中,用于同二聚化学物质诱导的信号传导复合物组分表达的细胞,诸如哺乳动物细胞,包含编码化学物质诱导的信号传导复合物组分的蛋白质序列。在一些实施方案中,蛋白质序列包含编码化学物质诱导的信号传导复合物组分的序列,所述复合物组分包含同二聚化结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,化学物质诱导的信号传导复合物组分被定位成使得当表达时,其在配体存在的情况下形成同二聚体群体,所述配体被配置为桥接同二聚化结构域。在一些实施方案中,信号传导结构域或其部分包含一个或多个串联细胞质信号传导结构域。在一些实施方案中,同二聚化结构域包含被配置成优选地同时与配体诸如AP1903结合的FKBP结构域或FRB或其部分。在一些实施方案中,蛋白质序列还包含第二序列。在一些实施方案中,用于同二聚组分表达的细胞,诸如哺乳动物细胞,包含编码蛋白质序列的核酸,所述蛋白质序列编码化学物质诱导的信号传导复合物组分。在一些实施方案中,蛋白质序列包含编码化学物质诱导的信号传导复合物组分的序列,所述复合物组分包含同二聚化结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分。在一些

实施方案中,化学物质诱导的信号传导复合物组分被定位成使得当表达时,其在配体存在的情况下形成同二聚体群体,所述配体被配置为桥接同二聚化结构域。在一些实施方案中,信号传导结构域或其部分包含一个或多个串联细胞质信号传导结构域。在一些实施方案中,同二聚化结构域包含被配置成优选地同时与配体诸如AP1903结合的FKBP结构域或FRB或其部分。在一些实施方案中,表达载体编码启动子。在一些实施方案中,启动子是诱导型启动子或组成型启动子。在一些实施方案中,载体是RNA或DNA。在一些实施方案中,载体是慢病毒载体或腺相关病毒(AAV)载体。在一些实施方案中,在提供所述细胞诸如哺乳动物细胞后,该方法还包括表达编码如本文提供的同二聚CISC的蛋白质序列,或表达编码如本文提供的用于同二聚CISC表达的核酸的表达载体,以及使所述细胞与二聚化试剂接触,从而引起第一和第二CISC二聚化,所述二聚CISC将信号转导至细胞内部。

[0038] 在一些实施方案中,所使用的二聚化试剂是配体,诸如雷帕霉素或雷帕霉素类似物,诸如依维莫司、CCI-779、C20-甲代烯丙基雷帕霉素、C16-(S)-3-甲基吲哚雷帕霉素、C16-iRap、AP21967、霉酚酸钠、盐酸贝尼地平、AP23573或AP1903或其代谢物、衍生物和/或组合。在一些实施方案中,配体是IMID类药物(例如沙利度胺、泊马度胺、来那度胺或相关类似物)。在一些实施方案中,信号的转导影响细胞因子信号传导。在一些实施方案中,信号的转导影响白细胞介素-2受体(IL2R)信号传导。在一些实施方案中,在与二聚化试剂接触后,从异质细胞(例如哺乳动物细胞)群中选择性扩增表达CISC的细胞。

[0039] 本文提供的一些实施方案涉及包含本文所述组分的试剂盒或系统。因此,在一些实施方案中,提供了试剂盒,其包含以下的一种或多种:本文所述的蛋白质序列;如本文所述的表达载体;和/或如本文所述的细胞。一些实施方案包括用于选择性地将信号激活到细胞内部的系统,其包含:如本文所述的细胞,其中所述细胞包含如本文所述的表达载体,所述表达载体包含编码如本文所述的蛋白质序列的核酸。

附图说明

[0040] 图1是举例说明T细胞扩增中IL-2信号传导的示意图。该图描绘了包含FRB-CD25 β (跨膜(TM)和细胞质结构域)(IL2R β)和FKBP-CD25 γ (TM和细胞质结构域)(IL2R γ)的IL-2链的嵌合二聚化,所述嵌合二聚化产生下游信号传导途径。重要的是,去除大部分或全部细胞外结构域可防止IL2与这些化学物质诱导的信号传导复合物组分结合,因此它们对内源性IL2无响应。

[0041] 图2示意性地描绘了通过化学物质诱导的信号传导复合物(CISC)的细胞扩增策略。该策略利用雷帕霉素同时结合两种不同蛋白质基序(FKBP和FRB)的能力,以适当设计的一对CISC组分诱导蛋白质二聚化和活性下游信号传导事件。以这种方式使用CISC允许选择性细胞扩增。

[0042] 图3描绘了IL2R-CISC架构的各种实施例。图3中所示的实施方案显示了FRB-IL2R β 和FKBP-IL2R γ 两者的架构,提供了各种程度的柔性的示意图,包括最高柔性(1210-该实施方案包含短接头序列、IL2R的整个第一细胞外免疫球蛋白超家族(IgSF)结构域及其TM和胞质尾区)、中等柔性(1211-该实施方案包含IL2R的整个第一细胞外IgSF结构域及其TM和胞质尾区)和最低柔性(1233-该实施方案仅包含IL2R TM和胞质尾区)。

[0043] 图4A和图4B显示蛋白质印迹的图像。转导后两天收获IL2R-CISC人CD4⁺T细胞,并

分离细胞质级分和膜级分。上图是对照,其证明所用的方法高效地分级分离细胞溶质和膜:顶部凝胶显示IL2R β ;中间凝胶显示IL2R γ ;以及底部两个凝胶是显示CD3和ERK的对照凝胶。图4B显示了相应IL2R-CISC(包括1210、1211和1233)的蛋白质印迹。箭头表示CISC组分表达的检测。重要的是,1233架构似乎以最高水平表达。

[0044] 图5显示了IL2R-CISC的蛋白质印迹的图像。在进行15天的1nM雷帕霉素处理,随后进行细胞因子饥饿48小时后,分析IL2R-CISC人CD4⁺T细胞。然后利用IL-2(50ng)或雷帕霉素(100nM)刺激20分钟,收获细胞用于蛋白质印迹。蛋白质印迹显示Akt激活,表明化学物质诱导的信号传导复合物驱动细胞扩增的能力。

[0045] 图6概述了显示IL2R-CISC选择性扩增细胞群的用途的实验。使用2A序列将IL2R-CISC的每种架构(即1210、1211和1233)与GFP顺式连接在一起,并置于慢病毒表达盒中的MND启动子的控制下(如5中所示的那样,底部)。产生来自每种IL2R-CISC架构的慢病毒颗粒并将其用于转导原代人T细胞。转导后,将细胞在IL2中生长2天,然后分成两半,如所指示的,一半只在IL2中生长,一半只在雷帕霉素中生长。

[0046] 图7A证明了使用只驱动GFP表达的慢病毒载体对T细胞的高效转导。图7B显示与模拟物和MND-GFP逆转录病毒载体相比的使用图3底部概述的载体-MND-IL2Rb-CISC-2A-IL2Rg-CISC-2A-GFP表达的1210、1211和1233的表达。将T细胞激活48小时,然后孵育28小时。将IL-2/7/15涂布在T细胞上。慢病毒转导包括MND-GFP对照的IL2-CISC与硫酸鱼精蛋白。将转导的细胞在37℃下与细胞因子(IL-2, 50ng/mL; IL-5, 5ng/mL; IL-17, 5ng/mL)一起孵育24小时。使用流式细胞术通过GFP表达确定IL2-CISC表达。

[0047] 图8显示细胞的流动分析。顶部流动图(flow panels)显示细胞在2天(就在将细胞置于IL2或雷帕霉素培养物之前)中的GFP表达(X-轴)和FRB表达(IL2Rg-CISC组分的细胞外结构域,Y-轴)的流动分析。底部两个流动图显示细胞在转导后4天、分成在单独的IL2(顶图)中或雷帕霉素(底图)中的培养物后2天的GFP表达(X-轴)和FRB表达的流动分析。注意,特别是对于1233(右下方流动图),单独在雷帕霉素中培养的细胞开始富集IL2R-CISC表达,如通过顺式连接的GFP标记读出的。

[0048] 图9显示细胞的流动分析。顶部两个流动图显示细胞在转导后6天、分成在单独的IL2(顶图)中或雷帕霉素(底图)中的培养物后4天的GFP表达(X-轴)和FRB表达的流动分析。注意1233的GFP标记的进一步富集。底部两个流动图显示细胞在转导后9天、分成在单独的IL2(顶图)中或雷帕霉素(底图)中的培养物后7天的GFP表达(X-轴)和FRB表达的流动分析。注意1233GFP⁺细胞的进一步富集。

[0049] 图10显示细胞的流动分析。顶部两个流动图显示细胞在转导后12天、分成在单独的IL2(顶图)中或雷帕霉素(底图)中的培养物后10天的GFP表达(X-轴)和FRB表达的流动分析。底部两个流动图显示细胞在转导后17天、分成在单独的IL2(顶图)中或雷帕霉素(底图)中的培养物后15天的GFP表达(X-轴)和FRB表达的流动分析。表达1233IL2R-CISC的细胞现被富集至细胞群的97%(最端右下方流动图)。

[0050] 图11证明了在15天的如图6中概述的实验(但进行了25天)过程中表达IL2R-CISC V3的细胞的富集。最左边的单个图代表雷帕霉素处理开始时的细胞。每行的图代表不同的处理。如可从底行看到的,到第15天时,当在雷帕霉素中培养时,IL2R-CISC V3细胞从具有64% mCherry阳性的起始转导群体富集至>93%的mCherry阳性。相反,模拟IL-2处理导致

mCherry阳性细胞逐渐减少。

[0051] 图12显示使用与图6中概述的相同的实验范例(但进行了25天)的mCherry阳性细胞数量的扩增。在每个图的左上角以粗体标示了细胞类型。由不同符号指示的每条曲线描绘了维持25天的不同处理/培养条件。图12显示只有表达IL2R-CISC V3的细胞在25天的实验过程中表现出显著的雷帕霉素诱导的扩增。

[0052] 图13显示使用与图6中概述的相同的但进行30天的实验范例并且利用两种不同的雷帕霉素剂量(1nM和10nM)的表达模拟物、GFP或IL2R-CISC V3的细胞的扩增。在每个图的左上角以粗体标示了细胞类型。由不同符号指示的每条曲线描绘了在实验过程中维持的不同处理/培养条件。图13显示表达IL2R-CISC V3的细胞在实验过程中表现出显著的雷帕霉素诱导的扩增,并且1nM雷帕霉素诱导最稳健的细胞扩增。

[0053] 图14显示每行指示的细胞类型(在指定条件下培养20天后)的响应于每列顶部指示的处理的磷-STAT5信号传导的分析。如可看到的,接受“模拟物”处理(第1行)的细胞不再响应,因为在20天后基本上没有细胞存活。相反,虽然所有其它细胞对IL-2处理稳健地响应,但只有表达IL2R-CISC的细胞响应于雷帕霉素(STAT5的磷酸化),而表达IL2R-CISC V3的细胞响应最稳健,证实了V3架构最有效地发送信号。

[0054] 图15证明了在15天的与图11中的实验相同(除使用AP21967作为IL2R-CISC激活配体外)的实验过程中表达IL2R-CISC V3的细胞的富集。最左边的单个图代表AP21967处理开始时的细胞。每行的图代表不同的处理。如可从底行看到的,到第15天时,当在AP21967中培养时,IL2R-CISC V3细胞从具有64% mCherry阳性的起始转导群体富集至>93%的mCherry阳性。相反,模拟IL-2处理导致mCherry阳性细胞逐渐减少。

[0055] 图16显示使用与图6中概述的相同的但进行30天的实验范例并且利用两种不同的AP21967剂量(10nM和100nM)的表达模拟物、GFP或IL2R-CISC V3的细胞的扩增。在每个图的左上角以粗体标示了细胞类型。由不同符号指示的每条曲线描绘了在实验过程中维持的不同处理/培养条件。图16证明了表达IL2R-CISC V3的细胞在实验过程中表现出显著的AP21967诱导的扩增,并且100nM AP21967诱导最稳健的细胞扩增。

[0056] 图17显示表达IL2R-CISC V3的细胞在指定条件下扩增15天后的溶细胞活性,使用图6中的实验设置的,用IL2R-CISC V3慢病毒转导细胞,并扩增15天。然后将细胞与表达抗CD3的K562细胞一起孵育。靶K562细胞的抗CD3表达在T细胞与K562细胞接触后引起T细胞上的CD3成簇,导致K562细胞的溶细胞杀伤。将在指定条件下扩增的表达IL2R-CISC V3的T细胞以不同的靶标对杀伤者比率孵育,并且通过K562靶细胞的存活百分比评估细胞溶解。通过IL2R-CISC扩增的细胞表现出溶细胞活性,其在统计学上与在IL-2中扩增的细胞无法区分。

[0057] 图18显示500ng/mL的抗IL2中和抗体消除了IL-2中的T细胞的扩增。在该实验中,使用抗CD3/CD28珠粒激活外周血T细胞,并将其在IL-2或IL-2加抗IL2抗体中扩增。抗IL2抗体的使用显著抑制T细胞的扩增。

[0058] 图19显示500ng/mL的抗IL2中和抗体不能阻断在IL2R-CISC配体(雷帕霉素或AP21967)中培养的表达IL2R-CISC的T细胞的扩增。使用抗CD3/CD28珠粒激活外周血T细胞,用IL2R-CISC V3慢病毒转导,并在指定的IL2R-CISC配体加抗IL2抗体中扩增。抗IL2抗体的使用不抑制T细胞的扩增,证明IL2R-CISC自主地作用于细胞以提供生长信号。

[0059] 图20显示FACS测定,其为CISC V3扩增的细胞的T细胞标志物分析。使用抗CD3/CD28珠粒激活外周血T细胞,用IL2R-CISC V3慢病毒转导,并在IL-2或指定的IL2R-CISC配体中扩增15天。在IL-2中扩增的细胞通常具有低CD25(IL2R α 亚基)表达,反映了IL2R响应于IL-2的转换。相反,通过它们的IL2R-CISC受体扩增的细胞具有高CD25表达,因为低介质IL-2促进天然IL2R的最小周转。

[0060] 图21显示在IL2R组分与化学二聚化结构域(FRB,FKBP)之间具有较长区段的另外的CISC架构的测试示意图。

[0061] 图22显示用较长的IL2R-CISC接头架构V4-V7处理由慢病毒原种转导的细胞的时间线和实验设计。

[0062] 图23显示来自图22的具有较长IL2R-CISC接头架构V4-V7的慢病毒原种的转导效率。

[0063] 图24显示雷帕霉素诱导的扩增对于所有具有至TM接头的扩展的EC结构域的CISC架构是类似的。使用抗CD3/CD28珠粒激活外周血T细胞,用IL2R-CISC V3-V7慢病毒转导,并在指定的IL2R-CISC配体中扩增。V3-V7IL2R-CISC架构均能够诱导具有相当量级的T细胞扩增。

[0064] 图25显示MND启动子和CISC的靶向敲入(以富集/扩增基因靶向T细胞)的示意图。所描述的靶向方法将启动子和IL2R-CISC V3的两种组分整合到FOXP3基因座中,与GFP与天然FOXP3基因的融合物顺式连接。该架构旨在允许配体诱导的细胞选择,所述细胞已经历精确的基因靶向事件。

[0065] 图26描绘了显示MND启动子和CISC的靶向敲入的实验设计的示意图。这代表了如何将CRISP/Cas9核酸酶用于诱导来自图25的盒至FOXP3基因座的靶向整合,随后在指定的IL2R-CISC配体中扩增基因靶向细胞的实验示意图。

[0066] 图27显示导致基因靶向细胞的富集的用雷帕霉素接触15天的MND启动子和CISC的靶向敲入的结果。在利用指定的方法(无靶向,或RNP加上图25中所述的盒中的每一个盒)靶向整合到FOXP3基因座后,将细胞在指定条件下培养15天,然后通过流式细胞术分析GFP-FOXP3表达。雷帕霉素或AP21967的扩增导致表达FOXP3的细胞显著富集,表明IL2R-CISC能够驱动基因靶向细胞群(包括其中FOXP3过表达的细胞群)的配体诱导的富集。流动图代表雷帕霉素中培养的细胞的IL2R-CISC GFP-FOXP3表达。

[0067] 图28显示导致无基因靶向细胞富集的用雷帕霉素+IL-2接触15天的MND启动子和CISC的靶向敲入的结果。在利用指定的方法靶向整合到FOXP3基因座后,将细胞在指定条件下培养15天,然后通过流式细胞术分析GFP-FOXP3表达。雷帕霉素+IL2中的扩增导致表达FOXP3的细胞对比未处理的细胞的无可检测的富集或损失,表明IL2R-CISC不会对过表达FOXP3的细胞的功能产生不利影响。流动图代表在IL-2+雷帕霉素中培养的细胞的IL2R-CISC GFP-FOXP3表达。

具体实施方式

[0068] 本文描述了化学物质诱导的信号传导复合物(CISC)的组合物,以及制备和使用其的方法。CISC可用于通过细胞中的信号传导途径激活信号并用于细胞的选择性扩增。

[0069] 定义

[0070] 除非另有定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本公开所属领域的普通技术人员的通常理解相同的含义。除非另有说明,否则本文引用的所有专利、申请、公开的申请和其它出版物均明确地通过引用整体并入本文。如果本文中术语有多个定义,除非另有说明,否则以本节中的定义为准。

[0071] 如本文中所用,“一个/种(a)”或“一个/种(an)”可以表示一个(种)或多于一个(种)。

[0072] 当根据说明书阅读时,“约”具有其平常和普通的含义,并且可以在例如提及可测量的值时使用,并且可以意在包括与指定值相差 $\pm 20\%$ 或 $\pm 10\%$,更优选 $\pm 5\%$,甚至更优选 $\pm 1\%$,以及更优选 $\pm 0.1\%$ 的变化。

[0073] 如本文中所用,“蛋白质序列”是指作为蛋白质的一级结构的氨基酸的多肽序列。如本文中所用,“上游”是指多核苷酸上定位位置的5'位置,以及朝向多肽上定位位置的N-末端的位置。如本文中所用,“下游”是指核苷酸上定位位置的3'位置,以及朝向多肽上定位位置的C-末端的位置。因此,术语“N-末端”是指多核苷酸上的元件或定位位置的朝向多肽上的定位位置的N-末端的位置。

[0074] “核酸”或“核酸分子”是指多核苷酸,诸如脱氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA)、寡核苷酸、通过聚合酶链式反应(PCR)产生的片段,以及通过连接、断裂、内切核酸酶作用和外切核酸酶作用产生的片段。核酸分子可由天然存在的核苷酸(诸如DNA和RNA)的单体或天然存在的核苷酸的类似物(例如,天然存在的核苷酸的对映体形式)或两者的组合组成。经修饰的核苷酸可具有糖部分和/或嘧啶或嘌呤碱基部分的改变。糖修饰包括,例如,用卤素、烷基、胺和叠氮基替代一个或多个羟基,或者糖可被官能化为醚或酯。此外,整个糖部分可用空间和电子相似的结构诸如氮杂糖和碳环糖类似物替代。碱基部分中的修饰的实例包括烷基化嘌呤和嘧啶、酰化嘌呤或嘧啶,或其它熟知的杂环取代基。核酸单体可通过磷酸二酯键或此类键联的类似物连接。磷酸二酯键联的类似物包括硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、硒代磷酸酯、二硒代磷酸酯、苯胺磷酸硫醇酯(phosphoroanilothioate)、苯胺磷酸酯(phosphoranilidate)、氨基磷酸酯等。术语“核酸分子”还包括所谓的“肽核酸”,其包含与聚酰胺主链连接的天然存在的或经修饰的核酸碱基。核酸可以是单链或双链的。在一些实施方案中,提供了编码融合蛋白的核酸序列。在一些实施方案中,核酸是RNA或DNA。

[0075] 本文中使用“编码(Coding for)”或“编码(encoding)”,其是指多核苷酸中特定核苷酸序列(诸如基因、cDNA或mRNA)用作合成其它大分子诸如确定的氨基酸序列的模板的性质。因此,如果对应于基因的mRNA的转录和翻译在细胞或其它生物系统中产生蛋白质,则该基因编码蛋白质。

[0076] “编码多肽的核酸序列”包括为彼此的简并形式且编码同一氨基酸序列的所有核苷酸序列。在一些实施方案中,提供了核酸,其中所述核酸编码融合蛋白。

[0077] “载体”、“表达载体”或“构建体”是用于将异源核酸引入细胞的核酸,其具有调控元件以在细胞中提供异源核酸的表达。载体包括但不限于质粒、微环、酵母和病毒基因组。在一些实施方案中,载体是质粒、微环、酵母或病毒基因组。在一些实施方案中,载体是病毒载体。在一些实施方案中,表达载体是慢病毒。在一些实施方案中,载体是腺相关病毒(AAV)载体。在一些实施方案中,载体用于在细菌系统(诸如大肠杆菌(E.coli))中表达蛋白质。如本文中所用,术语“表达”或“蛋白质表达”是指转录的RNA分子翻译成蛋白质分子。蛋白质表

达的特征可在于通过其时间、空间、发育或形态学特征以及定量或定性指征。在一些实施方案中,表达一种或多种蛋白质,使得所述蛋白质被定位成在配体存在的情况下进行二聚化。

[0078] 如本文中所用,“融合蛋白”或“嵌合蛋白”是通过连接两个或更多个基因产生的蛋白质,所述基因最初编码单独的蛋白质或蛋白质的部分。融合蛋白也可以由来自两种或更多种单独的蛋白质的特定蛋白质结构域组成。该融合基因的翻译可产生具有源自每种原始蛋白质的功能特性的单个或多个多肽。重组融合蛋白可通过重组DNA技术人工产生,用于生物研究或治疗。此类用于产生融合蛋白的方法是本领域技术人员已知的。一些融合蛋白组合整个肽,因而可包含原始蛋白质的所有结构域,尤其是功能结构域。然而,其它融合蛋白,尤其是非天然存在的那些融合蛋白,仅组合编码序列的部分,因而不保持形成它们的亲本基因的原始功能。在一些实施方案中,提供了融合蛋白,其中所述融合蛋白包含干扰素和PD-1蛋白。

[0079] 如本文中所用,术语“调控元件”是指具有基因调控活性的DNA分子,例如,具有影响可操作地连接的可转录DNA分子的转录和/或翻译的能力的DNA分子。调控元件诸如启动子、前导序列、内含子和转录终止区是具有基因调控活性并在活细胞中在基因的总体表达中起着不可或缺的作用的DNA分子。因此,在植物中起作用的分离的调控元件(诸如启动子)可用于通过基因工程化方法修饰植物表型。

[0080] 如本文中所用,术语“可操作地连接的”是指与第二分子连接的第一分子,其中使分子排列成使得所述第一分子影响所述第二分子的功能。所述两个分子可以是单个连续分子的一部分并且可以是相邻的。例如,如果启动子调节细胞中可转录的目标DNA分子的转录,则启动子与可转录的DNA分子可操作地连接。

[0081] “启动子”是启动特定基因转录的DNA区域。启动子可位于基因的转录起始位点附近,在同一条链上和DNA的上游(有义链的5'区)。启动子可以是条件型、诱导型或组成型启动子。启动子可对细菌、哺乳动物或昆虫细胞的蛋白质表达具有特异性。在一些实施方案中,当提供了编码融合蛋白的核酸时,该核酸还包含启动子序列。在一些实施方案中,启动子对细菌、哺乳动物或昆虫细胞的蛋白质表达具有特异性。在一些实施方案中,启动子是条件型、诱导型或组成型启动子。

[0082] 如本文中所用,“条件型”或“诱导型”是指这样的核酸构建体,其包含在诱导物存在的情况下提供基因表达并且在诱导物不存在的情况下基本上不提供基因表达的启动子。

[0083] 如本文中所用,“组成型”是指这样的核酸构建体,其包含为组成型的启动子,因而提供持续产生的多肽的表达。

[0084] 在一些实施方案中,诱导型启动子具有低水平的基础活性。在一些实施方案中,当使用慢病毒载体时,与当细胞被诱导表达基因时相比,未诱导细胞中的基础活性水平为20%、15%、10%、5%、4%、3%、2%、1%或更低(但不为零)或在由上述值中的任意两个值限定的范围内。可通过使用流式细胞术测量在诱导物(例如药物)不存在的情况下转基因(例如,标记基因)的表达量来测定基础活性水平。在本文所述的一些实施方案中,将标记蛋白诸如Akt用于确定表达。

[0085] 在一些实施方案中,与未诱导的或基础活性相比,诱导型启动子提供高水平的诱导活性。在一些实施方案中,诱导状态下的活性水平为未诱导状态下的活性水平的2倍、4倍、6倍、8倍、9倍或10倍或更多倍,或者在由上述值中的任意两个值限定的范围内。在一些

实施方案中,在反式激活因子不存在的情况下,在诱导型启动子控制下的转基因表达在不到10天、8天、6天、4天、2天或1天(不包括0天)或者在由上述时间段中的任意两个时间段限定的范围内关闭。

[0086] 在一些实施方案中,诱导型启动子被设计和/或修改为提供低水平的基础活性、高水平的诱导性和/或短时间的可逆性。

[0087] 本文所用的“二聚化学物质诱导的信号传导复合物”、“二聚CISC”、或“二聚体”是指CISC的两个组分,其可以是或不是连接在一起的融合蛋白复合物。“二聚化”是指将两个单独的实体连接在一起形成单个实体的过程。在一些实施方案中,配体或试剂刺激二聚化。在一些实施方案中,二聚化是指同二聚化,或两个相同实体诸如两个相同的CISC组分的连接。在一些实施方案中,二聚化是指异二聚化,或两个不同实体诸如两个不同的独特CISC组分的连接。在一些实施方案中,CISC组分的二聚化导致细胞信号传导途径。在一些实施方案中,CISC组分的二聚化允许细胞或细胞群的选择性扩增。其它CISC系统可包括CISC赤霉素CISC二聚化系统或SLF-TMP CISC二聚化系统。可使用其它化学物质诱导的二聚化(CID)系统和组成部分。

[0088] 如本文中所用,“化学物质诱导的信号传导复合物”或“CISC”是指工程化的复合物,其作为配体诱导的二聚化的直接结果,启动信号进入细胞内部。CISC可以是同二聚体(两个相同组分的二聚化)或异二聚体(两个不同组分的二聚化)。因此,如本文中所用,术语“同二聚体”是指本文所述的具有相同氨基酸序列的两个蛋白质组分的二聚体。术语“异二聚体”是指本文所述的具有不同氨基酸序列的两个蛋白质组分的二聚体。

[0089] CISC可以是如本文中更详细描述的合成复合物。如本文中所用,“合成的”是指如本文所述的复合物、蛋白质、二聚体或组合物,其不是天然的,或不存在于自然界中。在一些实施方案中,IL2R-CISC是指涉及白细胞介素-2受体组分的信号传导复合物。在一些实施方案中,IL2/15-CISC是指涉及由白细胞介素-2和白细胞介素-15共有的受体信号传导亚基的信号传导复合物。在一些实施方案中,IL7-CISC是指涉及白细胞介素-7受体组分的信号传导复合物。因此,可以根据构成给定CISC的组分的组成部分来命名CISC。本领域技术人员将认识到,化学物质诱导的信号传导复合物的组成部分可由可用于掺入CISC的天然或合成组分组成。因此,本文提供的实施例无意是限制性的。

[0090] 如本文中所用,“细胞因子受体”是指识别细胞因子并与其结合的受体分子。在一些实施方案中,细胞因子受体包括经修饰的细胞因子受体分子(例如,“变体细胞因子受体”),其包括对所述细胞因子受体氨基酸和/或核酸序列具有取代、缺失和/或添加的那些细胞因子。因此,该术语旨在包括野生型以及重组的细胞因子受体、合成产生的细胞因子受体和变体细胞因子受体。在一些实施方案中,细胞因子受体是融合蛋白,其包含细胞外结合结构域、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域。在一些实施方案中,受体的组分(即受体的结构域)是天然的或合成的。在一些实施方案中,结构域是人源结构域。

[0091] 如本文中所用,“FKBP”是FK506结合蛋白结构域。FKBP是指具有脯氨酰异构酶活性并且在功能方面(尽管不在氨基酸序列方面)与亲环素类相关的蛋白质家族。已在从酵母至人的许多真核生物中鉴定了FKBP,并且其作为含有脯氨酸残基的蛋白质的蛋白质折叠伴侣蛋白起作用。与亲环素一起,FKBP属于亲免疫蛋白家族。术语FKBP包括例如FKBP12以及由基因AIP、AIPL1、FKBP1A、FKBP1B、FKBP2、FKBP3、FKBP5、FKBP6、FKBP7、FKBP8、FKBP9、FKBP9L、

FKBP10、FKBP11、FKBP14、FKBP15、FKBP52和/或LOC541473编码的蛋白质；包括其同源物和其功能性蛋白质片段。

[0092] 如本文中所用,“FRB”为FKBP雷帕霉素结合结构域。FRB结构域是被配置为与FKBP蛋白和雷帕霉素或其雷帕霉素类似物形成三联复合物的多肽区域(蛋白质“结构域”)。FRB结构域存在于许多天然存在的蛋白质中,包括来自人和其它物种的mTOR蛋白(在文献中也称为FRAP、RAPT1或RAFT);包含Tor1和/或Tor2的酵母蛋白质;和念珠菌属(Candida)FRAP同系物。FKBP和FRB均为雷帕霉素的哺乳动物靶标(mTOR)信号传导中的主要成分。

[0093] Cereblon与受损的DNA结合蛋白1相互作用并与Cullin 4形成E3遍在蛋白连接酶复合物,其中其作为底物受体起作用,其中由cereblon识别的蛋白质可被遍在蛋白化和被蛋白酶体降解。蛋白酶体介导的不需要的或受损的蛋白质的降解在维持细胞的正常功能(诸如细胞存活、增殖和/或生长)中起非常重要的作用。免疫调节性酰亚胺药物(IMiD)(例如沙利度胺)与cereblon的结合与IMiD(包括来那度胺)的致畸性以及还有细胞毒性相关联。Cereblon是参与骨髓瘤细胞功能的因子的结合、遍在蛋白化和降解的关键参与者。

[0094] “Cereblon沙利度胺结合结构域”是指为与IMiD(包括例如沙利度胺、泊马度胺、来那度胺、阿普斯特或相关类似物)相互作用的细胞外结合结构域的结合结构域。本文提供的一些实施方案使用cereblon沙利度胺结合域类似物或其突变体。在一些实施方案中,这些细胞外结合结构域被配置为与IMiD配体同时结合。

[0095] 在一些实施方案中,本文所述方法中使用的免疫调节性酰亚胺药物可包括:

[0096] 沙利度胺(包括类似物、衍生物,以及包括其药学上可接受的盐)。沙利度胺可包括Immunoprin、Thalomid、Talidex、Talizer、Neurosedyn、 α -(N-邻苯二甲酰亚胺基)戊二酰亚胺、2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)-2,3-二氢-1H-异吲哚-1,3-二酮);

[0097] 泊马度胺(包括类似物、衍生物,以及包括其药学上可接受的盐)。泊马度胺可包括Pomalyst、Imnovid、(RS)-4-氨基-2-(2,6-二氧化哌啶-3-基)异吲哚-1,3-二酮);

[0098] 来那度胺(包括类似物、衍生物,以及包括其药学上可接受的盐)。来那度胺可包括Revlimid、(RS)-3-(4-氨基-1-氧代-1,3-二氢-2H-异吲哚-2-基)哌啶-2,6-二酮);或

[0099] 阿普斯特(包括类似物、衍生物,以及包括其药学上可接受的盐)。阿普斯特可包括Otezla、CC-10004、N-{2-[(1S)-1-(3-乙氧基-4-甲氧基苯基)-2-(甲基磺酰基)乙基]-1,3-二氧化-2,3-二氢-1H-异吲哚-4-基}乙酰胺);

[0100] 或其任意组合。

[0101] 如本文中所用,术语“细胞外结合结构域”是位于细胞外并且被配置为与特定特定原子或分子结合的复合物的结构域。在一些实施方案中,CISC的细胞外结合结构域为FKBP结构域或其部分。在一些实施方案中,细胞外结合结构域为FRB结构域或其部分。在一些实施方案中,细胞外结合结构域被配置为结合配体或试剂,从而刺激两个CISC组分的二聚化。在一些实施方案中,细胞外结合结构域被配置为与细胞因子受体调节剂结合。

[0102] 如本文中所用,术语“细胞因子受体调节剂”是指调节细胞因子受体的下游靶标的磷酸化、与细胞因子受体相关的信号转导途径的激活和/或特定蛋白质诸如细胞因子的表达的试剂。此类试剂可以直接或间接调节细胞因子受体的下游靶标的磷酸化、与细胞因子受体相关的信号转导途径的激活和/或特定蛋白质诸如细胞因子的表达。因此,细胞因子受体调节剂的实例包括但不限于与细胞因子受体或其片段免疫特异性结合的细胞因子、细胞

因子的片段、融合蛋白和/或抗体或其结合部分。另此,细胞因子受体调节剂的实例包括但不限于与细胞因子或其片段免疫特异性结合的肽、多肽(例如,可溶性细胞因子受体)、融合蛋白和/或抗体或其结合部分。

[0103] 如本文中所用,术语“激活(activate)”是指目标蛋白质的至少一种生物活性的增强。类似地,术语“激活(activation)”是指处于增强的活性状态的目标蛋白质的状态。术语“可激活的”是指目标蛋白质在信号、试剂、配体、化合物或刺激物存在的情况下被激活的能力。在一些实施方案中,如本文所述的二聚体在信号、试剂、配体、化合物或刺激物的存在的情况下被激活,并变成具有信号传导能力的二聚体。如本文中所用,术语“具有信号传导能力”是指二聚体使得能够启动或维持下游信号传导途径的能力或构型。

[0104] 如本文中所用,术语“铰链结构域”是指将细胞外结合结构域与跨膜结构域连接,并且可赋予细胞外结合结构域柔性的结构域。在一些实施方案中,铰链结构域将细胞外结构域定位在靠近质膜的位置,以最小化被抗体或其结合片段识别的可能性。在一些实施方案中,细胞外结合结构域位于跨膜结构域的N末端。在一些实施方案中,铰链结构域可以是天然的或合成的。

[0105] 如本文中所用,术语“跨膜结构域”或“TM结构域”是指在膜中(诸如在细胞膜中)稳定的结构域。本文中还使用术语“跨膜跨度”、“整合蛋白”和“整合结构域”。在一些实施方案中,铰链结构域和细胞外结构域位于跨膜结构域的N末端。在一些实施方案中,跨膜结构域可以是天然的或合成的。在一些实施方案中,跨膜结构域是IL-2跨膜结构域。

[0106] 如本文中所用,术语“信号传导结构域”是指参与细胞诸如哺乳动物细胞内的信号传导级联的融合蛋白或CISC组分的结构域。信号传导结构域是指向细胞(诸如T细胞)提供信号的信号传导部分,所述信号传导,除了由例如TCR/CD3复合物的CD3 ζ 链提供的初级信号以外,还介导细胞应答,诸如T细胞响应,包括但不限于激活、增殖、分化和/或细胞因子分泌。在一些实施方案中,信号传导结构域位于跨膜结构域、铰链结构域和细胞外结构域的N末端。在一些实施方案中,信号传导结构域可以是合成结构域或天然结构域。在一些实施方案中,信号传导结构域是串联细胞质信号传导结构域。在一些实施方案中,信号传导结构域是细胞因子信号传导结构域。在一些实施方案中,信号传导结构域是抗原信号传导结构域。在一些实施方案中,信号传导结构域是白细胞介素-2受体亚基 γ (IL2R γ 或IL2Rg)结构域。在一些实施方案中,信号传导结构域是白细胞介素-2受体亚基 β (IL2R β 或IL2Rb)结构域。在一些实施方案中,试剂或配体与细胞外结合结构域的结合通过信号传导途径的激活(作为CISC组分的二聚化的结果)引起通过信号传导结构域的信号转导。如本文中所用,术语“信号转导”是指通过配体或试剂与细胞外结构域的结合激活信号传导途径。信号的激活是细胞外结构域与配体或试剂结合(导致CISC二聚化)的结果。

[0107] 如本文中所用,术语“IL2Rb”或“IL2R β ”是指白细胞介素-2受体亚基 β 。类似地,术语“IL2Rg”或IL2R γ “是指白细胞介素-2受体亚基 γ ,术语”IL2Ra“或”IL2R α “是指白细胞介素-2受体亚基 α 。IL-2受体具有三种形式或链, α 、 β 和 γ ,它们也是其它细胞因子的受体的亚基。IL2R β 和IL2R γ 是I型细胞因子受体家族的成员。如本文中所用,“IL2R”是指白细胞介素-2受体,其参与T细胞介导的免疫响应。IL2R参与来自白细胞介素2的受体介导的内吞作用和促有丝分裂信号的转导。类似地,术语“IL-2/15R”是指由IL-2和IL-15共有的受体信号传导亚基,可包括 α 亚基(IL2/15Ra或IL2/15R α)、 β 亚基(IL2/15Rb或IL2/15R β)或 γ 亚基

(IL2/15R α 或IL2/15R γ)。

[0108] 在一些实施方案中,化学物质诱导的信号传导复合物是包含两种组分的异二聚化激活的信号传导复合物。在一些实施方案中,第一组分包含作为异二聚化对的一部分的细胞外结合结构域、任选的铰链结构域、跨膜结构域和一个或多个串联细胞质信号传导结构域。在一些实施方案中,第二组分包含作为异二聚化对的另一部分的细胞外结合结构域、任选的铰链结构域、跨膜结构域和一个或多个串联细胞质信号传导结构域。因此,在一些实施例中,存在两个不同的修改事件。在一些实施方案中,两种CISC组分在细胞诸如哺乳动物细胞中表达。在一些实施方案中,使细胞(诸如哺乳动物细胞)或细胞群(诸如哺乳动物细胞群)与引起异二聚化的配体或试剂接触,从而启动信号。在一些实施方案中,同源二聚化对二聚化,由此单个CISC组分在细胞(诸如哺乳动物细胞)中表达,并且CISC组分同二聚化以启动信号。

[0109] 如本文中所用,术语“配体”或“试剂”是指具有所需生物效应的分子。在一些实施方案中,配体被细胞外结合结构域识别并结合,形成包含配体和两种结合CISC组分的三联复合物。配体包括但不限于蛋白质性质的分子,包括但不限于肽、多肽、蛋白质、翻译后修饰的蛋白质、抗体、其结合部分;小分子(小于1000道尔顿)、无机或有机化合物;和核酸分子,包括但不限于双链或单链DNA,或双链或单链RNA(例如,反义, RNAi等)、适体以及三螺旋核酸分子。配体可源自或获自任何已知的生物体(包括但不限于动物(例如,哺乳动物(人和非人类哺乳动物))、植物、细菌、真菌和原生生物,或病毒)或来自合成分子的文库。在一些实施方案中,配体是蛋白质、抗体或其部分、小分子或药物。在一些实施方案中,配体是雷帕霉素或雷帕霉素的类似物(雷帕霉素类似物)。在一些实施方案中,雷帕霉素类似物包括相对于雷帕霉素具有一个或多个以下修饰的雷帕霉素的变体:C7、C42和/或C29处的甲氧基的去甲基化、消除或替代;C13、C43和/或C28处的羟基的消除、衍生或替代;C14、C24和/或C30处的酮的还原、消除或衍生;五元脯氨酸环对六元哌啶甲酸酯环的替代;以及环己基环上的替代取代或取代的环戊基环对环己基环的替代。在一些实施方案中,雷帕霉素类似物是依维莫司、麦瑞莫司、诺维莫司、吡美莫司、瑞达莫司(ridaforolimus)、他克莫司、替西罗莫司、乌米莫司、佐他莫司、CCI-779、C20-甲代烯丙基雷帕霉素、C16-(S)-3-甲基吡啶雷帕霉素、C16-iRap、AP21967、霉酚酸钠、盐酸贝尼地平、AP23573或AP1903或其代谢物、衍生物和/或组合。在一些实施方案中,配体是IMiD类药物(例如沙利度胺、泊马度胺、来那度胺或相关类似物)。

[0110] 因此,在一些实施方案中,本文描述的用于化学物质诱导信号传导复合物的方法中使用的配体或试剂可包括:

[0111] 雷帕霉素(包括类似物、衍生物,以及包括其药学上可接受的盐)。雷帕霉素可包括西罗莫司、雷帕鸣、(3S,6R,7E,9R,10R,12R,14S,15E,17E,19E,21S,23S,26R,27R,34aS)-9,10,12,13,14,21,22,23,24,25,26,27,32,33,34,34a-十六氢-9,27-二羟基-3-[(1R)-2-[(1S,3R,4R)-4-羟基-3-甲氧基环己基]-1-甲基乙基]-10,21-二甲氧基-6,8,12,14,20,26-六甲基-23,27-环氧-3H-吡啶并[2,1-c][1,4]氧杂氮杂环三十一碳烷-1,5,11,28,29(4H,6H,31H)-戊酮);

[0112] 依维莫司(包括类似物、衍生物,以及包括其药学上可接受的盐)。依维莫司可包括RAD001、Zortress、Certican、Afinitor、Votubia、42-O-(2-羟乙基)雷帕霉素、(1R,9S,12S,

15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28E,30S,32S,35R)-1,18-二羟基-12-[(2R)-1-[(1S,3R,4R)-4-(2-羟基乙氧基)-3-甲氧基环己基]丙烷-2-基]-19,30-二甲氧基-15,17,21,23,29,35-六甲基-11,36-二氧杂-4-氮杂三环[30.3.1.0^{4,9}]三十六碳-16,24,26,28-四烯-2,3,10,14,20-戊酮)；

[0113] 麦瑞莫司(包括类似物、衍生物,以及包括其药学上可接受的盐)。麦瑞莫司可包括 SAR943、42-0-(四氢呋喃-3-基)雷帕霉素(麦瑞莫司-1);42-0-(氧杂环丁-3-基)雷帕霉素(麦瑞莫司-2)、42-0-(四氢吡喃-3-基)雷帕霉素(麦瑞莫司-3)、42-0-(4-甲基,四氢呋喃-3-基)雷帕霉素、42-0-(2,5,5-三甲基,四氢呋喃-3-基)雷帕霉素、42-0-(2,5-二乙基-2-甲基,四氢呋喃-3-基)雷帕霉素、42-0-(2H-吡喃-3-基,四氢-6-甲氧基-2-甲基)雷帕霉素或 42-0-(2H-吡喃-3-基,四氢-2,2-二甲基-6-苯基)雷帕霉素)；

[0114] 诺维莫司(包括类似物、衍生物,以及包括其药学上可接受的盐)。诺维莫司可包括 16-0-去甲基雷帕霉素)；

[0115] 毗美莫司(包括类似物、衍生物,以及包括其药学上可接受的盐)。毗美莫司可包括 Elidel、(3S,4R,5S,8R,9E,12S,14S,15R,16S,18R,19R,26aS)-3-((E)-2-((1R,3R,4S)-4-氯-3-甲氧基环己基)-1-甲基乙烯基)-8-乙基5,6,8,11,12,13,14,15,16,17,18,19,24,26,26a十六氢-5,19-环氧-3H-吡啶并(2,1-c)(1,4)氧杂氮杂环二十三碳烷-1,17,20,21(4H,23H)-四酮33-表-氯-33-脱氧子囊霉素)；

[0116] 地磷莫司(包括类似物、衍生物,以及包括其药学上可接受的盐)。瑞达莫司可包括 AP23573、MK-8669、地磷莫司、(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28E,30S,32S,35R)-12-((1R)-2-((1S,3R,4R)-4-((二甲基氧膦基)氧基)-3-甲氧基环己基)-1-甲基乙基)-1,18-二羟基-19,30-二甲氧基15,17,21,23,29,35-六甲基-11,36-二氧杂-4-氮杂三环(30.3.1.04,9)三十六碳-16,24,26,28-四烯-2,3,10,14,20-戊酮)；

[0117] 他克莫司(包括类似物、衍生物,以及包括其药学上可接受的盐)。他克莫司可包括 FK-506、fujimycin、Prograf、Advagraf、普特彼(protopic)、3S-[3R*[E(1S*,3S*,4S*)],4S*,5R*,8S*,9E,12R*,14R*,15S*,16R*,18S*,19S*,26aR*5,6,8,11,12,13,14,15,16,17,18,19,24,25,26,26a-十六氢-5,19-二羟基-3-[2-(4-羟基-3-甲氧基环己基)-1-甲基乙烯基]-14,16-二甲氧基-4,10,12,18-四甲基-8-(2-丙烯基)-15,19-环氧-3H-吡啶并[2,1-c][1,4]氧杂氮杂环二十三碳烷-1,7,20,21(4H,23H)-四酮,一水合物)；

[0118] 替西罗莫司(包括类似物、衍生物,以及包括其药学上可接受的盐)。替西罗莫司可包括 CCI-779、CCL-779、Torisel、(1R,2R,4S)-3-羟基-2-(羟基甲基)-2-甲基丙酸4-{(2R)-2-[(3S,6R,7E,9R,10R,12R,14S,15E,17E,19E,21S,23S,26R,27R,34aS)-9,27-二羟基-10,21-二甲氧基-6,8,12,14,20,26-六甲基-1,5,11,28,29-五氧代-1,4,5,6,9,10,11,12,13,14,21,22,23,24,25,26,27,28,29,31,32,33,34,34a-二十四氢-3H-23,27-环氧吡啶并[2,1-c][1,4]氧杂氮杂环三十一碳烷-3-基]丙基}-2-甲氧基环己酯)；

[0119] 乌米莫司(包括类似物、衍生物,以及包括其药学上可接受的盐)。乌米莫司可包括 Biolimus、Biolimus A9、BA9、TRM-986、42-0-(2-乙氧基乙基)雷帕霉素)；

[0120] 佐他莫司(包括类似物、衍生物,以及包括其药学上可接受的盐)。佐他莫司可包括 ABT-578、(42S)-42-脱氧-42-(1H-四唑-1-基)-雷帕霉素)；

[0121] C20-甲代烯丙基雷帕霉素(包括类似物、衍生物,以及包括其药学上可接受的盐)。

C20-甲代烯丙基雷帕霉素可包括C20-Marap)；

[0122] C16- (S) -3-甲基吡啶雷帕霉素 (包括类似物、衍生物,以及包括其药学上可接受的盐)。C16- (S) -3-甲基吡啶雷帕霉素可包括C16-iRap)；

[0123] AP21967 (包括类似物、衍生物,以及包括其药学上可接受的盐)。AP21967可包括C-16- (S) -7-甲基吡啶雷帕霉素)；

[0124] 霉酚酸钠 (包括类似物、衍生物,以及包括其药学上可接受的盐)。霉酚酸钠可包括CellCept、Myfortic、(4E) -6- (4-羟基-6-甲氧基-7-甲基-3-氧代-1,3-二氢-2-苯并呋喃-5-基) -4-甲基己-4-烯酸)；

[0125] 盐酸贝尼地平 (包括类似物、衍生物,以及包括其药学上可接受的盐)。盐酸贝尼地平可包括Benidipinum、Coniel)；或

[0126] AP1903 (包括类似物、衍生物,以及包括其药学上可接受的盐)。AP1903可包括Rimiducid、[(1R) -3- (3,4-二甲氧基苯基) -1-[3-[2-[2-[2-[3-[(1R) -3- (3,4-二甲氧基苯基) -1-[(2S) -1-[(2S) -2- (3,4,5-三甲氧基苯基) 丁酰基]哌啶-2-羰基]氧丙基]苯氧基]乙酰基]氨基]乙基氨基]-2-氧代乙氧基]苯基]丙基] (2S) -1-[(2S) -2- (3,4,5-三甲氧基苯基) 丁酰基]哌啶-2-羧酸酯)；

[0127] 或其任意组合。

[0128] 如本文中所用,术语“赤霉素”是指二萜酸的合成形式或天然存在的形式,其通过质体中的萜类化合物途径合成,然后在内质网和细胞溶质中被修饰直至它们达到其生物活性形式。赤霉素可以是天然赤霉素或其类似物,包括例如源自映-赤霉烷骨架的赤霉素,或经映-贝壳杉烯合成的赤霉素,包括赤霉素1 (GA1)、GA2、GA3...GA136及其类似物和衍生物。在一些实施方案中,赤霉素或其类似物或衍生物用于CISC二聚化。

[0129] 如本文中所用,“SLF-TMP”或“与三甲氧苄氨嘧啶连接的FKBP的合成配体”是指用于CISC二聚化的二聚化因子(dimerizer)。在一些实施方案中,SLF部分与第一CISC组分结合,TMP部分与第二CISC组分结合,引起CISC二聚化。在一些实施方案中,SLF可与例如FKBP结合,TMP可与大肠杆菌二氢叶酸还原酶(eDHFR)结合。

[0130] 如本文中所用,术语“同时结合”是指配体通过两个或更多个CISC组分同时结合,或者在一些情况下,基本上同时结合,以形成包含CISC组分和配体组分的多组分复合物,并导致随后的信号激活。同时结合需要CISC组分在空间上被配置为结合单个配体,并且两个CISC组分均被配置为与同一配体结合,包括与同一配体上的不同部分结合。

[0131] 如本文中所用,术语“选择性扩增”是指所需细胞 (例如哺乳动物细胞) 或所需细胞群 (诸如哺乳动物细胞群) 扩增的能力。在一些实施方案中,选择性扩增是指已经历两次遗传修饰事件的纯细胞群 (诸如哺乳动物细胞) 的产生或扩增。二聚化CISC的一个组分是一个修饰的部分,并且另一个组分是另一个修饰。因此,异二聚化CISC的一个组分与每个遗传修饰相关联。将细胞暴露于配体只允许具有两种所需修饰的细胞 (诸如哺乳动物细胞) 的选择性扩增。因此,在一些实施方案中,能够响应与配体接触的唯一细胞,诸如哺乳动物细胞,是表达异二聚化CISC的两种组分的那些细胞。

[0132] 如本文中所用,“宿主细胞”包括易于用核酸构建体或载体转化、转染或转导的任何细胞类型,诸如哺乳动物细胞。在一些实施方案中,宿主细胞,诸如哺乳动物细胞,是T细胞或T调节性细胞 (Treg)。在一些实施方案中,宿主细胞,诸如哺乳动物细胞,是造血干细

胞。在一些实施方案中,宿主细胞是CD34⁺、CD8⁺或CD4⁺细胞。在一些实施方案中,宿主细胞是选自由以下组成的组的CD8⁺T细胞毒性淋巴细胞:原初CD8⁺T细胞、中枢记忆性CD8⁺T细胞、效应记忆性CD8⁺T细胞和本体CD8⁺T细胞。在一些实施方案中,宿主细胞是选自由以下组成的组的CD4⁺T辅助淋巴细胞:原初CD4⁺T细胞、中枢记忆性CD4⁺T细胞、效应记忆性CD4⁺T细胞和本体CD4⁺T细胞。如本文中所用,术语“细胞群”是指包含不止一个细胞的一组细胞,诸如哺乳动物细胞。在一些实施方案中,制备细胞,诸如哺乳动物细胞,其中所述细胞包含如本文所述的蛋白质序列或编码如本文所述的蛋白质序列的表达载体。

[0133] 如本文中所用,术语“转化的”或“转染的”是指其中已引入了外源多核苷酸分子诸如构建体的细胞(诸如哺乳动物细胞)、组织、器官或生物体。引入的多核苷酸分子可被整合到受者细胞(诸如哺乳动物细胞)、组织、器官或生物体的基因组DNA中,使得引入的多核苷酸分子由后续后代遗传。“转基因”或“转染的”细胞(诸如哺乳动物细胞)或生物体还包括所述细胞或生物体的后代和由育种程序(其采用表现出由于外源多核苷酸分子的存在而导致的改变的表型的此种转基因生物体作为杂交亲本)产生的后代。术语“转基因”是指含有一种或多种异源多核酸分子的细菌、真菌或植物。“转导”是指病毒介导的基因至细胞(诸如哺乳动物细胞)中的转移。

[0134] 如本文中所用,“受试者”是指作为治疗、观察或实验对象的动物。“动物”包括冷血和温血脊椎动物和无脊椎动物诸如鱼类、贝类、爬行动物,特别是哺乳动物。“哺乳动物”包括但不限于小鼠、大鼠、兔、豚鼠、狗、猫、绵羊、山羊、牛、马、灵长类动物,诸如猴子、黑猩猩和猿,特别是人。在一些替代方案中,受试者是人。

[0135] 在一些实施方案中,用于诱导二聚化的配体的有效量是0.01nM、0.02nM、0.03nM、0.04nM、0.05nM、0.06nM、0.07nM、0.08nM、0.09nM、0.1nM、0.2nM、0.3nM、0.4nM、0.5nM、0.6nM、0.7nM、0.8nM、0.9nM、1.0nM、1.5nM、2.0nM、2.5nM、3.0nM、3.5nM、4.0nM、4.5nM、5.0nM、5.5nM、6.0nM、6.5nM、7.0nM、7.5nM、8.0nM、8.5nM、9.0nM、9.5nM、10nM、11nM、12nM、13nM、14nM、15nM、20nM、25nM、30nM、35nM、40nM、45nM、50nM、55nM、60nM、65nM、70nM、75nM、80nM、85nM、90nM、95nM或100nM的量或在由上述值中的任意两个值限定的范围内的浓度。

[0136] 如本文所述,“标记序列”编码用于选择或追踪蛋白质或具有目标蛋白质的细胞(诸如哺乳动物细胞)的蛋白质。在本文所述的实施方案中,所提供的融合蛋白可包含可在实验(诸如流式细胞术)中选择的标记序列。

[0137] 如本文中所用,“嵌合受体”或“嵌合抗原受体”是指包含抗体或其它蛋白质序列的配体结合结构域的合成设计的受体,所述配体结合结构域与和疾病或病症相关联的分子结合,并且通过间隔子结构域与T细胞的一种或多种细胞内信号传导结构域或其它受体(诸如共刺激结构域)连接。在一些实施方案中,制备细胞,例如哺乳动物细胞,其中所述细胞包含编码融合蛋白的核酸,并且其中所述细胞包含嵌合抗原受体。

[0138] 如本文中所用,“细胞毒性T淋巴细胞”(CTL)是指在其表面上表达CD8的T淋巴细胞(例如,CD8⁺T细胞)。在一些实施方案中,此类细胞优选为抗原处理过的“记忆”T细胞(T_M细胞)。在一些实施方案中,提供了用于融合蛋白分泌的细胞。在一些实施方案中,所述细胞是细胞毒性T淋巴细胞。如本文中所用,“中枢记忆性”T细胞(或“T_{CM}”)是指抗原处理过的CTL,其在其表面上表达CD62L、CCR-7和/或CD45RO,并且与原初细胞相比,不表达CD45RA或具有降低的CD45RA表达。在一些实施方案中,提供了用于融合蛋白分泌的细胞。在一些实施方案

中,细胞是中枢记忆性T细胞(T_{CM})。在一些实施方案中,中枢记忆性细胞对CD62L、CCR7、CD28、CD127、CD45RO和/或CD95的表达呈阳性,并且与原初细胞相比,可具有降低的CD54RA表达。如本文中所用,“效应记忆性”T细胞(或“ T_{EM} ”)是指抗原处理过的T细胞,与中枢记忆性细胞相比,其在其表面上不表达CD62L或具有降低的CD62L表达,并且与原初细胞相比,不表达CD45RA或具有降低的CD45RA表达。在一些实施方案中,提供了用于融合蛋白分泌的细胞。在一些实施方案中,所述细胞是效应记忆性T细胞。在一些实施方案中,与原初细胞或中枢记忆性细胞相比,效应记忆性细胞对CD62L和/或CCR7的表达呈阴性,并且可具有CD28和/或CD45RA的可变表达。

[0139] 如本文中所用,“原初T细胞”是指表达CD62L和/或CD45RA并且与中枢记忆细胞或效应记忆细胞相比,不表达CD45RO-的非抗原处理过的T淋巴细胞。在一些实施方案中,提供了用于融合蛋白分泌的细胞,诸如哺乳动物细胞。在一些实施方案中,细胞,诸如哺乳动物细胞,是原初T干细胞。在一些实施方案中,原初CD8+T淋巴细胞的特征在于包含CD62L、CCR7、CD28、CD127和/或CD45RA的原初T细胞的表型标志物的表达。

[0140] 如本文中所用,“效应”T细胞是指抗原处理过的细胞毒性T淋巴细胞,与中枢记忆性T细胞或原初T细胞相比,其不表达CD62L、CCR7和/或CD28或具有降低的CD62L、CCR7和/或CD28表达,并且对粒酶B和/或穿孔素呈阳性。在一些实施方案中,提供了用于融合蛋白分泌的细胞,诸如哺乳动物细胞。在一些实施方案中,细胞,诸如哺乳动物细胞,是效应T细胞。如本文中所用,细胞,诸如哺乳动物细胞,与中枢记忆性T细胞或原初T细胞相比,不表达CD62L、CCR7和/或CD28或具有降低的CD62L、CCR7和/或CD28表达,并且对粒酶B和/或穿孔素呈阳性。

[0141] 如本文中所用,“表位”是指被包含抗体、T细胞和/或B细胞的免疫系统识别的抗原或分子的一部分。表位通常具有至少7个氨基酸,并且可以是线性或构象表位。在一些实施方案中,提供了表达融合蛋白的细胞,诸如哺乳动物细胞,其中所述细胞还包含嵌合抗原受体。在一些实施方案中,嵌合抗原受体包含可识别癌细胞上的表位的scFv。当用于描述本文公开的各种多肽或核酸时,“分离”或“纯化”是指已经从其天然环境的组分中鉴定出和分离和/或回收的多肽或核酸。优选地,分离的多肽或核酸不与与其天然结合的所有组分结合。其天然环境的污染组分是通常会干扰多肽或核酸的诊断或治疗用途的物质,并且可包括酶、激素和其它蛋白质性质或非蛋白质性质的溶质。在一些实施方案中,提供了方法,其中所述方法包括将本文所述的任一实施方案的核酸或本文所述的任一实施方案的表达载体递送至细菌细胞、哺乳动物细胞或昆虫细胞,使细胞在培养中长大,诱导融合蛋白表达并纯化融合蛋白以用于治疗。

[0142] 关于本文鉴定的CISC序列的“百分比(%)氨基酸序列同一性”被定义为在比对序列以及必要时引入缺口(以实现最大百分比序列同一性)并且不考虑任何保守取代作为序列同一性的一部分之后,对于细胞外结合结构域、铰链结构域、跨膜结构域和/或信号传导结构域中的每一种,候选序列中与参照序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。用于确定氨基酸序列同一性百分比的比对可以在本领域技术范围内的各种方式实现,例如,使用公众可获得的计算机软件,例如BLAST、BLAST-2、ALIGN、ALIGN-2或Megalign(DNASTAR)软件。本领域技术人员可确定用于测量比对的适当参数,包括在所比较的序列的全长上实现最大比对所需的任何算法。例如,使用WU-BLAST-2计算机程序(Altschul等,

Methods in Enzymology, 266:460-480(1996))产生的百分比氨基酸序列同一性值使用几个搜索参数,其中大多数被设置为默认值。未设置为默认值的那些参数(例如,可调参数)用以下值进行设置:重叠跨度=1,重叠分数=0.125,字阈值(word threshold)(T)=11并且评分矩阵=BLOSUM62。在CISC的一些实施方案中,CISC包含细胞外结合结构域、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域,其中每个结构域包含天然结构域的天然形式、合成形式或突变形式或截短形式。在一些实施方案中,任何给定结构域的突变或截短形式包含与本文提供的序列中所示的序列具有100%、95%、90%、85%序列同一性或在由上述百分比中的任意两个百分比限定的范围内的百分比序列同一性的氨基酸序列。

[0143] 如本文中所用,“CISC变体多肽序列”或“CISC变体氨基酸序列”是指如下定义的蛋白质序列,其与本文提供的蛋白质序列或其特定衍生的片段(诸如细胞外结合结构域、铰链结构域、跨膜结构域和/或信号传导结构域的蛋白质序列)具有至少80%、85%、90%、95%、98%或99%氨基酸序列同一性(或由上述百分比中的任意两个百分比限定的范围内的百分比氨基酸序列同一性)。通常,CISC变体多肽或其片段将与所述氨基酸序列或其衍生片段具有至少80%氨基酸序列同一性,更优选至少81%氨基酸序列同一性,更优选至少82%氨基酸序列同一性,更优选至少83%氨基酸序列同一性,更优选至少84%氨基酸序列同一性,更优选至少85%氨基酸序列同一性,更优选至少86%氨基酸序列同一性,更优选至少87%氨基酸序列同一性,更优选至少88%氨基酸序列同一性,更优选至少89%氨基酸序列同一性,更优选至少90%氨基酸序列同一性,更优选至少91%氨基酸序列同一性,更优选至少92%氨基酸序列同一性,更优选至少93%氨基酸序列同一性,更优选至少94%氨基酸序列同一性,更优选至少95%氨基酸序列同一性,更优选至少96%氨基酸序列同一性,更优选至少97%氨基酸序列同一性,更优选至少98%氨基酸序列同一性,以及更优选至少99%氨基酸序列。变体不包括天然蛋白质序列。

[0144] 如本文中所用,“T细胞”或“T淋巴细胞”可来自任何哺乳动物(优选灵长类动物)物种,包括猴子、狗和人。在一些实施方案中,T细胞是同种异体的(来自与接受者受试者相同的物种但不同的供体);在一些实施方案中,T细胞是自体的(供体和接受者是相同的);在一些实施方案中,T细胞是同基因的(供体和接受者是不同的但是为相同的双胞胎)。

[0145] 如在本说明书中所用,无论是在过渡性措辞中还是在权利要求的主体中,术语“包含(comprise(s))”和“包含(comprising)”将被解释为具有开放式含义。也就是说,所述术语与所述短语“至少具有”或“至少包含”将被同义地解释。当在过程的上下文中使用时,术语“包含(comprising)”意指该过程至少包括所述步骤,但可包括另外的步骤。当在化合物、组合物或装置的上下文中使用时,术语“包含(comprising)”意指所述化合物、组合物或装置至少包含所述特征或组分,但也可包括另外的特征或组分。

[0146] 蛋白质序列

[0147] 如本文所述,提供了编码二聚CISC组分的一种或多种蛋白质序列。一种或多种蛋白质序列可具有第一和第二序列。在一些实施方案中,第一序列编码第一CISC组分,其可包含第一细胞外结合结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,第二序列编码第二CISC组分,其可包含第二细胞外结合结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分。在一些实施方案中,第一CISC组分和第二CISC组分被定位成使得当表达时,它们在配体存在的情况下优选同时二聚化。

化学物质诱导的信号传导复合物的实施方案示意性地描绘于图1-2中,所述图还描绘了作为CISC激活的结果的下游信号传导途径,其可包括例如RAS/MAPK/ERK信号传导途径、Akt/PI3K信号传导途径、mTORC1信号传导途径或FOXp3信号传导途径。另外,图2示意性地描绘了诸如本文所述的配体(诸如雷帕霉素或其类似物)存在的情况下由FRB-FKBP二聚化的IL2R β 引起的IL2R信号传导。

[0148] 在一些实施方案中,提供了异二聚双组分CISC的一种或多种蛋白质序列。在一些实施方案中,第一CISC组分是IL2R γ -CISC复合物。图3示意性地描绘了CISC构建体设计,包括具有从跨膜跨度延伸的不同氨基酸序列长度的CISC。如本文中所述以及如图3中示意性所示,变化的氨基酸序列长度可赋予不同程度的柔性。图3中描绘的示意图可以由以下序列涵盖,所述序列通过示例的方式提供示意性构造的细节,并且不旨在限制范围。

[0149] 在一些实施方案中,IL2R γ -CISC包含SEQ ID NO:1中所示的氨基酸序列(MPLGLLWLGLALLGALHAQAGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLDGKKFDSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLGECSNTSKENPFLFALEAVVISVGSMLIISLLCVYFWLERTMPRIPTLKNLEDLVTEYHGNSAWSGVSKGLAESLQPDYSERLCLVSEIPPKGGALGEGPGASPCNQHSPYWAPPCYTLKPET;SEQ ID NO:1)。实施方案还包含编码SEQ ID NO:1的蛋白质序列的核酸序列。

[0150] 在一些实施方案中,IL2R γ -CISC包含SEQ ID NO:3中所示的氨基酸序列(MPLGLLWLGLALLGALHAQAGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLDGKKFDSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLGGGSQNLVIPWAPENLTLHKLSSESQLELNWNNRFLNHCLEHLVQYRTDWDHSWTEQSVDYRHKFSLPSVDGQKRYTFRVRSRFPNPLCGSAQHWSEWSHPHWSNNTSKENPFLFALEAVVISVGSMLIISLLCVYFWLERTMPRIPTLKNLEDLVTEYHGNSAWSGVSKGLAESLQPDYSERLCLVSEIPPKGGALGEGPGASPCNQHSPYWAPPCYTLKPET;SEQ ID NO:3)。实施方案还包含编码SEQ ID NO:3的蛋白质序列的核酸序列。

[0151] 在一些实施方案中,IL2R γ -CISC包含SEQ ID NO:5中所示的氨基酸序列(MPLGLLWLGLALLGALHAQAGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLDGKKFDSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLGGQNLVIPWAPENLTLHKLSSESQLELNWNNRFLNHCLEHLVQYRTDWDHSWTEQSVDYRHKFSLPSVDGQKRYTFRVRSRFPNPLCGSAQHWSEWSHPHWSNNTSKENPFLFALEAVVISVGSMLIISLLCVYFWLERTMPRIPTLKNLEDLVTEYHGNSAWSGVSKGLAESLQPDYSERLCLVSEIPPKGGALGEGPGASPCNQHSPYWAPPCYTLKPET;SEQ ID NO:5)。实施方案还包含编码SEQ ID NO:5的蛋白质序列的核酸序列。

[0152] 在一些实施方案中,IL2R γ -CISC包含SEQ ID NO:7中所示的氨基酸序列(MPLGLLWLGLALLGALHAQAGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLDGKKFDSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLGGCSNTSKENPFLFALEAVVISVGSMLIISLLCVYFWLERTMPRIPTLKNLEDLVTEYHGNSAWSGVSKGLAESLQPDYSERLCLVSEIPPKGGALGEGPGASPCNQHSPYWAPPCYTLKPET;SEQ ID NO:7)。实施方案还包含编码SEQ ID NO:7的蛋白质序列的核酸序列。

[0153] 在一些实施方案中,第一CISC组分的蛋白质序列包括编码细胞外结合结构域、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域的蛋白质序列。实施方案还包含编码细胞外结合结构域,铰链结构域,跨膜结构域或信号传导结构域的核酸序列。在一些实施方案中,包含

第一细胞外结合结构域, 铰链结构域, 跨膜结构域和/或信号结构域的第一CISC组分的蛋白质序列包含氨基酸序列, 所述氨基酸序列包含与SEQ ID NO:1、3、5或7中所示的序列的100%、99%、98%、95%、90%、85%或80%序列同一性, 或具有在由上述百分比中的任意两个百分比限定的范围内的序列同一性。

[0154] 在一些实施方案中, 第二CISC组分是IL2R β 复合物。在一些实施方案中, IL2R β -CISC包含SEQ ID NO:2中所示的氨基酸序列 (MALPVTALLLPLALLLHAARPILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMEFVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRISK GKDTIPWLGHLLVGLSGAFGFIILVYLLINCRNTGPWLKKVLKCNTPDPSKFFS QLSSEHGGDVQKWLSSPFPSSS FSPGGLAPEISPLEVLERDKVTQLLLQQDKVPEPASLSSNHSLTSCFTNQGYFFFHLPDALEIEACQVYFTYDPYS EEDPDEGVAGAPTGSSPQPLQPLSGEDDAYCTFPSRDDLLLFSPSLLGGPSPPSTAPGGSGAGEERMPPSLQERVPRDWDQPPLGPPTPGVPDLVDFQPPPELVLEAGEEVPDAGPREGVSFPWSRPPGQGEFRALNARLPLNTDAYLSLQELQGQDP THLV; SEQ ID NO:2)。实施方案还包含编码SEQ ID NO:2的蛋白质序列的核酸序列。

[0155] 在一些实施方案中, IL2R β -CISC包含SEQ ID NO:4中所示的氨基酸序列 (MALPVTA LLLPLALLLHAARPILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMEFVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQ EWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRISKGGSKPFENLRMAPISLQVVHVETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWS PWSQPLAFRTKPAALGKDTIPWLGHLLVGLSGAFGFIILVYLLINCRNTGPWLKKVLKCNTPDPSKFFS QLSSEHGGDVQKWLSSPFPSSS FSPGGLAPEISPLEVLERDKVTQLLLQQDKVPEPASLSSNHSLTSCFTNQGYFFFHLPDALEIEACQVYFTYDPYSEEDPDEGVAGAPTGSSPQPLQPLSGEDDAYCTFPSRDDLLLFSPSLLGGPSPPSTAPGGSGAGEERMPPSLQERVPRDWDQPPLGPPTPGVPDLVDFQPPPELVLEAGEEVPDAGPREGVSFPWSRPPGQGEFRALNARLPLNTDAYLSLQELQGQDP THLV; SEQ ID NO:4)。实施方案还包含编码SEQ ID NO:4的蛋白质序列的核酸序列。

[0156] 在一些实施方案中, IL2R β -CISC包含SEQ ID NO:6中所示的氨基酸序列 (MALPVTA LLLPLALLLHAARPILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMEFVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQ EWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRISKKPFENLRMAPISLQVVHVETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTWEEAPLLTLKQKQEWICLETLPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWS PWSQPLAFRTKPAALGKDTIPWLGHLLVGLSGAFGFIILVYLLINCRNTGPWLKKVLKCNTPDPSKFFS QLSSEHGGDVQKWLSSPFPSSS FSPGGLAPEISPLEVLERDKVTQLLLQQDKVPEPASLSSNHSLTSCFTNQGYFFFHLPDALEIEACQVYFTYDPYSEEDPDEGVAGAPTGSSPQPLQPLSGEDDAYCTFPSRDDLLLFSPSLLGGPSPPSTAPGGSGAGEERMPPSLQERVPRDWDQPPLGPPTPGVPDLVDFQPPPELVLEAGEEVPDAGPREGVSFPWSRPPGQGEFRALNARLPLNTDAYLSLQELQGQDP THLV; SEQ ID NO:6)。实施方案还包含编码SEQ ID NO:6的蛋白质序列的核酸序列。

[0157] 在一些实施方案中, IL2R β -CISC包含SEQ ID NO:8中所示的氨基酸序列 (MALPVTA LLLPLALLLHAARPILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMEFVLEPLHAMMERGPQTLKETS WLGHLLVGLSGAFGFIILVYLLINCRNTGPWLKKVLKCNTPDPSKFFS QLSSEHGGDVQKWLSSPFPSSS FSPGGLAPEISPLEVLERDKVTQLLLQQDKVPEPASLSSNHSLTSCFTNQGYFFFHLPDALEIEACQVYFTYDPYSEEDPDEGVAGAPTGSSPQPLQPLSGEDDAYCTFPSRDDLLLFSPSLLGGPSPPSTAPGGSGAGEERMPPSLQERVPRDWDQPPLGPPTPGVPDLVDFQPPPELVLEAGEEVPDAGPREGVSFPWSRPPGQGEFRALNARLPLNTDAYLSLQELQGQDP THLV; SEQ ID NO:8)。实施方案还包含编码SEQ ID NO:8的蛋白质序列的核酸序列。

[0158] 在一些实施方案中, 第二CISC组分是IL7R α 复合物。在一些实施方案中, IL7R α -CISC包含SEQ ID NO:9中所示的氨基酸序列 (MALPVTALLLPLALLLHAARPILWHEMWHEGLEEASRL

YFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAEQWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISK
GEINNSSGEMDPILLTISILSFFSVALLVILACVLWKKRIKPIVWPSLPDHKKTLEHLCKKPRKNLNVSNPESFL
DCQIHRVDDIQARDEVEGFLQDTFPQQLEESEKQRLGGDVQSPNCPSEDVVITPESFGRDSSLTCLAGNVSACDAP
ILSSSRSLDCRESGKNGPHVYQDLLLSLGTNTSLPPPFSLSQSGILTLNPVAQGGPIILTSLGSNQEEAYVTMSSFY
QNQ;SEQ ID NO:9)。实施方案还包含编码SEQ ID NO:9的蛋白质序列的核酸序列。

[0159] 在一些实施方案中,第二CISC组分的蛋白质序列包括编码细胞外结合结构域、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域的蛋白质序列。实施方案还包含编码第二CISC组分的细胞外结合结构域、铰链结构域、跨膜结构域或信号传导结构域的核酸序列。在一些实施方案中,包含第二细胞外结合结构域、铰链结构域、跨膜结构域和/或信号结构域的第二CISC组分的蛋白质序列包含氨基酸序列,所述氨基酸序列包含与SEQ ID NO:2、4、6、8或9中所示的序列的100%、99%、98%、95%、90%、85%或80%序列同一性,或具有在由上述百分比中的任意两个百分比限定的范围内的序列同一性。

[0160] 在一些实施方案中,蛋白质序列可包括接头。在一些实施方案中,接头包含1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸(诸如甘氨酸),或在由上述数目中的任意两个数目限定的范围内的许多氨基酸(诸如甘氨酸)。在一些实施方案中,甘氨酸间隔子包含至少3个甘氨酸。在一些实施方案中,甘氨酸间隔子包含SEQ ID NO:15(GGG;SEQ ID NO:15)、SEQ ID NO:16(GGGGG;SEQ ID NO:16)或SEQ ID NO:17(GGG;SEQ ID NO:17)中所示的序列。实施方案还包含编码SEQ ID NO:15-17的核酸序列。在一些实施方案中,跨膜结构域位于信号传导结构域的N末端,铰链结构域位于跨膜结构域的N末端,接头位于铰链结构域的N末端,细胞外结合结构域位于接头的N末端。

[0161] 在一些实施方案中,提供了同二聚双组分CISC的一种或多种蛋白质序列。在一些实施方案中,第一CISC组分是IL2R γ -CISC复合物。在一些实施方案中,IL2R γ -CISC包含SEQ ID NO:11中所示的氨基酸序列(MPLGLLWLGLALLGALHAQAGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLDGGKVDSSRDRNKPFFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDV ELLKLEGGNNTSKENPFLFALEAVVISVGSMLIISLLCVYFWLERTMPRIPTLKNLEDLVTEYHGNFSAWSGVSK GLAESLQPDYSERLCLVSEIPPKGGALGEGPGASPCNQHSPIWAPPCYTLKPET;SEQ ID NO:11)。实施方案还包含编码SEQ ID NO:11的蛋白质序列的核酸序列。

[0162] 在一些实施方案中,第一CISC组分的蛋白质序列包括编码细胞外结合结构域、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域的蛋白质序列。实施方案还包含编码细胞外结合结构域、铰链结构域、跨膜结构域或信号传导结构域的核酸序列。在一些实施方案中,包含第一细胞外结合结构域、铰链结构域、跨膜结构域和/或信号结构域的第一CISC组分的蛋白质序列包含氨基酸序列,所述氨基酸序列包含与SEQ ID NO:11中所示的序列的100%、99%、98%、95%、90%、85%或80%同一性,或具有在由上述百分比中的任意两个百分比限定的范围内的序列同一性。

[0163] 在一些实施方案中,第二CISC组分是IL2R β 复合物或IL2R α 复合物。在一些实施方案中,IL2R β -CISC包含SEQ ID NO:10中所示的氨基酸序列(MPLGLLWLGLALLGALHAQAGVQVETISPGDGRTPFKRGQTCVVHYTGMLDGGKVDSSRDRNKPFFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLEGGKDTIPWLGHLLVGLSGAFGFIILVYLLINCRNTGPWLKKVLKCNTPDPS KFFSQLSSEHGGDVQKWLSSPFPSSSFSPGGLAPEISPLEVLERDKVTQLLLQQDKVPEPASLSSNHSLTSCFTNQ

GYFFFHLPDALEIEACQVYFTYDPYSEEDPDEGVAGAPTGSSPQLQLSGEDDAYCTFSPSRDDLLLFSPSLLGGP
SPPSTAPGGSGAGEERMPPSLQERVPRDWDQPPLGPPTPGVPDLVDFQPPPELVLEAGEEVPDAGPREGVSFPWS
RPPGQGEFRALNARLPLNTDAYLSLQELQGQDPHTLV;SEQ ID NO:10)。实施方案还包含编码SEQ ID
NO:10的蛋白质序列的核酸序列。

[0164] 在一些实施方案中,IL2R α -CISC包含SEQ ID NO:12中所示的氨基酸序列(MPLGLL
WLGLALLGALHAQAGVQVETISPGDGRTFPGKRGQTCVVHYTGMLDGGKKVDSSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRGWEEG
VAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLEGEINNSSGEMDPILLTISILSFFSVALLVIL
ACVLWKKRIKPIVWPSLPDHKKTLEHLCKKPRKNLNVSFNPESFLDCQIHRVDDIQRARDEVEGFLQDTFPQQLEES
EKQRLGGDVQSPNCPSEDVVITPESFGRDSSLTCLAGNVSACDAPILSSSRSLDCRESGKNGPHVYQDLLLLSLGTT
NSTLPPPFSLQSGILTLPVPAQGGPIILTSLSGNQEEAYVTMSSFYQNN;SEQ ID NO:12)。实施方案还包含
编码SEQ ID NO:12的蛋白质序列的核酸序列。

[0165] 在一些实施方案中,第二CISC组分的蛋白质序列包括编码细胞外结合结构域、铰
链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域的蛋白质序列。实施方案还包含编码第二CISC组
分的细胞外结合结构域、铰链结构域、跨膜结构域或信号传导结构域的核酸序列。在一些实
施方案中,包含第二细胞外结合结构域、铰链结构域、跨膜结构域和/或信号结构域的第二
CISC组分的蛋白质序列包含氨基酸序列,所述氨基酸序列包含与SEQ ID NO:10或SEQ ID
NO:12中所示的序列的100%、99%、98%、95%、90%、85%或80%序列同一性,或具有在由
上述百分比中的任意两个百分比限定的范围内的序列同一性。

[0166] 在一些实施方案中,蛋白质序列可包括接头。在一些实施方案中,接头包含1个、2
个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸(诸如甘氨酸),或在由上述数目中的任意
两个数目限定的范围内的许多氨基酸(诸如甘氨酸)。在一些实施方案中,甘氨酸间隔子包
含至少3个甘氨酸。在一些实施方案中,甘氨酸间隔子包含SEQ ID NO:15(GGG;SEQ ID NO:
15)、SEQ ID NO:16(GGGSGG;SEQ ID NO:16)或SEQ ID NO:17(GGG;SEQ ID NO:17)中所示
的序列。实施方案还包含编码SEQ ID NO:15-17的核酸序列。在一些实施方案中,跨膜结构
域位于信号传导结构域的N末端,铰链结构域位于跨膜结构域的N末端,接头位于铰链结构
域的N末端,细胞外结合结构域位于接头的N末端。

[0167] 在一些实施方案中,用于同二聚化双组分CISC的序列包含FKBPF36V结构域以用于
与配体AP1903同二聚化。

[0168] 在一些实施方案中,提供了用于单组分同二聚化CISC的一种或多种蛋白质序列。
在一些实施方案中,单组分CISC是IL7R α -CISC复合物。在一些实施方案中,IL7R α -CISC包含
SEQ ID NO:13中所示的氨基酸序列(MPLGLLWLGLALLGALHAQAGVQVETISPGDGRTFPGKRGQTCVVH
YTGMLDGGKKVDSSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDV
ELLKLEGEINNSSGEMDPILLTISILSFFSVALLVILACVLWKKRIKPIVWPSLPDHKKTLEHLCKKPRKNLNVSF
NPESFLDCQIHRVDDIQRARDEVEGFLQDTFPQQLEESEKQRLGGDVQSPNCPSEDVVITPESFGRDSSLTCLAGNV
SACDAPILSSSRSLDCRESGKNGPHVYQDLLLLSLGTTNSTLPPPFSLQSGILTLPVPAQGGPIILTSLSGNQEEAYV
TMSSFYQNN;SEQ ID NO:13)。实施方案还包含编码SEQ ID NO:13的蛋白质序列的核酸序列。

[0169] 在一些实施方案中,单组分CISC是MPL-CISC复合物。在一些实施方案中,MPL-CISC
包含SEQ ID NO:14中所示的氨基酸序列(MPLGLLWLGLALLGALHAQAGVQVETISPGDGRTFPGKRGQTC
VVHYTGMLDGGKKVDSSSRDRNKPFFKMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATL

VFDVELLKLGEETAWISLVTALHLVLGLSAVLGLLLLRWQFPAHYRRLRHALWPSLPDLHRVLGQYLRDTAALSPP
KATVSDTCEEVEPSLLEILPKSSERTPLPLCSSQAQMDYRRLQPSCLGTMPLSVCPMAESGSCCTTHIANHSYLP
LSYWQQP;SEQ ID NO:14)。实施方案还包含编码SEQ ID NO:14的蛋白质序列的核酸序列。

[0170] 在一些实施方案中,单组分CISC的蛋白质序列包括编码细胞外结合结构域、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域的蛋白质序列。实施方案还包含编码细胞外结合结构域、铰链结构域、跨膜结构域或信号传导结构域的核酸序列。在一些实施方案中,包含第一细胞外结合结构域、铰链结构域、跨膜结构域和/或信号结构域的第一CISC组分的蛋白质序列包含氨基酸序列,所述氨基酸序列包含与SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:14中所示的序列的100%、99%、98%、95%、90%、85%或80%序列同一性,或具有在由上述百分比中的任意两个百分比限定的范围内的序列同一性。

[0171] 在一些实施方案中,蛋白质序列可包括接头。在一些实施方案中,接头包含1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸(诸如甘氨酸),或在由上述数目中的任意两个数目限定的范围内的许多氨基酸(诸如甘氨酸)。在一些实施方案中,甘氨酸间隔子包含至少3个甘氨酸。在一些实施方案中,甘氨酸间隔子包含SEQ ID NO:15(GGG;SEQ ID NO:15)、SEQ ID NO:16(GGGSGG;SEQ ID NO:16)或SEQ ID NO:17(GGG;SEQ ID NO:17)中所示的序列。实施方案还包含编码SEQ ID NO:15-17的核酸序列。在一些实施方案中,跨膜结构域位于信号传导结构域的N末端,铰链结构域位于跨膜结构域的N末端,接头位于铰链结构域的N末端,细胞外结合结构域位于接头的N末端。

[0172] 在一些实施方案中,用于同二聚化单组分CISC的序列包含FKBPF36V结构域以用于与配体AP1903同二聚化。

[0173] 用于表达二聚CISC组分的载体

[0174] 可以构建多种载体组合以提供有效的转导和转基因表达。在一些实施方案中,载体是病毒载体。在其它实施方案中,载体可包括病毒载体与质粒载体的组合。其它病毒载体包括泡沫病毒、腺病毒载体、腺相关病毒(AAV)载体、逆转录病毒载体和/或慢病毒载体。在一些实施方案中,载体是慢病毒载体。在一些实施方案中,载体是泡沫病毒载体、腺病毒载体、逆转录病毒载体或慢病毒载体。在一些实施方案中,载体用于在细菌系统(诸如大肠杆菌)中表达蛋白质。在其它实施方案中,第一载体可编码第一CISC组分,其包含第一细胞外结合结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分,而第二载体可编码第二CISC组分,其包含第二细胞外结合结构域或其部分、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域或其部分。

[0175] 在一些实施方案中,表达载体包含编码SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8和9的蛋白质序列的核酸。在一些实施方案中,表达载体包含SEQ ID NO:20中所示的核酸序列(AGCTTAA
TG TAGTCTTATGCAATACTCTGTAGTCTTGCAACATGGTAACGATGAGTTAGCAACATGCCTTACAAGGAGAGAA
AAAGCACCGTGCATGCCGATTGGTGAAGTAAGGTGGTACGATCGTGCCTTATTAGGAAGGCAACAGACGGGTCTG
ACATGGATTGGACGAACCACTGAATTGCCGCATTGCAGAGATATTGTATTTAAGTGCCTAGCTCGATACAATAAAC
GGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCAAT
AAAGCTTGCCTTGAGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACC
CTTTTAGTCAGTGTGAAAAATCTCTAGCAGTGGCGCCGAACAGGGACTTGAAAGCGAAAGGGAAACCAGAGGAGC
TCTCTCGACGCAGGACTCGGCTTGCTGAAGCGCGCACGGCAAGAGGCGAGGGGCGGCGACTGGTGAGTACGCCAAA

AATTTTGA CTAGCGGAGGCTAGAAGGAGAGAGATGGGTGCGAGAGCGTCAGTATTAAGCGGGGGAGAATTAGATCG
CGATGGGAAAAAATTCGGTTAAGGCCAGGGGAAAGAAAAATATAAATTA AAAACATATAGTATGGGCAAGCAGGG
AGCTAGAACGATTTCGCAGTTAATCCTGGCCTGTTAGAAACATCAGAAGGCTGTAGACAAATACTGGGACAGCTACA
ACCATCCCTTCAGACAGGATCAGAAGAACTTAGATCATTATATAATACAGTAGCAACCCTCTATTGTGTGCATCAA
AGGATAGAGATAAAAAGACACCAAGGAAGCTTTAGACAAGATAGAGGAAGAGCAAAACAAAAGTAAGACCACCGCAC
AGCAAGCGGCCGCTGATCTTCAGACCTGGAGGAGGAGATATGAGGGACAATTGGAGAAGTGAATTATATAAATATA
AAGTAGTAAAAATTGAACCATTAGGAGTAGCACCCACCAAGGCAAAGAGAAGAGTGGTGCAGAGAGAAAAAGAGC
AGTGGGAATAGGAGCTTTGTTCCCTTGGGTTCTTGGGAGCAGCAGGAAGCACTATGGGCGCAGCCTCAATGACGCTG
ACGGTACAGGCCAGACAATTATTGTCTGGTATAGTGCAGCAGCAGAAACAATTTGCTGAGGGCTATTGAGGCGCAAC
AGCATCTGTTGCAACTCACAGTCTGGGGCATCAAGCAGCTCCAGGCAAGAATCCTGGCTGTGGAAAGATACCTAAA
GGATCAACAGCTCCTGGGGATTGGGGTTGCTCTGGA AA ACTCATTTGCACCACTGCTGTGCCTTGGAATGCTAGT
TGGAGTAATAAATCTCTGGAACAGATTTGGAATCACACGACCTGGATGGAGTGGGACAGAGAAATTAACAATTACA
CAAGCTTAATACACTCCTTAATTGAAGAATCGAAAACCAGCAAGAAAAGAATGAACAAGAATTATTGGAATTAGA
TAAATGGGCAAGTTTGTGGAATTGGTTTAACATAACAAATTGGCTGTGGTATATAAAATTTATTCATAATGATAGTA
GGAGGCTTGGTAGGTTTAAGAATAGTTTTTGTCTGTA CTTTCTATAGTGAATAGAGTTAGGCAGGGATATTCACCAT
TATCGTTTCAGACCCACCTCCCAACCCCGAGGGGACCCGACAGGCCCGAAGGAATAGAAGAAGAAGGTGGAGAGAG
AGACAGAGACAGATCCATTTCGATTAGTGAACGGATCTCGACGGTATCGGTTAACTTTTAAAAGAAAAGGGGGGATT
GGGGGGTACAGTGCAGGGGAAAGAATAGTAGACATAATAGCAACAGACATACAACTAAAGAATTACAAAAACAAA
TTACAAAAATTCAAAATTTTATCGATCACGAGACTAGCCTCGAGAAGCTTGATATCGAATTCACGCGGGTTGGAC
GCGTAGGAACAGAGAAACAGGAGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGG
CCAAGAACAGTTGGAACAGCAGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGC
CAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCCGCCCTCAGCAGTTTCTAGAGAACCATCAGATGTTTCCAGGGTGCCC
CAAGGACCTGAAATGACCTGTGCCTTATTTGAACTAACCAATCAGTTCGCTTCTCGCTTCTGTTCGCGCGCTTCT
GCTCCCCGAGCTCTATATAAGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGTCAGATCGCTAGCACCGGTGCCGCCACCATGCCT
CTGGGCCTGCTGTGGCTGGGCCTGGCCCTGCTGGGCGCCCTGCACGCCCAGGCCGGCGTGCAGGTGGAGACAATCT
CCCCAGGCGACGGACGCACATTCCCTAAGCGGGGCCAGACCTGCGTGCTGCACTATACAGGCATGCTGGAGGATGG
CAAGAAGTTTGACAGCTCCCGGGATAGAAACAAGCCATTCAAGTTTATGCTGGGCAAGCAGGAAGTGATCAGAGGC
TGGGAGGAGGGCGTGGCCCAGATGTCTGTGGGCCAGAGGGCCAAGCTGACCATCAGCCCAGACTACGCCTATGGAG
CAACAGGCCACCCAGGAATCATCCACCTCACGCCACCCTGGTGTTTCGATGTGGAGCTGCTGAAGCTGGGCGAGGG
ATCCAACACATCAAAAGAGAACCCCTTTCTGTTTCGATTGGAGGCCGTAGTCATATCTGTTGGATCCATGGGACTT
ATTATCTCCCTGTTGTGTGTGTA CTTCTGGCTGGAACGGA CTA TGGCCAGGATCCCCACGCTCAAGAATCTGGAAG
ATCTCGTCACAGAATACCATGGTAATTTAGCGCCTGGAGCGGAGTCTCTAAGGGTCTGGCCGAATCCCTCCAACC
CGATTATTCTGAACGGTTGTGCCTCGTATCCGAAATACCACCAAAAGGCGGGGCTCTGGGTGAGGGCCCAGGGGCG
AGTCCGTGCAATCAACACAGCCCGTATTGGGCCCTCCTTGTTATACGTTGAAGCCCGAAACTGGAAGCGGAGCTA
CTAACTTCAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAACCCTGGACCTATGGCACTGCCCCGTGACCGCCCT
GCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCCGCCTATCCTGTGGCACGAGATGTGGCACGAGGGCCTGGAG
GAGGCCAGCAGGCTGTATTTTGGCGAGCGCAACGTGAAGGGCATGTTTCGAGGTGCTGGAGCCTCTGCACGCCATGA
TGGAGAGAGGGCCACAGACCCTGAAGGAGACATCCTTTAACAGGCCTATGGACGGGACCTGATGGAGGCACAGGA
GTGGTGCAGAAAGTACATGAAGTCTGGCAATGTGAAGGACCTGCTGCAGGCCTGGGATCTGTACTATCACGTGTTT

CGGAGAATCTCCAAGGGCAAAGACACGATTCCGTGGCTTGGGCATCTGCTCGTTGGGCTGAGTGGTGCGTTTGGTT
TCATCATCTTGGTCTATCTCTTGATCAATTGCAGAAATACAGGCCCTTGGCTGAAAAAGTGCTCAAGTGTAATAC
CCCCGACCCAAGCAAGTTCTTCTCCCAGCTTTCTTCAGAGCATGGAGGCGATGTGCAGAAATGGCTCTCTTCACCT
TTTCCCTCCTCAAGCTTCTCCCCGGGAGGGCTGGCGCCCGAGATTTACCTCTTGAGGTACTTGAACGAGACAAGG
TTACCCAACCTTCTCCTTCAACAGGATAAGGTACCCGAACCTGCGAGCCTTAGCTCCAACCACTCTCTTACGAGCTG
CTTCACCAATCAGGGATACTTCTTTTTCCACCTTCCCGATGCGCTGGAAATCGAAGCTTGTCAAGTTTACTTTACC
TATGATCCATATAGCGAGGAAGATCCCGACGAAGGAGTCGCCGGTGGCGCCACGGGTTCCCTACCCCCAACCTCTCC
AGCCTCTCTCAGGAGAAGATGATGCTTATTGCACTTTTCCCAGTAGAGACGATCTCCTCCTCTTTTCTCCATCTCT
TTTGGGGGGACCTTCCCCCCTTCTACGGCACCTGGCGGGTCTGGTGCTGGCGAGGAGCGGATGCCGCCGTCCCTC
CAGGAGCGAGTACCACGAGATTGGGATCCCCAGCCACTTGGACCCCCACCCCCGGCGTACCTGACCTTGTGCGATT
TTCAACCTCCCCCTGAATTGGTGCTGCGAGAGGCTGGGGAGGAAGTTCCGGACGCTGGGCCGAGGGAGGGCGTGTC
CTTTCCATGGAGTAGGCCTCCAGGTCAAGGCGAGTTTAGGGCTCTCAACGCGCGGCTGCCGTTGAATACAGACGCT
TATCTCTCACTGCAGGAACGCAAGGTCAGGACCCAACACATCTTGAGGATCTGGTGCTACTAATTTTTCTCTTT
TGAAGCAAGCTGGAGATGTTGAAGAGAACCCTGGTCCAGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTACCGGGGTGGTGCC
CATCCTGGTCGAGCTGGACGGCGACGTAAACGGCCACAAGTTCAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCACC
TACGGCAAGCTGACCCTGAAGTTCATCTGCACCACGGCAAGCTGCCCCGTGCCCTGGCCCACCCTCGTGACCACCC
TGACCTACGGCGTGCAGTGCTTCAGCCGCTACCCCGACCACATGAAGCAGCACGACTTCTTCAAGTCCGCCATGCC
CGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTC
GAGGGCGACACCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGGCACA
AGCTGGAGTACAACCTACAACAGCCACAACGTCTATATCATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCATCAAGGTGAACCT
CAAGATCCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCGACCACTACCAGCAGAACACCCCCATCGGCGAC
GGCCCCGTGCTGCTGCCCGACAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCG
ATCACATGGTCCTGCTGGAGTTCGTGACCGCCGCCGGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTACAAGTAACTAG
TGTCGACAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTACG
CTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTGT
ATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTT
TGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCCCTC
CCTATTGCCACGGCGGAACCTCATCGCCGCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACA
ATTCCGTGGTGTTGTGCGGGAAGCTGACGTCCTTTCCATGGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGG
GACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGG
CCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCCTCCCCGCCTGGAATTCGAG
CTCGGTACCTTTAAGACCAATGACTTACAAGGCAGCTGTAGATCTTAGCCACTTTTTAAAGAAAAGGGGGGACTG
GAAGGGCTAATCACTCCCAACGAAGACAAGATCTGCTTTTTGCTTGTACTGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCT
GAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCCTTGAGTGCTTCAAGT
AGTGTGTGCCCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCCTTTAGTCAGTGTGGAATCTCT
AGCAGTAGTAGTTCATGTCATCTTATTATTCAGTATTTATAACTTGCAAAGAAATGAATATCAGAGAGTGAGAGGA
ACTTGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTCACAAATAAAGCATTTTTTTC
ACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTCATCAATGTATCTTATCATGTCTGGCTCTAGCTATCCCGCCCTAA
CTCCGCCAGTTCCGCCCATCTCCGCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTC

GGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCTTTTGCCTCGAGACGTACCCAATT
CGCCCTATAGTGAGTCGTATTACGCGCGCTCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCTGGCGT
TACCCAACTTAATCGCCTTGACGACATCCCCCTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGC
CCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGCGGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTG
TGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTT
TCTCGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTA
CGGCACCTCGACCCCCAAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTC
GCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTC
GGTCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAA
TTTAACGCGAATTTTAACAAAAATATTAACGTTTACAATTTCCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAAC
CCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAA
TAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTTCGGGCATTTTGCC
TTCTGTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTGA
CATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACT
TTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCGCATACACT
ATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATT
ATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAG
CTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCA
TACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAAGTGGCGAACT
ACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCG
GCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCAC
TGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAA
TAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACCTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTT
TAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAA
TCCCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTT
TTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTCGCGGATCAAGAG
CTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGT
AGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGC
TGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGCGGC
TGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCAGCTTGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGC
TATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGA
GCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTGCGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAG
CGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCCTTTTTACGTTCC
TGGCCTTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGC
CTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGACGCCAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAG
CGCCCAATACGCAAAACGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCAATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACT
GGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGCTTTACACTTTAT
GCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTAC
GCCAAGCGCGCAATTAACCCTCACTAAAGGGAACAAAAGCTGGAGCTGCA;SEQ ID NO:20)。SEQ ID NO:20

编码如SEQ ID NO:7和8中所示的蛋白质序列。

[0176] 在一些实施方案中,表达载体是如SEQ ID NO:18中所示的SEQ ID NO:20的变体 (AGCTTAATGTAGTCTTATGCAATACTCTTGTAGTCTTGCAACATGGTAACGATGAGTTAGCAACATGCCTTACAA GGAGAGAAAAAGCACCGTGCATGCCGATTGGTGGAAGTAAGGTGGTACGATCGTGCCTTATTAGGAAGGCAACAGA CGGGTCTGACATGGATTGGACGAACCACTGAATTGCCGCATTGCAGAGATATTGTATTAAAGTGCCTAGCTCGATA CAATAAACGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAA GCCTCAATAAAGCTTGCCTTGAGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGATCC CTCAGACCCTTTTAGTCAGTGTGGAAAATCTCTAGCAGTGGCGCCCGAACAGGGACTTGAAAGCGAAAGGGAAACC AGAGGAGCTCTCTCGACGCAGGACTCGGCTTGCTGAAGCGCGCACGGCAAGAGGCGAGGGGCGGCGACTGGTGAGT ACGCCAAAAATTTGACTAGCGGAGGCTAGAAGGAGAGAGATGGGTGCGAGAGCGTCAGTATTAAGCGGGGGAGAA TTAGATCGCGATGGGAAAAAATTCGGTTAAGGCCAGGGGAAAGAAAAAATATAAATTAAACATATAGTATGGGC AAGCAGGGAGCTAGAACGATTTCGCAGTTAATCCTGGCCTGTTAGAAACATCAGAAGGCTGTAGACAAATACTGGGA CAGCTACAACCATCCCTTCAGACAGGATCAGAAGAACTTAGATCATTATATAATACAGTAGCAACCCTCTATTGTG TGCATCAAAGGATAGAGATAAAAGACACCAAGGAAGCTTTAGACAAGATAGAGGAAGAGCAAAACAAAAGTAAGAC CACCGCACAGCAAGCGGCCGCTGATCTTCAGACCTGGAGGAGGAGATATGAGGGACAATTGGAGAAGTGAATTATA TAAATATAAAGTAGTAAAAATTGAACCATTAGGAGTAGCACCCACCAAGGCAAAGAGAAGAGTGGTGCAGAGAGAA AAAAGAGCAGTGGGAATAGGAGCTTTGTTTCCTTGGGTTCTTGGGAGCAGCAGGAAGCACTATGGGCGCAGCCTCAA TGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTATTGTCTGGTATAGTGCAGCAGCAGAACAAATTTGCTGAGGGCTATTGA GCGCAACAGCATCTGTTGCAACTCACAGTCTGGGGCATCAAGCAGCTCCAGGCAAGAATCCTGGCTGTGGAAAGA TACCTAAAGGATCAACAGCTCCTGGGGATTGGGGTTGCTCTGGAAAACCTCATTGCAACCACTGCTGTGCCTTGGA ATGCTAGTTGGAGTAATAAATCTCTGGAACAGATTTGGAATCACACGACCTGGATGGAGTGGGACAGAGAAATTAA CAATTACACAAGCTTAATACACTCCTTAATTGAAGAATCGCAAAACCAGCAAGAAAAGAATGAACAAGAATTATTG GAATTAGATAAATGGGCAAGTTTGTGGAATTGGTTTAACATAACAAATTGGCTGTGGTATATAAAATTATTCATAA TGATAGTAGGAGGCTTGGTAGGTTAAGAATAGTTTTTGTGTACTTTCTATAGTGAATAGAGTTAGGCAGGGATA TTCACCATTATCGTTTCAGACCCACCTCCCAACCCCGAGGGGACCCGACAGGCCCGAAGGAATAGAAGAAGAAGGT GGAGAGAGAGACAGAGACAGATCCATTGATTAGTGAACGGATCTCGACGGTATCGGTAACTTTTAAAAGAAAAG GGGGGATTGGGGGTACAGTGCAGGGGAAAGAATAGTAGACATAATAGCAACAGACATACAACTAAAGAATTACA AAAACAAATTACAAAAATTCAAAATTTTATCGATCACGAGACTAGCCTCGAGAAGCTTGATATCGAATTTCCACGG GGTGGACGCGTAGGAACAGAGAAACAGGAGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCG GCTCAGGGCCAAGAACAGTTGGAACAGCAGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCG CTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCCGCCCTCAGCAGTTTCTAGAGAACCATCAGATGTTTCCA GGGTGCCCCAAGGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTAACCAATCAGTTCGCTTCTCGCTTCTGTTTCG CCGCTTCTGCTCCCCGAGCTCTATATAAGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGTCAGATCGCTAGCACCGGTGCCGCCA CCATGCCTCTGGGCCTGCTGTGGCTGGGCCTGGCCCTGCTGGGCGCCCTGCACGCCAGGCCGGCGTGCAGGTGGA GACAATCTCCCCAGGCGACGGACGCACATTCCCTAAGCGGGGCCAGACCTGCGTGGTGCCTATACAGGCATGCTG GAGGATGGCAAGAAGTTTGACAGCTCCCGGGATAGAAACAAGCCATTCAAGTTTATGCTGGGCAAGCAGGAAGTGA TCAGAGGCTGGGAGGAGGGCGTGGCCAGATGTCTGTGGGCCAGAGGGCCAAGCTGACCATCAGCCCAGACTACGC CTATGGAGCAACAGGCCACCCAGGAATCATCCACCTCACGCCACCCTGGTGTTTCGATGTGGAGCTGCTGAAGCTG GCGGAGGGCGGTAGTCAGAACCTTGTGATACCATGGGCCCCAGAAAATCTCACACTTCATAAACTTTCCGAATCAC

AACTCGAACTCAACTGGAATAACCGGTTCCCTGAATCACTGTCTTGAACACCTGGTACAATATCGGACCGACTGGGA
TCACTCATGGACAGAACAACTCTGTGGACTATAGGCACAAATTCTCACTCCCAAGCGTAGACGGCCAAAAAGATAC
ACTTTTCGCGTACGATCCCGCTTTAATCCTCTCTGCGGCTCTGCTCAGCACTGGAGTGAATGGTCCCATCCCATT
ATTGGGGATCCAACACATCAAAAGAGAACCCCTTTCTGTTCGCATTGGAGGCCGTAGTCATATCTGTTGGATCCAT
GGGACTTATTATCTCCCTGTTGTGTGTGTACTTCTGGCTGGAACGGACTATGCCCAGGATCCCCACGCTCAAGAAT
CTGGAAGATCTCGTCACAGAATACCATGGTAATTTTCAGCGCCTGGAGCGGAGTCTCTAAGGGTCTGGCCGAATCCC
TCCAACCCGATTATTCTGAACGGTTGTGCCTCGTATCCGAAATACCACAAAAGGCGGGGCTCTGGGTGAGGGCCC
AGGGGCGAGTCCGTGCAATCAACACAGCCCGTATTGGGCCCCCTCCTTGTATACGTTGAAGCCCGAACTGGAAGC
GGAGCTACTAACTTCAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAACCCTGGACCTATGGCACTGCCCCGTA
CCGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCCGGCCCTATCCTGTGGCACGAGATGTGGCACGAGGG
CCTGGAGGAGGCCAGCAGGCTGTATTTTGGCGAGCGCAACGTGAAGGGCATGTCGAGGTGCTGGAGCCTCTGCAC
GCCATGATGGAGAGAGGCCACAGACCCTGAAGGAGACATCCTTTAACAGGCCTATGGACGGGACCTGATGGAGG
CACAGGAGTGGTGAGAAAAGTACATGAAGTCTGGCAATGTGAAGGACCTGCTGCAGGCCTGGGATCTGTACTATCA
CGTGTTTCGGAGAATCTCCAAGGGAGGTTCAAAACCTTTTGAGAACCTTAGACTGATGGCGCCCATCTCTCTGCAG
GTAGTTCACGTTGAGACCCATAGATGCAATATAAGCTGGGAAATCTCACAAGCCAGCCATTACTTTGAACGGCATT
TGGAATTCGAGGCCCGAACACTTTCCCCCGGTCATACGTGGGAAGAAGCTCCTCTCTTGACGCTGAAGCAGAAGCA
GGAGTGGATTTGTCTGGAGACTTTGACTCCTGATACTCAGTATGAGTTCCAAGTTCGGGTGAAACCACTCCAAGGC
GAGTTCACGACGTGGTCTCCGTGGAGTCAACCGTTGGCGTTCCGCACGAAGCCCGCTGCCCTTGGCAAAGACACGA
TTCCGTGGCTTGGGCATCTGCTCGTTGGGCTGAGTGGTGCCTTTGGTTTCATCATCTTGGTCTATCTCTTGATCAA
TTGCAGAAATACAGGCCCTTGGCTGAAAAAGTGCTCAAGTGTAATACCCCGACCCAAGCAAGTTCTTCTCCAG
CTTTCTTCAGAGCATGGAGGCGATGTGCAGAAATGGCTCTCTTCACCTTTTCCCTCCTCAAGCTTCTCCCCGGAG
GGCTGGCGCCCGAGATTTACCTCTTGAGGTACTTGAACGAGACAAGGTTACCCAACCTCTCCTTCAACAGGATAA
GGTACCCGAACCTGCGAGCCTTAGCTCCAACCACTCTCTTACGAGCTGCTTCACCAATCAGGGATACTTCTTTTTC
CACCTTCCCGATGCGCTGGAAATCGAAGCTTGTCAGTTTACTTTACCTATGATCCATATAGCGAGGAAGATCCCG
ACGAAGGAGTCGCCGGTGCGCCACGGGTTCTCACCCCAACCTCTCCAGCCTCTCTCAGGAGAAGATGATGCTTA
TTGCACTTTTCCCAGTAGAGACGATCTCCTCCTCTTTTCTCCATCTCTTTTGGGGGGACCTTCCCCCCTTCTACG
GCACCTGGCGGGTCTGGTGCTGGCGAGGAGCGGATGCCGCCGTCCCTCCAGGAGCGAGTACCACGAGATTGGGATC
CCCAGCCACTTGGAACCCCCACCCCGGCGTACCTGACCTTGTCGATTTTCAACCTCCCCCTGAATTGGTGCTGCG
AGAGGCTGGGGAGGAAGTTCCGGACGCTGGGCCGAGGGAGGGCGTGCTTTCCATGGAGTAGGCCTCCAGGTCAA
GGCGAGTTTAGGGCTCTCAACGCGCGGCTGCCGTTGAATACAGACGCTTATCTCTCACTGCAGGAAGTGAAGGTC
AGGACCCAACACATCTTGTAGGATCTGGTGCTACTAATTTTTCTCTTTTGAAGCAAGCTGGAGATGTTGAAGAGAA
CCCTGGTCCAGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTACCGGGGTGGTGCCATCCTGGTCGAGCTGGACGGCGACGTA
AACGGCCACAAGTTCAGCGTGTCCGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTGACCCTGAAGTTCATCT
GCACCACCGGAAGCTGCCCGTGCCCTGGCCCACCCTCGTGACCACCCTGACCTACGGCGTGCACTGCTTCAGCCG
CTACCCCGACCACATGAAGCAGCACGACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCATC
TTCTTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTTCAGAGGCGACACCCTGGTGAACCGCATCG
AGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGGACGGCAACATCCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAACACTACAACAGCCACAA
CGTCTATATCATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCATCAAGGTGAAGTTCAAGATCCGCCACAACATCGAGGACGGC
AGCGTGCAGCTCGCCGACCACTACCAGCAGAACACCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCCGACAACCACT

ACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTCCTGCTGGAGTTCGTGAC
CGCCGCCGGGATCACTCTCGGCATGGACGAGCTGTACAAGTAACTAGTGTGACAATCAACCTCTGGATTACAAA
ATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACATATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTT
TGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGA
GGAGTTGTGGCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGC
ATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACCTCATCGCCG
CCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCCGTGGTGTGTGCGGGGAAGCTGAC
GTCCTTTCCATGGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCC
CTCAATCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTC
AGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCCTCCCCGCCTGGAATTCGAGCTCGGTACCTTTAAGACCAATGACTTAC
AAGGCAGCTGTAGATCTTAGCCACTTTTTTAAAAGAAAAGGGGGGACTGGAAGGGCTAATCACTCCCAACGAAGAC
AAGATCTGCTTTTTTGCTTGTACTGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGG
GAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCTTGAGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTGACTCT
GGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTCAGTGTGAAAAATCTCTAGCAGTAGTAGTTCATGTCATCTTATTA
TTCAGTATTTATAACTTGCAAAGAAATGAATATCAGAGAGTGAGAGGAACCTGTTTATTGCAGCTTATAATGGTTA
CAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTACAAATAAAGCATTTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAA
CTCATCAATGTATCTTATCATGTCTGGCTCTAGCTATCCCGCCCCTAACTCCGCCCAGTTCGCCCATTTCTCCGCC
CCATGGCTGACTAATTTTTTTTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGA
GGAGGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCTTTTGCCTCGAGACGTACCCAATTCGCCCTATAGTGAGTCGTATTACGCGCG
CTCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCTGGCGTTACCCAACCTAATCGCCTTGCAGCACAT
CCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATG
GCGAATGGCGCGACGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTAC
ACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCCTCCTTTCGCTTTCTTCCCTTCCCTTCTCGCCACGTTCGCCGGCTTTCCCCGT
CAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCCAAAAAAGCTTGATT
AGGGTGATGGTTCACGTAGTGGGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTT
TAATAGTGGACTCTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATT
TTGCCGATTTCCGCCATTTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAATATTAA
CGTTTACAATTTCCCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACAT
TCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTA
TTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCTTTTTTTCGGCATTTTGCTTCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCT
GGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAG
ATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCGAAGAAGCTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTAT
TATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTC
ACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGAT
AACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGACAACATGGGGG
ATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGAT
GCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACCTATTAAGTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTA
ATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTG
ATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTAT

CGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCA
CTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAACTTCATTTTAAAT
TTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCTGTTCCACTG
AGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAA
ACAAAAAACACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGGCCGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTCCGAAGGTAAGT
GCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGT
AGCACCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACC
GGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGCGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCA
GCTTGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGG
GAGAAAGGCGGACAGGTATCCGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAAC
GCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGG
GGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACAT
GTTCTTTCTGCGTTATCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGC
AGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCG
CGCGTTGGCCGATTATTAATGCAGCTGGCAGCAGAGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAAT
TAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATT
GTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCGCGCAATTAACCCTCACTAAA
GGGAACAAAAGCTGGAGCTGCA;SEQ ID NO:18)。SEQ ID NO:18编码如SEQ ID NO:3和4中所示的
蛋白质序列。

[0177] 在一些实施方案中,表达载体是SEQ ID NO:19中所示的SEQ ID NO:20的变体(AG
CTTAATGTAGTCTTATGCAATACTCTGTAGTCTTGCAACATGGTAACGATGAGTTAGCAACATGCCTTACAAGGA
GAGAAAAAGCACCGTGCATGCCGATTGGTGGAAGTAAGGTGGTACGATCGTGCCTTATTAGGAAGGCAACAGACGG
GTCTGACATGGATTGGACGAACCACTGAATTGCCGCATTGCAGAGATATTGTATTTAAGTGCCTAGCTCGATACAA
TAAACGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCC
TCAATAAAGCTTGCTTGAGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCCCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGATCCCTC
AGACCCTTTTAGTCAGTGTGAAAAATCTCTAGCAGTGGCGCCCGAACAGGGACTTGAAAGCGAAAGGGAAACCAGA
GGAGCTCTCTCGACGCAGGACTCGGCTTGCTGAAGCGCGCACGGCAAGAGGCGAGGGGCGGCGACTGGTGAGTACG
CCAAAAATTTTACTAGCGGAGGCTAGAAGGAGAGAGATGGGTGCGAGAGCGTCAGTATTAAGCGGGGAGAATTA
GATCGCGATGGGAAAAAATTCGGTTAAGGCCAGGGGAAAGAAAAAATATAAATTTAAACATATAGTATGGGCAAG
CAGGGAGCTAGAACGATTTCGAGTTAATCCTGGCCTGTTAGAAACATCAGAAGGCTGTAGACAAATACTGGGACAG
CTACAACCATCCCTTCAGACAGGATCAGAAGAACTTAGATCATTATATAATACAGTAGCAACCCTCTATTGTGTGC
ATCAAAGGATAGAGATAAAAGACACCAAGGAAGCTTTAGACAAGATAGAGGAAGAGCAAAACAAAAGTAAGACCAC
CGCACAGCAAGCGGCCGCTGATCTTCAGACCTGGAGGAGGAGATATGAGGGACAATTGGAGAAGTGAATTATATAA
ATATAAAGTAGTAAAAATTGAACATTAGGAGTAGCACCCACCAAGGCAAGAGAGAAGTGGTGCAGAGAGAAAAA
AGAGCAGTGGGAATAGGAGCTTTGTTCCCTTGGGTTCTTGGGAGCAGCAGGAAGCACTATGGGCGCAGCCTCAATGA
CGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTATTGTCTGGTATAGTGCAGCAGCAGAACAAATTTGCTGAGGGCTATTGAGGC
GCAACAGCATCTGTTGCAACTCACAGTCTGGGGCATCAAGCAGCTCCAGGCAAGAATCCTGGCTGTGGAAAGATAC
CTAAAGGATCAACAGCTCCTGGGGATTTGGGGTGTCTTGAAAACTCATTTGCACCACTGCTGTGCCTTGGAATG
CTAGTTGGAGTAATAAATCTCTGGAACAGATTTGGAATCACACGACCTGGATGGAGTGGGACAGAGAAATTAACAA

TTACACAAGCTTAATACACTCCTTAATTGAAGAATCGCAAAACCAGCAAGAAAAGAATGAACAAGAATTATTGGAA
TTAGATAAATGGGCAAGTTTGTGGAATTGGTTTAACATAACAAATTGGCTGTGGTATATAAAATTATTCATAATGA
TAGTAGGAGGCTTGGTAGGTTTAAGAATAGTTTTTGTCTGTACTTTCTATAGTGAATAGAGTTAGGCAGGGATATTC
ACCATTATCGTTTTAGACCCACCTCCCAACCCGAGGGGACCCGACAGGCCCCGAAGGAATAGAAGAAGAAGGTGGA
GAGAGAGACAGAGACAGATCCATTCGATTAGTGAACGGATCTCGACGGTATCGGTAACTTTTAAAAGAAAAGGGG
GGATTGGGGGTACAGTGCAGGGGAAAGAATAGTAGACATAATAGCAACAGACATACAACTAAAGAATTACAAAA
ACAAATTACAAAAATTCAAAATTTTATCGATCACGAGACTAGCCTCGAGAAGCTTGATATCGAATTCCCACGGGGT
TGGACGCGTAGGAACAGAGAAACAGGAGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCT
CAGGGCCAAGAACAGTTGGAACAGCAGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTC
AGGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCCGCCCTCAGCAGTTTCTAGAGAACCATCAGATGTTTCCAGGG
TGCCCCAAGGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTAACCAATCAGTTCGTTCTCGCTTCTGTTTCGCGCG
CTTCTGCTCCCCGAGCTCTATATAAGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGTCAGATCGCTAGCACCGGTGCCGCCACCA
TGCTCTGCGCCTGCTGTGGCTGGCCCTGCTGGGCGCCCTGCACGCCAGGCCGGCGTGCAGGTGGAGAC
AATCTCCCCAGGCGACGGACGCACATTCCCTAAGCGGGGCCAGACCTGCGTGGTGCCTATACAGGCATGCTGGAG
GATGGCAAGAAGTTTGACAGCTCCCGGGATAGAAACAAGCCATTCAAGTTTATGCTGGGCAAGCAGGAAGTGATCA
GAGGCTGGGAGGAGGGCGTGGCCAGATGTCTGTGGGCCAGAGGGCCAAGCTGACCATCAGCCCAGACTACGCCTA
TGGAGCAACAGGCCACCCAGGAATCATCCACCTCACGCCACCCTGGTGTTCGATGTGGAGCTGCTGAAGCTGGGC
GAGCAAACTTGTTGATTCCCTGGGCCCCAGAAAATCTCACGCTTCACAAGTTGTCCGAATCCCAGCTCGAGCTCA
ACTGGAATAATAGATTTCTTAATCATTGTTTGAACACCTGGTTCAATATAGAACGGATTGGGACCACTCATGGAC
CGAGCAGTCAGTTGACTACCGCCACAAATTTTCACTTCCCAGCGTAGATGGGCAGAAGAGGTACACATTTAGGGTC
AGATCCAGGTTTAATCCTCTGTGTGGTTCTGCTCAACACTGGTCTGAGTGGAGCCATCCGATCCACTGGGGCTCAA
ATACCTCTAAAGAAAATCCGTTCCCTCTTTGCGCTCGAAGCCGTTGTTATCAGCGTCGGAAGCATGGGACTTATCAT
TTCCCTTCTCTGCGTGTACTTCTGGCTGGAGCGGACGATGCCGCGGATTCCGACGCTCAAAAACCTGGAGGACCTT
GTAACAGAATATCACGGTAATTTCTCCGCTTGAGTGGCGTATCAAAGGGGCTTGCTGAGTCCCTTCAACCGGATT
ACTCTGAGCGCCTCTGCTTGGTGTCCGAGATACCTCCCAAAGGAGGTGCACTTGGGGAGGGGCCAGGCGCGTCCCC
TTGCAATCAGCATAGTCCGTATTGGGCGCCCCCTGTTATACCCTCAAACCGGAAACGGGAAGCGGAGCTACTAAC
TTCAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAACCCTGGACCTATGGCACTGCCCCGTGACCGCCCTGCTGC
TGCCTCTGGCCCTGCTGCTGCACGCAGCCCGGCTATCCTGTGGCACGAGATGTGGCACGAGGGCCTGGAGGAGGC
CAGCAGGCTGTATTTTGGCGAGCGCAACGTGAAGGGCATGTTGAGGTGCTGGAGCCTCTGCACGCCATGATGGAG
AGAGGGCCACAGACCCTGAAGGAGACATCCTTTAACCAGGCCTATGGACGGGACCTGATGGAGGCACAGGAGTGGT
GCAGAAAGTACATGAAGTCTGGCAATGTGAAGGACCTGCTGCAGGCCTGGGATCTGTACTATCACGTGTTTCGGAG
AATCTCCAAGAAACCTTTTGAGAACCTTAGACTGATGGCGCCCATCTCTCTGCAGGTAGTTCACGTTGAGACCCAT
AGATGCAATATAAGCTGGGAAATCTCACAAGCCAGCCATTACTTTGAACGGCATTGGAATTGAGGCCCCGAACAC
TTTCCCCCGGTCATACGTGGGAAGAAGCTCCTCTCTTGACGCTGAAGCAGAAGCAGGAGTGGATTTGTCTGGAGAC
TTTGACTCCTGATACTCAGTATGAGTTCCAAGTTCGGGTGAAACCACTCCAAGGCGAGTTCACGACGTGGTCTCCG
TGGAGTCAACCGTTGGCGTCCGCACGAAGCCCGTGCCCTTGGCAAAGACACGATTCCGTGGCTTGGGCATCTGC
TCGTTGGGCTGAGTGGTGCCTTGGTTTCATCATCTTGGTCTATCTCTTGATCAATTGCAGAAATACAGGCCCTTG
GCTGAAAAAAGTGCTCAAGTGTAATACCCCCGACCAAGCAAGTTCTTCTCCAGCTTCTTTCAGAGCATGGAGGC
GATGTGCAGAAATGGCTCTCTTACCTTTTCCCTCTCAAGCTTCTCCCCGGGAGGGCTGGCGCCCGAGATTTAC

CTCTTGAGGTACTTGAACGAGACAAGGTTACCCAACCTTCTCCTTCAACAGGATAAGGTACCCGAACCTGCGAGCCT
TAGCTCCAACCACTCTCTTACGAGCTGCTTCACCAATCAGGGATACTTCTTTTTCCACCTTCCCGATGCGCTGGAA
ATCGAAGCTTGTCAAGTTTACTTTACCTATGATCCATATAGCGAGGAAGATCCCGACGAAGGAGTCGCCGGTGCGC
CCACGGGTTCCTCACCCCAACCTCTCCAGCCTCTCTCAGGAGAAGATGATGCTTATTGCACTTTTCCCAGTAGAGA
CGATCTCCTCCTCTTTTTCTCCATCTCTTTTGGGGGGACCTTCCCCCCTTCTACGGCACCTGGCGGGTCTGGTGCT
GGCGAGGAGCGGATGCCGCCGTCCCTCCAGGAGCGAGTACCACGAGATTGGGATCCCCAGCCACTTGGACCCCCCA
CCCCGGCGTACCTGACCTTGTCGATTTTCAACCTCCCCCTGAATTGGTGCTGCGAGAGGCTGGGGAGGAAGTTCC
GGACGCTGGGCCGAGGGAGGGCGTGTCCTTTCCATGGAGTAGGCCTCCAGGTCAAGGCGAGTTTAGGGCTCTCAAC
GCGCGGTGCCGTTGAATACAGACGCTTATCTCTCACTGCAGGAAGTCAAGGTCAGGACCCAACACATCTTGTAG
GATCTGGTGCTACTAATTTTTCTCTTTTGAAGCAAGCTGGAGATGTTGAAGAGAACCCTGGTCCAGTGAGCAAGGG
CGAGGAGCTGTTACCGGGGTGGTGCCCATCTGGTCGAGCTGGACGGCGACGTAAACGGCCACAAGTTCAGCGTG
TCCGGCGAGGGCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTGACCCTGAAGTTCATCTGCACCACCGGCAAGCTGCCCG
TGCCCTGGCCACCCCTCGTGACCACCTGACCTACGGCGTGAGTGCTTCAGCCGCTACCCCGACCACATGAAGCA
GCACGACTTCTTCAAGTCCGCCATGCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTCTTCAAGGACGACGGCAAC
TACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTCGAGGGCGACACCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCA
AGGAGGACGGCAACATCCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAACCTACAACAGCCACAACGTCTATATCATGGCCGACAA
GCAGAAGAACGGCATCAAGGTGAACCTCAAGATCCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCGTGAGCTCGCCGACCAC
TACCAGCAGAACACCCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCGACAACCACTACCTGAGCACCCAGTCCGCCC
TGAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGATCACATGGTCCTGCTGGAGTTCGTGACCGCCGCCGGGATCACTCTCGG
CATGGACGAGCTGTACAAGTAACTAGTGTGACAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGT
ATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCC
GTATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAG
GCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTC
CTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAACATCGCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGA
CAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAATTCGCTGGTGTGTGCGGGGAAGCTGACGTCCCTTTCCATGGCTGCTCGC
CTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTTCCT
TCCCGCGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTT
GGGCCGCCTCCCCGCCTGGAATTCGAGCTCGGTACCTTTAAGACCAATGACTTACAAGGCAGCTGTAGATCTTAGC
CACTTTTTTAAAAGAAAAGGGGGGACTGGAAGGGCTAATTAACCTCCCAACGAAGACAAGATCTGCTTTTTGCTTGTA
CTGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCA
ATAAAGCTTGCCTTGAGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGA
CCCTTTTAGTCAGTGTGGAATCTCTAGCAGTAGTAGTTCATGTCATCTTATTATTCAGTATTTATAACTTGCAA
AGAAATGAATATCAGAGAGTGAGAGGAAGTGTATTGTCAGCTTATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGCATCAC
AAATTTACAAATAAAGCATTTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTCATCAATGTATCTTATCAT
GTCTGGCTCTAGCTATCCCGCCCTAACTCCGCCCAGTTCCGCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGACTAATTTTTTT
TATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTGGAGGCCTA
GGCTTTTGGCTCGAGACGTACCCAATTGCCCCTATAGTGAGTCGTATTACGCGCGCTCACTGGCCGTCGTTTTACA
ACGTGCTGACTGGGAAAACCTGGCGTTACCCAACCTTAATCGCCTTGACGACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGT
AATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGCGCGACGCGCCT

GTAGCGGCGCATTAAAGCGCGGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCC
CGCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCCTTTCTCGCCACGTTTCGCCGGCTTTCCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTC
CCTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTCACGTAGTG
GGCCATCGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCCA
AACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTTTTGATTATAAGGGATTTTGCCGATTTTCGGCCTATTGG
TTAAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTTAACGCGAATTTTAACAAAAATTTAACGTTTACAATTTCCCAGGTGG
CACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATG
AGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCC
TTATTCCTTTTTTTCGGGCATTTTGCCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGA
AGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCC
GAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGC
AAGAGCAACTCGGTGCGCCGATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCT
TACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTT
CTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATC
GTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAAC
GTTGCGCAAACTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGAT
AAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGC
GTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGG
GAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACCTG
TCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAACTTCATTTTAAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGA
TCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAA
GATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCA
GCGGTGGTTTGTGTCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATAC
CAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGC
TCTGCTAATCCTGTTACCACTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAG
TTACCGGATAAGGCGCAGCGTTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACA
CCGAACCTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCC
GGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCT
GTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGAAAAACG
CCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTTCTGCGTTATCCCC
TGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGACCCGAACGACCGAGCGCAGC
GAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAAACGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCAATTAAT
GCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCA
TTAGGCACCCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTTAC
ACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCGCGCAATTAACCCTCACTAAAGGGAACAAAAGCTGGAGCTG
CA; SEQ ID NO:19)。SEQ ID NO:19编码如SEQ ID NO:5和6中所示的蛋白质序列。

[0178] 在一些实施方案中,表达载体包括与本文提供的核苷酸序列或其特定衍生片段具有至少80%、85%、90%、95%、98%或99%核酸序列同一性(或在由上述百分比中的任意两个百分比限定的范围内的百分比核酸序列同一性)的核酸。在一些实施方案中,表达载体包

含启动子。在一些实施方案中,表达载体包含编码融合蛋白的核酸。在一些实施方案中,载体是RNA或DNA。

[0179] 细胞和组合物:T淋巴细胞群

[0180] 本文所述的组合物提供了经遗传修饰的细胞,诸如哺乳动物细胞,其包括本文所示和所述的蛋白质序列或表达载体。因此,本文提供了用于二聚CISC分泌的细胞,诸如哺乳动物细胞,其中所述细胞包含任一本文所述的实施方案的蛋白质序列或任一本文所述的实施方案的表达载体。在一些实施方案中,细胞是细菌细胞或哺乳动物细胞,诸如淋巴细胞。在一些实施方案中,细胞是大肠杆菌。在一些实施方案中,细胞是允许蛋白质表达的昆虫细胞。在一些实施方案中,细胞是淋巴细胞。

[0181] 在一些实施方案中,细胞是前体T细胞或T调节性细胞。在一些实施方案中,细胞是干细胞,诸如造血干细胞。在一些实施方案中,细胞是NK细胞。在一些实施方案中,细胞是CD34⁺、CD8⁺或CD4⁺T淋巴细胞。在一些实施方案中,细胞是B细胞。在一些实施方案中,细胞是神经元干细胞。

[0182] 在一些实施方案中,细胞是CD8⁺T细胞毒性淋巴细胞,其可包括原初CD8⁺T细胞、中枢记忆性CD8⁺T细胞、效应记忆性CD8⁺T细胞和本体CD8⁺T细胞。在一些实施方案中,细胞是CD4⁺T细胞毒性淋巴细胞,其可包括原初CD4⁺T细胞、中枢记忆性CD4⁺T细胞、效应记忆性CD4⁺T细胞和本体CD4⁺T细胞。

[0183] 淋巴细胞(T淋巴细胞)可以根据已知技术进行收集,并通过已知技术(诸如与抗体的亲和结合,诸如流式细胞术和/或免疫磁性选择)进行富集或耗尽。在富集和/或耗尽步骤之后,可根据对于本领域技术人员而言是显而易见的已知技术或其变化形式进行所需T淋巴细胞的体外扩增。在一些实施方案中,所述T细胞是获自患者的自体T细胞。

[0184] 例如,可通过以下方式扩增所需T细胞群或亚群:在体外向培养基中添加初始T淋巴细胞群,然后向培养基中加入饲养细胞(诸如非分裂外周血单核细胞(PBMC)), (例如,使得所得细胞群对于待扩增的初始群体中的每个T淋巴细胞含有至少5个、10个、20个或40个或更多个PBMC饲养细胞);以及孵育所述培养物(例如,持续足以扩增T细胞数量的时间)。非分裂饲养细胞可包含经 γ 辐照的PBMC饲养细胞。在一些实施方案中,用在3000拉德至3600拉德范围内的 γ 射线辐照PBMC以防止细胞分裂。在一些实施方案中,用3000拉德、3100拉德、3200拉德、3300拉德、3400拉德、3500拉德或3600拉德或任何所列值的任意两个端点之间的任何拉德值的 γ 射线辐照PBMC,以防止细胞分裂。如果需要,可以反转向培养基中添加T细胞和饲养细胞的顺序。通常可在适合T淋巴细胞生长的温度等条件下孵育培养物。例如,对于人T淋巴细胞的生长,温度通常为至少25℃,优选至少30℃,更优选37℃。在一些实施方案中,人T淋巴细胞生长的温度为22℃、24℃、26℃、28℃、30℃、32℃、34℃、36℃、37℃,或任何所列值的任意两个端点之间的任何其它温度。

[0185] 在分离T淋巴细胞后,可在扩增之前或之后将细胞毒性T淋巴细胞和辅助T淋巴细胞分选为原初T细胞亚群、记忆性T细胞亚群和效应T细胞亚群。

[0186] CD8⁺细胞可以通过使用标准方法获得。在一些实施方案中,通过鉴定与这些类型的CD8⁺细胞中的每一种相关联的细胞表面抗原,将CD8⁺细胞进一步分选为原初细胞、中枢记忆性细胞和效应记忆性细胞。在一些实施方案中,记忆性T细胞存在于CD8⁺外周血淋巴细胞的CD62L⁺和CD62L⁻亚群中。在用抗CD8抗体和抗CD62L抗体染色后,将PBMC分选为CD62L⁻

CD8⁺和CD62L⁺CD8⁺级分。在一些实施方案中,中枢记忆性T_{CM}的表型标志物的表达包括CD45R0、CD62L、CCR7、CD28、CD3和/或CD127,对于粒酶B呈阴性或是低的。在一些实施方案中,中枢记忆性T细胞是CD45R0⁺T细胞、CD62L⁺T细胞和/或CD8⁺T细胞。在一些实施方案中,效应T_E对于CD62L、CCR7、CD28和/或CD127呈阴性,对于粒酶B和/或穿孔素呈阳性。在一些实施方案中,原初CD8⁺T淋巴细胞的特征在于包含CD62L、CCR7、CD28、CD3、CD127和/或CD45RA的原初T细胞的表型标志物的表达。

[0187] 通过鉴定具有细胞表面抗原的细胞群,将CD4⁺T辅助细胞分选为原初细胞、中枢记忆性细胞和效应细胞。CD4⁺淋巴细胞可以通过使用标准方法获得。在一些实施方案中,原初CD4⁺T淋巴细胞是CD45R0⁻T细胞、CD45RA⁺T细胞和/或CD62L⁺T细胞和/或CD4⁺T细胞。在一些实施方案中,中枢记忆性CD4⁺细胞是CD62L⁺和/或CD45R0⁺。在一些实施方案中,效应CD4⁺细胞是CD62L⁻和/或CD45R0⁻。

[0188] 是否选择细胞(诸如哺乳动物细胞)或细胞群(诸如哺乳动物细胞群)进行扩增取决于细胞或细胞群是否经历了两个不同的遗传修饰事件。如果细胞(诸如哺乳动物细胞)或细胞群(诸如哺乳动物细胞群)已经历了一个或数个遗传修饰事件,则添加配体将不导致二聚化。然而,如果细胞(诸如哺乳动物细胞)或细胞群(诸如哺乳动物细胞群)已经历了两个遗传修饰事件,则添加配体将导致CISC组分的二聚化以及随后的信号传导级联。因此,可以基于其对配体接触的响应来选择细胞(诸如哺乳动物细胞)或细胞群(诸如哺乳动物细胞群)。在一些实施方案中,以0.01nM、0.02nM、0.03nM、0.04nM、0.05nM、0.06nM、0.07nM、0.08nM、0.09nM、0.1nM、0.2nM、0.3nM、0.4nM、0.5nM、0.6nM、0.7nM、0.8nM、0.9nM、1.0nM、1.5nM、2.0nM、2.5nM、3.0nM、3.5nM、4.0nM、4.5nM、5.0nM、5.5nM、6.0nM、6.5nM、7.0nM、7.5nM、8.0nM、8.5nM、9.0nM、9.5nM、10nM、11nM、12nM、13nM、14nM、15nM、20nM、25nM、30nM、35nM、40nM、45nM、50nM、55nM、60nM、65nM、70nM、75nM、80nM、85nM、90nM、95nM或100nM的量或在由上述值中的任意两个值限定的范围内的浓度添加配体。

[0189] 在一些实施方案中,基于作为信号传导途径的结果的标志物的表达,细胞(诸如哺乳动物细胞)或细胞群(诸如哺乳动物细胞群)可对二聚CISC呈阳性。因此,可以使用利用针对表面标志物的特异性抗体和同种型匹配的对照抗体的染色,通过流式细胞术来确定对二聚CISC呈阳性的细胞群。

[0190] 组合物

[0191] 本文提供了包含如本公开中所示的经遗传修饰的细胞(诸如哺乳动物细胞)制剂的组合物。在一些实施方案中,细胞(诸如哺乳动物细胞)包含如在本文实施方案中所述的蛋白质序列。在一些实施方案中,组合物包含具有CISC的CD4⁺T细胞,所述CISC包含细胞外结合结构域、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域。在一些实施方案中,CISC是IL2R-CISC。在一些实施方案中,组合物还包含含有CD8⁺T细胞的细胞(诸如哺乳动物细胞)制剂,所述CD8⁺T细胞具有包含细胞外结合结构域、铰链结构域、跨膜结构域和信号传导结构域的CISC。在一些实施方案中,CISC组分在配体存在的情况下优选地同时二聚化。在一些实施方案中,可将这些群体中的每一种彼此组合或与其它他细胞类型组合以提供组合物。

[0192] 在一些实施方案中,组合物的细胞是CD4⁺细胞。CD4⁺T细胞可以是T辅助淋巴细胞、原初CD4⁺T细胞、中枢记忆性CD4⁺T细胞、效应记忆性CD4⁺T细胞和本体CD4⁺T细胞。在一些实施方案中,CD4⁺辅助淋巴细胞是原初CD4⁺T细胞,其中所述原初CD4⁺T细胞包含CD45R0⁻、

CD45RA+和/或是CD62L+CD4+T细胞。

[0193] 在一些实施方案中,组合物的细胞是CD8+细胞。CD8+T细胞可以是T细胞毒性淋巴细胞、原初CD8+T细胞、中枢记忆性CD8+T细胞、效应记忆性CD8+T细胞和/或本体CD8+T细胞。在一些实施方案中,CD8+细胞毒性T淋巴细胞是中枢记忆性T细胞,其中所述中枢记忆性T细胞包含CD45RO+、CD62L+和/或CD8+T细胞。在其它实施方案中,CD8+细胞毒性T淋巴细胞是中枢记忆性T细胞,并且CD4+辅助T淋巴细胞是原初CD4+T细胞或中枢记忆性CD4+T细胞。

[0194] 在一些实施方案中,组合物包含T细胞前体。在一些实施方案中,组合物包含造血干细胞。在一些实施方案中,组合物包含宿主细胞,其中所述宿主细胞是选自下组的CD8+T细胞毒性淋巴细胞:原初CD8+T细胞、中枢记忆性CD8+T细胞、效应记忆性CD8+T细胞和本体CD8+T细胞,或选自由以下组成的组的CD4+T辅助淋巴细胞:原初CD4+T细胞、中枢记忆性CD4+T细胞、效应记忆性CD4+T细胞和本体CD4+T细胞,以及第二宿主细胞,其中所述第二宿主细胞是前体T细胞。在一些实施方案中,前体T细胞是造血干细胞。

[0195] 在一些实施方案中,细胞是NK细胞。

[0196] 在一些实施方案中,细胞是CD8+或CD4+细胞。在一些实施方案中,细胞是选自由以下组成的组的CD8+T细胞毒性淋巴细胞:原初CD8+T细胞、中枢记忆性CD8+T细胞、效应记忆性CD8+T细胞和本体CD8+T细胞。在一些实施方案中,细胞是选自由以下组成的组的CD4+T辅助淋巴细胞:原初CD4+T细胞、中枢记忆性CD4+T细胞、效应记忆性CD4+T细胞和本体CD4+T细胞。在一些实施方案中,细胞是前体T细胞。在一些实施方案中,细胞是干细胞。在一些实施方案中,细胞是造血干细胞或NK细胞。在一些实施方案中,细胞是B细胞。在一些实施方案中,细胞是神经元干细胞。在一些实施方案中,细胞还包含嵌合抗原受体。

[0197] 本文还提供了试剂盒和系统,其包括本文提供和描述的细胞、表达载体和蛋白质序列。因此,在一些实施方案中,提供了试剂盒,其包含以下的一种或多种:本文所述的蛋白质序列;本文所述的表达载体;和/或本文所述的细胞。还提供了用于选择性地将信号激活到细胞内部的系统,所述系统包含:如本文所述的细胞,其中所述细胞包含如本文所述的表达载体,所述表达载体包含编码如本文所述的蛋白质序列的核酸。

[0198] 制备表达二聚CISC组分的细胞的方法

[0199] 在本文所述的一些实施方案中,可能需要将蛋白质序列或表达载体引入宿主细胞,诸如哺乳动物细胞,例如淋巴细胞,以用于药物调节的细胞因子信号传导和/或用于选择性扩增表达二聚CISC组分的细胞。例如,二聚CISC可以允许在具有引入的CISC组分的细胞中进行细胞因子信号传导,所述CISC组分用于在与配体接触时将信号传递到细胞(诸如哺乳动物细胞)内部。另外,如本文中所述,可以控制细胞(诸如哺乳动物细胞)的选择性扩增,以仅选择那些已经历两个特定遗传修饰事件的细胞。这些细胞的制备可以根据对于本领域技术人员而言基于本公开是显而易见的已知技术来进行。

[0200] 在一些实施方案中,提供了制备携带CISC的细胞(诸如哺乳动物细胞)的方法,其中所述细胞表达二聚CISC。该方法可包括将本文所述的任一实施方案或实施方案的蛋白质序列或本文所述的实施方案或实施方案的表达载体递送至细胞(诸如哺乳动物细胞),并递送至细胞,诸如哺乳动物细胞。在一些实施方案中,蛋白质序列包含第一序列和第二序列。在一些实施方案中,第一序列编码第一CISC组分,其包含第一细胞外结合结构域、铰链结构域、具指特定长度的接头(其中优选对长度进行了优化)、跨膜结构域和信号传导结构域。在

一些实施方案中,第二序列编码第二CISC组分,其包含第二细胞外结合结构域、铰链结构域、具指定长度的接头(其中优选对长度进行了优化)、跨膜结构域和信号传导结构域。在一些实施方案中,接头的长度为1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个或15个氨基酸或为在由上述长度中的任意两个长度限定的范围内的长度。在一些实施方案中,信号传导结构域包含白细胞介素-2信号传导结构域,诸如IL2Rb或IL2Rg结构域。在一些实施方案中,细胞外结合结构域是与雷帕霉素或雷帕霉素类似物结合,包含FKBP或FRB或其部分的结合结构域。在一些实施方案中,细胞是CD8+细胞或CD4+细胞。在一些实施方案中,细胞是选自以下组成的组的CD8+T细胞毒性淋巴细胞:原初CD8+T细胞、中枢记忆性CD8+T细胞、效应记忆性CD8+T细胞和本体CD8+T细胞。在一些实施方案中,细胞是选自以下组成的组的CD4+T辅助淋巴细胞:原初CD4+T细胞、中枢记忆性CD4+T细胞、效应记忆性CD4+T细胞和本体CD4+T细胞。在一些实施方案中,细胞是前体T细胞。在一些实施方案中,细胞是干细胞。在一些实施方案中,细胞是造血干细胞。在一些实施方案中,细胞是B细胞。在一些实施方案中,细胞是神经元干细胞。在一些实施方案中,细胞是NK细胞。

[0201] 激活细胞内部中的信号的方法

[0202] 在一些实施方案中,提供了激活细胞(诸如哺乳动物细胞)内部中的信号的方法。该方法可包括提供如本文所述的细胞,诸如哺乳动物细胞,其中所述细胞包含如本文所示的蛋白质序列或如本文所示的表达载体。在一些实施方案中,该方法还包括表达编码如本文所述的二聚CISC的蛋白质序列,或表达如本文所述的载体。在一些实施方案中,该方法包括使细胞(诸如哺乳动物细胞)与配体接触,这使得第一和第二CISC组分二聚化,这将信号转导至细胞内部。在一些实施方案中,配体是雷帕霉素或雷帕霉素类似物。在一些实施方案中,配体是IMID类药物(例如沙利度胺、泊马度胺、来那度胺或相关类似物)。在一些实施方案中,以0.01nM、0.02nM、0.03nM、0.04nM、0.05nM、0.06nM、0.07nM、0.08nM、0.09nM、0.1nM、0.2nM、0.3nM、0.4nM、0.5nM、0.6nM、0.7nM、0.8nM、0.9nM、1.0nM、1.5nM、2.0nM、2.5nM、3.0nM、3.5nM、4.0nM、4.5nM、5.0nM、5.5nM、6.0nM、6.5nM、7.0nM、7.5nM、8.0nM、8.5nM、9.0nM、9.5nM、10nM、11nM、12nM、13nM、14nM、15nM、20nM、25nM、30nM、35nM、40nM、45nM、50nM、55nM、60nM、65nM、70nM、75nM、80nM、85nM、90nM、95nM或100nM的量或在由上述值中的任意两个值限定的范围内的浓度提供用于诱导二聚化的配体的有效量。

[0203] 在一些实施方案中,这些方法中使用的配体是雷帕霉素或雷帕霉素类似物,包括例如依维莫司、CCI-779、C20-甲代烯丙基雷帕霉素、C16-(S)-3-甲基吡啶雷帕霉素、C16-iRap、AP21967、霉酚酸钠、盐酸贝尼地平、AP23573或AP1903或其代谢物、衍生物和/或组合。另外的有用的雷帕霉素类似物可包括例如相对于雷帕霉素具有一个或多个以下修饰的雷帕霉素的变体:C7、C42和/或C29处的甲氧基的去甲基化、消除或替代;C13、C43和/或C28处的羟基的消除、衍生或替代;C14、C24和/或C30处的酮的还原、消除或衍生;五元脯氨酸环对六元嘧啶甲酸酯环的替代;和/或环己基环上的替代取代或取代的环戊基环对环己基环的替代。另外的有用的雷帕霉素类似物可包括诺维莫司、吡美莫司、瑞达莫司、他克莫司、替西罗莫司、乌米莫司或佐他莫司,或其代谢物、衍生物和/或组合。在一些实施方案中,配体是IMID类药物(例如沙利度胺、泊马度胺、来那度胺或相关类似物)。

[0204] 在一些实施方案中,检测细胞(诸如哺乳动物细胞)内部中的信号可以通过检测作为信号传导途径的结果的标志物的方法来实现。因此,例如,可通过测定(通过蛋白质印迹、

流式细胞术的方法或其它蛋白质检测和定量方法)细胞(诸如哺乳动物细胞)中Akt或其它信号传导标志物的水平来检测信号。用于检测的标志物可包括例如JAK、Akt、STAT、NF- κ 、MAPK、PI3K、JNK、ERK或Ras,或指示细胞信号传导事件的其它细胞信号传导标志物。

[0205] 在一些实施方案中,信号的转导影响细胞因子的信号传导。在一些实施方案中,信号的转导影响IL2R的信号传导。在一些实施方案中,信号的转导影响细胞因子受体的下游靶标的磷酸化。在一些实施方案中,激活信号的方法在表达CISC的细胞(诸如哺乳动物细胞)中诱导增殖,并且在非CISC表达细胞中诱导伴随抗增殖。

[0206] 为了发生细胞信号传导,不仅细胞因子受体必须二聚化或异二聚化,而且它们必须处于适当的构型以发生构象变化(Kim,等NMR Structural Studies of Interaction of a Small,Nonpeptidyl Tpo Mimic with the Thrombopoietin Receptor Extracellular Juxtamembrane and Transmembrane Domains,J Biol Chem,282,2007)。因此,二聚化与信号传导结构域的正确构象定位相结合是适当的信号传导的所需过程,因为单独的受体二聚化或异二聚化不足以驱动受体激活。本文所述的化学物质诱导的信号传导复合物优选处于下游信号传导事件发生所需的正确定向。如图4A-4B和图5的蛋白质印迹中所示,在配体存在的情况下发生多个下游信号传导事件,包括Akt激活(驱动细胞增殖所需的)(指示成功定向的特征)和本文所述的信号传导复合物的二聚化两者。

[0207] 选择性扩增细胞群的方法

[0208] 在一些实施方案中,本文提供了选择性扩增细胞(诸如哺乳动物细胞)群的方法。在一些实施方案中,该方法可包括提供如本文所述的细胞,诸如哺乳动物细胞,其中所述细胞包含如本文所示的蛋白质序列或如本文所示的表达载体。在一些实施方案中,该方法还包括表达编码如本文所述的二聚CISC的蛋白质序列,或表达如本文所述的载体。在一些实施方案中,该方法包括使细胞(诸如哺乳动物细胞)与配体接触,这使得第一和第二CISC组分二聚化,这将信号转导至细胞内部。在一些实施方案中,配体是雷帕霉素或雷帕霉素类似物。在一些实施方案中,提供用于诱导二聚化的配体的有效量是0.01nM、0.02nM、0.03nM、0.04nM、0.05nM、0.06nM、0.07nM、0.08nM、0.09nM、0.1nM、0.2nM、0.3nM、0.4nM、0.5nM、0.6nM、0.7nM、0.8nM、0.9nM、1.0nM、1.5nM、2.0nM、2.5nM、3.0nM、3.5nM、4.0nM、4.5nM、5.0nM、5.5nM、6.0nM、6.5nM、7.0nM、7.5nM、8.0nM、8.5nM、9.0nM、9.5nM、10nM、11nM、12nM、13nM、14nM、15nM、20nM、25nM、30nM、35nM、40nM、45nM、50nM、55nM、60nM、65nM、70nM、75nM、80nM、85nM、90nM、95nM或100nM的量或在由上述值中的任意两个值限定的范围内的浓度。

[0209] 在一些实施方案中,所使用的配体是雷帕霉素或雷帕霉素类似物,包括例如依维莫司、CCI-779、C20-甲代烯丙基雷帕霉素、C16-(S)-3-甲基吡啶雷帕霉素、C16-iRap、AP21967、霉酚酸钠、盐酸贝尼地平、或AP23573、AP1903或其代谢物、衍生物和/或组合。另外的有用的雷帕霉素类似物可包括例如相对于雷帕霉素具有一个或多个以下修饰的雷帕霉素的变体:C7、C42和/或C29处的甲氧基的去甲基化、消除或替代;C13、C43和/或C28处的羟基的消除、衍生或替代;C14、C24和/或C30处的酮的还原、消除或衍生;五元脯氨酰环对六元哌啶甲酸酯环的替代;和/或环己基环上的替代取代或取代的环戊基环对环己基环的替代。另外的有用的雷帕霉素类似物可包括诺维莫司、吡美莫司、瑞达莫司、他克莫司、替西罗莫司、乌米莫司或佐他莫司,或其代谢物、衍生物和/或组合。在一些实施方案中,配体是IMID类药物(例如沙利度胺、泊马度胺、来那度胺或相关类似物)。

[0210] 在一些实施方案中,仅在发生两个不同的遗传修饰事件时才发生细胞(诸如哺乳动物细胞)群的选择性扩增。一个遗传修饰事件是二聚化学物质诱导的信号传导复合物的一个组成部分,并且另一个遗传修饰事件是二聚化学物质诱导的信号传导复合物的另一个组成。当两个事件都在细胞群(诸如哺乳动物细胞群)中发生时,化学物质诱导的信号传导复合物成分在配体存在的情况下二聚化,导致活性化学物质诱导的信号传导复合物并产生信号进入细胞内部。如图5中的蛋白质印迹所示,Akt的激活和磷酸化表明成功实现完全增殖信号,需要所述完全增殖信号来实现表达两种遗传修饰事件的细胞群的显著选择性扩增。还可以检测其它信号传导标志物,但只有结合Akt激活实现这些事件才能够实现足够的细胞扩增,以允许在在给定的细胞群(诸如哺乳动物细胞群)中选择性扩增其中已发生两个遗传修饰事件的经修饰的细胞群。

[0211] 图6提供了选择性扩增细胞群(例诸如哺乳动物细胞群)的示例性方法。如图6所示,制备了包括IL2R的CISC。使用2A序列将IL2R-CISC的每种架构(即1210、1211和1233)与GFP顺式连接在一起,并置于慢病毒表达盒中的MND启动子的控制下。

[0212] 产生来自每种IL2R-CISC架构的慢病毒颗粒并将其用于转导原代人T细胞。将CD4+T细胞激活60小时。然后通过1mL含有IL2/7/15的培养基中每孔涂布1百万个细胞来将细胞涂布在24孔培养皿中。在24孔培养皿中使用15 μ L IL2R-CISC和3 μ L含有4 μ g/mL(0.5mL培养基)硫酸鱼精蛋白的MND-GFP对照,用或不用珠粒转导慢病毒。然后将细胞在33 $^{\circ}$ C下以800g旋转接种30分钟,接着在孵育4小时后加入1.5mL培养基。将转导的细胞在37 $^{\circ}$ C下与细胞因子(包括50ng/mL IL2、5ng/mL的IL5和5ng/mL的IL17)一起孵育48小时。测定GFP信号并测定转导的T细胞的IL2R-CISC水平。对于IL2R-CISC,转导效率为10-30%,对于MND-GFP,转导效率为约80%。

[0213] 转导后,将细胞在IL2中生长2天,然后分成两半,如所指示的,一半只在IL2中生长,一半只在雷帕霉素中生长。用雷帕霉素(1nM)或IL2处理T细胞2天,并将细胞以1百万个细胞/孔涂布在具有2mL培养基的24孔培养皿中。测定T细胞活力,并通过使用抗FRB抗体和第二APC抗体来测定GFP+群体的表达和IL2R-CISC表达。图7A-7B以及图8-11显示了各个群体中GFP和FRB表达的流式细胞术结果。如图8中所示,对于1233架构,如通过顺式连接的GFP标志物读出的,单独在雷帕霉素中培养的细胞富含IL2R-CISC表达。

[0214] 图12图解地显示了对于图3中描绘的CISC构建体在雷帕霉素存在的情况下,细胞增殖增加。V3是最高效的用于增殖的架构。图13图解地描绘了IL2R-CISC V3响应雷帕霉素处理而支持人CD4+T细胞增殖。

[0215] 使用如上所述的方法还显示表达IL2R-CISC的T细胞在雷帕霉素存在的情况下诱导STAT5途径。如图14中的流动细胞数据所示,对于STAT5途径信号传导,V3构建体是最高效的架构。

[0216] 可使用另外的雷帕霉素类似物进行如本文所述的类似方法。例如,使用AP21967进行本文所述的方法。如图15的流动细胞数据所示,响应于AP21967,IL2R-CISC V3构建体促进进入CD4+T细胞存活。另外,如图16中图解描绘的,IL2R-CISC响应于AP21967治疗促进CD4+T细胞增殖。图17显示利用各种处理(包括雷帕霉素及其类似物)的IL2R-CISC扩增的CD4+T细胞的细胞毒性,表明长期扩增后的正常毒性。

[0217] 将IL2R-CISC细胞暴露于IL-2中和抗体,所述抗体中和细胞的生长和增殖(图18和

图19)。这表明CISC诱导的扩增不是由自分泌或旁分泌刺激导致的。

[0218] 分析IL2-CISC诱导的信号传导途径以确定信号传导途径的强度是否足以产生临床相关活性。如图20的流动细胞数据所示,进行CISC V3扩增细胞的T细胞标志物分析。

[0219] 本领域技术人员应理解,本文描述的架构和/或构建体不旨在是限制性的。因此,除了本文描述的V1、V2和V3构建体以及本文描述的其它架构和/或构建体以外,还可使用另外的架构和/或。例如,如图21所示,使用称为V4、V5、V6和V7的另外的构建体,所述构建体包括置于FKBP和/或FRB以及IL2Rg和IL2Rb亚基序列中的各种间隔子和接头。使用这些比较架构的实验方案和设计概述于图22中。简言之,该方法包括解冻PBMC3饲养细胞,并在抗CD3/CD28珠粒存在的情况下分离CD4⁺细胞。取出珠粒,并将其与V4、V5、V6或V7之一一起以800x g在500μL中进行旋转接种。旋转接种后,加入1.5mL TCM+细胞因子。然后用各种条件(包括:无处理、100nM AP21967、1nM雷帕霉素或50ng/mL IL-2)处理每种构建体。然后测量具有每种构建体的细胞的扩增。在图23中所示的流动细胞数据中显示了细胞的扩增。图24图解地显示了具有各种构建体的细胞的扩增,并且显示了雷帕霉素诱导的扩增对于用扩展至TM接头的EC结构域测试的所有CISC体系结构是类似的。

[0220] 另外,测试MND启动子和CISC的靶向敲入以富集和/或扩增基因靶向的T细胞。图25显示了用于MND启动子的靶向敲入的基因构建体,图26解地描绘了用于靶向敲入的方法方案的一个实施方案。简言之,该方法包括解冻PBMC饲养细胞,并在抗CD3/CD28珠粒存在的情况下分离CD4⁺细胞。取出珠子并加入Cas9/gRNA核糖核蛋白(RNP)。然后用各种条件(包括:无处理、10nM AP21967、10nM雷帕霉素或10nM雷帕霉素+5ng/mL IL-2)处理构建体。如图27和28中所示,与雷帕霉素接触导致基因靶向细胞富集,而与雷帕霉素和IL-2接触则未显示富集。

[0221] 上面已经参考具体替代方案描述了本公开。然而,除了上述之外的其它替代方案同样可能在本公开的范围内。可在本公开的范围内提供与上述方法步骤不同的方法步骤。可将本文描述的不同特征和步骤与除所描述的那些外的组合进行组合。

[0222] 关于本文中复数和/或单数术语的使用,本领域技术人员可以根据上下文和/或应用适当地从复数转换为单数和/或从单数转换为复数。为清楚起见,本文中可以明确地阐述各种单数/复数排列。

[0223] 本领域技术人员将理解,通常,本文使用的术语,尤其是在所附权利要求(例如,所附权利要求的主体)中,通常旨在作为“开放式”术语(例如,术语“包括”(including)应当被解释为“包括但不限于”,术语“具有”应当被解释为“至少具有”,术语“包括(includes)”应当被解释为“包括但不限于”等)。

[0224] 另外,在根据马库什组描述本公开的特征或方面时,本领域技术人员将认识到,也由此根据马库什组的任何单个成员或成员的亚组描述本公开。

[0225] 第一至第十一方面的替代方案的任何特征适用于本文中确定的所有方面和替代方案。此外,第一至第十一方面的替代方案的任何特征可以以任何方式部分或全部地与本文描述的其它替代方案独立地组合,例如,可将一个、两个或三个或更多个替代方案全部或部分组合。另外,可使得第一至第十一方面的替代方案的任何特征对于其它方面或替代方案是可选的。尽管上文对各种示例性替代和实现进行了描述,但应该理解,在一个或多个单个替代方案中描述的各种特征、方面和功能性不限于它们对用以描述它们的特定替代方案

的适用性,而是相反地,可以单独或以各种组合应用于本申请的一个或多个另外的替代方案,无论是否描述了此类替代方案,以及这些特征是否被呈现为所描述的替代方案的一部分。因此,本申请的广度和范围不应受任何上述示例替代方案的限制。

[0226] 本文引用的所有参考文献通过引用整体并入本文。如果通过引入并入的参考的出版物和专利或专利申请与本说明书包含的公开内相矛盾,则本说明书旨在替代和/或优于任何此类矛盾材料。如果通过引入并入本文的参考的出版物和专利或专利申请与本说明书包含的公开内相矛盾,则本说明书旨在替代和/或优于任何此类矛盾材料。

[0001]	序列表			
[0002]	<110> Seattle Children's Hospital dba Seattle Children's			
[0003]	Research Institute Scharenberg, Andrew			
[0004]	<120> 在体外和体内对工程化的细胞中表达的化学物质诱导的信号传导复合物进行外源性药物激活的方法			
[0005]	<130> SCRI.130W0			
[0006]	<150> 62/433540			
[0007]	<151> 2016-12-13			
[0008]	<160> 20			
[0009]	<170> FastSEQ用于Windows 4.0版			
[0010]	<210> 1			
[0011]	<211> 251			
[0012]	<212> PRT			
[0013]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
[0014]	<220>			
[0015]	<223> IL2R-CISC - γ 组分			
[0016]	<400> 1			
[0017]	Met	Pro	Leu	Gly
[0018]	1	5	10	15
[0019]	His	Ala	Gln	Ala
[0020]	20	25	30	
[0021]	Arg	Thr	Phe	Pro
[0022]	35	40	45	
[0023]	Met	Leu	Glu	Asp
[0024]	50	55	60	
[0025]	Pro	Phe	Lys	Phe
[0026]	65	70	75	80
[0027]	Glu	Gly	Val	Ala
[0028]	85	90	95	
[0029]	Ser	Pro	Asp	Tyr
[0030]	100	105	110	
[0031]	Pro	His	Ala	Thr
[0032]	115	120	125	
[0033]	Gly	Ser	Asn	Thr
[0034]	130	135	140	
[0035]	Val	Val	Ile	Ser
[0036]	145	150	155	160
[0037]	Val	Tyr	Phe	Trp
[0038]	165	170	175	
[0039]	Asn	Leu	Glu	Asp
[0040]	180	185	190	

[0041]	Ser Gly Val Ser Lys Gly Leu Ala Glu Ser Leu Gln Pro Asp Tyr Ser
[0042]	195 200 205
[0043]	Glu Arg Leu Cys Leu Val Ser Glu Ile Pro Pro Lys Gly Gly Ala Leu
[0044]	210 215 220
[0045]	Gly Glu Gly Pro Gly Ala Ser Pro Cys Asn Gln His Ser Pro Tyr Trp
[0046]	225 230 235 240
[0047]	Ala Pro Pro Cys Tyr Thr Leu Lys Pro Glu Thr
[0048]	245 250
[0049]	<210> 2
[0050]	<211> 429
[0051]	<212> PRT
[0052]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0053]	<220>
[0054]	<223> IL2R-CISC - β 组分
[0055]	<400> 2
[0056]	Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
[0057]	1 5 10 15
[0058]	His Ala Ala Arg Pro Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu
[0059]	20 25 30
[0060]	Glu Glu Ala Ser Arg Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met
[0061]	35 40 45
[0062]	Phe Glu Val Leu Glu Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln
[0063]	50 55 60
[0064]	Thr Leu Lys Glu Thr Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met
[0065]	65 70 75 80
[0066]	Glu Ala Gln Glu Trp Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys
[0067]	85 90 95
[0068]	Asp Leu Leu Gln Ala Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile
[0069]	100 105 110
[0070]	Ser Lys Gly Lys Asp Thr Ile Pro Trp Leu Gly His Leu Leu Val Gly
[0071]	115 120 125
[0072]	Leu Ser Gly Ala Phe Gly Phe Ile Ile Leu Val Tyr Leu Leu Ile Asn
[0073]	130 135 140
[0074]	Cys Arg Asn Thr Gly Pro Trp Leu Lys Lys Val Leu Lys Cys Asn Thr
[0075]	145 150 155 160
[0076]	Pro Asp Pro Ser Lys Phe Phe Ser Gln Leu Ser Ser Glu His Gly Gly
[0077]	165 170 175
[0078]	Asp Val Gln Lys Trp Leu Ser Ser Pro Phe Pro Ser Ser Ser Phe Ser
[0079]	180 185 190
[0080]	Pro Gly Gly Leu Ala Pro Glu Ile Ser Pro Leu Glu Val Leu Glu Arg
[0081]	195 200 205
[0082]	Asp Lys Val Thr Gln Leu Leu Leu Gln Gln Asp Lys Val Pro Glu Pro

[0083]	210	215	220
[0084]	Ala Ser Leu Ser Ser Asn His Ser Leu Thr Ser Cys Phe Thr Asn Gln		
[0085]	225	230	235 240
[0086]	Gly Tyr Phe Phe Phe His Leu Pro Asp Ala Leu Glu Ile Glu Ala Cys		
[0087]		245	250 255
[0088]	Gln Val Tyr Phe Thr Tyr Asp Pro Tyr Ser Glu Glu Asp Pro Asp Glu		
[0089]		260	265 270
[0090]	Gly Val Ala Gly Ala Pro Thr Gly Ser Ser Pro Gln Pro Leu Gln Pro		
[0091]		275	280 285
[0092]	Leu Ser Gly Glu Asp Asp Ala Tyr Cys Thr Phe Pro Ser Arg Asp Asp		
[0093]	290	295	300
[0094]	Leu Leu Leu Phe Ser Pro Ser Leu Leu Gly Gly Pro Ser Pro Pro Ser		
[0095]	305	310	315 320
[0096]	Thr Ala Pro Gly Gly Ser Gly Ala Gly Glu Glu Arg Met Pro Pro Ser		
[0097]		325	330 335
[0098]	Leu Gln Glu Arg Val Pro Arg Asp Trp Asp Pro Gln Pro Leu Gly Pro		
[0099]		340	345 350
[0100]	Pro Thr Pro Gly Val Pro Asp Leu Val Asp Phe Gln Pro Pro Pro Glu		
[0101]		355	360 365
[0102]	Leu Val Leu Arg Glu Ala Gly Glu Glu Val Pro Asp Ala Gly Pro Arg		
[0103]	370	375	380
[0104]	Glu Gly Val Ser Phe Pro Trp Ser Arg Pro Pro Gly Gln Gly Glu Phe		
[0105]	385	390	395 400
[0106]	Arg Ala Leu Asn Ala Arg Leu Pro Leu Asn Thr Asp Ala Tyr Leu Ser		
[0107]		405	410 415
[0108]	Leu Gln Glu Leu Gln Gly Gln Asp Pro Thr His Leu Val		
[0109]		420	425
[0110]	<210> 3		
[0111]	<211> 352		
[0112]	<212> PRT		
[0113]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0114]	<220>		
[0115]	<223> FKBP IL2Rg CISC 1210		
[0116]	<400> 3		
[0117]	Met Pro Leu Gly Leu Leu Trp Leu Gly Leu Ala Leu Leu Gly Ala Leu		
[0118]	1	5	10 15
[0119]	His Ala Gln Ala Gly Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly		
[0120]		20	25 30
[0121]	Arg Thr Phe Pro Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly		
[0122]		35	40 45
[0123]	Met Leu Glu Asp Gly Lys Lys Phe Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys		
[0124]	50	55	60

[0125]	Pro Phe Lys Phe Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu
[0126]	65 70 75 80
[0127]	Glu Gly Val Ala Gln Met Ser Val Gly Gln Arg Ala Lys Leu Thr Ile
[0128]	85 90 95
[0129]	Ser Pro Asp Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro
[0130]	100 105 110
[0131]	Pro His Ala Thr Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Lys Leu Glu Gly
[0132]	115 120 125
[0133]	Gly Gly Ser Gln Asn Leu Val Ile Pro Trp Ala Pro Glu Asn Leu Thr
[0134]	130 135 140
[0135]	Leu His Lys Leu Ser Glu Ser Gln Leu Glu Leu Asn Trp Asn Asn Arg
[0136]	145 150 155 160
[0137]	Phe Leu Asn His Cys Leu Glu His Leu Val Gln Tyr Arg Thr Asp Trp
[0138]	165 170 175
[0139]	Asp His Ser Trp Thr Glu Gln Ser Val Asp Tyr Arg His Lys Phe Ser
[0140]	180 185 190
[0141]	Leu Pro Ser Val Asp Gly Gln Lys Arg Tyr Thr Phe Arg Val Arg Ser
[0142]	195 200 205
[0143]	Arg Phe Asn Pro Leu Cys Gly Ser Ala Gln His Trp Ser Glu Trp Ser
[0144]	210 215 220
[0145]	His Pro Ile His Trp Gly Ser Asn Thr Ser Lys Glu Asn Pro Phe Leu
[0146]	225 230 235 240
[0147]	Phe Ala Leu Glu Ala Val Val Ile Ser Val Gly Ser Met Gly Leu Ile
[0148]	245 250 255
[0149]	Ile Ser Leu Leu Cys Val Tyr Phe Trp Leu Glu Arg Thr Met Pro Arg
[0150]	260 265 270
[0151]	Ile Pro Thr Leu Lys Asn Leu Glu Asp Leu Val Thr Glu Tyr His Gly
[0152]	275 280 285
[0153]	Asn Phe Ser Ala Trp Ser Gly Val Ser Lys Gly Leu Ala Glu Ser Leu
[0154]	290 295 300
[0155]	Gln Pro Asp Tyr Ser Glu Arg Leu Cys Leu Val Ser Glu Ile Pro Pro
[0156]	305 310 315 320
[0157]	Lys Gly Gly Ala Leu Gly Glu Gly Pro Gly Ala Ser Pro Cys Asn Gln
[0158]	325 330 335
[0159]	His Ser Pro Tyr Trp Ala Pro Pro Cys Tyr Thr Leu Lys Pro Glu Thr
[0160]	340 345 350
[0161]	<210> 4
[0162]	<211> 544
[0163]	<212> PRT
[0164]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0165]	<220>
[0166]	<223> FRB IL2Rb CISC 1210

[0167]	<400> 4
[0168]	Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
[0169]	1 5 10 15
[0170]	His Ala Ala Arg Pro Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu
[0171]	20 25 30
[0172]	Glu Glu Ala Ser Arg Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met
[0173]	35 40 45
[0174]	Phe Glu Val Leu Glu Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln
[0175]	50 55 60
[0176]	Thr Leu Lys Glu Thr Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met
[0177]	65 70 75 80
[0178]	Glu Ala Gln Glu Trp Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys
[0179]	85 90 95
[0180]	Asp Leu Leu Gln Ala Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile
[0181]	100 105 110
[0182]	Ser Lys Gly Gly Ser Lys Pro Phe Glu Asn Leu Arg Leu Met Ala Pro
[0183]	115 120 125
[0184]	Ile Ser Leu Gln Val Val His Val Glu Thr His Arg Cys Asn Ile Ser
[0185]	130 135 140
[0186]	Trp Glu Ile Ser Gln Ala Ser His Tyr Phe Glu Arg His Leu Glu Phe
[0187]	145 150 155 160
[0188]	Glu Ala Arg Thr Leu Ser Pro Gly His Thr Trp Glu Glu Ala Pro Leu
[0189]	165 170 175
[0190]	Leu Thr Leu Lys Gln Lys Gln Glu Trp Ile Cys Leu Glu Thr Leu Thr
[0191]	180 185 190
[0192]	Pro Asp Thr Gln Tyr Glu Phe Gln Val Arg Val Lys Pro Leu Gln Gly
[0193]	195 200 205
[0194]	Glu Phe Thr Thr Trp Ser Pro Trp Ser Gln Pro Leu Ala Phe Arg Thr
[0195]	210 215 220
[0196]	Lys Pro Ala Ala Leu Gly Lys Asp Thr Ile Pro Trp Leu Gly His Leu
[0197]	225 230 235 240
[0198]	Leu Val Gly Leu Ser Gly Ala Phe Gly Phe Ile Ile Leu Val Tyr Leu
[0199]	245 250 255
[0200]	Leu Ile Asn Cys Arg Asn Thr Gly Pro Trp Leu Lys Lys Val Leu Lys
[0201]	260 265 270
[0202]	Cys Asn Thr Pro Asp Pro Ser Lys Phe Phe Ser Gln Leu Ser Ser Glu
[0203]	275 280 285
[0204]	His Gly Gly Asp Val Gln Lys Trp Leu Ser Ser Pro Phe Pro Ser Ser
[0205]	290 295 300
[0206]	Ser Phe Ser Pro Gly Gly Leu Ala Pro Glu Ile Ser Pro Leu Glu Val
[0207]	305 310 315 320
[0208]	Leu Glu Arg Asp Lys Val Thr Gln Leu Leu Leu Gln Gln Asp Lys Val

[0209]		325		330		335
[0210]	Pro Glu Pro Ala Ser Leu Ser Ser Asn His Ser Leu Thr Ser Cys Phe					
[0211]		340		345		350
[0212]	Thr Asn Gln Gly Tyr Phe Phe Phe His Leu Pro Asp Ala Leu Glu Ile					
[0213]		355		360		365
[0214]	Glu Ala Cys Gln Val Tyr Phe Thr Tyr Asp Pro Tyr Ser Glu Glu Asp					
[0215]		370		375		380
[0216]	Pro Asp Glu Gly Val Ala Gly Ala Pro Thr Gly Ser Ser Pro Gln Pro					
[0217]	385		390		395	400
[0218]	Leu Gln Pro Leu Ser Gly Glu Asp Asp Ala Tyr Cys Thr Phe Pro Ser					
[0219]		405		410		415
[0220]	Arg Asp Asp Leu Leu Leu Phe Ser Pro Ser Leu Leu Gly Gly Pro Ser					
[0221]		420		425		430
[0222]	Pro Pro Ser Thr Ala Pro Gly Gly Ser Gly Ala Gly Glu Glu Arg Met					
[0223]		435		440		445
[0224]	Pro Pro Ser Leu Gln Glu Arg Val Pro Arg Asp Trp Asp Pro Gln Pro					
[0225]		450		455		460
[0226]	Leu Gly Pro Pro Thr Pro Gly Val Pro Asp Leu Val Asp Phe Gln Pro					
[0227]	465		470		475	480
[0228]	Pro Pro Glu Leu Val Leu Arg Glu Ala Gly Glu Glu Val Pro Asp Ala					
[0229]		485		490		495
[0230]	Gly Pro Arg Glu Gly Val Ser Phe Pro Trp Ser Arg Pro Pro Gly Gln					
[0231]		500		505		510
[0232]	Gly Glu Phe Arg Ala Leu Asn Ala Arg Leu Pro Leu Asn Thr Asp Ala					
[0233]		515		520		525
[0234]	Tyr Leu Ser Leu Gln Glu Leu Gln Gly Gln Asp Pro Thr His Leu Val					
[0235]		530		535		540
[0236]	<210> 5					
[0237]	<211> 349					
[0238]	<212> PRT					
[0239]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)					
[0240]	<220>					
[0241]	<223> FKBP IL2Rg CISC 1211					
[0242]	<400> 5					
[0243]	Met Pro Leu Gly Leu Leu Trp Leu Gly Leu Ala Leu Leu Gly Ala Leu					
[0244]	1	5		10		15
[0245]	His Ala Gln Ala Gly Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly					
[0246]		20		25		30
[0247]	Arg Thr Phe Pro Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly					
[0248]		35		40		45
[0249]	Met Leu Glu Asp Gly Lys Lys Phe Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys					
[0250]		50		55		60

[0251]	Pro Phe Lys Phe Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu		
[0252]	65	70	75 80
[0253]	Glu Gly Val Ala Gln Met Ser Val Gly Gln Arg Ala Lys Leu Thr Ile		
[0254]		85	90 95
[0255]	Ser Pro Asp Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro		
[0256]		100	105 110
[0257]	Pro His Ala Thr Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Lys Leu Glu Gly		
[0258]		115	120 125
[0259]	Gln Asn Leu Val Ile Pro Trp Ala Pro Glu Asn Leu Thr Leu His Lys		
[0260]		130	135 140
[0261]	Leu Ser Glu Ser Gln Leu Glu Leu Asn Trp Asn Asn Arg Phe Leu Asn		
[0262]		145	150 155 160
[0263]	His Cys Leu Glu His Leu Val Gln Tyr Arg Thr Asp Trp Asp His Ser		
[0264]		165	170 175
[0265]	Trp Thr Glu Gln Ser Val Asp Tyr Arg His Lys Phe Ser Leu Pro Ser		
[0266]		180	185 190
[0267]	Val Asp Gly Gln Lys Arg Tyr Thr Phe Arg Val Arg Ser Arg Phe Asn		
[0268]		195	200 205
[0269]	Pro Leu Cys Gly Ser Ala Gln His Trp Ser Glu Trp Ser His Pro Ile		
[0270]		210	215 220
[0271]	His Trp Gly Ser Asn Thr Ser Lys Glu Asn Pro Phe Leu Phe Ala Leu		
[0272]		225	230 235 240
[0273]	Glu Ala Val Val Ile Ser Val Gly Ser Met Gly Leu Ile Ile Ser Leu		
[0274]		245	250 255
[0275]	Leu Cys Val Tyr Phe Trp Leu Glu Arg Thr Met Pro Arg Ile Pro Thr		
[0276]		260	265 270
[0277]	Leu Lys Asn Leu Glu Asp Leu Val Thr Glu Tyr His Gly Asn Phe Ser		
[0278]		275	280 285
[0279]	Ala Trp Ser Gly Val Ser Lys Gly Leu Ala Glu Ser Leu Gln Pro Asp		
[0280]		290	295 300
[0281]	Tyr Ser Glu Arg Leu Cys Leu Val Ser Glu Ile Pro Pro Lys Gly Gly		
[0282]		305	310 315 320
[0283]	Ala Leu Gly Glu Gly Pro Gly Ala Ser Pro Cys Asn Gln His Ser Pro		
[0284]		325	330 335
[0285]	Tyr Trp Ala Pro Pro Cys Tyr Thr Leu Lys Pro Glu Thr		
[0286]		340	345
[0287]	<210> 6		
[0288]	<211> 541		
[0289]	<212> PRT		
[0290]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0291]	<220>		
[0292]	<223> FRB IL2Rb CISC 1211		

[0293]	<400> 6
[0294]	Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
[0295]	1 5 10 15
[0296]	His Ala Ala Arg Pro Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu
[0297]	20 25 30
[0298]	Glu Glu Ala Ser Arg Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met
[0299]	35 40 45
[0300]	Phe Glu Val Leu Glu Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln
[0301]	50 55 60
[0302]	Thr Leu Lys Glu Thr Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met
[0303]	65 70 75 80
[0304]	Glu Ala Gln Glu Trp Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys
[0305]	85 90 95
[0306]	Asp Leu Leu Gln Ala Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile
[0307]	100 105 110
[0308]	Ser Lys Lys Pro Phe Glu Asn Leu Arg Leu Met Ala Pro Ile Ser Leu
[0309]	115 120 125
[0310]	Gln Val Val His Val Glu Thr His Arg Cys Asn Ile Ser Trp Glu Ile
[0311]	130 135 140
[0312]	Ser Gln Ala Ser His Tyr Phe Glu Arg His Leu Glu Phe Glu Ala Arg
[0313]	145 150 155 160
[0314]	Thr Leu Ser Pro Gly His Thr Trp Glu Glu Ala Pro Leu Leu Thr Leu
[0315]	165 170 175
[0316]	Lys Gln Lys Gln Glu Trp Ile Cys Leu Glu Thr Leu Thr Pro Asp Thr
[0317]	180 185 190
[0318]	Gln Tyr Glu Phe Gln Val Arg Val Lys Pro Leu Gln Gly Glu Phe Thr
[0319]	195 200 205
[0320]	Thr Trp Ser Pro Trp Ser Gln Pro Leu Ala Phe Arg Thr Lys Pro Ala
[0321]	210 215 220
[0322]	Ala Leu Gly Lys Asp Thr Ile Pro Trp Leu Gly His Leu Leu Val Gly
[0323]	225 230 235 240
[0324]	Leu Ser Gly Ala Phe Gly Phe Ile Ile Leu Val Tyr Leu Leu Ile Asn
[0325]	245 250 255
[0326]	Cys Arg Asn Thr Gly Pro Trp Leu Lys Lys Val Leu Lys Cys Asn Thr
[0327]	260 265 270
[0328]	Pro Asp Pro Ser Lys Phe Phe Ser Gln Leu Ser Ser Glu His Gly Gly
[0329]	275 280 285
[0330]	Asp Val Gln Lys Trp Leu Ser Ser Pro Phe Pro Ser Ser Ser Phe Ser
[0331]	290 295 300
[0332]	Pro Gly Gly Leu Ala Pro Glu Ile Ser Pro Leu Glu Val Leu Glu Arg
[0333]	305 310 315 320
[0334]	Asp Lys Val Thr Gln Leu Leu Leu Gln Gln Asp Lys Val Pro Glu Pro

[0335]		325		330		335
[0336]	Ala Ser Leu Ser Ser Asn His Ser Leu Thr Ser Cys Phe Thr Asn Gln					
[0337]		340		345		350
[0338]	Gly Tyr Phe Phe Phe His Leu Pro Asp Ala Leu Glu Ile Glu Ala Cys					
[0339]		355		360		365
[0340]	Gln Val Tyr Phe Thr Tyr Asp Pro Tyr Ser Glu Glu Asp Pro Asp Glu					
[0341]		370		375		380
[0342]	Gly Val Ala Gly Ala Pro Thr Gly Ser Ser Pro Gln Pro Leu Gln Pro					
[0343]	385		390		395	400
[0344]	Leu Ser Gly Glu Asp Asp Ala Tyr Cys Thr Phe Pro Ser Arg Asp Asp					
[0345]		405		410		415
[0346]	Leu Leu Leu Phe Ser Pro Ser Leu Leu Gly Gly Pro Ser Pro Pro Ser					
[0347]		420		425		430
[0348]	Thr Ala Pro Gly Gly Ser Gly Ala Gly Glu Glu Arg Met Pro Pro Ser					
[0349]		435		440		445
[0350]	Leu Gln Glu Arg Val Pro Arg Asp Trp Asp Pro Gln Pro Leu Gly Pro					
[0351]		450		455		460
[0352]	Pro Thr Pro Gly Val Pro Asp Leu Val Asp Phe Gln Pro Pro Pro Glu					
[0353]	465		470		475	480
[0354]	Leu Val Leu Arg Glu Ala Gly Glu Glu Val Pro Asp Ala Gly Pro Arg					
[0355]		485		490		495
[0356]	Glu Gly Val Ser Phe Pro Trp Ser Arg Pro Pro Gly Gln Gly Glu Phe					
[0357]		500		505		510
[0358]	Arg Ala Leu Asn Ala Arg Leu Pro Leu Asn Thr Asp Ala Tyr Leu Ser					
[0359]		515		520		525
[0360]	Leu Gln Glu Leu Gln Gly Gln Asp Pro Thr His Leu Val					
[0361]		530		535		540
[0362]	<210> 7					
[0363]	<211> 251					
[0364]	<212> PRT					
[0365]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)					
[0366]	<220>					
[0367]	<223> FKBP IL2Rg CISC 1233					
[0368]	<400> 7					
[0369]	Met Pro Leu Gly Leu Leu Trp Leu Gly Leu Ala Leu Leu Gly Ala Leu					
[0370]	1	5		10		15
[0371]	His Ala Gln Ala Gly Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly					
[0372]		20		25		30
[0373]	Arg Thr Phe Pro Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly					
[0374]		35		40		45
[0375]	Met Leu Glu Asp Gly Lys Lys Phe Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys					
[0376]		50		55		60

[0377]	Pro Phe Lys Phe Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu
[0378]	65 70 75 80
[0379]	Glu Gly Val Ala Gln Met Ser Val Gly Gln Arg Ala Lys Leu Thr Ile
[0380]	85 90 95
[0381]	Ser Pro Asp Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro
[0382]	100 105 110
[0383]	Pro His Ala Thr Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Lys Leu Glu Gly
[0384]	115 120 125
[0385]	Gly Ser Asn Thr Ser Lys Glu Asn Pro Phe Leu Phe Ala Leu Glu Ala
[0386]	130 135 140
[0387]	Val Val Ile Ser Val Gly Ser Met Gly Leu Ile Ile Ser Leu Leu Cys
[0388]	145 150 155 160
[0389]	Val Tyr Phe Trp Leu Glu Arg Thr Met Pro Arg Ile Pro Thr Leu Lys
[0390]	165 170 175
[0391]	Asn Leu Glu Asp Leu Val Thr Glu Tyr His Gly Asn Phe Ser Ala Trp
[0392]	180 185 190
[0393]	Ser Gly Val Ser Lys Gly Leu Ala Glu Ser Leu Gln Pro Asp Tyr Ser
[0394]	195 200 205
[0395]	Glu Arg Leu Cys Leu Val Ser Glu Ile Pro Pro Lys Gly Gly Ala Leu
[0396]	210 215 220
[0397]	Gly Glu Gly Pro Gly Ala Ser Pro Cys Asn Gln His Ser Pro Tyr Trp
[0398]	225 230 235 240
[0399]	Ala Pro Pro Cys Tyr Thr Leu Lys Pro Glu Thr
[0400]	245 250
[0401]	<210> 8
[0402]	<211> 379
[0403]	<212> PRT
[0404]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0405]	<220>
[0406]	<223> FRB IL2Rb CISC 1233
[0407]	<400> 8
[0408]	Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
[0409]	1 5 10 15
[0410]	His Ala Ala Arg Pro Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu
[0411]	20 25 30
[0412]	Glu Glu Ala Ser Arg Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met
[0413]	35 40 45
[0414]	Phe Glu Val Leu Glu Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln
[0415]	50 55 60
[0416]	Thr Leu Lys Glu Thr Ser Trp Leu Gly His Leu Leu Val Gly Leu Ser
[0417]	65 70 75 80
[0418]	Gly Ala Phe Gly Phe Ile Ile Leu Val Tyr Leu Leu Ile Asn Cys Arg

[0419]		85		90		95
[0420]	Asn Thr Gly Pro Trp Leu Lys Lys Val Leu Lys Cys Asn Thr Pro Asp					
[0421]		100		105		110
[0422]	Pro Ser Lys Phe Phe Ser Gln Leu Ser Ser Glu His Gly Gly Asp Val					
[0423]		115		120		125
[0424]	Gln Lys Trp Leu Ser Ser Pro Phe Pro Ser Ser Ser Phe Ser Pro Gly					
[0425]		130		135		140
[0426]	Gly Leu Ala Pro Glu Ile Ser Pro Leu Glu Val Leu Glu Arg Asp Lys					
[0427]		145		150		155
[0428]	Val Thr Gln Leu Leu Leu Gln Gln Asp Lys Val Pro Glu Pro Ala Ser					
[0429]		165		170		175
[0430]	Leu Ser Ser Asn His Ser Leu Thr Ser Cys Phe Thr Asn Gln Gly Tyr					
[0431]		180		185		190
[0432]	Phe Phe Phe His Leu Pro Asp Ala Leu Glu Ile Glu Ala Cys Gln Val					
[0433]		195		200		205
[0434]	Tyr Phe Thr Tyr Asp Pro Tyr Ser Glu Glu Asp Pro Asp Glu Gly Val					
[0435]		210		215		220
[0436]	Ala Gly Ala Pro Thr Gly Ser Ser Pro Gln Pro Leu Gln Pro Leu Ser					
[0437]		225		230		235
[0438]	Gly Glu Asp Asp Ala Tyr Cys Thr Phe Pro Ser Arg Asp Asp Leu Leu					
[0439]		245		250		255
[0440]	Leu Phe Ser Pro Ser Leu Leu Gly Gly Pro Ser Pro Pro Ser Thr Ala					
[0441]		260		265		270
[0442]	Pro Gly Gly Ser Gly Ala Gly Glu Glu Arg Met Pro Pro Ser Leu Gln					
[0443]		275		280		285
[0444]	Glu Arg Val Pro Arg Asp Trp Asp Pro Gln Pro Leu Gly Pro Pro Thr					
[0445]		290		295		300
[0446]	Pro Gly Val Pro Asp Leu Val Asp Phe Gln Pro Pro Pro Glu Leu Val					
[0447]		305		310		315
[0448]	Leu Arg Glu Ala Gly Glu Glu Val Pro Asp Ala Gly Pro Arg Glu Gly					
[0449]		325		330		335
[0450]	Val Ser Phe Pro Trp Ser Arg Pro Pro Gly Gln Gly Glu Phe Arg Ala					
[0451]		340		345		350
[0452]	Leu Asn Ala Arg Leu Pro Leu Asn Thr Asp Ala Tyr Leu Ser Leu Gln					
[0453]		355		360		365
[0454]	Glu Leu Gln Gly Gln Asp Pro Thr His Leu Val					
[0455]		370		375		
[0456]	<210> 9					
[0457]	<211> 345					
[0458]	<212> PRT					
[0459]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)					
[0460]	<220>					

[0461]	<223> FRB IL7Ra CISC																			
[0462]	<400> 9																			
[0463]	Met	Ala	Leu	Pro	Val	Thr	Ala	Leu	Leu	Leu	Pro	Leu	Ala	Leu	Leu	Leu				
[0464]	1				5					10					15					
[0465]	His	Ala	Ala	Arg	Pro	Ile	Leu	Trp	His	Glu	Met	Trp	His	Glu	Gly	Leu				
[0466]				20				25					30							
[0467]	Glu	Glu	Ala	Ser	Arg	Leu	Tyr	Phe	Gly	Glu	Arg	Asn	Val	Lys	Gly	Met				
[0468]				35				40					45							
[0469]	Phe	Glu	Val	Leu	Glu	Pro	Leu	His	Ala	Met	Met	Glu	Arg	Gly	Pro	Gln				
[0470]		50					55					60								
[0471]	Thr	Leu	Lys	Glu	Thr	Ser	Phe	Asn	Gln	Ala	Tyr	Gly	Arg	Asp	Leu	Met				
[0472]	65					70					75				80					
[0473]	Glu	Ala	Gln	Glu	Trp	Cys	Arg	Lys	Tyr	Met	Lys	Ser	Gly	Asn	Val	Lys				
[0474]					85				90					95						
[0475]	Asp	Leu	Leu	Gln	Ala	Trp	Asp	Leu	Tyr	Tyr	His	Val	Phe	Arg	Arg	Ile				
[0476]				100				105					110							
[0477]	Ser	Lys	Gly	Glu	Ile	Asn	Asn	Ser	Ser	Gly	Glu	Met	Asp	Pro	Ile	Leu				
[0478]				115				120					125							
[0479]	Leu	Thr	Ile	Ser	Ile	Leu	Ser	Phe	Phe	Ser	Val	Ala	Leu	Leu	Val	Ile				
[0480]		130					135					140								
[0481]	Leu	Ala	Cys	Val	Leu	Trp	Lys	Lys	Arg	Ile	Lys	Pro	Ile	Val	Trp	Pro				
[0482]	145					150					155				160					
[0483]	Ser	Leu	Pro	Asp	His	Lys	Lys	Thr	Leu	Glu	His	Leu	Cys	Lys	Lys	Pro				
[0484]				165				170					175							
[0485]	Arg	Lys	Asn	Leu	Asn	Val	Ser	Phe	Asn	Pro	Glu	Ser	Phe	Leu	Asp	Cys				
[0486]				180				185					190							
[0487]	Gln	Ile	His	Arg	Val	Asp	Asp	Ile	Gln	Ala	Arg	Asp	Glu	Val	Glu	Gly				
[0488]				195				200					205							
[0489]	Phe	Leu	Gln	Asp	Thr	Phe	Pro	Gln	Gln	Leu	Glu	Glu	Ser	Glu	Lys	Gln				
[0490]		210					215					220								
[0491]	Arg	Leu	Gly	Gly	Asp	Val	Gln	Ser	Pro	Asn	Cys	Pro	Ser	Glu	Asp	Val				
[0492]	225					230					235				240					
[0493]	Val	Ile	Thr	Pro	Glu	Ser	Phe	Gly	Arg	Asp	Ser	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu				
[0494]					245				250				255							
[0495]	Ala	Gly	Asn	Val	Ser	Ala	Cys	Asp	Ala	Pro	Ile	Leu	Ser	Ser	Ser	Arg				
[0496]				260				265					270							
[0497]	Ser	Leu	Asp	Cys	Arg	Glu	Ser	Gly	Lys	Asn	Gly	Pro	His	Val	Tyr	Gln				
[0498]				275				280					285							
[0499]	Asp	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Gly	Thr	Thr	Asn	Ser	Thr	Leu	Pro	Pro	Pro				
[0500]		290					295					300								
[0501]	Phe	Ser	Leu	Gln	Ser	Gly	Ile	Leu	Thr	Leu	Asn	Pro	Val	Ala	Gln	Gly				
[0502]	305					310					315				320					

[0503]	Gln Pro Ile Leu Thr Ser Leu Gly Ser Asn Gln Glu Glu Ala Tyr Val
[0504]	325 330 335
[0505]	Thr Met Ser Ser Phe Tyr Gln Asn Gln
[0506]	340 345
[0507]	<210> 10
[0508]	<211> 443
[0509]	<212> PRT
[0510]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0511]	<220>
[0512]	<223> FKBP-F36V IL2Rb CISC
[0513]	<400> 10
[0514]	Met Pro Leu Gly Leu Leu Trp Leu Gly Leu Ala Leu Leu Gly Ala Leu
[0515]	1 5 10 15
[0516]	His Ala Gln Ala Gly Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly
[0517]	20 25 30
[0518]	Arg Thr Phe Pro Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly
[0519]	35 40 45
[0520]	Met Leu Glu Asp Gly Lys Lys Val Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys
[0521]	50 55 60
[0522]	Pro Phe Lys Phe Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu
[0523]	65 70 75 80
[0524]	Glu Gly Val Ala Gln Met Ser Val Gly Gln Arg Ala Lys Leu Thr Ile
[0525]	85 90 95
[0526]	Ser Pro Asp Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro
[0527]	100 105 110
[0528]	Pro His Ala Thr Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Lys Leu Glu Gly
[0529]	115 120 125
[0530]	Gly Lys Asp Thr Ile Pro Trp Leu Gly His Leu Leu Val Gly Leu Ser
[0531]	130 135 140
[0532]	Gly Ala Phe Gly Phe Ile Ile Leu Val Tyr Leu Leu Ile Asn Cys Arg
[0533]	145 150 155 160
[0534]	Asn Thr Gly Pro Trp Leu Lys Lys Val Leu Lys Cys Asn Thr Pro Asp
[0535]	165 170 175
[0536]	Pro Ser Lys Phe Phe Ser Gln Leu Ser Ser Glu His Gly Gly Asp Val
[0537]	180 185 190
[0538]	Gln Lys Trp Leu Ser Ser Pro Phe Pro Ser Ser Ser Phe Ser Pro Gly
[0539]	195 200 205
[0540]	Gly Leu Ala Pro Glu Ile Ser Pro Leu Glu Val Leu Glu Arg Asp Lys
[0541]	210 215 220
[0542]	Val Thr Gln Leu Leu Leu Gln Gln Asp Lys Val Pro Glu Pro Ala Ser
[0543]	225 230 235 240
[0544]	Leu Ser Ser Asn His Ser Leu Thr Ser Cys Phe Thr Asn Gln Gly Tyr

[0545]	245	250	255
[0546]	Phe Phe Phe His Leu Pro Asp Ala Leu Glu Ile Glu Ala Cys Gln Val		
[0547]	260	265	270
[0548]	Tyr Phe Thr Tyr Asp Pro Tyr Ser Glu Glu Asp Pro Asp Glu Gly Val		
[0549]	275	280	285
[0550]	Ala Gly Ala Pro Thr Gly Ser Ser Pro Gln Pro Leu Gln Pro Leu Ser		
[0551]	290	295	300
[0552]	Gly Glu Asp Asp Ala Tyr Cys Thr Phe Pro Ser Arg Asp Asp Leu Leu		
[0553]	305	310	315
[0554]	Leu Phe Ser Pro Ser Leu Leu Gly Gly Pro Ser Pro Pro Ser Thr Ala		
[0555]	325	330	335
[0556]	Pro Gly Gly Ser Gly Ala Gly Glu Glu Arg Met Pro Pro Ser Leu Gln		
[0557]	340	345	350
[0558]	Glu Arg Val Pro Arg Asp Trp Asp Pro Gln Pro Leu Gly Pro Pro Thr		
[0559]	355	360	365
[0560]	Pro Gly Val Pro Asp Leu Val Asp Phe Gln Pro Pro Pro Glu Leu Val		
[0561]	370	375	380
[0562]	Leu Arg Glu Ala Gly Glu Glu Val Pro Asp Ala Gly Pro Arg Glu Gly		
[0563]	385	390	395
[0564]	Val Ser Phe Pro Trp Ser Arg Pro Pro Gly Gln Gly Glu Phe Arg Ala		
[0565]	405	410	415
[0566]	Leu Asn Ala Arg Leu Pro Leu Asn Thr Asp Ala Tyr Leu Ser Leu Gln		
[0567]	420	425	430
[0568]	Glu Leu Gln Gly Gln Asp Pro Thr His Leu Val		
[0569]	435	440	
[0570]	<210> 11		
[0571]	<211> 251		
[0572]	<212> PRT		
[0573]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0574]	<220>		
[0575]	<223> FKBP-F36V IL2Rg CISC 1233		
[0576]	<400> 11		
[0577]	Met Pro Leu Gly Leu Leu Trp Leu Gly Leu Ala Leu Leu Gly Ala Leu		
[0578]	1	5	10
[0579]	His Ala Gln Ala Gly Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly		
[0580]	20	25	30
[0581]	Arg Thr Phe Pro Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly		
[0582]	35	40	45
[0583]	Met Leu Glu Asp Gly Lys Lys Val Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys		
[0584]	50	55	60
[0585]	Pro Phe Lys Phe Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu		
[0586]	65	70	75
			80

[0587]	Glu Gly Val Ala Gln Met Ser Val Gly Gln Arg Ala Lys Leu Thr Ile
[0588]	85 90 95
[0589]	Ser Pro Asp Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro
[0590]	100 105 110
[0591]	Pro His Ala Thr Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Lys Leu Glu Gly
[0592]	115 120 125
[0593]	Gly Ser Asn Thr Ser Lys Glu Asn Pro Phe Leu Phe Ala Leu Glu Ala
[0594]	130 135 140
[0595]	Val Val Ile Ser Val Gly Ser Met Gly Leu Ile Ile Ser Leu Leu Cys
[0596]	145 150 155 160
[0597]	Val Tyr Phe Trp Leu Glu Arg Thr Met Pro Arg Ile Pro Thr Leu Lys
[0598]	165 170 175
[0599]	Asn Leu Glu Asp Leu Val Thr Glu Tyr His Gly Asn Phe Ser Ala Trp
[0600]	180 185 190
[0601]	Ser Gly Val Ser Lys Gly Leu Ala Glu Ser Leu Gln Pro Asp Tyr Ser
[0602]	195 200 205
[0603]	Glu Arg Leu Cys Leu Val Ser Glu Ile Pro Pro Lys Gly Gly Ala Leu
[0604]	210 215 220
[0605]	Gly Glu Gly Pro Gly Ala Ser Pro Cys Asn Gln His Ser Pro Tyr Trp
[0606]	225 230 235 240
[0607]	Ala Pro Pro Cys Tyr Thr Leu Lys Pro Glu Thr
[0608]	245 250
[0609]	<210> 12
[0610]	<211> 358
[0611]	<212> PRT
[0612]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0613]	<220>
[0614]	<223> FKBP-F36V IL7Ra CISC 1
[0615]	<400> 12
[0616]	Met Pro Leu Gly Leu Leu Trp Leu Gly Leu Ala Leu Leu Gly Ala Leu
[0617]	1 5 10 15
[0618]	His Ala Gln Ala Gly Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly
[0619]	20 25 30
[0620]	Arg Thr Phe Pro Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly
[0621]	35 40 45
[0622]	Met Leu Glu Asp Gly Lys Lys Val Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys
[0623]	50 55 60
[0624]	Pro Phe Lys Phe Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu
[0625]	65 70 75 80
[0626]	Glu Gly Val Ala Gln Met Ser Val Gly Gln Arg Ala Lys Leu Thr Ile
[0627]	85 90 95
[0628]	Ser Pro Asp Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro

[0629]	100	105	110
[0630]	Pro His Ala Thr Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Lys Leu Glu Gly		
[0631]	115	120	125
[0632]	Glu Ile Asn Asn Ser Ser Gly Glu Met Asp Pro Ile Leu Leu Thr Ile		
[0633]	130	135	140
[0634]	Ser Ile Leu Ser Phe Phe Ser Val Ala Leu Leu Val Ile Leu Ala Cys		
[0635]	145	150	155
[0636]	Val Leu Trp Lys Lys Arg Ile Lys Pro Ile Val Trp Pro Ser Leu Pro		
[0637]	165	170	175
[0638]	Asp His Lys Lys Thr Leu Glu His Leu Cys Lys Lys Pro Arg Lys Asn		
[0639]	180	185	190
[0640]	Leu Asn Val Ser Phe Asn Pro Glu Ser Phe Leu Asp Cys Gln Ile His		
[0641]	195	200	205
[0642]	Arg Val Asp Asp Ile Gln Ala Arg Asp Glu Val Glu Gly Phe Leu Gln		
[0643]	210	215	220
[0644]	Asp Thr Phe Pro Gln Gln Leu Glu Glu Ser Glu Lys Gln Arg Leu Gly		
[0645]	225	230	235
[0646]	Gly Asp Val Gln Ser Pro Asn Cys Pro Ser Glu Asp Val Val Ile Thr		
[0647]	245	250	255
[0648]	Pro Glu Ser Phe Gly Arg Asp Ser Ser Leu Thr Cys Leu Ala Gly Asn		
[0649]	260	265	270
[0650]	Val Ser Ala Cys Asp Ala Pro Ile Leu Ser Ser Ser Arg Ser Leu Asp		
[0651]	275	280	285
[0652]	Cys Arg Glu Ser Gly Lys Asn Gly Pro His Val Tyr Gln Asp Leu Leu		
[0653]	290	295	300
[0654]	Leu Ser Leu Gly Thr Thr Asn Ser Thr Leu Pro Pro Pro Phe Ser Leu		
[0655]	305	310	315
[0656]	Gln Ser Gly Ile Leu Thr Leu Asn Pro Val Ala Gln Gly Gln Pro Ile		
[0657]	325	330	335
[0658]	Leu Thr Ser Leu Gly Ser Asn Gln Glu Glu Ala Tyr Val Thr Met Ser		
[0659]	340	345	350
[0660]	Ser Phe Tyr Gln Asn Gln		
[0661]	355		
[0662]	<210> 13		
[0663]	<211> 358		
[0664]	<212> PRT		
[0665]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0666]	<220>		
[0667]	<223> FKBP-F36V IL7Ra CISC 2		
[0668]	<400> 13		
[0669]	Met Pro Leu Gly Leu Leu Trp Leu Gly Leu Ala Leu Leu Gly Ala Leu		
[0670]	1	5	10
			15

[0671]	His	Ala	Gln	Ala	Gly	Val	Gln	Val	Glu	Thr	Ile	Ser	Pro	Gly	Asp	Gly
[0672]				20					25					30		
[0673]	Arg	Thr	Phe	Pro	Lys	Arg	Gly	Gln	Thr	Cys	Val	Val	His	Tyr	Thr	Gly
[0674]			35					40					45			
[0675]	Met	Leu	Glu	Asp	Gly	Lys	Lys	Val	Asp	Ser	Ser	Arg	Asp	Arg	Asn	Lys
[0676]		50					55					60				
[0677]	Pro	Phe	Lys	Phe	Met	Leu	Gly	Lys	Gln	Glu	Val	Ile	Arg	Gly	Trp	Glu
[0678]	65					70					75				80	
[0679]	Glu	Gly	Val	Ala	Gln	Met	Ser	Val	Gly	Gln	Arg	Ala	Lys	Leu	Thr	Ile
[0680]				85						90				95		
[0681]	Ser	Pro	Asp	Tyr	Ala	Tyr	Gly	Ala	Thr	Gly	His	Pro	Gly	Ile	Ile	Pro
[0682]				100					105					110		
[0683]	Pro	His	Ala	Thr	Leu	Val	Phe	Asp	Val	Glu	Leu	Leu	Lys	Leu	Glu	Gly
[0684]			115					120					125			
[0685]	Glu	Ile	Asn	Asn	Ser	Ser	Gly	Glu	Met	Asp	Pro	Ile	Leu	Leu	Thr	Ile
[0686]		130					135				140					
[0687]	Ser	Ile	Leu	Ser	Phe	Phe	Ser	Val	Ala	Leu	Leu	Val	Ile	Leu	Ala	Cys
[0688]	145					150				155				160		
[0689]	Val	Leu	Trp	Lys	Lys	Arg	Ile	Lys	Pro	Ile	Val	Trp	Pro	Ser	Leu	Pro
[0690]				165					170					175		
[0691]	Asp	His	Lys	Lys	Thr	Leu	Glu	His	Leu	Cys	Lys	Lys	Pro	Arg	Lys	Asn
[0692]				180					185					190		
[0693]	Leu	Asn	Val	Ser	Phe	Asn	Pro	Glu	Ser	Phe	Leu	Asp	Cys	Gln	Ile	His
[0694]		195					200					205				
[0695]	Arg	Val	Asp	Asp	Ile	Gln	Ala	Arg	Asp	Glu	Val	Glu	Gly	Phe	Leu	Gln
[0696]		210					215					220				
[0697]	Asp	Thr	Phe	Pro	Gln	Gln	Leu	Glu	Glu	Ser	Glu	Lys	Gln	Arg	Leu	Gly
[0698]	225					230					235			240		
[0699]	Gly	Asp	Val	Gln	Ser	Pro	Asn	Cys	Pro	Ser	Glu	Asp	Val	Val	Ile	Thr
[0700]				245						250				255		
[0701]	Pro	Glu	Ser	Phe	Gly	Arg	Asp	Ser	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Ala	Gly	Asn
[0702]				260					265					270		
[0703]	Val	Ser	Ala	Cys	Asp	Ala	Pro	Ile	Leu	Ser	Ser	Ser	Arg	Ser	Leu	Asp
[0704]			275					280					285			
[0705]	Cys	Arg	Glu	Ser	Gly	Lys	Asn	Gly	Pro	His	Val	Tyr	Gln	Asp	Leu	Leu
[0706]		290					295					300				
[0707]	Leu	Ser	Leu	Gly	Thr	Thr	Asn	Ser	Thr	Leu	Pro	Pro	Pro	Phe	Ser	Leu
[0708]	305					310					315			320		
[0709]	Gln	Ser	Gly	Ile	Leu	Thr	Leu	Asn	Pro	Val	Ala	Gln	Gly	Gln	Pro	Ile
[0710]				325						330				335		
[0711]	Leu	Thr	Ser	Leu	Gly	Ser	Asn	Gln	Glu	Glu	Ala	Tyr	Val	Thr	Met	Ser
[0712]				340					345					350		

[0713]	Ser Phe Tyr Gln Asn Gln
[0714]	355
[0715]	<210> 14
[0716]	<211> 276
[0717]	<212> PRT
[0718]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0719]	<220>
[0720]	<223> FKBP-F36V MPL
[0721]	<400> 14
[0722]	Met Pro Leu Gly Leu Leu Trp Leu Gly Leu Ala Leu Leu Gly Ala Leu
[0723]	1 5 10 15
[0724]	His Ala Gln Ala Gly Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly
[0725]	20 25 30
[0726]	Arg Thr Phe Pro Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly
[0727]	35 40 45
[0728]	Met Leu Glu Asp Gly Lys Lys Val Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys
[0729]	50 55 60
[0730]	Pro Phe Lys Phe Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu
[0731]	65 70 75 80
[0732]	Glu Gly Val Ala Gln Met Ser Val Gly Gln Arg Ala Lys Leu Thr Ile
[0733]	85 90 95
[0734]	Ser Pro Asp Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro
[0735]	100 105 110
[0736]	Pro His Ala Thr Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Lys Leu Gly Glu
[0737]	115 120 125
[0738]	Glu Thr Ala Trp Ile Ser Leu Val Thr Ala Leu His Leu Val Leu Gly
[0739]	130 135 140
[0740]	Leu Ser Ala Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Arg Trp Gln Phe Pro Ala
[0741]	145 150 155 160
[0742]	His Tyr Arg Arg Leu Arg His Ala Leu Trp Pro Ser Leu Pro Asp Leu
[0743]	165 170 175
[0744]	His Arg Val Leu Gly Gln Tyr Leu Arg Asp Thr Ala Ala Leu Ser Pro
[0745]	180 185 190
[0746]	Pro Lys Ala Thr Val Ser Asp Thr Cys Glu Glu Val Glu Pro Ser Leu
[0747]	195 200 205
[0748]	Leu Glu Ile Leu Pro Lys Ser Ser Glu Arg Thr Pro Leu Pro Leu Cys
[0749]	210 215 220
[0750]	Ser Ser Gln Ala Gln Met Asp Tyr Arg Arg Leu Gln Pro Ser Cys Leu
[0751]	225 230 235 240
[0752]	Gly Thr Met Pro Leu Ser Val Cys Pro Pro Met Ala Glu Ser Gly Ser
[0753]	245 250 255
[0754]	Cys Cys Thr Thr His Ile Ala Asn His Ser Tyr Leu Pro Leu Ser Tyr

[0755]	260	265	270
[0756]	Trp Gln Gln Pro		
[0757]	275		
[0758]	<210> 15		
[0759]	<211> 4		
[0760]	<212> PRT		
[0761]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0762]	<220>		
[0763]	<223> 甘氨酸间隔子1		
[0764]	<400> 15		
[0765]	Gly Gly Gly Ser		
[0766]	1		
[0767]	<210> 16		
[0768]	<211> 7		
[0769]	<212> PRT		
[0770]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0771]	<220>		
[0772]	<223> 甘氨酸间隔子2		
[0773]	<400> 16		
[0774]	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
[0775]	1 5		
[0776]	<210> 17		
[0777]	<211> 3		
[0778]	<212> PRT		
[0779]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0780]	<220>		
[0781]	<223> 甘氨酸间隔子3		
[0782]	<400> 17		
[0783]	Gly Gly Gly		
[0784]	1		
[0785]	<210> 18		
[0786]	<211> 10035		
[0787]	<212> DNA		
[0788]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[0789]	<220>		
[0790]	<223> 在IL2Rb上游的IL2Rg		
[0791]	<400> 18		
[0792]	agcttaatgt agtcttatgc aatactcttg tagtcttgca acatggtaac gatgagttag 60		
[0793]	caacatgcct tacaaggaga gaaaaagcac cgtgcatgcc gattggtgga agtaaggtgg 120		
[0794]	tacgatcgtg ccttattagg aaggcaacag acgggtctga catggattgg acgaaccact 180		
[0795]	gaattgccgc attgcagaga tattgtatgt aagtgcctag ctcgatacaa taaacgggtc 240		
[0796]	tctctgggta gaccagatct gagcctggga gctctctggc taactaggga acccactgct 300		

[0797]	taagcctcaa	taaagcttgc	cttgagtgtc	tcaagtagtg	tgtgcccgtc	tgttgtgtga	360
[0798]	ctctggtaac	tagagatccc	tcagaccctt	ttagtcagtg	tgaaaaatct	ctagcagtg	420
[0799]	cgcccgaaaca	gggacttgaa	agcgaaaggg	aaaccagagg	agctctctcg	acgcaggact	480
[0800]	cggcttgctg	aagcgcgcac	ggcaagaggc	gaggggcggc	gactggtgag	tacgccaaaa	540
[0801]	attttgacta	gcggaggcta	gaaggagaga	gatgggtgcg	agagcgtcag	tattaagcgg	600
[0802]	gggagaatta	gatcgcgatg	ggaaaaaatt	cggttaaggc	cagggggaaa	gaaaaaatat	660
[0803]	aaattaaaac	atatagtatg	ggcaagcagg	gagctagaac	gattcgcagt	taatcctggc	720
[0804]	ctgttagaaa	catcagaagg	ctgtagacaa	atactgggac	agctacaacc	atcccttcag	780
[0805]	acaggatcag	aagaacttag	atcattatat	aatacagtag	caaccctcta	ttgtgtgcat	840
[0806]	caaaggatag	agataaaaga	caccaaggaa	gcttttagaca	agatagagga	agagcaaaac	900
[0807]	aaaagtaaga	ccaccgcaca	gcaagcggcc	gctgatcttc	agacctggag	gaggagatat	960
[0808]	gagggacaat	tggagaagtg	aattatataa	atataaagta	gtaaaaattg	aaccattagg	1020
[0809]	agtagcacc	accaaggcaa	agagaagagt	ggtgcagaga	gaaaaaagag	cagtgggaat	1080
[0810]	aggagctttg	ttccttgggt	tcttgggagc	agcaggaagc	actatgggcg	cagcctcaat	1140
[0811]	gacgctgacg	gtacaggcca	gacaattatt	gtctggtata	gtgcagcagc	agaacaattt	1200
[0812]	gctgagggt	attgaggcgc	aacagcatct	gttgcaactc	acagtctggg	gcatcaagca	1260
[0813]	gctccaggca	agaatcctgg	ctgtggaaag	atacctaaag	gatcaacagc	tcctggggat	1320
[0814]	ttgggggtgc	tctggaaaac	tcatttgcac	cactgctgtg	ccttggaatg	ctagttggag	1380
[0815]	taataaatct	ctggaacaga	tttggaatca	cacgacctgg	atggagtggg	acagagaaat	1440
[0816]	taacaattac	acaagcttaa	tacactcctt	aattgaagaa	tcgcaaaacc	agcaagaaaa	1500
[0817]	gaatgaacaa	gaattattgg	aattagataa	atgggcaagt	ttgttggaatt	ggttttaacat	1560
[0818]	aacaaattgg	ctgtggtata	taaaattatt	cataatgata	gtaggaggct	tggtaggttt	1620
[0819]	aagaatagtt	tttgcgttac	tttctatagt	gaatagagtt	aggcagggat	attcaccatt	1680
[0820]	atcgtttcag	accacctcc	caaccccag	gggacccgac	aggcccgaag	gaatagaaga	1740
[0821]	agaaggtgga	gagagagaca	gagacagatc	cattcgatta	gtgaacggat	ctcgacggta	1800
[0822]	tcggttaact	tttaaaagaa	aaggggggat	tgggggttac	agtgcagggg	aaagaatagt	1860
[0823]	agacataata	gcaacagaca	tacaaactaa	agaattacaa	aaacaaatta	caaaaattca	1920
[0824]	aaattttatc	gatcacgaga	ctagcctcga	gaagcttgat	atcgaattcc	cacgggggtg	1980
[0825]	gacgcgtagg	aacagagaaa	caggagaata	tgggccaaac	aggatatctg	tggttaagcag	2040
[0826]	ttcctgcccc	ggctcagggc	caagaacagt	tggacagca	gaatatgggc	caaacaggat	2100
[0827]	atctgtggta	agcagttcct	gccccggctc	agggccaaaga	acagatggtc	cccagatgcg	2160
[0828]	gtcccgcct	cagcagtttc	tagagaacca	tcagatgttt	ccagggtgcc	ccaaggacct	2220
[0829]	gaaatgaccc	tgtgccttat	ttgaactaac	caatcagttc	gcttctcgtc	tctgttcgcg	2280
[0830]	cgcttctgct	ccccgagctc	tatataagca	gagctcgttt	agtgaaccgt	cagatcgcta	2340
[0831]	gcaccggtgc	cgccaccatg	cctctgggcc	tgctgtggct	gggcctggcc	ctgctgggcg	2400
[0832]	ccctgcacgc	ccaggccggc	gtgcagggtg	agacaatctc	cccaggcgac	ggacgcacat	2460
[0833]	tccttaagcg	gggccagacc	tgctggtg	actatacagg	catgctggag	gatggcaaga	2520
[0834]	agtttgacag	ctcccgggat	agaaacaagc	cattcaagtt	tatgctgggc	aagcaggaag	2580
[0835]	tgatcagagg	ctgggaggag	ggcgtggccc	agatgtctgt	gggccagagg	gccaaactga	2640
[0836]	ccatcagccc	agactacgcc	tatggagcaa	caggccaccc	aggaatcatc	ccacctcacg	2700
[0837]	ccacctgggt	gttcgatgtg	gagctgctga	agctgggcga	gcaaaacttg	gtgattcctt	2760
[0838]	gggccccaga	aaatctcacg	cttcacaagt	tgtccgaatc	ccagctcgag	ctcaactgga	2820

[0839]	ataatagatt tcttaatcat tgtttgaac acctggttca atatagaacg gattgggacc	2880
[0840]	actcatggac cgagcagtca gttgactacc gccacaaatt ttcacttccc agcgtagatg	2940
[0841]	ggcagaagag gtacacatit agggtcagat ccaggtttaa tctctgtgt ggttctgtct	3000
[0842]	aacactggtc tgagtggagc catccgatcc actggggctc aaatacctct aaagaaaatc	3060
[0843]	cgttctcttt tgcgctcgaa gccgttgta tcagcgtcgg aagcatggga cttatcattt	3120
[0844]	cccttctctg cgtgtacttc tggctggagc ggacgatgcc gcggattccg acgctcaaaa	3180
[0845]	acctggagga ctttgaaca gaatatcacg gtaatttctc cgcttggagt ggcgatatca	3240
[0846]	aggggcttgc tgatccctt caaccggatt actctgagcg cctctgcttg gtgtccgaga	3300
[0847]	tacctcccaa aggaggtgca cttggggagg ggccaggcgc gtccccttgc aatcagcata	3360
[0848]	gtccgtattg ggcgccccc tgttataccc tcaaaccgga aacgggaagc ggagctacta	3420
[0849]	acttcagcct gctgaagcag gctggagacg tggaggagaa ccctggacct atggcactgc	3480
[0850]	ccgtgaccgc cctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgcagcccgg cctatcctgt	3540
[0851]	ggcacgagat gtggcacgag ggcctggagg aggccagcag gctgtatttt ggcgagcgca	3600
[0852]	acgtgaaggg catgttcgag gtgctggagc ctctgcacgc catgatggag agaggccac	3660
[0853]	agaccctgaa ggagacatcc tttaacagg cctatggacg ggacctgatg gaggcacagg	3720
[0854]	agtgtgacg aaagtacatg aagtctggca atgtgaagga cctgctgacg gcctgggatc	3780
[0855]	tgtactatca cgtgtttcgg agaattcca agaaacctt tgagaacctt agactgatgg	3840
[0856]	cgcccatctc tctgcaggta gttcacgttg agaccatag atgcaatata agctgggaaa	3900
[0857]	tctcacaagc cagccattac tttgaacggc atttggaatt cgaggcccga acactttccc	3960
[0858]	ccggtcatac gtgggaagaa gtcctctct tgacgtgaa gcagaagcag gagggtattt	4020
[0859]	gtctggagac tttgactcct gatactcagt atgagttcca agttcgggtg aaaccactcc	4080
[0860]	aaggcgagtt cacgacgtgg tctccgtgga gtcaaccgtt ggcgttccgc acgaagcccg	4140
[0861]	ctgcccttgg caaagacacg attccgtggc ttgggcatct gctcgttggg ctgagtgggt	4200
[0862]	cgtttggttt catcatcttg gtctatctct tgatcaattg cagaaatata ggcccttggc	4260
[0863]	tgaaaaaagt gctcaagtgt aatacccccg acccaagcaa gttcttctcc cagctttctt	4320
[0864]	cagagcatgg aggcgatgtg cagaaatggc tctcttcacc ttttccctcc tcaagcttct	4380
[0865]	ccccgggagg gctggcggcc gagatttcac ctcttgaggt acttgaacga gacaaggta	4440
[0866]	cccaacttct ctttaacag gataaggtac ccgaacctgc gacacctagc tccaaccact	4500
[0867]	ctcttacgag ctgcttcacc aatcagggat acttcttttt ccaccttccc gatgcgttgg	4560
[0868]	aaatcgaagc ttgtcaagtt tactttacct atgatccata tagcgaggaa gatcccgacg	4620
[0869]	aaggagtgcg cgggtgcggc acgggttctt caccacaacc tctccagcct ctctcaggag	4680
[0870]	aagatgatgc ttattgcaact tttccagta gagacgatct cctcctcttt tctccatctc	4740
[0871]	ttttgggggg accttcccc cttctacgg cacctggcgg gtctggtgct ggcgaggagc	4800
[0872]	ggatgccgcc gtccctccag gacgagtag cagcagattg ggatccccag ccacttggac	4860
[0873]	ccccacccc cggcgtacct gacctgtcg attttcaacc tccccctgaa ttggtgtctg	4920
[0874]	gagaggctgg ggaggaagtt ccggacgtg ggccgaggga gggcgtgtcc tttccatgga	4980
[0875]	gtaggcctcc aggtcaaggc gagtttaggg ctctcaacgc gcggctgccg ttgaatacac	5040
[0876]	acgttatct ctactgcag gaactgcaag gtcaggaccc aacacatctt gtaggatctg	5100
[0877]	gtgctactaa tttttctctt ttgaagcaag ctggagatgt tgaagagaac cctggtccag	5160
[0878]	tgagcaaggg cgaggagctg ttcaccgggg tggtgcccac cctggtcgag ctggacggcg	5220
[0879]	acgtaaacgg ccacaagttc agcgtgtccg gcgagggcga gggcgatgcc acctacggca	5280
[0880]	agctgacct gaagttcatc tgcaccaccg gcaagctgcc cgtgccctgg cccacctcg	5340

[0881]	tgaccaccct gacctacggc gtgcagtgtc tcagccgcta ccccgaccac atgaagcagc	5400
[0882]	acgacttctt caagtccgcc atgcccgaag gctacgtcca ggagcgcacc atcttcttca	5460
[0883]	aggacgacgg caactacaag acccgcgccg aggtgaagtt cgagggcgac accctggtga	5520
[0884]	accgcatcga gctgaagggc atcgacttca aggaggacgg caacatcctg gggcacaagc	5580
[0885]	tggagtacaa ctacaacagc cacaacgtct atatcatggc cgacaagcag aagaacggca	5640
[0886]	tcaaggtgaa cttcaagatc cgccacaaca tcgaggacgg cagcgtgcag ctgcccgcacc	5700
[0887]	actaccagea gaacaccccc atcggcgacg gcccgtgtct gctgcccgcac aaccactacc	5760
[0888]	tgagcaccca gtccgcccctg agcaaagacc ccaacgagaa gcgcgatcac atggctctgc	5820
[0889]	tggagtctgt gaccgcccgc gggatcactc tcggcatgga cgagctgtac aagtaaaacta	5880
[0890]	gtgtcgacaa tcaacctctg gattacaaaa tttgtgaaag attgactggt attcttaact	5940
[0891]	atgttgctcc ttttacgcta tgtggatacg ctgctttaat gcctttgtat catgctattg	6000
[0892]	cttcccgtat ggctttcatt ttctcctcct tgtataaatc ctggttgctg tctctttatg	6060
[0893]	aggagtgtg gcccgctgtc aggcaacgtg gcgtggtgtg cactgtgttt gctgacgcaa	6120
[0894]	ccccactgg ttggggcatt gccaccacct gtcagctcct ttccgggact ttcgctttcc	6180
[0895]	ccctccctat tgccacggcg gaactcatcg ccgcctgcct tgcccgtgc tggacagggg	6240
[0896]	ctcggtgtt gggcactgac aattccgtgg tgttgctggg gaagctgacg tcctttccat	6300
[0897]	ggctgctgc ctgtgttgc acctggattc tgcgcgggac gtccttctgc tacgtccctt	6360
[0898]	cggccctcaa tccagcggac cttccttccc gcggcctgct gccggtctg cggcctcttc	6420
[0899]	cgctcttcg ccttcgccct cagacgagtc ggatctccct ttgggcccgc tccccgcctg	6480
[0900]	gaattcgagc tcggtacctt taagaccaat gacttacaag gcagctgtag atcttagcca	6540
[0901]	ctttttaaaa gaaaagggg gactggaagg gctaattcac tcccaacgaa gacaagatct	6600
[0902]	gctttttgct tgtactgggt ctctctggtt agaccagatc tgagcctggg agctctctgg	6660
[0903]	ctaactaggg aaccactgc ttaagcctca ataaagcttg ccttgagtgc ttcaagtagt	6720
[0904]	gtgtgcccgt ctgttggtg actctggtaa ctagagatcc ctcagaccct tttagtcagt	6780
[0905]	gtggaaaatc tctagcagta gtagttcatg tcatcttatt attcagtatt tataacttgc	6840
[0906]	aaagaaatga atatcagaga gtgagaggaa cttgtttatt gcagcttata atggttacia	6900
[0907]	ataaagcaat agcatcacia atttcacaaa taaagcattt ttttactgc attctagttg	6960
[0908]	tggtttgtcc aaactcatca atgtatctta tcatgtctgg ctctagctat cccgccccta	7020
[0909]	actccgccc gttccgccc ttctccgcc catggtgac taattttttt tatttatgca	7080
[0910]	gaggccgagg ccgcctcggc ctctgagcta ttccagaagt agtgaggagg cttttttgga	7140
[0911]	ggcctaggct tttgcgtcga gacgtacca attcgcccta tagtgagtgc tattacgcgc	7200
[0912]	gctcactggc cgtcgtttta caacgtcgtg actgggaaaa ccctggcgtt acccaactta	7260
[0913]	atcgcttgc agcacatccc cttttcgcca gctggcgtaa tagcgaagag gcccgaccg	7320
[0914]	atcgcccttc ccaacagttg cgcagcctga atggcgaatg gcgcgacgc cctgtagcg	7380
[0915]	gcgcattaag cgcggcgggt gtggtggtta cgcgcagcgt gaccgtaca cttgccagcg	7440
[0916]	ccctagcgcc cgctccttc gctttcttc cttcctttct cgccacgttc gccggcttcc	7500
[0917]	cccgtaagc tctaaatcg gggctccctt tagggttccg atttagtgc ttacggcacc	7560
[0918]	tcgaccccaa aaaacttgat tagggtgatg gttcacgtag tgggcatcg ccctgataga	7620
[0919]	cggtttttcg ccctttgacg ttggagtcca cgttctttta tagtggaactc ttgttccaaa	7680
[0920]	ctggaacaac actcaaccct atctcgtctc attcttttga tttataaggg attttgccga	7740
[0921]	tttcgccta ttggttaaaa aatgagctga tttaacaaaa atttaacgcg aattttaaca	7800
[0922]	aaatattaac gtttacaatt tcccaggtgg cacttttcgg ggaaatgtgc gcggaacccc	7860

[0923]	tatttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataaccctg	7920
[0924]	ataaatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt tccgtgtcgc	7980
[0925]	ccttatcccc ttttttgcgg cattttgcct tectgttttt gctcaccag aaacgctggt	8040
[0926]	gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagt gggtacatcg aactggatct	8100
[0927]	caacagcggg aagatccttg agagttttcg ccccgaagaa cgttttccaa tgatgagcac	8160
[0928]	ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcggtatt atcccgtatt gacgccgggc aagagcaact	8220
[0929]	cggctgcgcg atacactatt ctcagaatga cttggttgag tactcaccag tcacagaaaa	8280
[0930]	gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa ccatgagtga	8340
[0931]	taacactgcg gccaaacttac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc taaccgcttt	8400
[0932]	tttgacaac atgggggatc atgtaactcg cttgatcgt tgggaaccgg agctgaatga	8460
[0933]	agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa caacgttgcg	8520
[0934]	caaaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa tagactggat	8580
[0935]	ggaggcggat aaagttgcag gaccacttct gcgctcggcc cttccggctg gctggtttat	8640
[0936]	tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcgg atcattgcag cactggggcc	8700
[0937]	agatggtaag ccctcccgtg tctagttat ctacacgacg gggagtcagg caactatgga	8760
[0938]	tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgccctactg attaagcatt ggtaactgtc	8820
[0939]	agaccaagtt tactcatata tacttttagat tgatttaaaa cttcattttt aatttaaaag	8880
[0940]	gatctaggtg aagatccttt ttgataatct catgaccaa atcccttaac gtgagtttct	8940
[0941]	gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag atcctttttt	9000
[0942]	tctgcgcgta atctgtgct tgcaaaaaaaa aaaaccaccg ctaccagcgg tggtttgttt	9060
[0943]	gccggatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca gagcgcagat	9120
[0944]	accaaatact gtccttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga actctgtagc	9180
[0945]	accgcctaca tacctcgtc tgctaactct gttaccagt gctgctgcca gtggcgataa	9240
[0946]	gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc agcggtcggg	9300
[0947]	ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca ccgaactgag	9360
[0948]	atactacag cgtgagctat gagaaagcgc cacgcttccc gaaggagaa aggcggacag	9420
[0949]	gtatccggtg agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc cagggggaaa	9480
[0950]	cgctgggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc gtcgattttt	9540
[0951]	gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg cttttttacg	9600
[0952]	gttcctggcc ttttctggc cttttgtcga catgttctt cctgcgttat cccctgattc	9660
[0953]	tgtggataac cgtattaccg cttttgagt agctgatacc gctcgcgcga gccgaacgac	9720
[0954]	cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca aaccgcctct	9780
[0955]	ccccgcgcgt tggccgattc attaatgcag ctggcacgac aggtttcccg actggaaagc	9840
[0956]	gggcagtgag cgcaacgcaa ttaatgtgag ttagctcact cattaggcac ccaggtctt	9900
[0957]	acactttatg cttccggctc gtatgttgtg tggaattgtg agcggataac aatttcacac	9960
[0958]	aggaacagc tatgaccatg attacgcaa gcgcgcaatt aaccctcact aaagggaaca	10020
[0959]	aaagctggag ctgca	10035
[0960]	<210>	19
[0961]	<211>	10053
[0962]	<212>	DNA
[0963]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0964]	<220>	

[0965]	<223> 在IL2Rb上游的IL2Rg	
[0966]	<400> 19	
[0967]	agcttaatgt agtcttatgc aatactcttg tagtcttgca acatggtaac gatgagttag	60
[0968]	caacatgcct tacaaggaga gaaaaagcac cgtgcatgcc gattggtgga agtaaggtgg	120
[0969]	tacgatcgtg ccttattagg aaggcaacag acgggtctga catggattgg acgaaccact	180
[0970]	gaattgccgc attgcagaga tattgtattt aagtgcctag ctcgatacaa taaacgggtc	240
[0971]	tctctgggta gaccagatct gagcctggga gctctctggc taactaggga acccactgct	300
[0972]	taagcctcaa taaagcttgc cttgagtgtc tcaagtagtg tgtgcccgtc tgttgtgtga	360
[0973]	ctctggtaac tagagatccc tcagaccctt ttagtcagtg tggaaaatct ctagcagtgg	420
[0974]	cgcccgaaca gggacttgaa agcgaaggagg aaaccagagg agctctctcg acgcaggact	480
[0975]	cggcttgctg aagcgcgcac ggcaagaggc gaggggcggc gactggtgag tacgccaaaa	540
[0976]	attttgacta gcggaggcta gaaggagaga gatgggtgcg agagcgtcag tattaagcgg	600
[0977]	gggagaatta gatcgcatg ggaaaaaatt cggttaaggc cagggggaaa gaaaaaatat	660
[0978]	aaattaaaac atatagtatg ggcaagcagg gagctagaac gattcgcagt taatcctggc	720
[0979]	ctgttagaaa catcagaagg ctgtagacaa atactgggac agctacaacc atcccttcag	780
[0980]	acaggatcag aagaacttag atcattatat aatacagtag caaccctcta ttgtgtgcat	840
[0981]	caaaggatag agataaaaga caccaaggaa gcttttagaca agatagagga agagcaaaac	900
[0982]	aaaagtaaga ccaccgcaca gcaagcggcc gctgatcttc agacctggag gaggagatat	960
[0983]	gagggacaat tggagaagtg aattatataa atataaagta gtaaaaattg aaccattagg	1020
[0984]	agtagcacc accaaggcaa agagaagagt ggtgcagaga gaaaaagag cagtgggaat	1080
[0985]	aggagctttg ttccttgggt tcttgggagc agcaggaagc actatgggcg cagcctcaat	1140
[0986]	gacgctgacg gtacaggcca gacaattatt gtctggtata gtgcagcagc agaacaattt	1200
[0987]	gctgagggct attgagcgc aacagcatct gttgcaactc acagtctggg gcatcaagca	1260
[0988]	gctccaggca agaatcctgg ctgtggaaag atacctaaag gatcaacagc tcctggggat	1320
[0989]	ttggggttgc tctggaaaac tcatttgcac cactgctgtg ccttggaatg ctagttggag	1380
[0990]	taataaatct ctggaacaga tttggaatca cacgacctgg atggagtggg acagagaaat	1440
[0991]	taacaattac acaagcttaa tacactcctt aattgaagaa tcgcaaaacc agcaagaaaa	1500
[0992]	gaatgaacaa gaattattgg aattagataa atgggcaagt ttgtggaatt ggtttaacat	1560
[0993]	aacaaattgg ctgtggtata taaaattatt cataatgata gtaggaggtc tggtaggttt	1620
[0994]	aagaatagtt tttgctgtac tttctatagt gaatagagtt aggcagggat attcaccatt	1680
[0995]	atcgtttcag acccacctcc caaccccagc gggacccgac agggccgaag gaatagaaga	1740
[0996]	agaagtggtga gagagagaca gagacagatc cattcgatta gtgaacggat ctcgacggta	1800
[0997]	tcggttaact tttaaaagaa aaggggggat tggggggtac agtgcagggg aaagaatagt	1860
[0998]	agacataata gcaacagaca tacaaactaa agaattacaa aaacaaatta caaaaattca	1920
[0999]	aaattttatc gatcacgaga ctagcctcga gaagcttgat atcgaattcc cacggggttg	1980
[1000]	gacgcgtagg aacagagaaa caggagaata tgggccaaac aggatatctg tggtaagcag	2040
[1001]	ttcctgcccc ggctcagggc caagaacagt tggaacagca gaatatgggc caaacaggat	2100
[1002]	atctgtggta agcagttcct gccccggctc agggccaaga acagatggtc cccagatgcg	2160
[1003]	gtccccccct cagcagtttc tagagaacca tcagatgttt ccagggtgcc ccaaggacct	2220
[1004]	gaaatgacct tgtgccttat ttgaactaac caatcagttc gcttctcgct tctgttcgcg	2280
[1005]	cgcttctgct ccccgagctc tatataagca gagctcgttt agtgaaccgt cagatcgcta	2340
[1006]	gcaccgggtgc cgccaccatg cctctgggcc tgctgtggct gggcctggcc ctgctgggcg	2400

[1007]	ccctgcacgc ccaggccggc gtgcaggtgg agacaatctc cccaggcgac ggacgcacat	2460
[1008]	tccctaagcg gggccagacc tgcgtggtgc actatacagg catgctggag gatggcaaga	2520
[1009]	agtttgacag ctccccggat agaaacaagc cattcaagtt tatgctgggc aagcaggaag	2580
[1010]	tgatcagagg ctgggaggag ggcgtggccc agatgtctgt gggccagagg gccaaactga	2640
[1011]	ccatcagccc agactacgcc tatggagcaa caggccaccc aggaatcatc ccacctcacg	2700
[1012]	ccacctggt gttcgatgtg gagctgctga agctgggcga gggcggtagt cagaaccttg	2760
[1013]	tgataccatg ggccccagaa aatctcacac ttcataaact ttccgaatca caactcgaac	2820
[1014]	tcaactggaa taaccggttc ctgaatcact gtcttgaaca cctggtacaa tatcgaccg	2880
[1015]	actgggatca ctcatggaca gaacaatctg tggactatag gcacaaattc tcaactccaa	2940
[1016]	gcgtagacgg ccaaaaaaga tacacttttc gcgtacgac ccgctttaat cctctctgcg	3000
[1017]	gctctgctca gcaactggagt gaatggctcc atcccattca ttggggatcc aacacatcaa	3060
[1018]	aagagaaccc ctttctgttc gcattggagg ccgtagtcat atctgttgga tccatgggac	3120
[1019]	ttattatctc cctgttgtgt gtgtacttct ggctggaacg gactatgccc aggatcccca	3180
[1020]	cgctcaagaa tctggaagat ctctgcacag aataccatgg taatttcagc gcctggagcg	3240
[1021]	gagtctctaa gggctctggc gaatccctcc aaccgatta ttctgaacgg ttgtgcctcg	3300
[1022]	tatccgaaat accacaaaaa ggcggggctc tgggtgaggg cccagggcg agtccgtgca	3360
[1023]	atcaacacag cccgtattgg gccctcctt gttatacgtt gaagcccgaa actggaagcg	3420
[1024]	gagctactaa cttcagcctg ctgaagcagg ctggagacgt ggaggagaac cctggaccta	3480
[1025]	tggcactgcc cgtgaccgcc ctgctgctgc ctctggccct gctgctgcac gcagcccgcg	3540
[1026]	ctatcctgtg gcacgagatg tggcacgagg gcctggagga ggccagcagg ctgtattttg	3600
[1027]	gcgagcgcaa cgtgaaggcg atgttcgagg tgctggagcc tctgcacgcc atgatggaga	3660
[1028]	gaggcccaca gacctgaag gagacatcct ttaaccaggc ctatggacgg gacctgatgg	3720
[1029]	aggcacagga gtggtgcaga aagtacatga agtctggcaa tgtgaaggac ctgctgcagg	3780
[1030]	cctgggatct gtactatcac gtgtttcgga gaatctccaa gggaggttca aaaccttttg	3840
[1031]	agaaccttag actgatggcg cccatctctc tgcaggtagt tcacgttgag acccatagat	3900
[1032]	gcaatataag ctgggaaatc tcacaagcca gccattactt tgaacggcat ttggaattcg	3960
[1033]	aggcccgaa actttcccc ggtcatacgt gggaagaagc tcctctcttg acgctgaagc	4020
[1034]	agaagcagga gtggatttgt ctggagactt tgactcctga tactcagtat gagttccaag	4080
[1035]	ttcgggtgaa accactccaa ggcgagttca cgacgtggtc tccgtggagt caaccgttgg	4140
[1036]	cgttccgcac gaagcccgct gcccttggca aagacacgat tccgtggctt gggcatctgc	4200
[1037]	tcgttgggct gagtggtgcg tttggtttca tcactttggt ctatctcttg atcaattgca	4260
[1038]	gaaatacagg cccttgctg aaaaaagtgc tcaagtgtaa tacccccgc ccaagcaagt	4320
[1039]	tcttctccca gctttcttca gagcatggag gcgatgtgca gaaatggctc tcttcacctt	4380
[1040]	ttccctctc aagcttctcc ccgggaggcg tggcgcccga gatcttcacct cttgaggtac	4440
[1041]	ttgaacgaga caaggttacc caacttctcc ttcaacagga taaggtaccc gaacctgcga	4500
[1042]	gccttagctc caaccactct cttacgagct gcttcacaa tcagggatac ttcttttttc	4560
[1043]	accttcccga tgcgctggaa atcgaagctt gtcaagttta ctttacctat gatccatata	4620
[1044]	gcgaggaaga tcccagcga ggagtcgcc gtgcgcccac gggttcctca ccccaacctc	4680
[1045]	tccagcctct ctcaggagaa gatgatgctt attgcacttt tcccagtaga gacgatctcc	4740
[1046]	tcctcttttc tccatctctt ttggggggac cttccccccc ttctacggca cctggcgggt	4800
[1047]	ctggtgctgg cgaggagcgg atgccgccgt ccctccagga gcgagtacca cgagattggg	4860
[1048]	atccccagcc acttggaccc cccacccccg gcgtacctga ccttgtcgat ttccaacctc	4920

[1049]	cccctgaatt ggtgctgcga gaggtctggg aggaagtcc ggacgtggg ccgagggagg	4980
[1050]	gcgtgtcctt tccatggagt aggcctccag gtcaaggcga gtttagggct ctcaacgcgc	5040
[1051]	ggctgccgtt gaatacagac gcttatctct cactgcagga actgcaaggt caggacccaa	5100
[1052]	cacatcttgt aggatctggt gctactaatt tttctctttt gaagcaagct ggagatgttg	5160
[1053]	aagagaaccc tgggtccagt agcaagggcg aggagctgtt caccgggggtg gtgcccattc	5220
[1054]	tggctcagct ggacggcgac gtaaacggcc acaagttcag cgtgtccggc gagggcgagg	5280
[1055]	gcgatgccac ctacggcaag ctgacctga agttcatctg caccaccggc aagctgcccc	5340
[1056]	tgccctggcc caccctctg accaccctga cctacggcgt gcagtgttc agccgctacc	5400
[1057]	ccgaccacat gaagcagcac gacttcttca agtccgccat gccgaaggc tacgtccagg	5460
[1058]	agcgcaccat cttcttcaag gacgacggca actacaagac ccgcgccgag gtgaagttcg	5520
[1059]	agggcgacac cctggtgaac cgcctcgagc tgaagggcat cgacttcaag gaggacggca	5580
[1060]	acatcctggg gcacaagctg gagtacaact acaacagcca caacgtctat atcatggccg	5640
[1061]	acaagcagaa gaacggcatc aaggtgaact tcaagatccg ccacaacatc gaggacggca	5700
[1062]	gcgtgcagct cgccgaccac taccagcaga acaccccat cggcgacggc cccgtgtgc	5760
[1063]	tgcccgacaa cactacctg agcaccagc cgccctgag caaagacccc aacgagaagc	5820
[1064]	gcgatcacat ggtcctgtg gagttcgtga ccgccgccg gatcactctc ggcatggacg	5880
[1065]	agctgtacaa gtaaaactag gtcgacaatc aacctctgga ttacaaaatt tgtgaaagat	5940
[1066]	tgactggtat tcttaactat gttgtcctt ttacgtatg tggatacgt gctttaatgc	6000
[1067]	ctttgtatca tgctattgct tcccgatgg ctttcatitt ctcctcttg tataaatcct	6060
[1068]	ggttgctgtc tctttatgag gagttgtggc ccgttgctcag gcaacgtggc gtggtgtgca	6120
[1069]	ctgtgtttgc tgacgcaacc cccactggtt ggggcattgc caccacctgt cagctccttt	6180
[1070]	ccgggacttt cgctttcccc ctccctattg ccacggcgga actcatgcc gcctgccttg	6240
[1071]	cccgtgtctg gacaggggct cggctgttg gcactgacaa ttccgtggtg ttgtcgggga	6300
[1072]	agctgacgtc ctttccatgg ctgctgcct gtgttgccac ctggattctg cgcgggacgt	6360
[1073]	ccttctgeta cgtcccttcg gccctcaatc cageggacct tccttcccgc ggctgtctgc	6420
[1074]	cggctctgcg gcctcttcg cgtcttcgcc ttccgctca gacgagtcgg atctcccttt	6480
[1075]	gggccgcctc ccgcctgga attcgagctc ggtacctta agaccaatga cttacaaggc	6540
[1076]	agctgtagat cttagccact ttttaaaaga aaagggggga ctggaaggc taattcactc	6600
[1077]	ccaacgaaga caagatctgc tttttgctt tactgggtct ctctggttag accagatctg	6660
[1078]	agcctgggag ctctctggct aactaggga cccactgctt aagcctcaat aaagcttgcc	6720
[1079]	ttgagtgtt caagtagtgt gtgcccgtct gttgtgtgac tctggttaact agagatccct	6780
[1080]	cagacccttt tagtcagtgt ggaaaatctc tagcagtagt agttcatgtc atcttattat	6840
[1081]	tcagtattta taacttgcaa agaaatgaat atcagagagt gagaggaact tgtttattgc	6900
[1082]	agcttataat ggttacaaat aaagcaatag catcacaaat ttcacaaata aagcattttt	6960
[1083]	ttcactgcat tctagtgtg gtttgctcaa actcatcaat gtatcttatt atgtctggct	7020
[1084]	ctagctatcc cgcccctaac tccgccagc tccgccatt ctccgcccc tggtgacta	7080
[1085]	atthttttta tttatgcaga ggccgaggcc gcctcggcct ctgagctatt ccagaagtag	7140
[1086]	tgaggaggct tttttggagg ctaggcttt tgcgtcgaga cgtacccaat tcgccctata	7200
[1087]	gtgagtcgta ttacgcgcgc tcaactggcg tcgttttaca acgtcgtgac tgggaaaacc	7260
[1088]	ctggcgttac ccaacttaat cgccttgag cacatcccc tttcgccagc tggcgtaata	7320
[1089]	gcgaagaggc ccgcaccgat cgcccttccc aacagttgcg cagcctgaat ggcgaaatggc	7380
[1090]	gcgacgcgcc ctgtagcggc gcattaagcg cggcggtgt ggtggttacg cgcagcgtga	7440

[1091]	ccgctacact	tgccagcgcc	ctagcgcccg	ctcctttcgc	tttcttccct	tcctttctcg	7500
[1092]	ccacgttcgc	cggtttccc	cgtcaagctc	taaategggg	gtcccttta	gggttccgat	7560
[1093]	ttagtcttt	acggcacctc	gaccccaaaa	aacttgatta	gggtgatggt	tcacgtagtg	7620
[1094]	ggccatcgcc	ctgatagacg	gtttttcgcc	ctttgacgtt	ggagtccacg	ttctttaata	7680
[1095]	gtggactctt	gttccaaact	ggaacaacac	tcaaccctat	ctcggcttat	tcttttgatt	7740
[1096]	tataagggat	tttgccgatt	tcggcctatt	ggttaaaaaa	tgagctgatt	taacaaaaat	7800
[1097]	ttaacgcgaa	ttttaacaaa	atattaacgt	ttacaatttc	ccaggtggca	cttttcgggg	7860
[1098]	aaatgtgcgc	ggaaccccta	tttgtttatt	tttctaaata	cattcaaata	tgtatccgct	7920
[1099]	catgagacaa	taaccctgat	aaatgcttca	ataatattga	aaaaggaaga	gtatgagtat	7980
[1100]	tcaacatttc	cgtgtcgcgc	ttattccctt	ttttgcggca	ttttgccttc	ctgtttttgc	8040
[1101]	tcaccagaa	acgttggtga	aagtaaaaga	tgctgaagat	cagttgggtg	cacgagtggg	8100
[1102]	ttacatcgaa	ctggatctca	acagcggtaa	gaccttgag	agttttcgcc	ccgaagaacg	8160
[1103]	ttttccaatg	atgagcactt	ttaaagttct	gctatgtggc	gcggtattat	cccgtattga	8220
[1104]	cgcggggcaa	gagcaactcg	gtcgcgcgat	acactattct	cagaatgact	tggttagagta	8280
[1105]	ctcaccagtc	acagaaaagc	atcttacgga	tgccatgaca	gtaagagaat	tatgcagtgc	8340
[1106]	tgccataacc	atgagtgata	acactgcggc	caacttactt	ctgacaacga	tcggaggacc	8400
[1107]	gaaggagcta	accgcttttt	tgcacaacat	gggggatcat	gtaactcgcc	ttgatcgttg	8460
[1108]	ggaaccggag	ctgaatgaag	ccataccaaa	cgacgagcgt	gacaccacga	tgctgttagc	8520
[1109]	aatggcaaca	acgttgcgca	aactattaac	tgccgaacta	cttactctag	cttcccggca	8580
[1110]	acaattaata	gactggatgg	aggcggataa	agttgcagga	ccacttctgc	gtcggccct	8640
[1111]	tccggtggc	tggtttattg	ctgataaate	tgagccgggt	gagcgtgggt	ctcgcggtat	8700
[1112]	cattgcagca	ctggggccag	atggtaaagc	ctcccgtatc	gtagttatct	acacgacggg	8760
[1113]	gagtcaggca	actatggatg	aacgaaatag	acagatcgct	gagatagggt	cctcactgat	8820
[1114]	taagcattgg	taactgtcag	accaagttaa	ctcatatata	ctttagattg	atttaaaact	8880
[1115]	tcatttttaa	tttaaaagga	tctaggtgaa	gacctttttt	gataatctca	tgacaaaaat	8940
[1116]	cccttaacgt	gagttttcgt	tccactgagc	gtcagacccc	gtagaaaaga	tcaaaggatc	9000
[1117]	ttcttgagat	cctttttttc	tgcgcgtaat	ctgctgcttg	caaacaaaaa	aaccaccgct	9060
[1118]	accagcggtg	gtttgtttgc	cggatcaaga	gctaccaact	ctttttccga	aggtaactgg	9120
[1119]	cttcagcaga	gcgcagatac	caaatactgt	ccttctagtg	tagccgtagt	taggccacca	9180
[1120]	cttcaagaac	tctgtagcac	cgcctacata	cctcgctctg	ctaatectgt	taccagtggc	9240
[1121]	tgctgccagt	ggcgataagt	cgtgtcttac	cgggttggac	tcaagacgat	agttaccgga	9300
[1122]	taaggcgcag	cggtcgggct	gaacgggggg	ttcgtgcaca	cagcccagct	tgagcggaac	9360
[1123]	gacctacacc	gaactgagat	acctacagcg	tgagctatga	gaaagcgcca	cgcttcccga	9420
[1124]	aggagaaaag	gcggacaggt	atccggttaag	cggcagggtc	ggaacaggag	agcgcacgag	9480
[1125]	ggagcttcca	gggggaaacg	cctggtatct	ttatagtcct	gtcgggtttc	gccacctctg	9540
[1126]	acttgagcgt	cgatttttgt	gatgctcgtc	agggggggcg	agcctatgga	aaaacgccag	9600
[1127]	caacgcggcc	tttttacggg	tcctggcctt	ttgctggcct	tttgctcaca	tgttcttttc	9660
[1128]	tgcttatccc	cctgattctg	tgataaacg	tattaccgcc	tttgagttag	ctgataccgc	9720
[1129]	tcgccgcagc	cgaacgaccg	agcgcagcga	gtcagttagc	gaggaagcgg	aagagcgcgc	9780
[1130]	aatacgcaaa	ccgcctctcc	ccgcgcgttg	gccgattcat	taatgcagct	ggcacgacag	9840
[1131]	gtttcccgac	tggaagcggg	gcagttagcg	caacgcaatt	aatgtgagtt	agctcactca	9900
[1132]	ttaggcaccc	caggctttac	actttatgct	tccggtcgtg	atgttgtgtg	gaattgttag	9960

[1133]	cggataacaa tttcacacag gaaacagcta tgaccatgat tacgccaagc gcgcaattaa 10020
[1134]	ccctcactaa agggacaacaa agctggagct gca 10053
[1135]	<210> 20
[1136]	<211> 9405
[1137]	<212> DNA
[1138]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1139]	<220>
[1140]	<223> 在IL2Rb上游的IL2Rg
[1141]	<400> 20
[1142]	agcttaatgt agtcttatgc aatactcttg tagtcttgca acatggtaac gatgagttag 60
[1143]	caacatgcct tacaaggaga gaaaaagcac cgtgcatgcc gattgggtgga agtaaggtgg 120
[1144]	tacgatcgtg ccttattagg aaggcaacag acgggtctga catggattgg acgaaccact 180
[1145]	gaattgccgc attgcagaga tattgtatgt aagtgcctag ctcgatacaa taaacgggtc 240
[1146]	tctctgggta gaccagatct gagcctggga gctctctggc taactaggga acccactgct 300
[1147]	taagcctcaa taaagcttgc cttgagtgtc tcaagtagtg tgtgcccgtc tgttgtgtga 360
[1148]	ctctggtaac tagagatccc tcagaccctt ttagtcagtg tggaaaatct ctagcagtgg 420
[1149]	cgcccgaaca gggacttgaa agcgaaaggg aaaccagagg agctctctcg acgcaggact 480
[1150]	cggcttgctg aagcgcgcac ggcaagaggc gaggggcggc gactgggtgag tacgcaaaaa 540
[1151]	atthtgacta gcggaggcta gaaggagaga gatgggtgag agagcgtcag tattaagcgg 600
[1152]	gggagaatta gatcgcgatg ggaaaaaatt cggtaagga cagggggaaa gaaaaaatat 660
[1153]	aaattaaaac atatagtagt ggcaagcagg gagctagaac gattcgcagt taatcctggc 720
[1154]	ctgttagaaa catcagaagg ctgtagacaa atactgggac agctacaacc atcccttcag 780
[1155]	acaggatcag aagaacttag atcattatat aatacagtag caaccctcta ttgtgtgcat 840
[1156]	caaaggatag agataaaaga caccaaggaa gcttttagaca agatagagga agagcaaaac 900
[1157]	aaaagtaaga ccaccgcaca gcaagcggcc gctgatcttc agacctggag gaggagatat 960
[1158]	gagggacaat tggagaagtg aattatataa atataaagta gtaaaaattg aaccattagg 1020
[1159]	agtagcacc accaaggcaa agagaagagt ggtgcagaga gaaaaagag cagtgggaat 1080
[1160]	aggagctttg ttccttgggt tcttgggagc agcaggaagc actatgggcg cagcctcaat 1140
[1161]	gacgtgcag gtacaggcca gacaattatt gtctgggtata gtgcagcagc agaacaattt 1200
[1162]	gctgagggtc attgaggcgc aacagcatct gttgcaactc acagtctggg gcatcaagca 1260
[1163]	gctccaggca agaatcctgg ctgtggaaag atacctaaag gatcaacagc tcctggggat 1320
[1164]	ttgggggttg tctggaaaac tcatttgac cactgctgtg ccttggaatg ctagttggag 1380
[1165]	taataaatct ctggaacaga tttggaatca cagcactgg atggagtggg acagagaaat 1440
[1166]	taacaattac acaagcttaa tacactcctt aattgaagaa tcgcaaaacc agcaagaaaa 1500
[1167]	gaatgaacaa gaattattgg aattagataa atgggcaagt ttgtggaatt ggtttaacat 1560
[1168]	aacaaattgg ctgtgggtata taaaattatt cataatgata gtaggaggct tggtaggttt 1620
[1169]	aagaatagtt tttgctgtac tttctatagt gaatagagtt aggcagggtt attcaccatt 1680
[1170]	atcgtttcag acccacctcc caaccccgag gggacccgac aggcccgag gaatagaaga 1740
[1171]	agaaggtgga gagagagaca gagacagatc cattcgatta gtgaacggat ctgcacggta 1800
[1172]	tcggttaact tttaaaagaa aaggggggat tgggggttac agtgcagggg aaagaatagt 1860
[1173]	agacataata gcaacagaca tacaaactaa agaattacaa aaacaaatta caaaaattca 1920
[1174]	aaattttatc gatcacgaga ctagcctcga gaagcttgat atcgaattcc cacgggggtg 1980

[1175]	gacgcgtagg aacagagaaa caggagaata tgggccaaac aggatatctg tggtaagcag	2040
[1176]	ttcctgcccc ggctcagggc caagaacagt tggaacagca gaatatgggc caaacaggat	2100
[1177]	atctgtggta agcagttcct gccccggctc agggccaaga acagatggtc ccagatgcg	2160
[1178]	gtcccgccct cagcagtttc tagagaacca tcagatgttt ccagggtgcc ccaaggacct	2220
[1179]	gaaatgaccc tgtgccttat ttgaactaac caatcagttc gcttctcgct tctgttcgcg	2280
[1180]	cgcttctgct ccccgagctc tatataagca gagctcgttt agtgaaccgt cagatcgcta	2340
[1181]	gcaccgggtgc cgccaccatg cctctgggcc tgctgtggct gggcctggcc ctgctgggcg	2400
[1182]	ccctgcacgc ccaggccggc gtgcaggtgg agacaatctc ccaggcgac ggacgcacat	2460
[1183]	tcctaagcg gggccagacc tgcgtgggtc actatacagg catgctggag gatggcaaga	2520
[1184]	agtttgacag ctcccgggat agaaacaagc cattcaagtt tatgctgggc aagcaggaag	2580
[1185]	tgatcagagg ctgggaggag ggcgtggccc agatgtctgt gggccagagg gccaaactga	2640
[1186]	ccatcagccc agactacgcc tatggagcaa caggccacc aggaatcacc ccacctcacg	2700
[1187]	ccacctggt gttcgatgtg gagctgctga agctgggcga gggatccaac acatcaaaag	2760
[1188]	agaacccctt tctgttcgca ttggaggccg tagtcatac tgttgatcc atgggactta	2820
[1189]	ttatctccct gttgtgtgtg tacttctggc tggaacggac tatgccagg atccccacgc	2880
[1190]	tcaagaatct ggaagatctc gtcacagaat accatggtaa ttccagcgcc tggagcggag	2940
[1191]	tctctaaggg tctggccgaa tccctccaac ccgattatc tgaacggtt tgccctcgat	3000
[1192]	ccgaaatacc accaaaaggc ggggctctgg gtgagggccc aggggcgagt ccgtgcaatc	3060
[1193]	aacacagccc gtattgggcc cctccttggt atacgttgaa gcccgaact ggaagcggag	3120
[1194]	ctactaactt cagcctgctg aagcaggctg gagacgtgga ggagaacct ggacctatgg	3180
[1195]	cactgccctg gaccgccctg ctgctgcctc tggccctgct gctgcacgca gcccgcccta	3240
[1196]	tcctgtggca cgagatgtgg cacgagggcc tggaggaggc cagcaggctg tattttggcg	3300
[1197]	agcgcaacgt gaagggcatg ttcgaggtgc tggagcctct gcacgccatg atggagagag	3360
[1198]	gcccacagac cctgaaggag acatccttta accaggccta tggacgggac ctgatggagg	3420
[1199]	cacaggagtg gtgcagaaag tacatgaagt ctggcaatgt gaaggacct ctgcaggcct	3480
[1200]	gggatctgta ctatcacgtg tttcggagaa tctccaaggg caaagacacg attccgtggc	3540
[1201]	ttgggcatct gctcgttggg ctgagtgtgt cgtttggtt catcatctt gtctatctct	3600
[1202]	tgatcaattg cagaaataca ggcccttggc tgaaaaaagt gctcaagtgt aatacccccg	3660
[1203]	accaaagcaa gttcttctcc cagctttctt cagagcatgg aggcgatgtg cagaaatggc	3720
[1204]	tctcttcacc ttttccctcc tcaagcttct ccccgaggag gctggcgccc gagatttcac	3780
[1205]	ctcttgaggt acttgaacga gacaaggtta cccaattct cttcaacag gataaggtac	3840
[1206]	ccgaacctgc gagccttagc tccaaccact ctcttacgag ctgcttcacc aatcagggat	3900
[1207]	acttcttttt ccaccttccc gatgcgctgg aaatcgaagc ttgtcaagtt tactttacct	3960
[1208]	atgatccata tagcgaggaa gatcccgacg aaggagtgcg cgggtgcgcc acgggttctt	4020
[1209]	cacccaacc tctccagcct ctctcaggag aagatgatgc ttattgcact tttcccagta	4080
[1210]	gagacgatct cctcctcttt tctccatctc ttttgggggg accttcccc ctttctacgg	4140
[1211]	cacctggcgg gtctggtgct ggcgaggagc ggatgccgcc gtccctccag gagcgagtac	4200
[1212]	cacgagattg ggatccccag ccacttggac ccccccccc cggcgctacct gacctgtcg	4260
[1213]	attttcaacc tccccctgaa ttgggtgctgc gagaggctgg ggaggaagtt ccggacgctg	4320
[1214]	ggccgaggga gggcgtgtcc tttccatgga gtaggcctcc aggtcaaggc gaggtttagg	4380
[1215]	ctctcaacgc gcggctgccg ttgaatacag acgcttatct ctactgcag gaactgcaag	4440
[1216]	gtcaggaccc aacacatctt gtaggatctg gtgctactaa tttttctctt ttgaagcaag	4500

[1217]	ctggagatgt tgaagagaac cctggtccag tgagcaaggc cgaggagctg ttcaccgggg	4560
[1218]	tggtgcccac cctggtcgag ctggacggcg acgtaaacgg ccacaagttc agcgtgtccg	4620
[1219]	gcgaggcgga gggcgatgcc acctacggca agctgaccct gaagtctatc tgcaccaccg	4680
[1220]	gcaagctgcc cgtgccctgg cccaccctcg tgaccaccct gacctacggc gtgcagtgtc	4740
[1221]	tcagccgcta ccccgaccac atgaagcagc acgacttctt caagtccgcc atgcccgaag	4800
[1222]	gctacgtcca ggagcgcacc atcttcttca aggacgacgg caactacaag acccgcgccg	4860
[1223]	aggtgaagtt cgaggcgac accctggtga accgcatcga gctgaaggcg atcgacttca	4920
[1224]	aggaggacgg caacatcctg gggcacaagc tggagtacaa ctacaacagc cacaacgtct	4980
[1225]	atatcatggc cgacaagcag aagaacggca tcaaggtgaa cttcaagatc cgccacaaca	5040
[1226]	tcgaggacgg cagcgtgcag ctcgccgacc actaccagca gaacaccccc atcgggcgacg	5100
[1227]	gccccgtgct gctgcccgc aaccactacc tgagcaccca gtccgcccgt agcaaagacc	5160
[1228]	ccaacgagaa gcgcgatcac atggtcctgc tggagtctgt gaccgcccgc gggatcactc	5220
[1229]	tcggcatgga cgagctgtac aagtaacta gtgtcgacaa tcaacctctg gattacaaaa	5280
[1230]	tttgtgaaag attgactggc attcttaact atgttgctcc ttttacgcta tgttgatacg	5340
[1231]	ctgctttaat gcctttgtat catgctattg ctccccgtat ggctttcatt ttctcctcct	5400
[1232]	tgtataaatc ctggttgctg tctctttatg aggagtgtg gccggtgtc aggcaacgtg	5460
[1233]	gcgtggtgtg cactgtgttt gctgacgcaa cccccactgg ttggggcatt gccaccacct	5520
[1234]	gtcagctcct ttccgggact ttcgctttcc ccctccctat tgccacggcg gaactcatcg	5580
[1235]	ccgcctgcct tgcccgtgc tggacagggg ctcggtgtt gggcactgac aattccgtgg	5640
[1236]	tgttgctggg gaagctgacg tcctttccat ggctgctgc ctgtgttgcc acctggattc	5700
[1237]	tgcgcgggac gtcttctgc tacgtccctt cggccctcaa tccagcggac ctctcttccc	5760
[1238]	gcggcctgct gccggctctg cggcctctt cgcgtcttcg ccttcgccct cagacgagtc	5820
[1239]	ggatctccct ttgggcccgc tccccgctg gaattcgagc tcggtacctt taagaccaat	5880
[1240]	gacttacaag gcagctgtag atcttagcca ctttttaaaa gaaaaggggg gactggaagg	5940
[1241]	gctaattcac tcccaacgaa gacaagatct gctttttgct tgtactgggt ctctctggtt	6000
[1242]	agaccagatc tgagcctggg agctctctgg ctaactaggg aaccactgc ttaagcctca	6060
[1243]	ataaagcttg ccttgagtgc ttcaagtagt gtgtgcccgt ctgttggtg actctggtaa	6120
[1244]	ctagagatcc ctacagacct tttagttagt gtggaaaatc tctagcagta gtagttcatg	6180
[1245]	tcattctatt attcagtatt tataacttgc aaagaaatga atatcagaga gtgagaggaa	6240
[1246]	cttgtttatt gcagcttata atggttacaa ataaagcaat agcatcaca atttcacaaa	6300
[1247]	taaagcattt ttttactgc attctagtgt tggtttgtcc aaactcatca atgtatctta	6360
[1248]	tcattgtctg ctctagctat cccgcccta actccgccca gttccgccca ttctccgcc	6420
[1249]	catggctgac taattttttt tatttatgca gaggccgagg ccgcctcggc ctctgagcta	6480
[1250]	ttccagaagt agtgaggagg ctttttttga ggcctaggct tttgcgtcga gacgtacca	6540
[1251]	attcgcccta tagtgagtcg tattacgcgc gctcactggc cgtcgtttta caacgtcgtg	6600
[1252]	actgggaaaa ccctggcggt acccaactta atcgccctgc agcacatccc ctttccgcc	6660
[1253]	gctggcgtaa tagcgaagag gcccgaccg atcgcccttc ccaacagttg cgcagcctga	6720
[1254]	atggcgaatg gcgcgacgc ccctgtagcg gcgcattaag cgcggcggt gtggtggtta	6780
[1255]	cgcgcagcgt gaccgtaca cttgccagcg ccctagcgcc cgtctcttcc gctttcttcc	6840
[1256]	cttctttct cgccacgttc gccggcttcc cccgtcaagc tctaaatcgg gggctccctt	6900
[1257]	tagggttccg atttagtgt ttacggcacc tcgaccccaa aaaacttgat tagggtagt	6960
[1258]	gttcacgtag tgggccatcg ccctgataga cggtttttcg ccttttgacg ttggagtcca	7020

[1259]	cgttctttaa tagtggactc ttgttccaaa ctggaacaac actcaaccct atctcggctc	7080
[1260]	attcttttga tttataaggg attttgccga tttcggccta ttggttaaaa aatgagctga	7140
[1261]	tttaacaaaa atttaacgcg aattttaaca aaatattaac gtttacaatt tcccaggtgg	7200
[1262]	cacttttcgg ggaaatgtgc gcggaacccc tatttgttta tttttctaaa tacattcaaa	7260
[1263]	tatgtatccg ctcatgagac aataaccctg ataaatgctt caataatatt gaaaaaggaa	7320
[1264]	gagtatgagt attcaacatt tccgtgtcgc ctttattccc ttttttgcgg cattttgcct	7380
[1265]	tectgttttt gctcaccag aaacgtgggt gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg	7440
[1266]	tgcacgagtg ggttacatcg aactggatct caacagcggg aagatccttg agagttttcg	7500
[1267]	ccccgaagaa cgttttccaa tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcggtatt	7560
[1268]	atcccgattt gacgccgggc aagagcaact cggtcgccgc atacactatt ctcagaatga	7620
[1269]	cttggttgag tactcaccag tcacagaaaa gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga	7680
[1270]	attatgcagt gctgccataa ccatgagtga taacactgcg gccaaacttac ttctgacaac	7740
[1271]	gatcggagga ccgaaggagc taaccgcttt ttgacacaac atgggggagc atgtaactcg	7800
[1272]	ccttgatcgt tgggaaccgg agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac	7860
[1273]	gatgcctgta gcaatggcaa caacgttgcg caaactatta actggcgaac tacttactct	7920
[1274]	agcttcccgg caacaattaa tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccacttct	7980
[1275]	gcgctcggcc cttccggctg gctggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg	8040
[1276]	gtctcgcggg atcattgcag cactggggcc agatggtaag ccctcccgtg tcgtagttat	8100
[1277]	ctacacgacg gggagtcagg caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg	8160
[1278]	tgctcactg attaaagcatt ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tacttttagat	8220
[1279]	tgatttaaaa cttcattttt aattttaaaag gatctaggtg aagatccttt ttgataatct	8280
[1280]	catgacaaaa atccctaac gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa	8340
[1281]	gatcaaagga tcttcttgag atcctttttt tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa	8400
[1282]	aaaaccaccg ctaccagcgg tggtttgttt gccggatcaa gagctaccaa ctcttttttc	8460
[1283]	gaaggtact ggcttcagea gagcgcagat accaaatact gtctttctag tgtagccgta	8520
[1284]	gttaggccac cacttcaaga actctgtagc accgcctaca tacctcgtc tgctaatect	8580
[1285]	gttaccagtg gctgctgcca gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg	8640
[1286]	atagttaccg gataaggcgc agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag	8700
[1287]	cttgagcga acgacctaca ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gagaaagcgc	8760
[1288]	cacgcttccc gaaggagaa aggcggacag gtatccggtg agcggcaggg tcggaacagg	8820
[1289]	agagcgcacg agggagcttc cagggggaaa cgcctggtat ctttatagtc ctgtcgggtt	8880
[1290]	tcgccacctc tgacttgagc gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg	8940
[1291]	gaaaaacgcc agcaacgcgg cttttttacg gttcctggcc ttttgctggc cttttgctca	9000
[1292]	catgttcttt cctgcgttat cccctgatc tgtggataac cgtattaccg cttttgagt	9060
[1293]	agctgatacc gctcgccgca gccgaacgac cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaagc	9120
[1294]	ggaagagcgc ccaatacgc aaccgcctct ccccgcgctg tggccgattc attaatgcag	9180
[1295]	ctggcacgac aggtttcccg actggaaagc gggcagtgag cgcaacgcaa ttaatgtgag	9240
[1296]	ttagctcact cattaggcac ccaggtctt acattttatg cttccggctc gtatgttgtg	9300
[1297]	tggaattgtg agcggataac aatttcacac aggaacagc tatgacctg attacgcaa	9360
[1298]	gcgcgcaatt aaccctcact aaagggaaca aaagctggag ctgca	9405

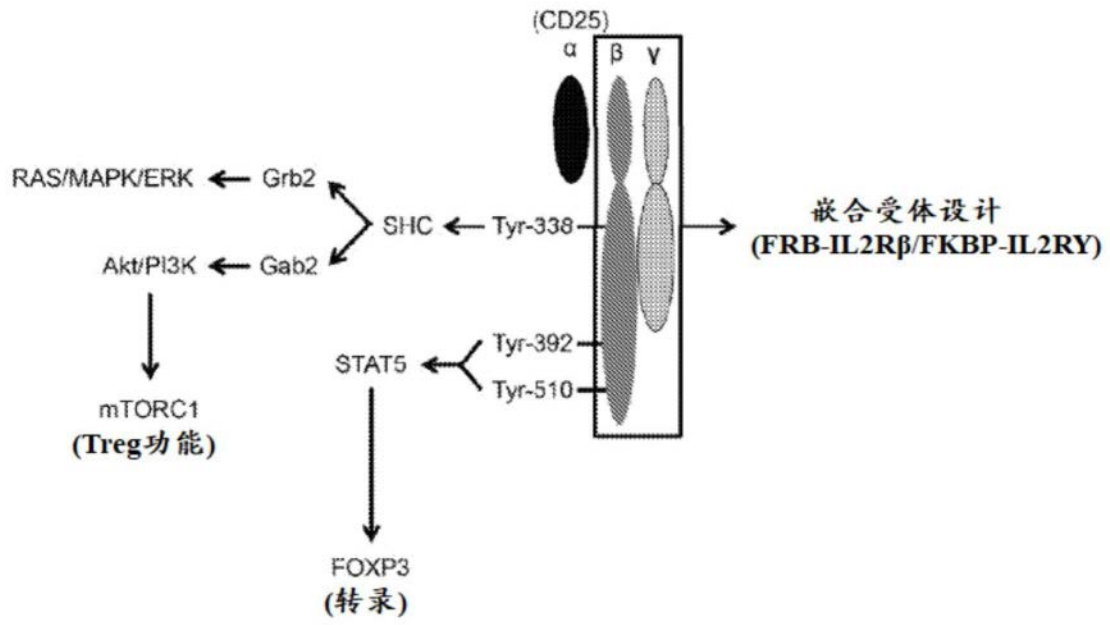


图1

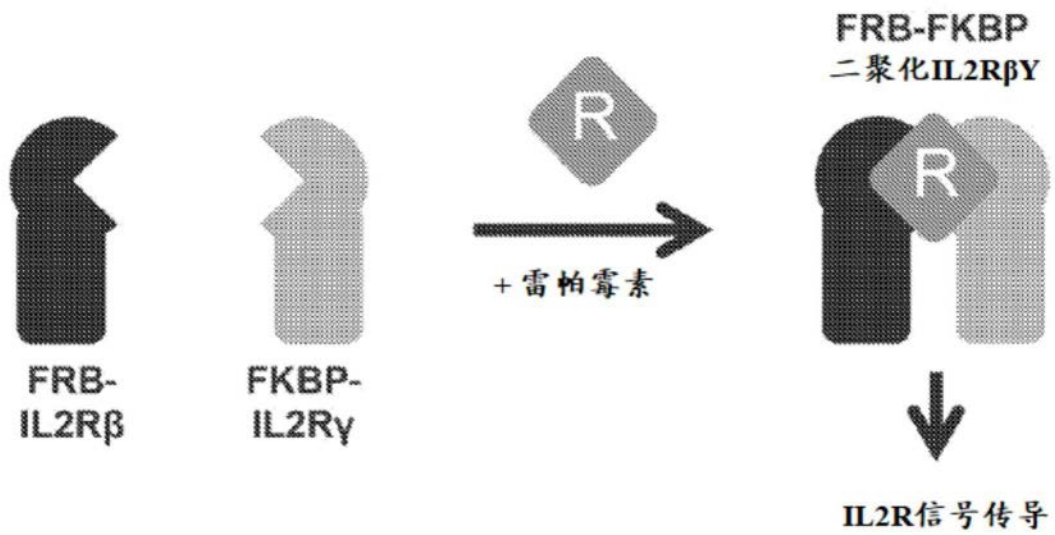


图2

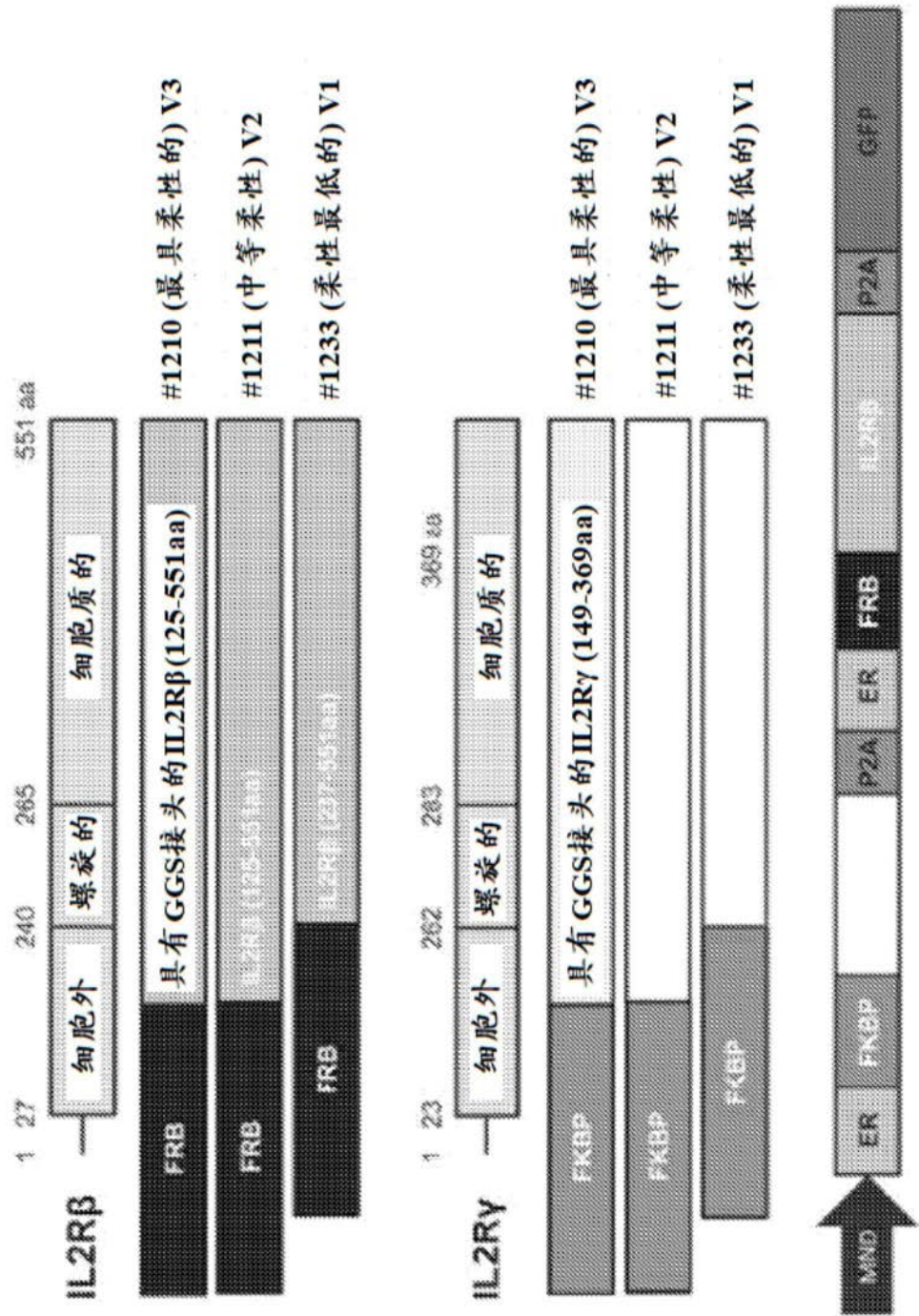


图3

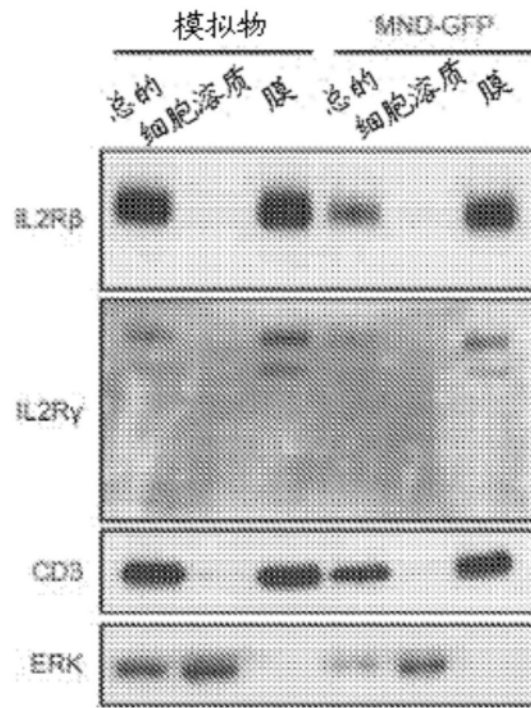


图4A

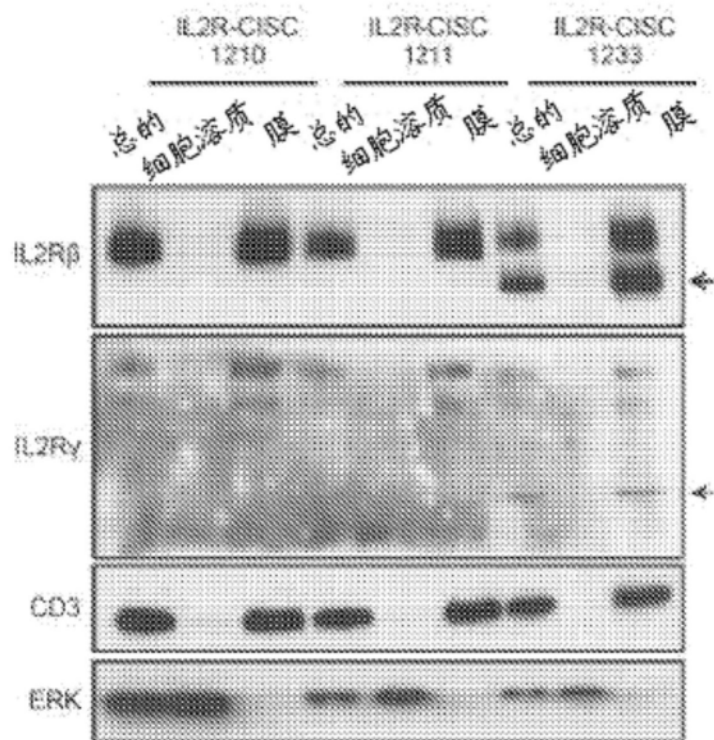


图4B

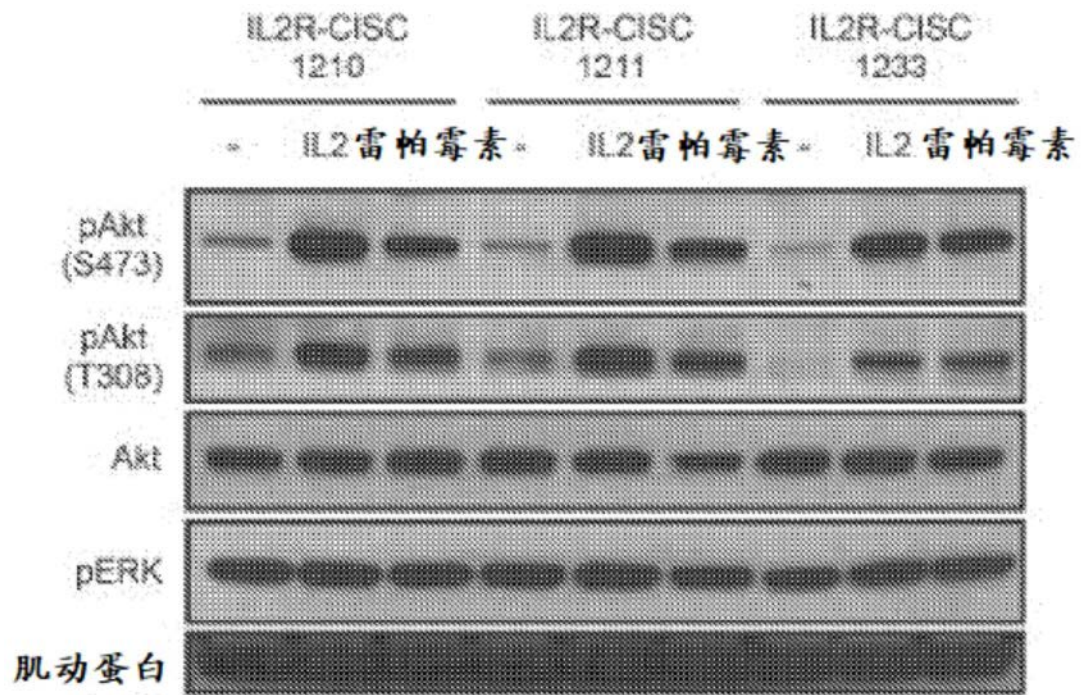


图5

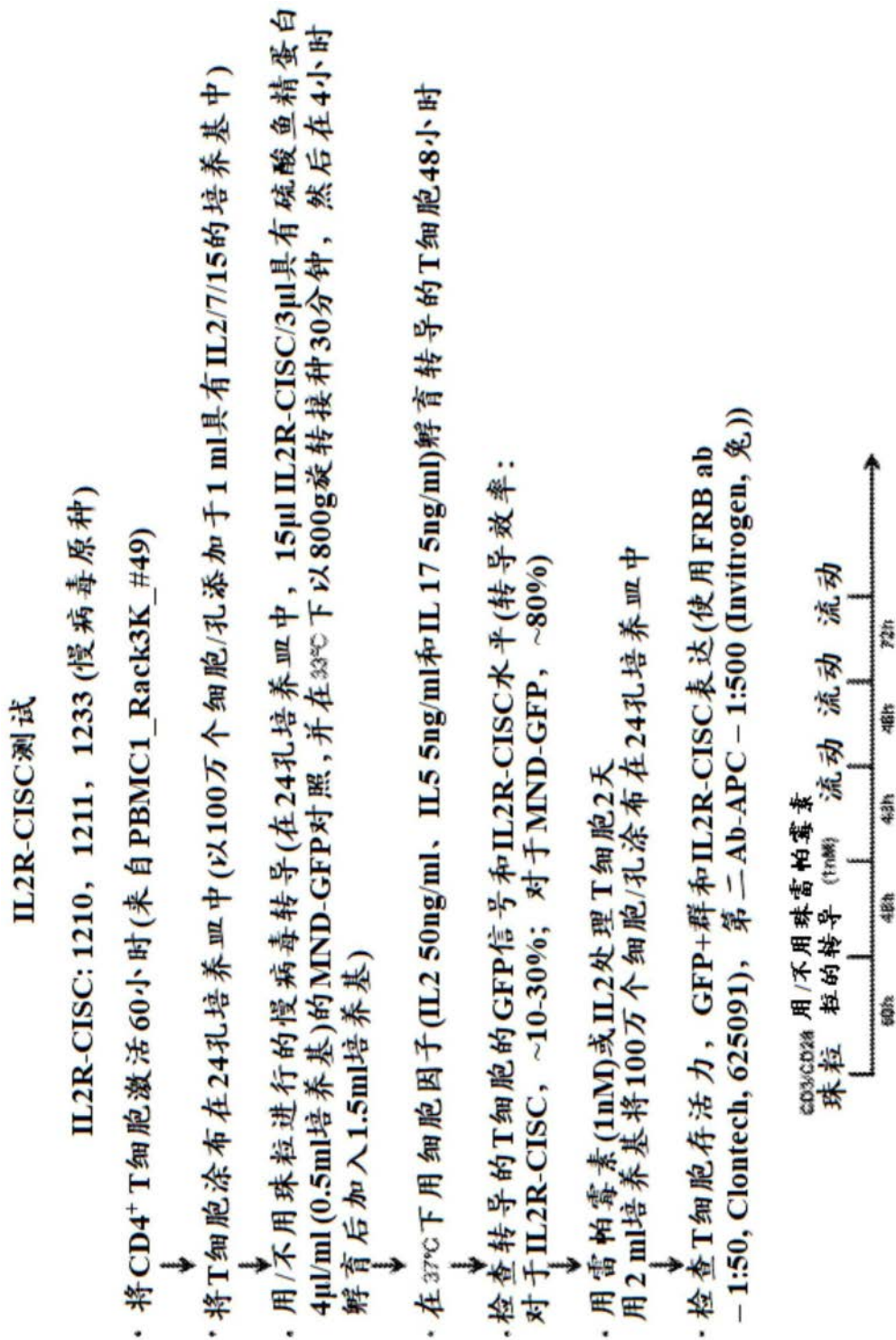


图6

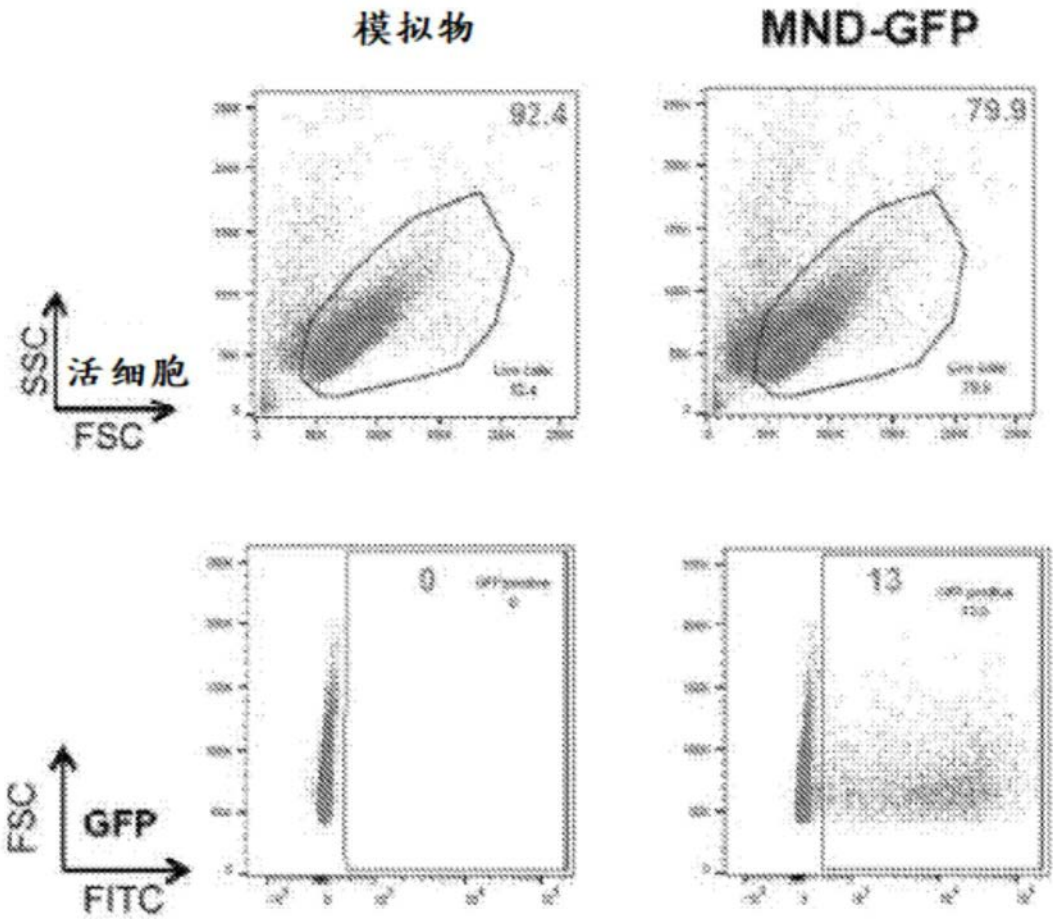


图7A

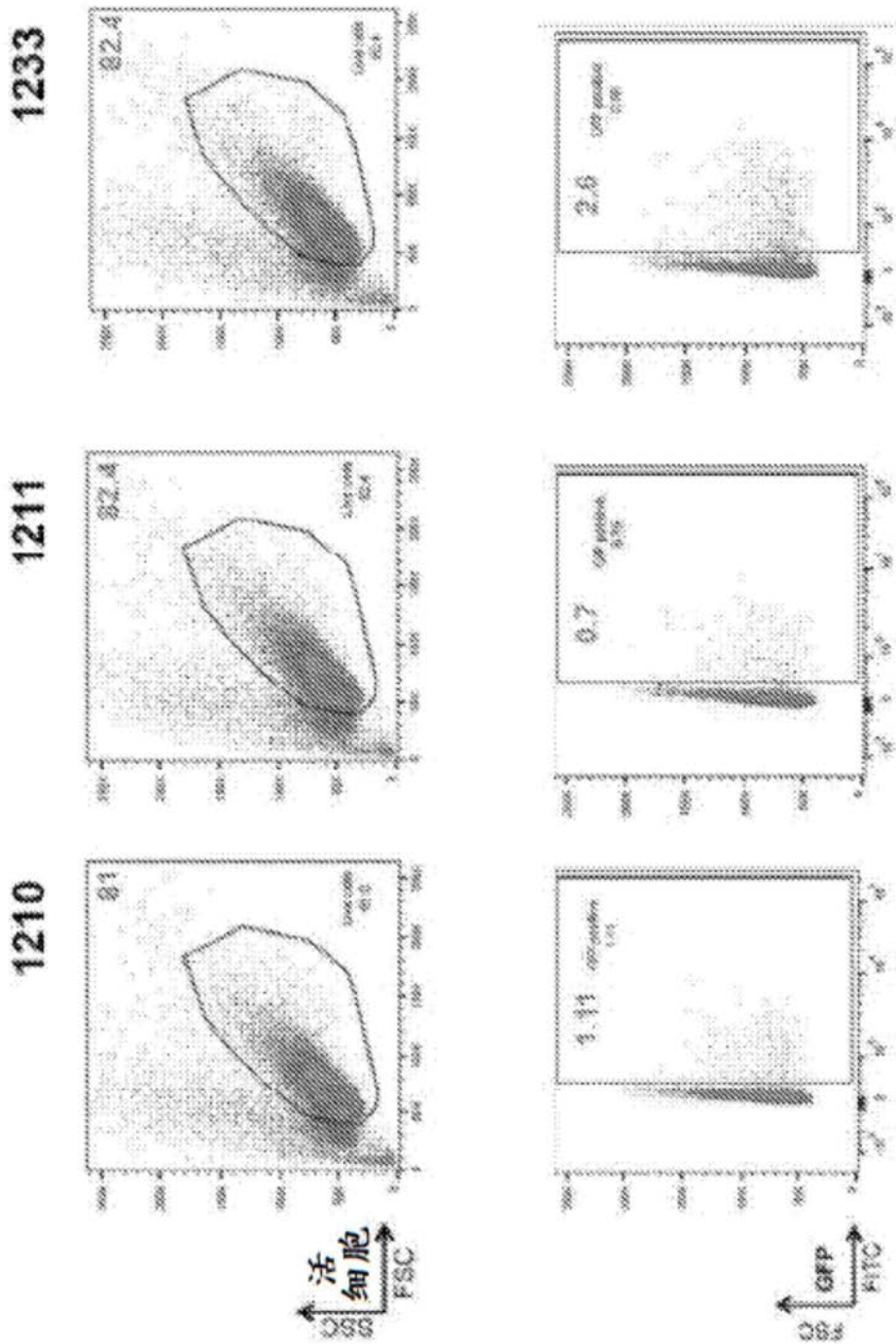


图7B

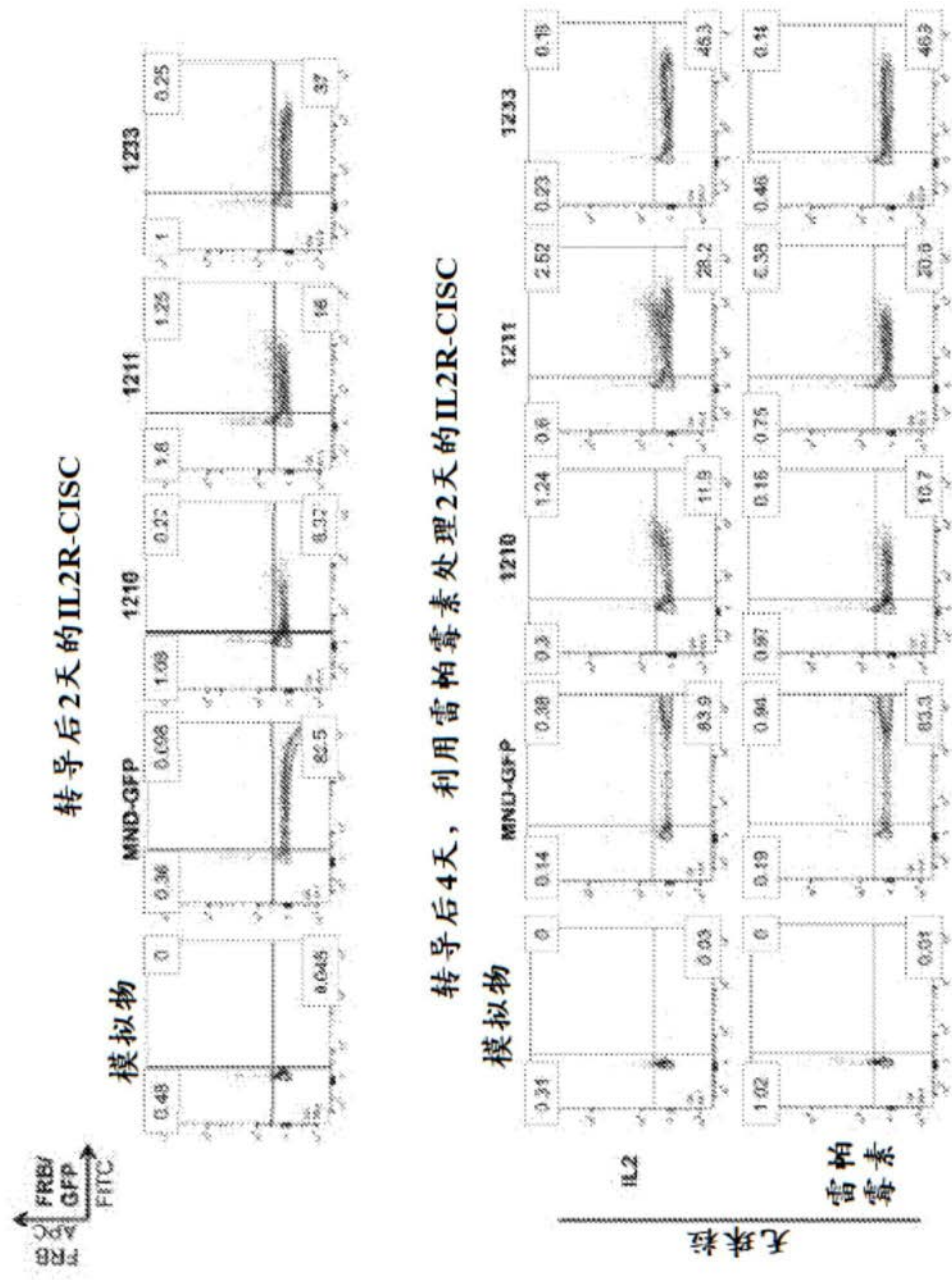


图8

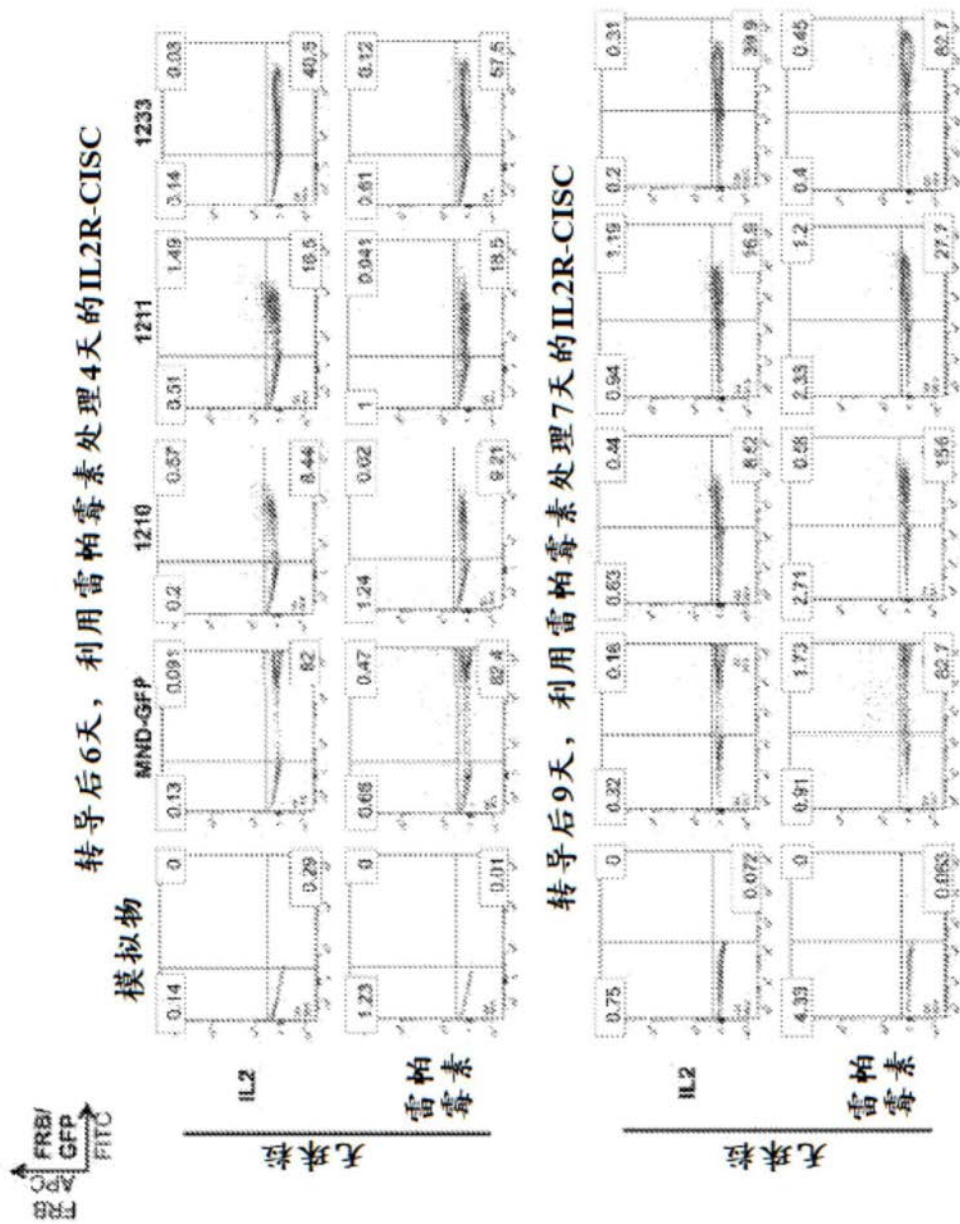


图9

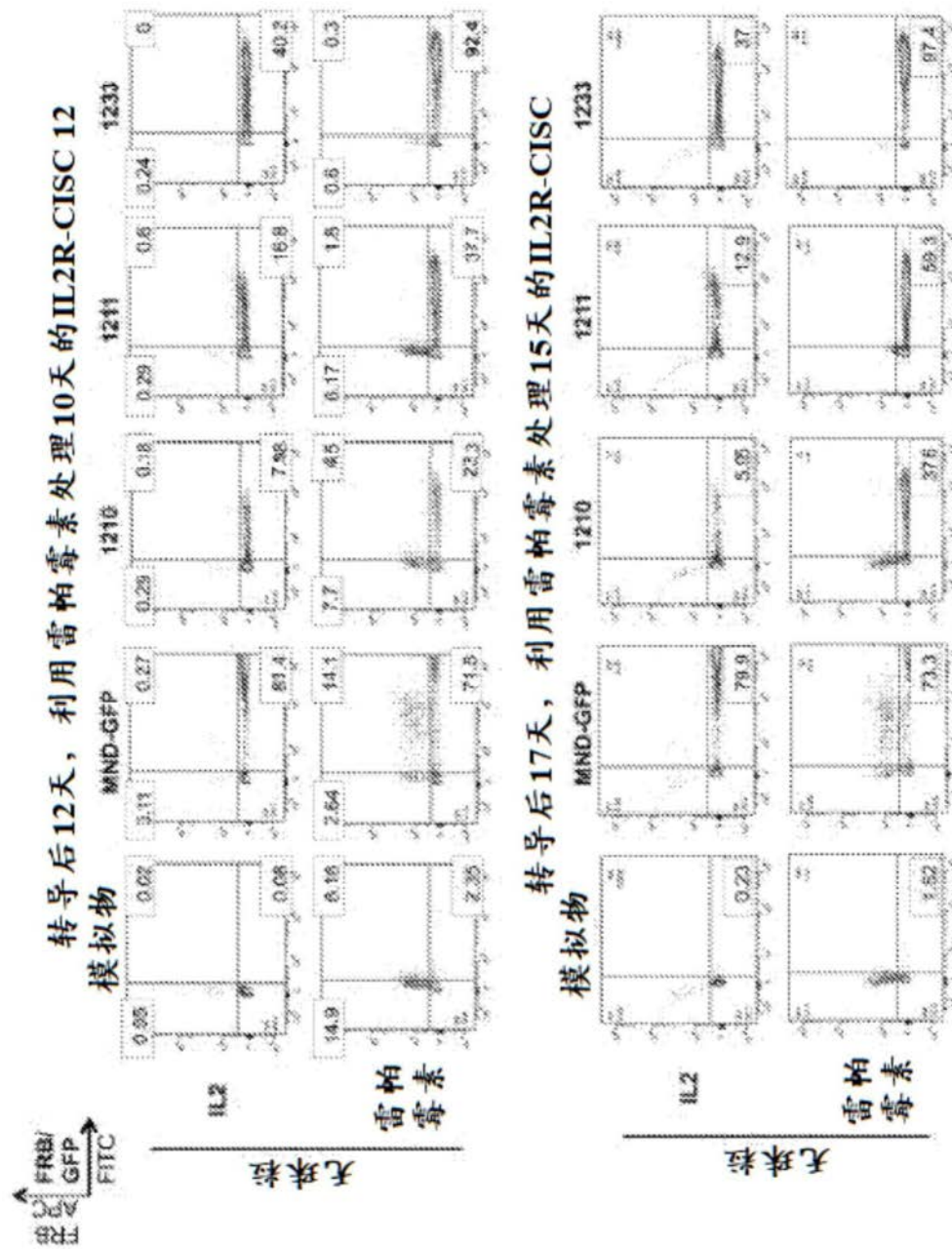


图10

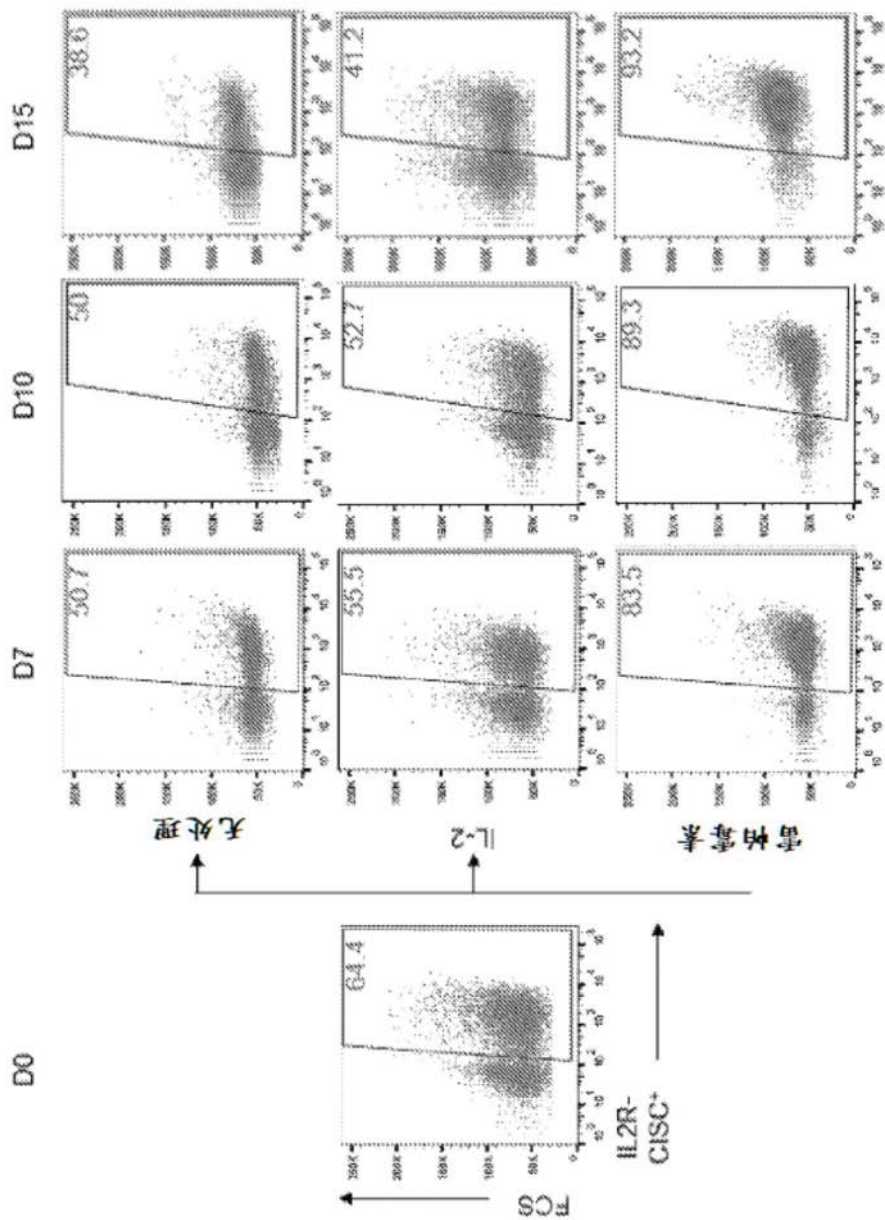


图11

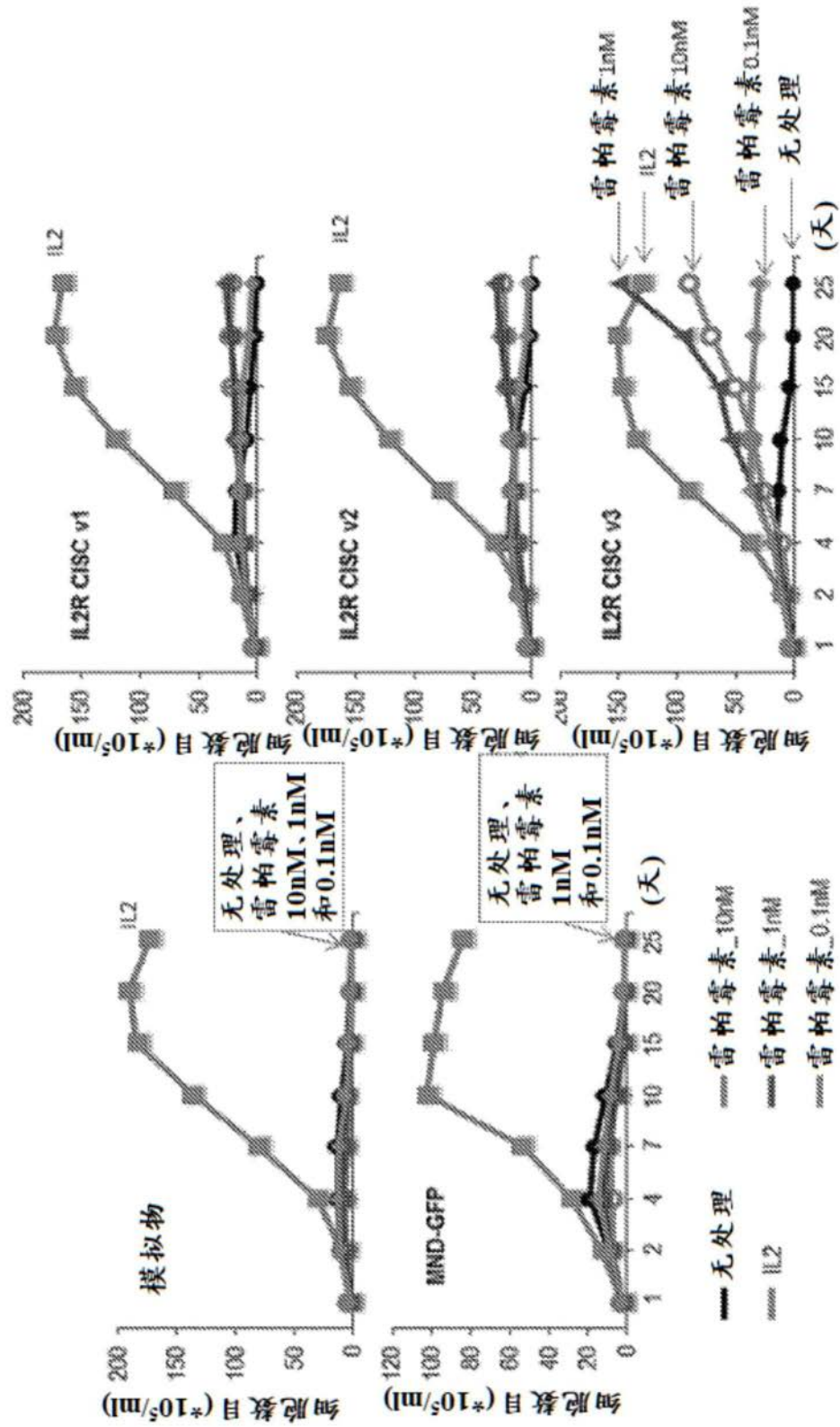
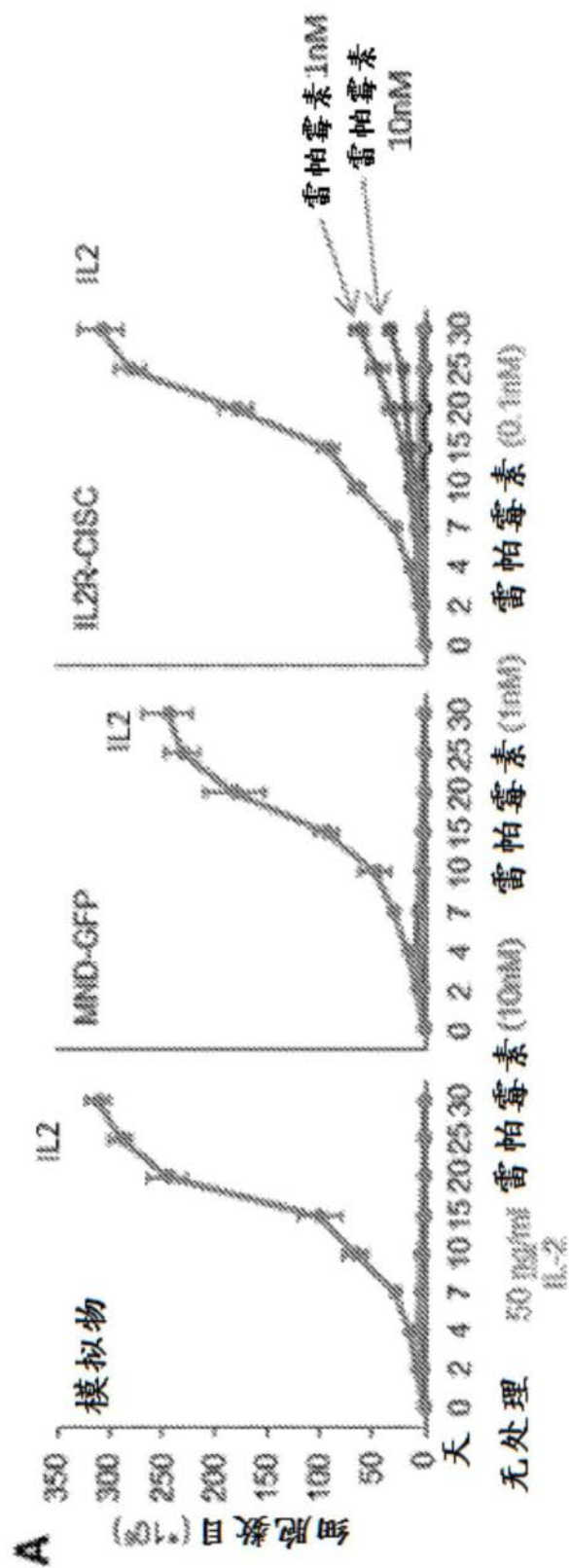


图12



• 方案：珠粒激活，在第72小时进行慢病毒转导，随后在IL2中进行培养

• 注意：IL2组中不存在雷帕霉素

图13

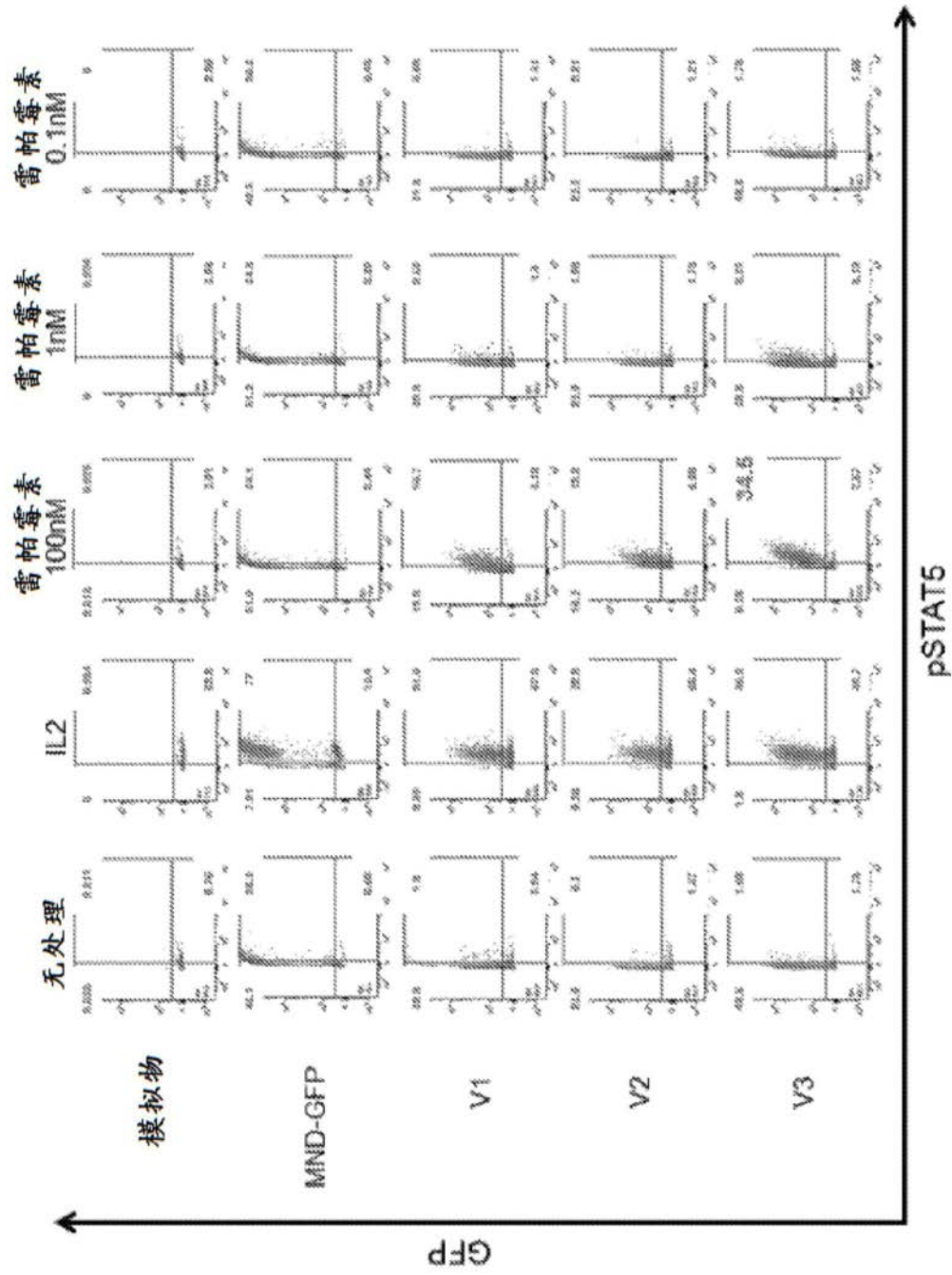


图14

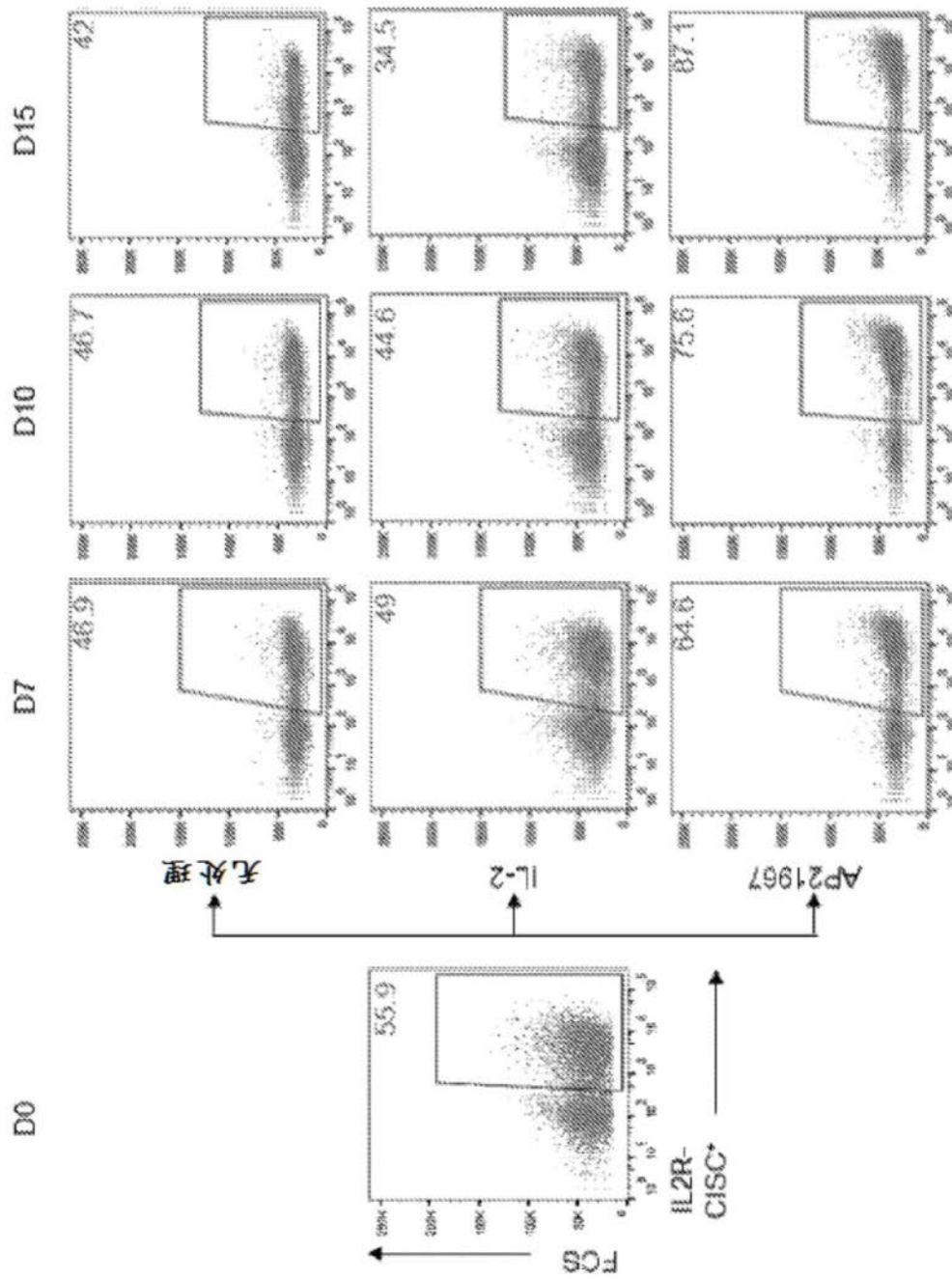


图15

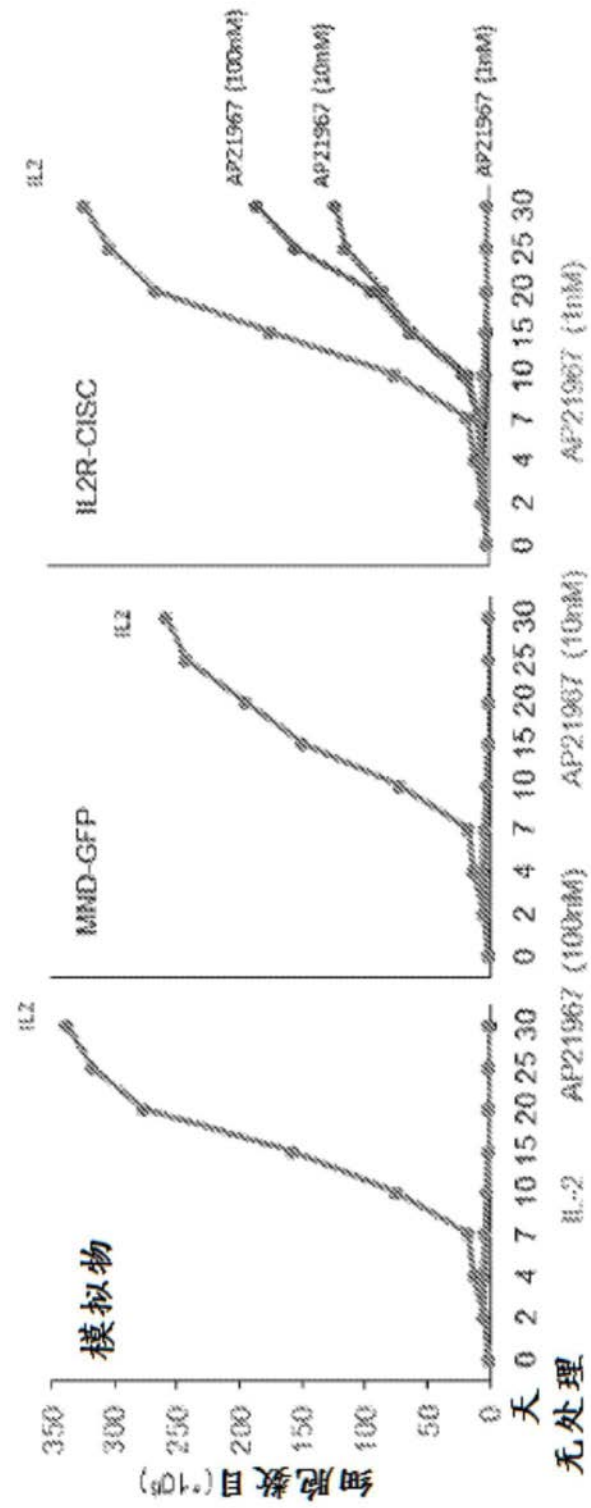


图16

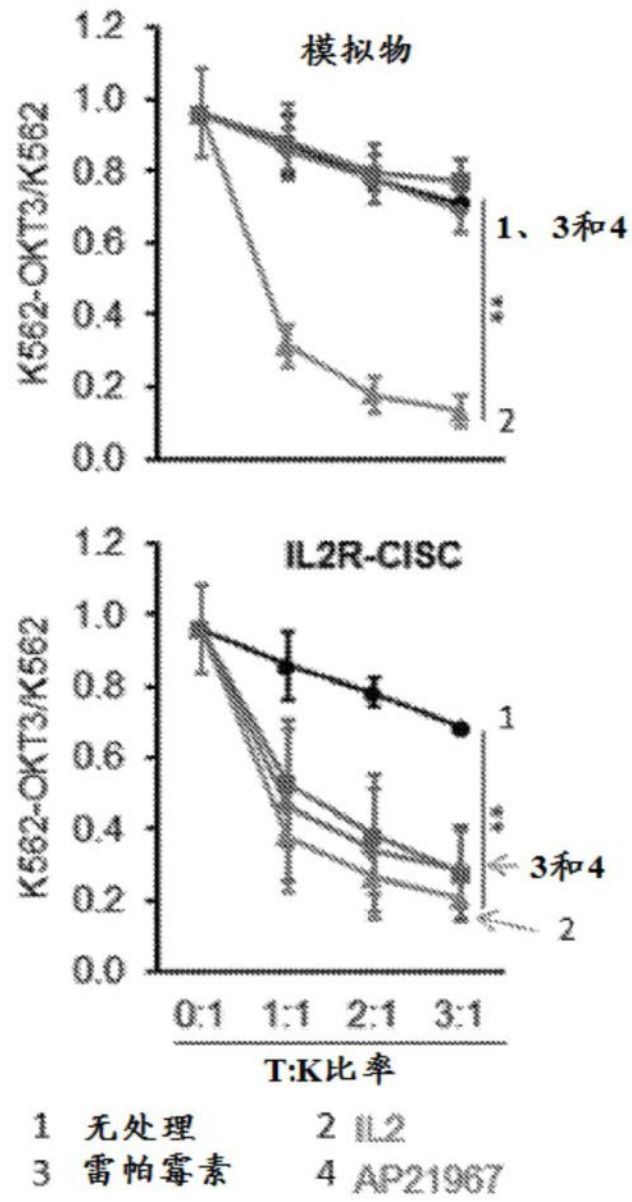


图17

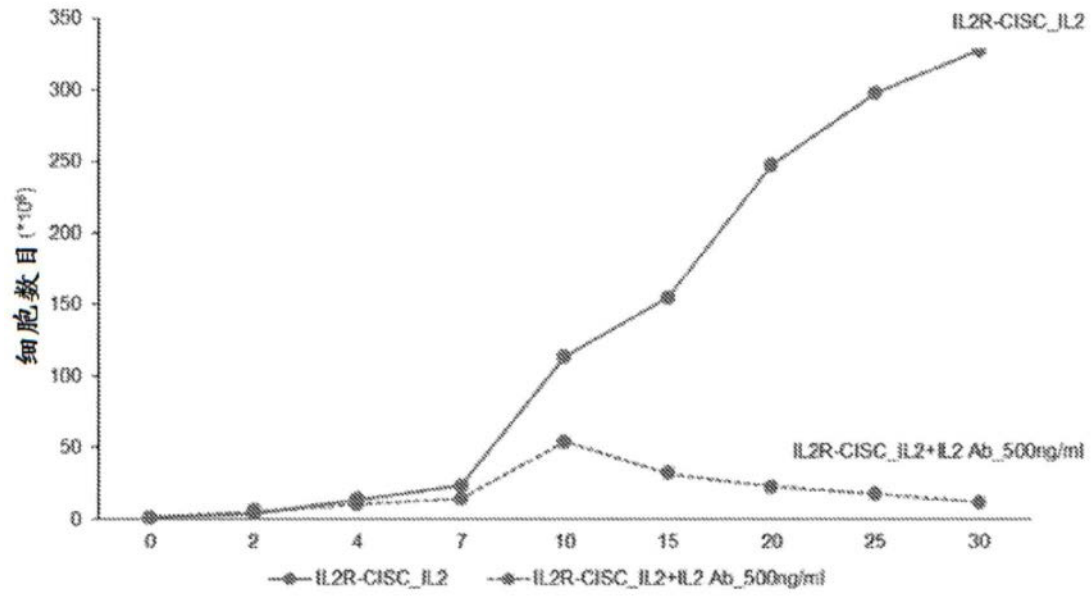


图18

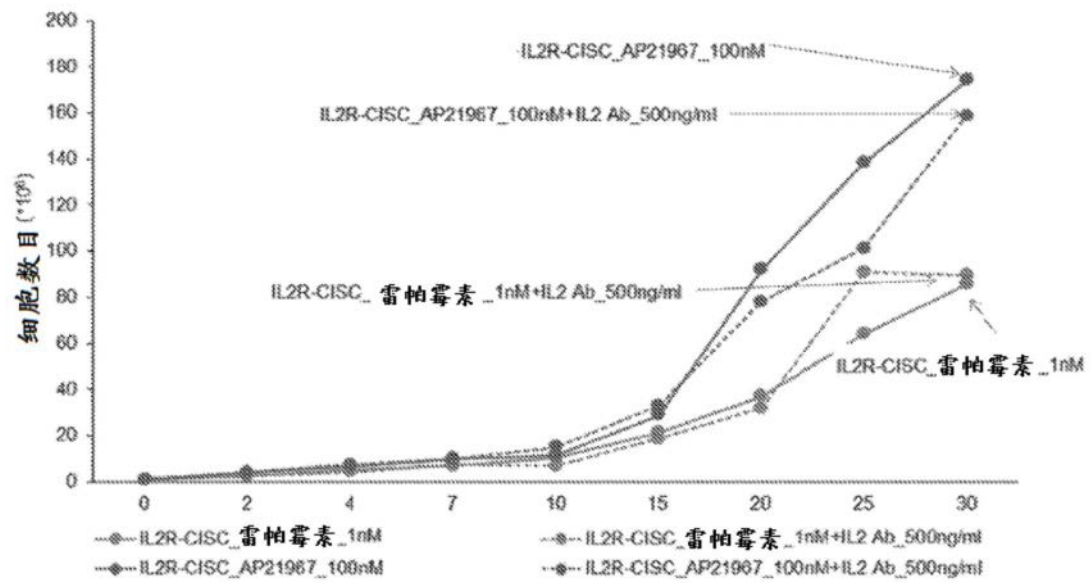


图19

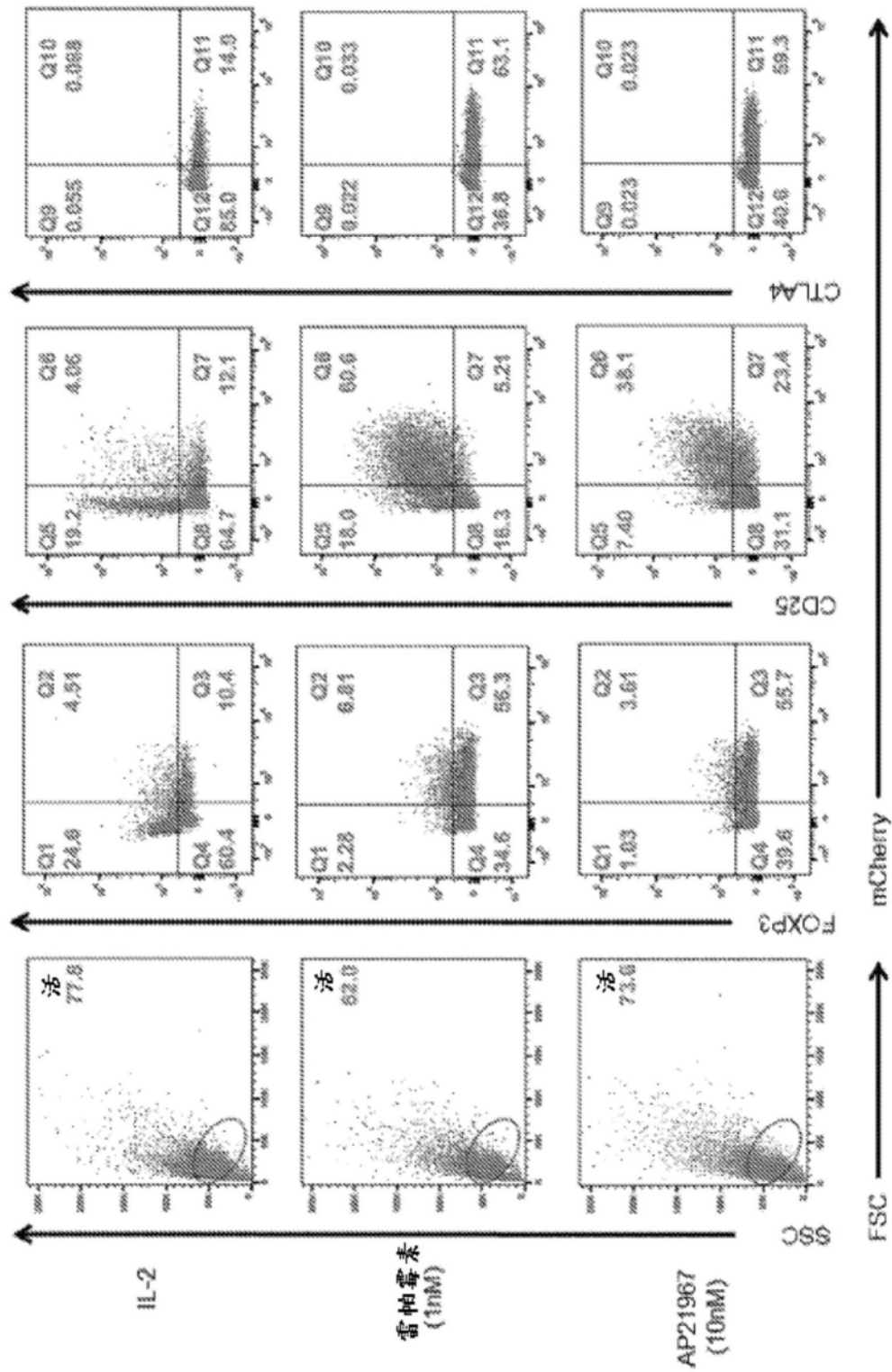


图20

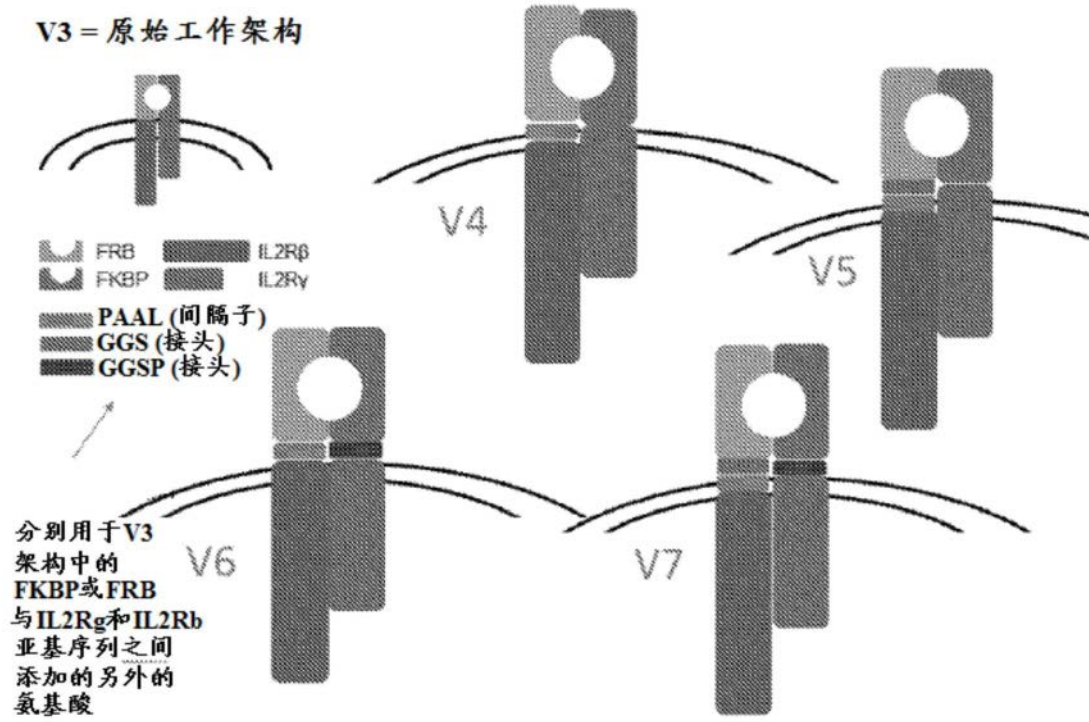


图21

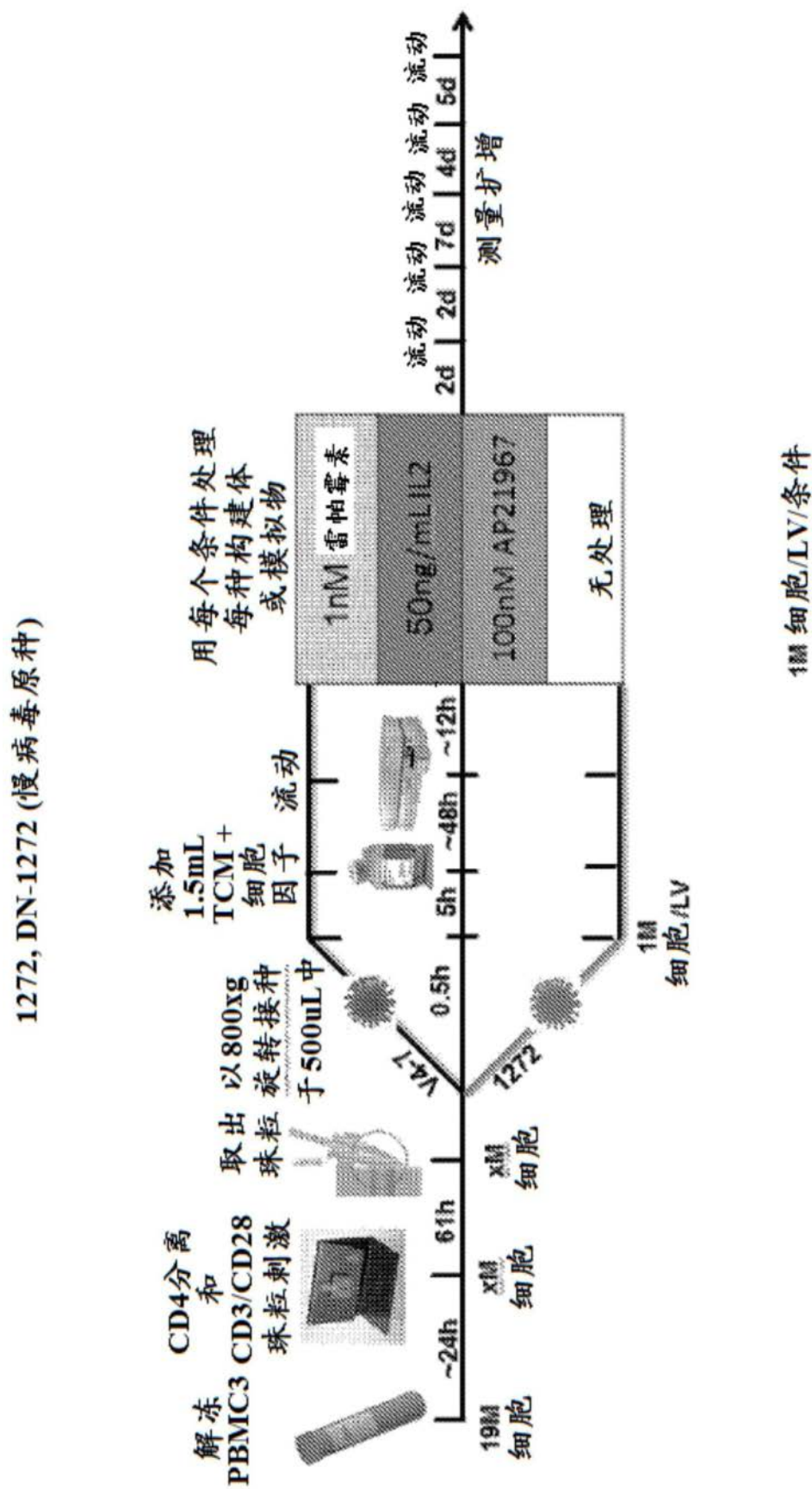


图22

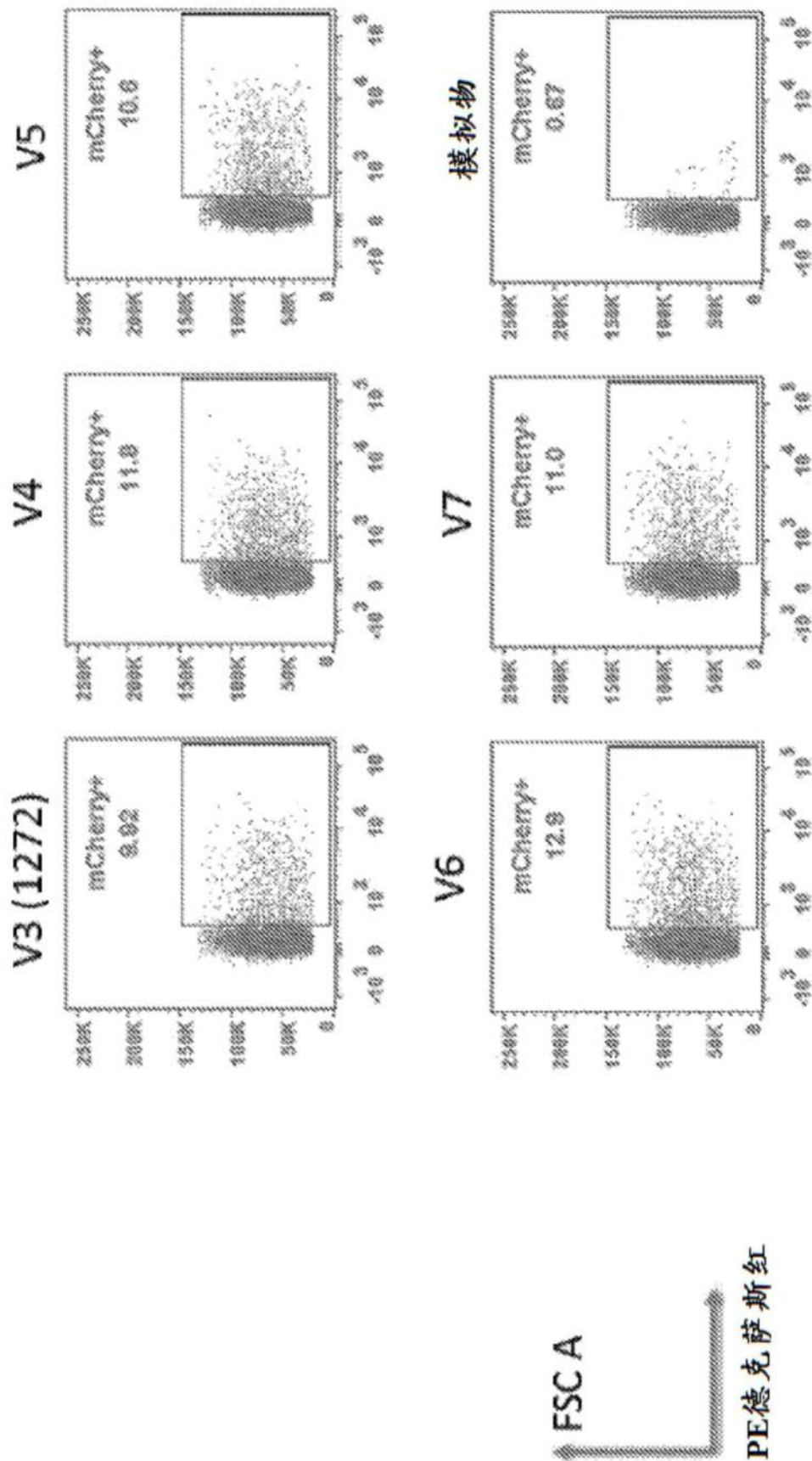


图23

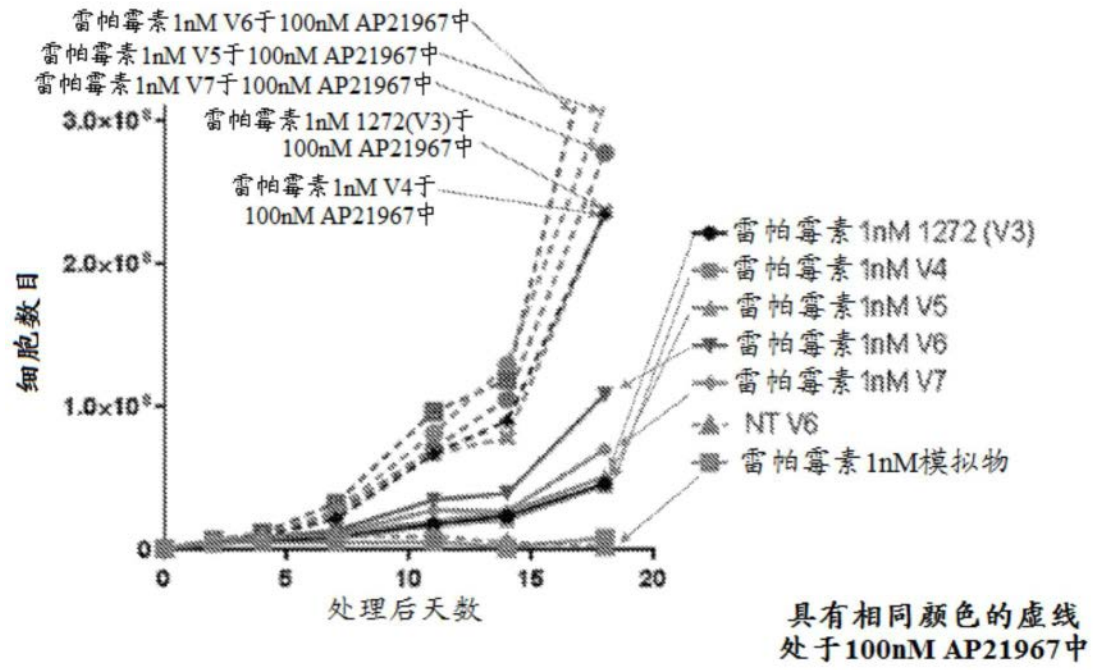


图24

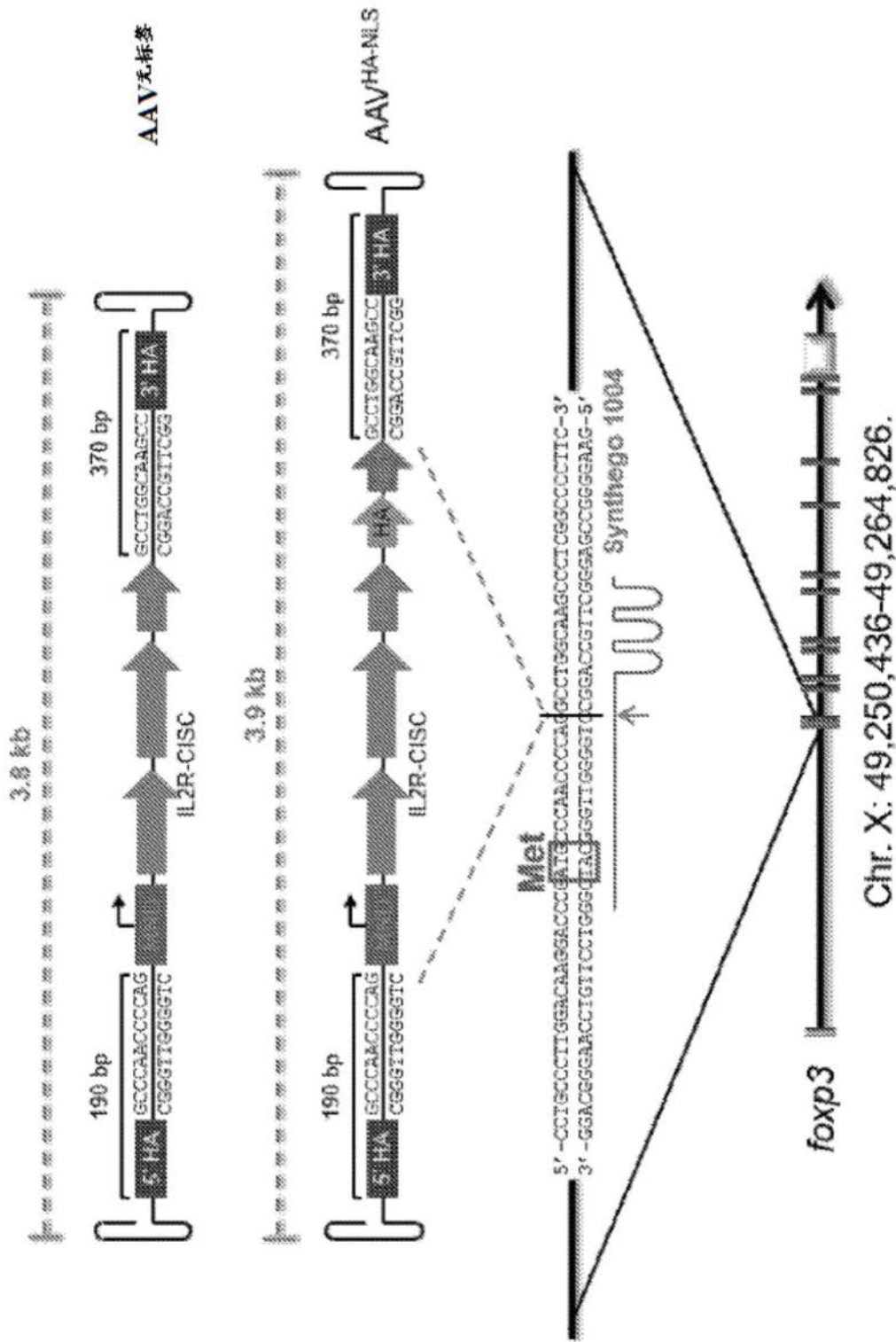


图25

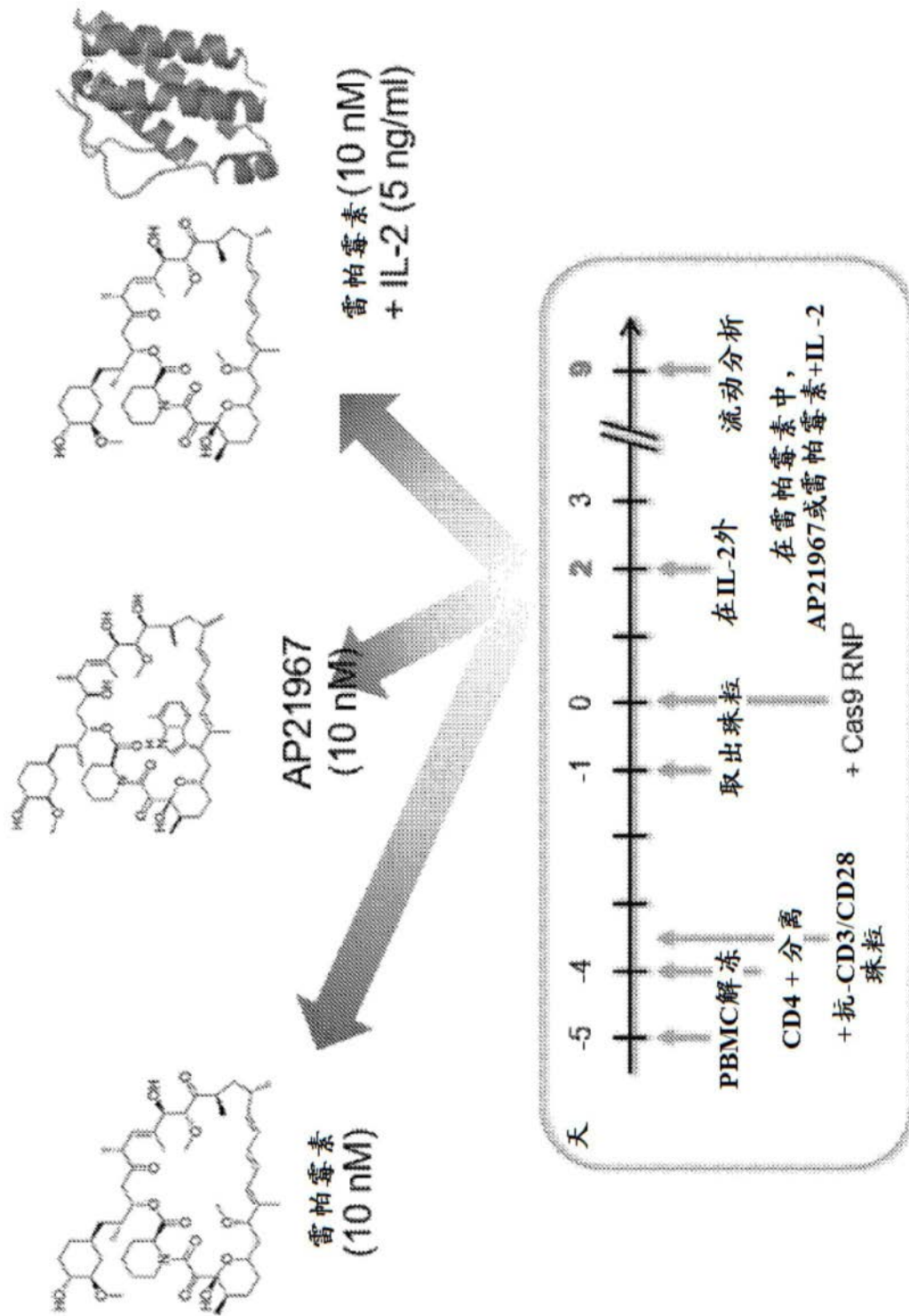


图26

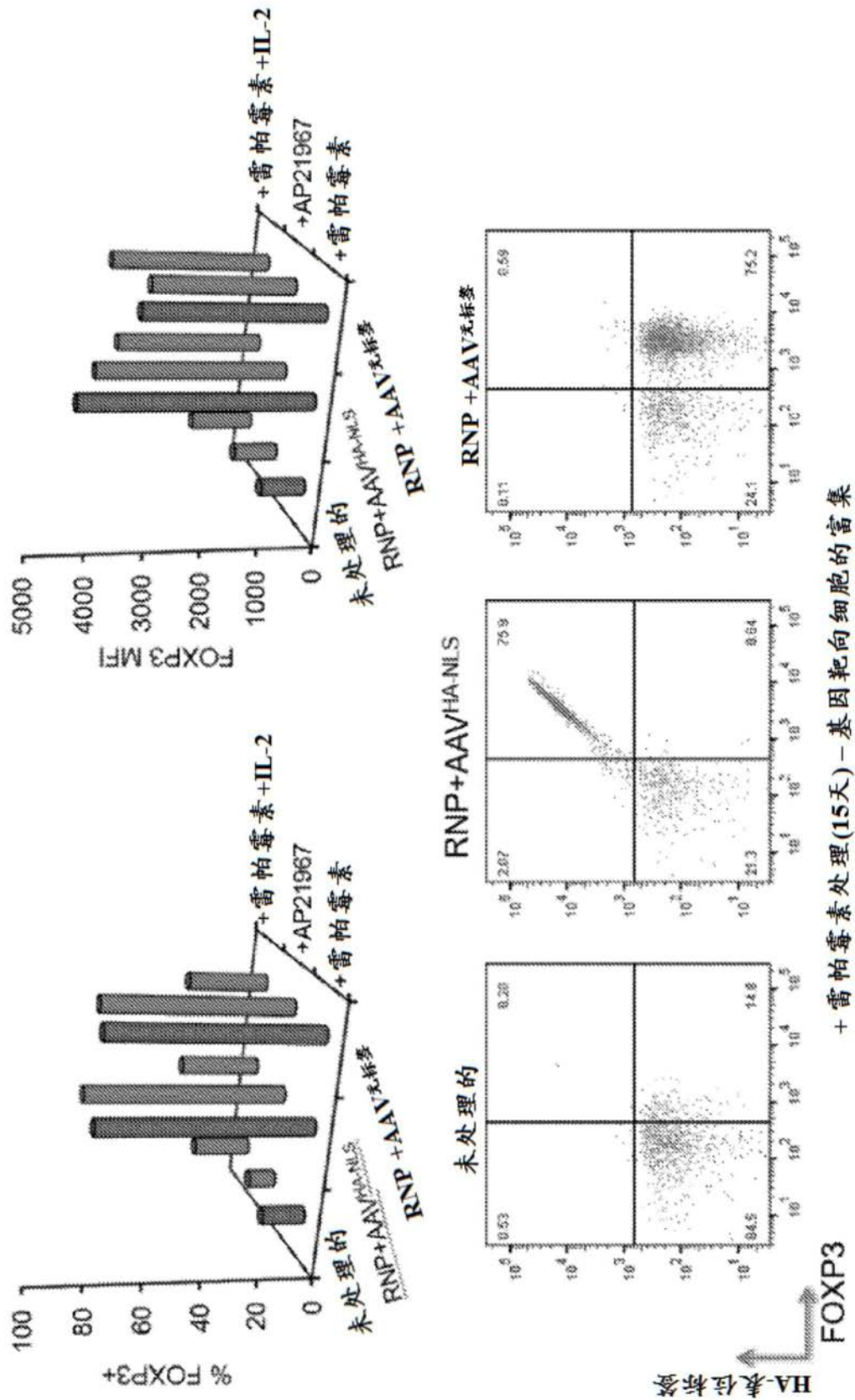


图27

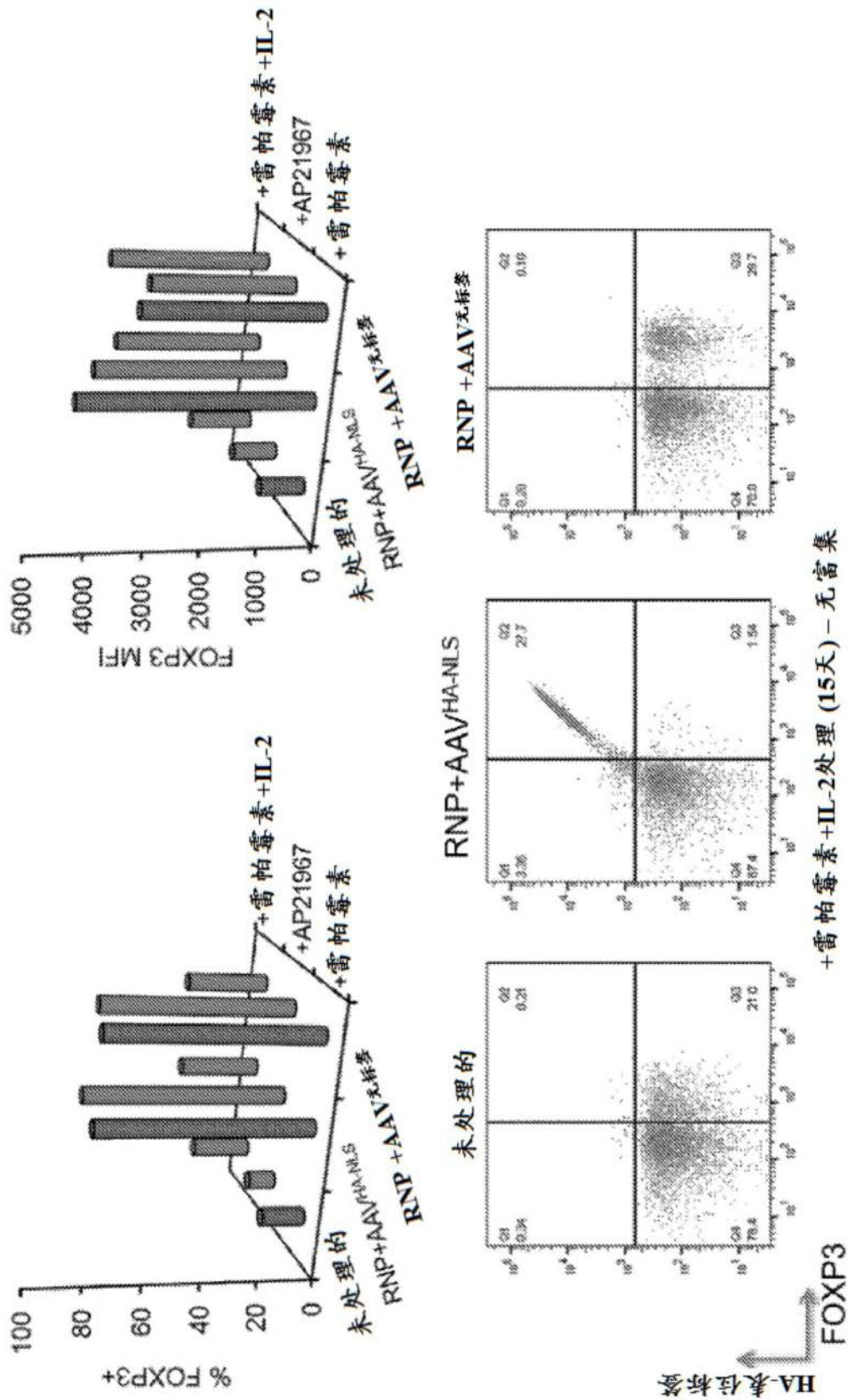


图28