



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110072885 B

(45) 授权公告日 2023. 12. 19

(21) 申请号 201780077533.1

(22) 申请日 2017.11.17

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110072885 A

(43) 申请公布日 2019.07.30

(30) 优先权数据
62/423,565 2016.11.17 US
62/467,496 2017.03.06 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2019.06.14

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2017/062358 2017.11.17

(87) PCT国际申请的公布数据
W02018/094244 EN 2018.05.24

(73) 专利权人 2赛文缇生物公司
地址 美国马萨诸塞州剑桥宾尼街60号

(72) 发明人 本杰明·博埃里纳斯

(74) 专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理
有限责任公司 11204
专利代理师 王达佐 洪欣

(51) Int.Cl.
C07K 14/705 (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01)
C12N 9/12 (2006.01)

(56) 对比文件
WO 2016122738 A1, 2016.08.04
US 2016075755 A1, 2016.03.17
US 2016298093 A1, 2016.10.13
US 2013202596 A1, 2013.08.08
CN 101356275 A, 2009.01.28
CN 105452287 A, 2016.03.30
Xiaojun Liu等.A chimeric switch-
receptor targeting PD1 augments the
efficacy of second-generation CAR T cells
in advanced solid tumors.《Cancer
Research》.2016,第76卷(第6期),

审查员 刘芳

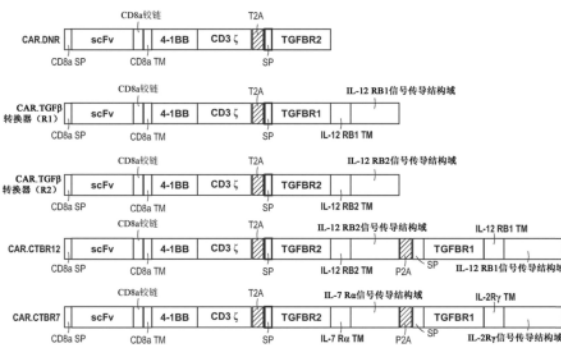
权利要求书2页 说明书76页
序列表97页 附图24页

(54) 发明名称

TGF β 信号转换器

(57) 摘要

本公开提供了用于治疗、预防癌症、传染病、自身免疫性疾病、炎性疾病和免疫缺陷或与其相关的病状或改善其至少一种症状的针对过继性T细胞疗法的经过改进的组合物。



1. T细胞,其包含融合多肽或编码所述融合多肽的核酸,其中所述融合多肽包括:
 - (a) TGF β R2多肽,其包括:
 - (i) TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域;
 - (ii) IL-12R β 2跨膜结构域;以及
 - (iii) IL-12R β 2细胞内信号传导结构域;
 - (b) 病毒自切割2A肽;以及
 - (c) TGF β R1多肽,其包括:
 - (i) TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域;
 - (ii) IL-12R β 1跨膜结构域;以及
 - (iii) IL-12R β 1细胞内信号传导结构域。
2. 根据权利要求1所述的T细胞,其中所述病毒自切割2A多肽选自由以下组成的组:口蹄疫病毒F2A肽、马A型鼻炎病毒E2A肽、明脉扁刺蛾 β 四体病毒T2A肽、猪捷申病毒-1P2A肽、泰勒病毒2A肽以及脑心肌炎病毒2A肽。
3. 根据权利要求1或2所述的T细胞,其中所述融合多肽进一步包括:(i) 工程化抗原受体和(ii) 第二病毒自切割2A多肽。
4. 根据权利要求3所述的T细胞,其中所述第二病毒自切割2A多肽选自由以下组成的组:口蹄疫病毒F2A肽、马A型鼻炎病毒E2A肽、明脉扁刺蛾 β 四体病毒T2A肽、猪捷申病毒-1P2A肽、泰勒病毒2A肽以及脑心肌炎病毒2A肽。
5. 根据权利要求3所述的T细胞,其中所述工程化抗原受体选自由以下组成的组:工程化T细胞受体(TCR)、嵌合抗原受体(CAR)、DARIC受体或其组分、以及嵌合细胞因子受体。
6. 根据权利要求5所述的T细胞,其中所述工程化抗原受体识别选自由以下组成的组的抗原:EGFR、NY-ESO-1和ROR1。
7. 根据权利要求1或2所述的T细胞,其中所述融合多肽包括SEQ ID NO:26到29中任一个所述的氨基酸序列。
8. 根据权利要求1或2所述的T细胞,其中所述融合多肽包括SEQ ID NO:28所示的氨基酸序列。
9. 根据权利要求1或2所述的T细胞,其包含编码融合多肽的核酸。
10. 根据权利要求9所述的T细胞,其包括包含所述核酸的载体。
11. 根据权利要求1或2所述的T细胞,其中所述T细胞是CD3⁺、CD4⁺和/或CD8⁺T细胞。
12. 根据权利要求1或2所述的T细胞,其中所述T细胞是免疫效应细胞。
13. 根据权利要求12所述的T细胞,其中所述T细胞是细胞毒性T淋巴细胞(CTL)、肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)或辅助T细胞。
14. 根据权利要求1或2所述的T细胞,其中所述T细胞的来源是外周血单核细胞、骨髓、淋巴结组织、脐带血、胸腺组织、来自感染部位的组织、腹水、胸腔积液、脾组织或肿瘤。
15. 根据权利要求1或2所述的T细胞,其进一步包括工程化抗原受体。
16. 根据权利要求15所述的T细胞,其中所述工程化抗原受体选自由以下组成的组:工程化T细胞受体(TCR)、嵌合抗原受体(CAR)、DARIC受体或其组分、以及嵌合细胞因子受体。
17. 根据权利要求16所述的T细胞,其中所述工程化抗原受体识别选自由以下组成的组的抗原:EGFR、NY-ESO-1和ROR1。

18. 一种组合物,其包括根据权利要求1或2所述的T细胞。
19. 一种药物组合物,其包括药学上可接受的载剂以及根据权利要求1或2所述的细胞。
20. 权利要求19所述的药物组合物在制备用于治疗或改善癌症的至少一种症状的药物中的用途。
21. 根据权利要求20所述的用途,其中所述癌症是实体癌。
22. 根据权利要求21所述的用途,其中所述实体癌选自肝癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、食管癌、膀胱癌、脑癌、肉瘤、头颈癌、骨癌、甲状腺癌、肾癌或皮肤癌。
23. 根据权利要求21所述的用途,其中所述实体癌是胰腺癌、肺癌或乳腺癌。
24. 根据权利要求21所述的用途,其中所述实体癌是食管癌。
25. 权利要求19所述的药物组合物在制备用于治疗血液恶性肿瘤的药物中的用途。
26. 根据权利要求25所述的用途,其中所述血液恶性肿瘤是白血病、淋巴瘤或多发性骨髓瘤。
27. 一种组合物,其包括权利要求15所述的T细胞。
28. 一种药物组合物,其包括药学上可接受的载剂以及根据权利要求15所述的细胞。
29. 权利要求28所述的药物组合物在制备用于治疗或改善癌症的至少一种症状的药物中的用途。
30. 根据权利要求29所述的用途,其中所述癌症是实体癌。
31. 根据权利要求30所述的用途,其中所述实体癌选自肝癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、食管癌、膀胱癌、脑癌、肉瘤、头颈癌、骨癌、甲状腺癌、肾癌或皮肤癌。
32. 根据权利要求30所述的用途,其中所述实体癌是胰腺癌、肺癌或乳腺癌。
33. 根据权利要求30所述的用途,其中所述实体癌是食管癌。
34. 权利要求28所述的药物组合物在制备用于治疗血液恶性肿瘤的药物中的用途。
35. 根据权利要求34所述的用途,其中所述血液恶性肿瘤是白血病、淋巴瘤或多发性骨髓瘤。

TGF β 信号转换器

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请根据35U.S.C. §119 (e) 要求于2017年3月6日提交的美国临时申请第62/467,496号和于2016年11月17日提交的美国临时申请第62/423,565号的权益,这些美国临时申请中的每一个都以全文引用的方式并入本文中。

[0003] 关于序列表的声明

[0004] 与本申请相关的序列表以文本格式提供以代替纸质副本,并且在此通过引用并入本说明书中。包含序列表的文本文件的名称是BLBD_080_02W0_ST25.txt。所述文本文件为215KB,于2017年11月17日创建,并且通过EFS-Web以电子方式与本说明书一同提交。

技术领域

[0005] 本公开涉及经过改进的过继性细胞疗法。更具体地说,本公开涉及经过改进的信号传导分子、细胞和使用其的方法。

背景技术

[0006] 全球受癌症困扰的人数在1975年到2000年间翻了一番。癌症是全球发病率和死亡率的第二大原因,其中在2012年,新发病例约为1410万,癌症相关死亡人数达820万。最常见的癌症是乳腺癌、肺癌和支气管癌、前列腺癌、结肠癌和直肠癌、膀胱癌、皮肤黑色素瘤、非霍奇金淋巴瘤、甲状腺癌、肾癌和肾盂癌、子宫内膜癌、白血病和胰腺癌。预计未来二十年内新发癌症病例的数量将上升到2200万。

[0007] 免疫系统在检测和对抗人类癌症方面发挥着关键作用。大多数转化细胞很快被免疫哨兵检测到,并通过克隆表达的T细胞受体(TCR)对抗原特异性T细胞进行活化而被破坏。因此,癌症可以被认为是免疫病症,免疫系统无法发挥必要的抗肿瘤应答以持久地抑制和消除所述疾病。为了更有效地对抗癌症,在过去几十年中开发的某些免疫疗法干预特别关注于增强T细胞免疫性。这些治疗仅产生了零星的疾病缓解病例,并没有取得实质性的全面成功。使用靶向抑制T细胞活化的分子(如CTLA-4或PD-1)的单克隆抗体的最近疗法已显示出更显著的抗肿瘤作用;然而,由于全身免疫活化,这些治疗还与大量毒性相关。

[0008] 最近,已经在早期临床试验中研究和测试了基于T细胞的分离、修饰、扩增和重新输注的过继性细胞免疫疗法策略。由于其选择性识别和强大的效应机制,T细胞通常是癌症免疫疗法的选择效应细胞。这些治疗证实了不同的成功率,但有少数患者经历了持久的缓解,从而突出了基于T细胞的免疫疗法尚未实现的潜力。

[0009] 细胞毒性T细胞对肿瘤细胞相关抗原的成功识别启动靶向肿瘤溶解并为任何有效的癌症免疫疗法奠定基础。肿瘤浸润T细胞(TIL)表达特异性指向肿瘤相关抗原的TCR;然而,大量的TIL仅限于少数人类癌症。工程化T细胞受体(TCR)和嵌合抗原受体(CAR)有可能提高基于T细胞的免疫疗法对许多癌症和其它免疫病症的适用性。

[0010] 此外,最先进的工程化T细胞仍然受到由癌细胞、炎性细胞、基质细胞和细胞因子组成的复杂的免疫抑制肿瘤微环境的调控。在这些组分中,癌细胞、炎性细胞和抑制性细胞

因子对T细胞表型和功能产生不利影响。共同地,肿瘤微环境促使T细胞最终分化为耗竭型T细胞。

[0011] T细胞耗竭是慢性环境中的T细胞功能障碍的状态,所述状态以以下为标志:抑制性受体的表达增加或抑制性受体的信号传导增加;效应细胞因子的产生减少;以及对抗和消除癌症的能力下降。耗竭型T细胞还示出呈分层方式的功能丧失:在耗竭早期,IL-2产生减少并且丧失体外杀伤能力;在耗竭中期,丧失TNF- α 产生;并且在耗竭晚期,丧失IFN- γ 和GzmB产生。肿瘤微环境中的大多数T细胞分化为耗竭型T细胞并且丧失消除癌症的能力并且最终被清除。

[0012] 转化生长因子 β (TGF β) 是一种多效细胞因子,已经作为免疫抑制信号分子牵涉进肿瘤微环境。TGF β 结合到TGF β R1和TGF β R2丝氨酸/苏氨酸激酶受体复合物,从而导致下游转录因子Smad2和Smad3的受体介导磷酸化。许多肿瘤通过获得TGF β R2受体和/或下游Smad信号传导蛋白中的突变来避开TGF β 的细胞抑制和抗增殖作用。TGF β 抑制涉及T细胞的体外效应子和溶细胞活性(包含IFN γ 分泌)的关键分子。

[0013] 迄今为止,针对使用中和抗体或激酶抑制剂来抑制TGF β 信号传导的临床试验产生的结果令人失望,并且尚未报道显著的疗效。

发明内容

[0014] 本公开总体上部分涉及经过改进的TGF β 信号转换器(嵌合TGF β 受体或CTBR)、基因修饰的细胞、组合物和使用其的方法。

[0015] 在各个实施例中,设想了一种融合多肽,其包括:第一多肽,其包括:TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和免疫受体细胞内信号传导结构域;多肽切割信号;以及第二多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和免疫受体细胞内信号传导结构域。

[0016] 在另外的实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域从细胞因子受体、白细胞介素受体、模式识别受体或tol1样受体分离。

[0017] 在特定实施例中,所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域从细胞因子受体、白细胞介素受体、模式识别受体或tol1样受体分离。

[0018] 在一些实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是IL-12R β 2细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是IL-12R β 1细胞内信号传导结构域。在各个实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括IL-12R β 2跨膜结构域。在特定实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括IL-12R β 1跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR12或CTBR12信号转换器。

[0019] 在某些实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是IL-12R β 1细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是IL-12R β 2细胞内信号传导结构域。在另外的实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括IL-12R β 1跨膜结构域。在特定实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括IL-12R β 2跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR12或CTBR12信号转换器。

[0020] 在另外的实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是IL-7R α 细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是

IL-2R γ 细胞内信号传导结构域。在一些实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括 IL-7R α 跨膜结构域。在特定实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括 IL-2R γ 跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为 CTBR7 或 CTBR7 信号转换器。

[0021] 在各个实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是 IL-2R γ 细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是 IL-7R α 细胞内信号传导结构域。在另外的实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括 IL-2R γ 跨膜结构域。在某些实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括 IL-7R α 跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为 CTBR7 或 CTBR7 信号转换器。

[0022] 在另外的实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是 IL-2R β 细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是 IL-2R γ 细胞内信号传导结构域。在各个实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括 IL-2R β 跨膜结构域。在各个实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括 IL-2R γ 跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为 CTBR15 或 CTBR15 信号转换器。

[0023] 在特定实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是 IL-2R γ 细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是 IL-2R β 细胞内信号传导结构域。在一些实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括 IL-2R γ 跨膜结构域。在某些实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括 IL-2R β 跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为 CTBR15 或 CTBR15 信号转换器。

[0024] 在另外的实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是 IL-21R 细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是 IL-2R γ 细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括 IL-21R 跨膜结构域。在各个实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括 IL-2R γ 跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为 CTBR21 或 CTBR21 信号转换器。

[0025] 在另外的实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是 IL-2R γ 细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是 IL-21R 细胞内信号传导结构域。在某些实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括 IL-2R γ 跨膜结构域。在另外的实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括 IL-21R 跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为 CTBR21 或 CTBR21 信号转换器。

[0026] 在各个实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是 IL-18R1 细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是 IL-18RAP 细胞内信号传导结构域。在一些实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括 IL-18R1 跨膜结构域。在各个实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括 IL-18RAP 跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为 CTBR18 或 CTBR18 信号转换器。

[0027] 在一些实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是 IL-18RAP 细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是 IL-18R1 细胞内信号传导结构域。在另外的实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括 IL-18RAP 跨膜结构域。在特定实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括 IL-18R1 跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为 CTBR18 或 CTBR18 信号转换器。

[0028] 在某些实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是 IL-1R1

细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是IL-1RAP细胞内信号传导结构域。在另外的实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括IL-1R1跨膜结构域。在各个实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括IL-1RAP跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR1或CTBR1信号转换器。

[0029] 在某些实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是IL-1RAP细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是IL-1R1细胞内信号传导结构域。在各个实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括IL-1RAP跨膜结构域。在一些实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括IL-1R1跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR1或CTBR1信号转换器。

[0030] 在另外的实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是IL-1RAP细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是IL-1RL2细胞内信号传导结构域。在各个实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括IL-1RAP跨膜结构域。在另外的实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括IL-1RL2跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR36或CTBR36信号转换器。

[0031] 在特定实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是IL-1RL2细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是IL-1RAP细胞内信号传导结构域。在某些实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括IL-1RL2跨膜结构域。在一些实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括IL-1RAP跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR36或CTBR36信号转换器。

[0032] 在各个实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是IFNAR1细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是IFNAR2细胞内信号传导结构域。在另外的实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括IFNAR1跨膜结构域。在特定实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括IFNAR2跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBRIFN1或CTBRIFN1信号转换器。

[0033] 在各个实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是IFNAR2细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是IFNAR1细胞内信号传导结构域。在某些实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括IFNAR2跨膜结构域。在各个实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括IFNAR1跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR. IFN1或CTBR. IFN1信号转换器。

[0034] 在另外的实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是TLR1细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是TLR1细胞内信号传导结构域。在另外的实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括TLR1跨膜结构域。在一些实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括TLR1跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR. TLR1或CTBR. TLR1信号转换器。

[0035] 在特定实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是TLR2细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是TLR2细胞内信号传导结构域。在某些实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括TLR2跨膜结构域。在另外的实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括TLR2跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR. TLR2或CTBR. TLR2信号转换器。

[0036] 在各个实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是TLR3细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是TLR3细胞内信号传导结构域。在另外的实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括TLR3跨膜结构域。在特定实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括TLR3跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR.TLR3或CTBR.TLR3信号转换器。

[0037] 在各个实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是TLR4细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是TLR4细胞内信号传导结构域。在一些实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括TLR4跨膜结构域。在某些实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括TLR4跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR.TLR4或CTBR.TLR4信号转换器。

[0038] 在另外的实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是TLR5细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是TLR5细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括TLR5跨膜结构域。在各个实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括TLR5跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR.TLR5或CTBR.TLR5信号转换器。

[0039] 在一些实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是TLR6细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是TLR6细胞内信号传导结构域。在另外的实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括TLR6跨膜结构域。在特定实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括TLR6跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR.TLR6或CTBR.TLR6信号转换器。

[0040] 在一些实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是TLR7细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是TLR7细胞内信号传导结构域。在各个实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括TLR7跨膜结构域。在另外的实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括TLR7跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR.TLR7或CTBR.TLR7信号转换器。

[0041] 在某些实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是TLR8细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是TLR8细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括TLR8跨膜结构域。在一些实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括TLR8跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR.TLR8或CTBR.TLR8信号转换器。

[0042] 在各个实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是TLR9细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是TLR9细胞内信号传导结构域。在另外的实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括TLR9跨膜结构域。在另外的实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括TLR9跨膜结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR.TLR9或CTBR.TLR9信号转换器。

[0043] 在某些实施例中,所述第一多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是TLR10细胞内信号传导结构域,并且所述第二多肽的所述免疫受体细胞内信号传导结构域是TLR10细胞内信号传导结构域。在某些实施例中,所述第一多肽的所述跨膜结构域包括TLR10跨膜结构域。在特定实施例中,所述第二多肽的所述跨膜结构域包括TLR10跨膜结构域。

域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR.TLR10或CTBR.TLR10信号转换器。

[0044] 在另外的实施例中,所述多肽切割信号是病毒自切割多肽。

[0045] 在各个实施例中,所述多肽切割信号是病毒自切割2A多肽。

[0046] 在一些实施例中,所述多肽切割信号是选自由以下组成的组的病毒自切割多肽:口蹄疫病毒(FMDV) (F2A) 肽、马A型鼻炎病毒(ERAV) (E2A) 肽、明脉扁刺蛾β四体病毒(Thosea asigna virus) (TaV) (T2A) 肽、猪捷申病毒-1 (PTV-1) (P2A) 肽、泰勒病毒2A肽以及脑心肌炎病毒2A肽。

[0047] 在特定实施例中,一种融合多肽包括:TGFβR2多肽,其包括TGFβR2的细胞外TGFβ1结合结构域、IL-12Rβ2跨膜结构域和IL-12Rβ2细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGFβR1多肽,其包括TGFβR1的细胞外TGFβ1结合结构域、IL-12Rβ1跨膜结构域和IL-12Rβ1细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR12或CTBR12信号转换器。

[0048] 在各个实施例中,一种融合多肽包括:TGFβR2多肽,其包括TGFβR2的细胞外TGFβ1结合结构域、IL-12Rβ1跨膜结构域和IL-12Rβ1细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGFβR1多肽,其包括TGFβR1的细胞外TGFβ1结合结构域、IL-12Rβ2跨膜结构域和IL-12Rβ2细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR12或CTBR12信号转换器。

[0049] 在另外的实施例中,一种融合多肽包括:TGFβR2多肽,其包括TGFβR2的细胞外TGFβ1结合结构域、IL-7Rα跨膜结构域和IL-7Rα细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGFβR1多肽,其包括TGFβR1的细胞外TGFβ1结合结构域、IL-2R γ 跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR7或CTBR7信号转换器。

[0050] 在特定实施例中,一种融合多肽包括:TGFβR2多肽,其包括TGFβR2的细胞外TGFβ1结合结构域、IL-2R γ 跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGFβR1多肽,其包括TGFβR1的细胞外TGFβ1结合结构域、IL-7Rα跨膜结构域和IL-7Rα细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR7或CTBR7信号转换器。

[0051] 在某些实施例中,一种融合多肽包括:TGFβR2多肽,其包括TGFβR2的细胞外TGFβ1结合结构域、IL-2Rβ跨膜结构域和IL-2Rβ细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGFβR1多肽,其包括TGFβR1的细胞外TGFβ1结合结构域、IL-2R γ 跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR15或CTBR15信号转换器。

[0052] 在各个实施例中,一种融合多肽包括:TGFβR2多肽,其包括TGFβR2的细胞外TGFβ1结合结构域、IL-2R γ 跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGFβR1多肽,其包括TGFβR1的细胞外TGFβ1结合结构域、IL-2Rβ跨膜结构域和IL-2Rβ细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR15或CTBR15信号转换器。

[0053] 在一些实施例中,一种融合多肽包括:TGFβR2多肽,其包括TGFβR2的细胞外TGFβ1结合结构域、IL-21R跨膜结构域和IL-21R细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGFβR1多肽,其包括TGFβR1的细胞外TGFβ1结合结构域、IL-2R γ 跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR21或CTBR21信号转换器。

[0054] 在某些实施例中,一种融合多肽包括:TGFβR2多肽,其包括TGFβR2的细胞外TGFβ1结合结构域、IL-2R γ 跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及

TGF β R1多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、IL-21R跨膜结构域和IL-21R细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR21或CTBR21信号转换器。

[0055] 在各个实施例中,一种融合多肽包括:TGF β R2多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、IL-18R1跨膜结构域和IL-18R1细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGF β R1多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、IL-18RAP跨膜结构域和IL-18RAP细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR18或CTBR18信号转换器。

[0056] 在另外的实施例中,一种融合多肽包括:TGF β R2多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、IL-18RAP跨膜结构域和IL-18RAP细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGF β R1多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、IL-18R1跨膜结构域和IL-18R1细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR18或CTBR18信号转换器。

[0057] 在特定实施例中,一种融合多肽包括:TGF β R2多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、IL-1R1跨膜结构域和IL-1R1细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGF β R1多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、IL-1RAP跨膜结构域和IL-1RAP细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR36或CTBR36信号转换器。

[0058] 在某些实施例中,一种融合多肽包括:TGF β R2多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、IL-1RAP跨膜结构域和IL-1RAP细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGF β R1多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、IL-1R1跨膜结构域和IL-1R1细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR36或CTBR36信号转换器。

[0059] 在各个实施例中,一种融合多肽包括:TGF β R2多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、IFNAR1跨膜结构域和IFNAR1细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGF β R1多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、IFNAR2跨膜结构域和IFNAR2细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR. IFN1或CTBR. IFN1信号转换器。

[0060] 在一些实施例中,一种融合多肽包括:TGF β R2多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、IFNAR2跨膜结构域和IFNAR2细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGF β R1多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、IFNAR1跨膜结构域和IFNAR1细胞内信号传导结构域。

[0061] 在另外的实施例中,一种融合多肽包括:TGF β R2多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、TLR1跨膜结构域和TLR1细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGF β R1多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、TLR1跨膜结构域和TLR1细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR. TLR1或CTBR. TLR1信号转换器。

[0062] 在特定实施例中,一种融合多肽包括:TGF β R2多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、TLR2跨膜结构域和TLR2细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGF β R1多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、TLR2跨膜结构域和TLR2细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR. TLR2或CTBR. TLR2信号转换器。

[0063] 在各个实施例中,一种融合多肽包括:TGF β R2多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、TLR3跨膜结构域和TLR3细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGF β R1多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、TLR3跨膜结构域和TLR3细胞内信号传导结

构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR.TLR3或CTBR.TLR3信号转换器。

[0064] 在某些实施例中,一种融合多肽包括:TGF β R2多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、TLR4跨膜结构域和TLR4细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGF β R1多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、TLR4跨膜结构域和TLR4细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR.TLR4或CTBR.TLR4信号转换器。

[0065] 在另外的实施例中,一种融合多肽包括:TGF β R2多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、TLR5跨膜结构域和TLR5细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGF β R1多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、TLR5跨膜结构域和TLR5细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR.TLR5或CTBR.TLR5信号转换器。

[0066] 在各个实施例中,一种融合多肽包括:TGF β R2多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、TLR6跨膜结构域和TLR6细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGF β R1多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、TLR6跨膜结构域和TLR6细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR.TLR6或CTBR.TLR6信号转换器。

[0067] 在一些实施例中,一种融合多肽包括:TGF β R2多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、TLR7跨膜结构域和TLR7细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGF β R1多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、TLR7跨膜结构域和TLR7细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR.TLR7或CTBR.TLR7信号转换器。

[0068] 在特定实施例中,一种融合多肽包括:TGF β R2多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、TLR8跨膜结构域和TLR8细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGF β R1多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、TLR8跨膜结构域和TLR8细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR.TLR8或CTBR.TLR8信号转换器。

[0069] 在另外的实施例中,一种融合多肽包括:TGF β R2多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、TLR9跨膜结构域和TLR9细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGF β R1多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、TLR9跨膜结构域和TLR9细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR.TLR9或CTBR.TLR9信号转换器。

[0070] 在各个实施例中,一种融合多肽包括:TGF β R2多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、TLR10跨膜结构域和TLR10细胞内信号传导结构域;病毒自切割2A肽;以及TGF β R1多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、TLR10跨膜结构域和TLR10细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,所述融合蛋白被称为CTBR.TLR10或CTBR.TLR10信号转换器。

[0071] 在一些实施例中,所述病毒自切割2A多肽选自由以下组成的组:口蹄疫病毒(FMDV) (F2A)肽、马A型鼻炎病毒(ERAV) (E2A)肽、明脉扁刺蛾 β 四体病毒(TaV) (T2A)肽、猪捷申病毒-1 (PTV-1) (P2A)肽、泰勒病毒2A肽以及脑心肌炎病毒2A肽。

[0072] 在另外的实施例中,本文所设想的融合多肽进一步包括工程化抗原受体和第二病毒自切割2A多肽。

[0073] 在某些实施例中,所述第二病毒自切割2A多肽选自由以下组成的组:口蹄疫病毒(FMDV) (F2A)肽、马A型鼻炎病毒(ERAV) (E2A)肽、明脉扁刺蛾 β 四体病毒(TaV) (T2A)肽、猪捷申病毒-1 (PTV-1) (P2A)肽、泰勒病毒2A肽以及脑心肌炎病毒2A肽。

[0074] 在特定实施例中,所述工程化抗原受体选自由以下组成的组:工程化T细胞受体(TCR)、嵌合抗原受体(CAR)、DARIC受体或其组分、以及嵌合细胞因子受体;任选地,其中所

述工程化抗原受体识别选自以下组成的组的抗原： α 叶酸受体、5T4、 α v β 6整联蛋白、BCMA、B7-H3、B7-H6、CAIX、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD138、CD171、CEA、CSPG4、EGFR、包含ErbB2 (HER2) 的EGFR家族、EGFRvIII、EGP2、EGP40、EPCAM、EphA2、EpCAM、FAP、胎儿AchR、FR α 、GD2、GD3、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 (GPC3)、HLA-A1+MAGE1、HLA-A2+MAGE1、HLA-A3+MAGE1、HLA-A1+NY-ESO-1、HLA-A2+NY-ESO-1、HLA-A3+NY-ESO-1、IL-11R α 、IL-13R α 2、 λ 、Lewis-Y、 κ 、间皮素、Muc1、Muc16、NCAM、NKG2D配体、NY-ESO-1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX、存活蛋白、TAG72、TEM、VEGFR2以及WT-1。

[0075] 在另外的实施例中，融合多肽包括SEQ ID NO:26到35中任一个所述的氨基酸序列。

[0076] 在各个实施例中，提供了一种对本文所设想的融合多肽进行编码的多核苷酸。

[0077] 在另外的实施例中，提供了一种包括本文所设想的多核苷酸或融合多核苷酸的载体。

[0078] 在特定实施例中，提供了一种包括本文所设想的融合多肽、多核苷酸或载体的细胞。

[0079] 在另外的实施例中，所述细胞是造血细胞。

[0080] 在某些实施例中，所述细胞是T细胞。

[0081] 在各个实施例中，所述细胞是CD3+、CD4+和/或CD8+细胞。

[0082] 在一些实施例中，所述细胞是免疫效应细胞。

[0083] 在另外的实施例中，所述细胞是细胞毒性T淋巴细胞 (CTL)、肿瘤浸润淋巴细胞 (TIL) 或辅助T细胞。

[0084] 在另外的实施例中，所述细胞是自然杀伤 (NK) 细胞或自然杀伤T (NKT) 细胞。

[0085] 在特定实施例中，所述细胞的来源是外周血单核细胞、骨髓、淋巴结组织、脐带血、胸腺组织、来自感染部位的组织、腹水、胸腔积液、脾组织或肿瘤。

[0086] 在一些实施例中，包括本文所设想的融合多肽的细胞进一步包括工程化抗原受体。

[0087] 在各个实施例中，所述工程化抗原受体选自以下组成的组：工程化T细胞受体 (TCR)、嵌合抗原受体 (CAR)、DARIC受体或其组分、以及嵌合细胞因子受体。

[0088] 在另外的实施例中，提供了一种包括本文所设想的融合多肽、多核苷酸、载体或细胞的组合物。

[0089] 在特定实施例中，提供了一种包括药学上可接受的载剂以及本文所设想的融合多肽、多核苷酸、载体或细胞的药物组合物。

[0090] 在某些实施例中，一种治疗有需要的受试者的方法包括向受试者施用有效量的本文所设想的组合物或药物组合物。

[0091] 在一些实施例中，一种治疗、预防癌症、传染病、自身免疫性疾病、炎性疾病和免疫缺陷或与其相关的病状或改善其的至少一种症状的方法包括向受试者施用有效量的本文所设想的组合物或药物组合物。

[0092] 在另外的实施例中，一种治疗实体癌的方法包括向受试者施用有效量的本文所设想的组合物或药物组合物。

[0093] 在各个实施例中,所述实体癌包括肝癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、膀胱癌、脑癌、肉瘤、头颈癌、骨癌、甲状腺癌、肾癌或皮肤癌。

[0094] 在特定实施例中,所述实体癌是胰腺癌、肺癌或乳腺癌。

[0095] 在某些实施例中,提供了一种治疗血液恶性肿瘤的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的本文所设想的组合物或药物组合物。

[0096] 在各个实施例中,所述血液恶性肿瘤是白血病、淋巴瘤或多发性骨髓瘤。

附图说明

[0097] 图1示出了对以下进行编码的多肽的草图:嵌合抗原受体(CAR)和TGFβ显性阴性受体(CAR.DNR);CAR和TGFβR2亚单元(R2);CAR和CTBR12信号转换器(CAR.CTBR12);以及CAR和CTBR7信号转换器(CAR.CTBR7)。

[0098] 图2示出了在用抗ROR1 CAR单独地以及与TGFβDNR、TGFβR2亚单元和CTBR12信号转换器组合地转导的原代人T细胞中的CAR和TGFβR2亚单元表达。

[0099] 图3示出了在用抗ROR1 CAR单独地以及与TGFβDNR、TGFβR2亚单元和CTBR12信号转换器组合地转导并且与未经过治疗的细胞相比用TGFβ1治疗的原代人T细胞中的磷酸-SMAD2/3表达。

[0100] 图4示出了在用抗ROR1 CAR单独地以及与TGFβDNR、TGFβR2亚单元和CTBR12信号转换器组合地转导并且用IL-12(顶行)或TGFβ1(底行)治疗的原代人T细胞中的磷酸-STAT4表达。

[0101] 图5示出了在用抗ROR1 CAR和CTBR12信号转换器转导并且用IL-12(左图)或TGFβ1(右图)治疗的原代人T细胞中的磷酸-STAT4和磷酸-STAT5表达。

[0102] 图6示出了用抗ROR1 CAR与存在或不存在TGFβ1的情况下用ROR1表达靶细胞连续再刺激21天的CTBR12信号转换器组合地转导的原代人T细胞的基因表达分析。

[0103] 图7示出了用抗ROR1 CAR单独地以及与TGFβDNR或CTBR12信号转换器组合地转导并且在存在或不存在TGFβ1的情况下在涂覆有CD3或ROR1的板上培养的原代人T细胞的IFNγ分泌。

[0104] 图8示出了用抗ROR1 CAR单独地以及在与存在或不存在TGFβ1的情况下用ROR1表达靶细胞连续再刺激的TGFβDNR或CTBR12信号转换器组合地转导的原代人T细胞的生长曲线。

[0105] 图9示出了在用抗ROR1 CAR单独地以及与TGFβDNR和CTBR7信号转换器组合地转导的原代人T细胞中的CAR和TGFβR2亚单元表达。

[0106] 图10示出了在用抗ROR1 CAR单独地以及与TGFβDNR和CTBR7信号转换器组合地转导并且用TGFβ1治疗的原代人T细胞中的磷酸-SMAD2/3表达。

[0107] 图11示出了在用抗ROR1 CAR单独地以及与TGFβDNR和CTBR7信号转换器组合地转导并且用TGFβ1治疗的原代人T细胞中的磷酸-STAT5表达。

[0108] 图12示出了在用抗ROR1 CAR单独地以及与TGFβDNR和CTBR7信号转换器组合地转导并且用TGFβ1治疗的原代人T细胞中的BCL2表达。

[0109] 图13示出了在存在或不存在TGFβ1的情况下用抗ROR1 CAR单独地以及与TGFβDNR或CTBR7信号转换器组合地转导的原代人T细胞的生长曲线。

[0110] 图14示出了用抗ROR1 CAR单独地以及与在存在或不存在TGFβ1的情况下用ROR1表达靶细胞连续再刺激的TGFβDNR或CTBR7信号转换器组合地转导的原代人T细胞的生长曲线。

[0111] 图15示出了在用抗EGFR CAR单独地以及用TGFβDNR、CTBR12信号转换器和CTBR7信号转换器(上图)组合地转导的原代人T细胞中的CAR和TGFβR2亚单元表达。图15还示出了在用抗EGFR CAR单独地以及用TGFβDNR、CTBR12信号转换器和CTBR7信号转换器组合地转导并且与未经过治疗的细胞相比用TGFβ1(下图)治疗的原代人T细胞中的磷酸-SMAD2/3表达。

[0112] 图16示出了在用抗EGFR CAR单独地以及用TGFβDNR和CTBR12信号转换器组合地转导并且用IL-12或TGFβ1治疗的原代人T细胞中的磷酸-STAT4表达。

[0113] 图17示出了在用抗EGFR CAR单独地以及用TGFβDNR和CTBR7信号转换器组合地转导并且用IL-7或TGFβ1治疗的原代人T细胞中的磷酸-STAT5表达。

[0114] 图18示出了用抗EGFR CAR单独地以及用TGFβDNR或CTBR12信号转换器组合地转导并且在存在或不存在TGFβ1的情况下用EGFR(-)或EGFR(+)细胞系培养的原代人T细胞的IFN γ 分泌。

[0115] 图19示出了用抗EGFR CAR单独地以及用在存在或不存在TGFβ1的情况下用EGFR表达靶细胞连续再刺激的TGFβDNR、CTBR12信号转换器或CTBR7信号转换器组合地转导的原代人T细胞的生长曲线。

[0116] 图20示出了对以下进行编码的多肽的草图:识别NY-ES01(A2)的T细胞受体(TCR)、NY-ES01 TCR和TGFβ显性阴性受体(NY-ES01.DNR);NY-ES01 TCR和CTBR7信号转换器(NY-ES01.CTBR7);以及NY-ES01 TCR和CTBR12信号转换器(NY-ES01.CTBR12)。

[0117] 图21示出了在用NY-ES01 TCR、NY-ES01.DNR、NY-ES01.CTBR7和NY-ES01.CTBR12转导并且与未经过治疗的细胞相比用TGFβ1治疗的原代人T细胞中的磷酸-SMAD2/3表达。

[0118] 图22示出了在用NY-ES01.CTBR7转导并且用IL-7或TGFβ1(上图)治疗的原代人T细胞中的磷酸-STAT5表达。图22还示出了在用NY-ES01.CTBR12转导并且用IL-12或TGFβ1(下图)治疗的原代人T细胞中的磷酸-STAT4表达。

[0119] 图23示出了用在存在或不存在TGFβ1的情况下用A2(+).NY-ES01(+)细胞系培养的NY-ES01 TCR、NY-ES01.DNR、NY-ES01.CTBR7和NY-ES01.CTBR12转导的原代人T细胞的IFN γ 分泌。

[0120] 序列标识符简要说明

[0121] SEQ ID NO:1阐述了人TGFβR1的多肽序列。

[0122] SEQ ID NO:2阐述了人TGFβR2的多肽序列。

[0123] SEQ ID NO:3阐述了人IL-12Rβ1(CD212)的多肽序列。

[0124] SEQ ID NO:4阐述了人IL-12Rβ2的多肽序列。

[0125] SEQ ID NO:5阐述了人IL-7Rα(CD127)的多肽序列。

[0126] SEQ ID NO:6阐述了人IL-2R γ (CD132)的多肽序列。

[0127] SEQ ID NO:7阐述了人IL-2Rβ(CD122)的多肽序列。

[0128] SEQ ID NO:8阐述了人IL-21R(CD360)的多肽序列。

[0129] SEQ ID NO:9阐述了人IL-18R1(CD218a)的多肽序列。

[0130] SEQ ID NO:10阐述了人IL-18RAP(CD218b)的多肽序列。

- [0131] SEQ ID NO:11阐述了人IL-1R1 (CD121a)的多肽序列。
- [0132] SEQ ID NO:12阐述了人IL-1RAP的多肽序列。
- [0133] SEQ ID NO:13阐述了人IFNAR1的多肽序列。
- [0134] SEQ ID NO:14阐述了人IFNAR2的多肽序列。
- [0135] SEQ ID NO:15阐述了人IL-1RL2的多肽序列。
- [0136] SEQ ID NO:16阐述了人TLR1 (CD281)的多肽序列。
- [0137] SEQ ID NO:17阐述了人TLR2 (CD282)的多肽序列。
- [0138] SEQ ID NO:18阐述了人TLR3 (CD283)的多肽序列。
- [0139] SEQ ID NO:19阐述了人TLR4 (CD284)的多肽序列。
- [0140] SEQ ID NO:20阐述了人TLR5 (CD285)的多肽序列。
- [0141] SEQ ID NO:21阐述了人TLR6 (CD286)的多肽序列。
- [0142] SEQ ID NO:22阐述了人TLR7 (CD287)的多肽序列。
- [0143] SEQ ID NO:23阐述了人TLR8 (CD288)的多肽序列。
- [0144] SEQ ID NO:24阐述了人TLR9 (CD289)的多肽序列。
- [0145] SEQ ID NO:25阐述了人TLR10 (CD290)的多肽序列。
- [0146] SEQ ID NO:26阐述了融合蛋白的多肽序列,所述融合蛋白包括人TGFβR1的细胞外结构域以及人IL-12Rβ1的跨膜结构域和细胞内结构域。
- [0147] SEQ ID NO:27阐述了融合蛋白的多肽序列,所述融合蛋白包括人TGFβR2的细胞外结构域以及人IL-12Rβ2的跨膜结构域和细胞内结构域。
- [0148] SEQ ID NO:28阐述了融合蛋白的多肽序列,所述融合蛋白包括人TGFβR2的细胞外结构域以及人IL-12Rβ2的跨膜结构域和细胞内结构域、多肽切割序列、以及人TGFβR1的细胞外结构域以及人IL-12Rβ1的跨膜结构域和细胞内结构域。
- [0149] SEQ ID NO:29阐述了融合蛋白的多肽序列,所述融合蛋白包括嵌合抗原受体、多肽切割序列、人TGFβR2的细胞外结构域以及人IL-12Rβ2的跨膜结构域和细胞内结构域、多肽切割序列、以及人TGFβR1的细胞外结构域以及人IL-12Rβ1的跨膜结构域和细胞内结构域。
- [0150] SEQ ID NO:30阐述了融合蛋白的多肽序列,所述融合蛋白包括嵌合抗原受体、多肽切割序列、人TGFβR2的细胞外结构域以及人IL-12Rβ2的跨膜结构域和细胞内结构域、多肽切割序列、以及人TGFβR1的细胞外结构域以及人IL-12Rβ1的跨膜结构域和细胞内结构域。X表示任何scFv序列。
- [0151] SEQ ID NO:31阐述了融合蛋白的多肽序列,所述融合蛋白包括人TGFβR1的细胞外结构域以及人IL-2Rγ的跨膜结构域和细胞内结构域。
- [0152] SEQ ID NO:32阐述了融合蛋白的多肽序列,所述融合蛋白包括人TGFβR2的细胞外结构域以及人IL-7Rα的跨膜结构域和细胞内结构域。
- [0153] SEQ ID NO:33阐述了融合蛋白的多肽序列,所述融合蛋白包括人TGFβR2的细胞外结构域以及人IL-7Rα的跨膜结构域和细胞内结构域、多肽切割序列、以及人TGFβR1的细胞外结构域以及人IL-2Rγ的跨膜结构域和细胞内结构域。
- [0154] SEQ ID NO:34阐述了融合蛋白的多肽序列,所述融合蛋白包括嵌合抗原受体、多肽切割序列、人TGFβR2的细胞外结构域以及人IL-7Rα的跨膜结构域和细胞内结构域、多肽

切割序列、以及人TGF β R1的细胞外结构域以及人IL-2R γ 的跨膜结构域和细胞内结构域。

[0155] SEQ ID NO:35阐述了融合蛋白的多肽序列,所述融合蛋白包括嵌合抗原受体、多肽切割序列、人TGF β R2的细胞外结构域以及人IL-7R α 的跨膜结构域和细胞内结构域、多肽切割序列、以及人TGF β R1的细胞外结构域以及人IL-2R γ 的跨膜结构域和细胞内结构域。

[0156] SEQ ID NO:36到46阐述了各个连接子的氨基酸序列。

[0157] SEQ ID NO:47到71阐述了蛋白酶切割位点和自切割多肽切割位点的氨基酸序列。

具体实施方式

[0158] A. 概述

[0159] 嵌合抗原受体表达T细胞(CAR T细胞)已经在血液恶性肿瘤中证实了显著的抗肿瘤活性。然而,实体瘤适应症中的活性由于免疫抑制实体瘤微环境(TME)而部分地受限。通过肿瘤细胞和肿瘤浸润淋巴细胞过量产生的免疫抑制细胞因子,包含TGF β ,有助于免疫抑制肿瘤微环境。TGF β 通过多种机制抑制T细胞功能。TGF β 经常与肿瘤转移和侵袭、抑制免疫细胞的功能以及癌症患者的预后不良相关。在肿瘤特异性CTL中通过TGF β R2进行的TGF β 信号传导抑制了其在肿瘤中的功能和频率,并且用单克隆抗体阻断CD8⁺T细胞上的TGF β 信号传导导致肿瘤监测更快并且肿瘤部位存在更多CTL。迄今为止,临床环境中用于抑制TGF β 的策略尚未产生显著的治疗益处。

[0160] 本公开总体上涉及将免疫抑制TGF β 信号转换为免疫刺激信号的多肽和表达多肽的细胞。在不希望受任何特定理论束缚的情况下,本文所设想的多肽是TGF β 信号转换器,所述TGF β 信号转换器包括TGF β R1和TGF β R2的TGF β 结合结构域,所述TGF β 信号转换器在与免疫刺激内结构域连接并且在免疫效应细胞中共表达时可以将TGF β 暴露从免疫抑制信号转换为刺激免疫效应细胞活性和功能的免疫刺激信号。TGF β 信号转换器多肽在免疫效应细胞中的共表达使细胞对TGF β 的免疫抑制作用具有抗性,例如通过恢复或增加促炎细胞因子分泌。在特定的优选实施例中,TGF β 信号转换器多肽被称为嵌合TGF β 受体或CTBR。

[0161] 在各个实施例中,本公开部分地设想了将免疫抑制TGF β 信号转换为通过或由一种或多种免疫受体的一个或多个细胞内结构域介导的免疫刺激信号的多肽。

[0162] 在各个实施例中,本公开部分地设想了将免疫抑制TGF β 信号转换为通过或由一种或多种细胞因子受体的一个或多个细胞内结构域介导的免疫刺激信号的多肽。

[0163] 在各个实施例中,本公开部分地设想了将免疫抑制TGF β 信号转换为通过或由一种或多种白细胞介素受体的一个或多个细胞内结构域介导的免疫刺激信号的多肽。

[0164] 在各个实施例中,本公开部分地设想了将免疫抑制TGF β 信号转换为通过或由一种或多种模式识别受体的一个或多个细胞内结构域介导的免疫刺激信号的多肽。

[0165] 在各个实施例中,本公开部分地设想了将免疫抑制TGF β 信号转换为通过或由一种或多种tol1样受体的一个或多个细胞内结构域介导的免疫刺激信号的多肽。

[0166] 在特定实施例中,本公开部分地设想了:包括结合TGF β 的TGF β R1细胞外结构域、跨膜结构域和一个或多个免疫受体的一个或多个细胞内结构域的多肽;以及包括结合TGF β 的TGF β R2细胞外结构域、跨膜结构域和一个或多个免疫受体的一个或多个细胞内结构域的多肽。在一个实施例中,多肽通过多肽切割信号例如2A多肽切割信号与彼此连接。

[0167] 在特定实施例中,本公开部分地设想了免疫效应细胞例如CAR T细胞,所述免疫效

应细胞表达:包括结合TGF β 的TGF β R1细胞外结构域、跨膜结构域和一个或多个免疫受体的一个或多个细胞内结构域的多肽;以及包括结合TGF β 的TGF β R2细胞外结构域、跨膜结构域和一个或多个免疫受体的一个或多个细胞内结构域的多肽。

[0168] 在特定实施例中,跨膜结构域和细胞内信号传导结构域从IL-12受体、IL-7受体、IL-15受体、IL-21受体、IL-2受体、IL-1受体、IL-18受体、IL-36受体、I型IFN受体、TLR1受体、TLR2受体、TLR3受体、TLR4受体、TLR5受体、TLR6受体、TLR7受体、TLR8受体、TLR9受体或TLR10受体中分离。

[0169] 在特定实施例中,跨膜结构域和细胞内信号传导结构域从IL-12R β 2、IL-7R α 、IL-2R γ 、IL-2R β 、IL-21R、IL-18R1、IL-18RAP、IL-1R1、IL-1RAP、IFNAR1、IFNAR2、IL-1RL2、TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9或TLR10中分离。

[0170] 除非特别相反地指出,否则特定实施例的实践将采用本领域技术范围内的化学、生物化学、有机化学、分子生物学、微生物学、重组DNA技术、遗传学、免疫学和细胞生物学的常规方法,出于说明的目的,下面描述了所述方法中的许多方法。这种技术在文献中有充分说明。参见例如Sambrook等人,《分子克隆:实验手册(Molecular Cloning:A Laboratory Manual)》(第3版,2001);Sambrook等人,《分子克隆:实验手册》(第2版,1989);Maniatis等人,《分子克隆:实验手册》(1982);Ausubel等人,《当代分子生物学实验手册(Current Protocols in Molecular Biology)》(约翰威利父子公司(Wiley and Sons),2008年7月更新);《精编分子生物学实验指南:当代分子生物学实验手册方法概要(Short Protocols in Molecular Biology:A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology)》,格林出版协会和威利跨学科出版社(Greene Pub.Associates and Wiley-Interscience);Glover,《DNA克隆:实用方法(DNA Cloning:A Practical Approach)》,第I卷和第II卷(IRL出版社(IRL Press),牛津,1985);Anand,《复杂基因组分析技术(Techniques for the Analysis of Complex Genomes)》,(学术出版社(Academic Press),纽约,1992);《转录和转译(Transcription and Translation)》(B.Hames和S.Higgins编,1984);Perbal,《分子克隆实用指南(A Practical Guide to Molecular Cloning)》(1984);Harlow和Lane,《抗体(Antibodies)》(冷泉港实验室出版社(Cold Spring Harbor Laboratory Press),冷泉港,纽约,1998);《当代免疫学指南(Current Protocols in Immunology)》,Q.E.Coligan、A.M.Kruisbeek、D.H.Margulies、E.M.Shevach和W.Strober编,1991;《免疫学年度评论(Annual Review of Immunology)》;以及如《免疫学进展(Advances in Immunology)》等期刊上的专著。

[0171] B. 定义

[0172] 除非另外定义,否则本文所使用的所有技术术语和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的含义相同的含义。尽管类似于或等效于本文所描述的方法和材料的任何方法和材料可以用于实践或测试特定实施例,但是本文描述了组合物、方法和材料的优选实施例。出于本公开的目的,下文中定义了以下术语

[0173] 冠词“一个/种(a/an)”和“所述(the)”在本文中用于指代冠词的一个/种或多于一个/种(即,至少一个/种或者一个/种或多个/种)的语法宾语。举例来说,“元件”意指一个元件或一个或多个元件。

[0174] 替代方案(例如,“或”)的使用应被理解为意指替代方案中的一个、两个或其任何

组合。

[0175] 术语“和/或”应被理解为意指替代方案中的一个或两个。

[0176] 如本文所使用的,术语“约(about/approximately)”指代与参考数量、水平、值、数目、频率、百分比、尺寸、大小、量、重量或长度相比,变化幅度高达15%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%的数量、水平、值、数目、频率、百分比、尺寸、大小、量、重量或长度。在一个实施例中,术语“约”指代是参考数量、水平、值、数目、频率、百分比、尺寸、大小、量、重量或长度的±15%、±10%、±9%、±8%、±7%、±6%、±5%、±4%、±3%、±2%或±1%的范围的数量、水平、值、数目、频率、百分比、尺寸、大小、量、重量或长度。

[0177] 贯穿本说明书,除非上下文另有要求,否则词语“包括(comprise/comprises/comprising)”应被理解为暗示包含所陈述的步骤或要素或者步骤或要素组,但不排除任何其它步骤或要素或者步骤或要素组。“由……组成”意指包含并且限于短语“由……组成”之后的内容。因此,短语“由……组成”指示所列要素是必需的或强制性的并且可以不存在其它要素。“基本上由……组成”意指包含在在所述短语之后列出的任何要素并且限于不干扰或促进本公开中针对所列要素指定的活性或作用的其它要素。因此,短语“基本上由……组成”指示所列要素是必需的或强制性的,但不存在实质上影响所列要素的活性或作用的其它要素。

[0178] 贯穿本说明书中对“一个实施例(one embodiment)”、“实施例(an embodiment)”、“特定实施例(a particular embodiment)”、“相关实施例(a related embodiment)”、“某个实施例(a certain embodiment)”、“另一个实施例(an additional embodiment)”或“另外的实施例(a further embodiment)”或其组合的引用意味着结合所述实施例描述的特定特征、结构或特性包含在至少一个实施例中。因此,上述短语在贯穿本说明书的各个地方的出现不一定全部指代同一个实施例。此外,在一个或多个实施例中,可以通过任何适合的方式组合特定特征、结构或特性。还应理解,一个实施例中的特征的肯定陈述用作排除特定实施例中的特征的基础。

[0179] “抗原(Ag)”指代可以在动物中刺激抗体产生或T细胞应答的化合物、组合物或物质,包含注射或吸收到动物内的组合物(如包含癌症特异性蛋白的组合物)。示例性抗原包含但不限于脂质、碳水化合物、多糖、糖蛋白、肽或核酸。抗原与具有特定体液或细胞免疫的产物反应,包含由如公开的抗原等异源抗原诱导的产物。

[0180] “靶抗原”或“所关注的靶抗原”是本文所设想的结合结构域被设计成与其结合的抗原。在特定实施例中,靶抗原选自由以下组成的组:α叶酸受体、5T4、αvβ6整联蛋白、BCMA、B7-H3、B7-H6、CAIX、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD37、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD138、CD171、CEA、CSPG4、EGFR、包含ErbB2(HER2)的EGFR家族、EGFRvIII、EGP2、EGP40、EPCAM、EphA2、EpCAM、FAP、胎儿AChR、FRα、GD2、GD3、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC3)、HLA-A1+MAGE1、HLA-A2+MAGE1、HLA-A3+MAGE1、HLA-A1+NY-ESO-1、HLA-A2+NY-ESO-1、HLA-A3+NY-ESO-1、IL-11Rα、IL-13Rα2、λ、Lewis-Y、κ、间皮素、Muc1、Muc16、NCAM、NKG2D配体、NY-ESO-1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX、存活蛋白、TAG72、TEM、VEGFR2以及WT-1。

[0181] 在一个实施例中,抗原是MHC-肽复合物,如I类MHC-肽复合物或II类MHC-肽复合物。

[0182] 如本文所使用的,术语“结合结构域”、“细胞外结构域”、“抗原结合结构域”、“细胞外结合结构域”、“细胞外抗原结合结构域”、“抗原特异性结合结构域”和“细胞外抗原特异性结合结构域”可互换使用并且为多肽提供与所关注的靶抗原特异性地结合的能力。结合结构域可以衍生自天然的、合成的、半合成的或重组的来源。结合结构域的说明性实例包含但不限于抗体和其抗原结合片段、FN3结构域以及DARPin。

[0183] 如本文所使用的,术语“特异性结合亲和力”或“特异性地结合”或“特异性地结合的”或“特异性结合”或“特异性靶向”描述了抗体或其抗原结合片段以比本底结合更大的结合亲和力与靶抗原结合。如果结合结构域以例如大于或等于约 10^5M^{-1} 的亲和力或 K_a (即,特定结合相互作用的以 $1/\text{M}$ 为单位的平衡缔合常数)与靶标结合或缔合,则所述结合结构域与靶抗原“特异性地结合”。在某些实施例中,结合结构域(或其融合蛋白)以大于或等于约 10^6M^{-1} 、 10^7M^{-1} 、 10^8M^{-1} 、 10^9M^{-1} 、 10^{10}M^{-1} 、 10^{11}M^{-1} 、 10^{12}M^{-1} 或 10^{13}M^{-1} 的 K_a 与靶标结合。“高亲和力”结合结构域(或其单链融合蛋白)指代 K_a 为至少 10^7M^{-1} 、至少 10^8M^{-1} 、至少 10^9M^{-1} 、至少 10^{10}M^{-1} 、至少 10^{11}M^{-1} 、至少 10^{12}M^{-1} 、至少 10^{13}M^{-1} 或更大的那些结合结构域。

[0184] 可替代地,亲和力可以被定义为特定结合相互作用的以 M 为单位的平衡解离常数(K_d)(例如, 10^{-5}M 到 10^{-13}M 或更小)。结合结构域多肽的亲和力可以使用常规技术容易地确定,例如通过竞争性ELISA(酶联免疫吸附测定)、或通过结合缔合、或使用经过标记的配体的置换测定、或使用如可从新泽西州皮斯卡塔韦Biacore公司(Biacore, Inc., Piscataway, NJ)获得的Biacore T100等表面等离子体共振装置、或如分别可从康宁(Corning)和珀金埃尔默(Perkin Elmer)获得的EPIC系统或EnSpire等光学生物传感器技术(还参见例如Scatchard等人,(1949)《纽约科学院年鉴(Ann.N.Y.Acad.Sci.)》51:660;和美国专利号5,283,173、5,468,614或等同物)。

[0185] 在一个实施例中,特异性结合亲和力比本底结合大约2倍、比本底结合大约5倍、比本底结合大约10倍、比本底结合大约20倍、比本底结合大约50倍、比本底结合大约100倍或比本底结合大约1000倍或更多倍。

[0186] “抗体”指代属于包括至少轻链或重链免疫球蛋白可变区的多肽的结合剂,所述轻链或重链免疫球蛋白可变区特异性地识别并结合靶标的表位,如脂质、碳水化合物、多糖、糖蛋白、肽或含有抗原决定簇的核酸,如通过免疫细胞识别的那些。

[0187] “表位”或“抗原决定簇”指代结合剂结合的抗原的区。

[0188] 抗体包含其抗原结合片段,如Camel Ig、Ig NAR、Fab片段、Fab'片段、F(ab)'2片段、F(ab)'3片段、Fv、单链Fv蛋白(“scFv”)、双-scFv、(scFv)₂、迷你抗体、双抗体、三抗体、四抗体、二硫化物稳定化Fv蛋白(“dsFv”)和单结构域抗体(sdAb、纳米抗体)以及全长抗体的负责抗原结合的部分。所述术语还包含基因工程化形式,如嵌合抗体(例如,人源化鼠类抗体)、异源缀合抗体(如双特异性抗体)及其抗原结合片段。还参见《皮尔斯目录和手册(Pierce Catalog and Handbook)》,1994-1995(伊利诺伊州罗克福德市皮尔斯化学公司(Pierce Chemical Co., Rockford, IL));Kuby,《免疫学期刊(J., Immunology)》,第3版,W.H.弗里曼公司(W.H.Freeman&Co.),纽约,1997。

[0189] 如本领域技术人员所理解的并且如本文中其它地方所描述的,完全抗体包括两条重链和两条轻链。每条重链由可变区以及第一、第二和第三恒定区组成,而每条轻链由可变区和恒定区组成。哺乳动物重链被分类为 α δ ϵ γ 和 μ 。哺乳动物轻链被分类为 λ 或 κ 。包括 α

δ ϵ γ 和 μ 重链的免疫球蛋白被分类为免疫球蛋白 (Ig) A、IgD、IgE、IgG 和 IgM。完全抗体形成“Y”形状。Y 的主干 (stem) 由结合在一起的两条重链的第二恒定区和第三恒定区 (和对于 IgE 和 IgM, 第四恒定区) 组成, 并且 (链间) 二硫键在铰链中形成。重链 γ 、 α 和 δ 具有由三个串联的 (在一条线上) Ig 结构域构成的恒定区和用于增加柔性的铰链区; 重链 μ 和 ϵ 具有由四个免疫球蛋白结构域构成的恒定区。第二恒定区和第三恒定区分别被称为“CH2 结构域”和“CH3 结构域”。Y 的每个臂包含单条重链的与单个轻链的可变区和恒定区结合的可变区和第一恒定区。轻链和重链的可变区负责抗原结合。

[0190] 轻链和重链可变区包含被三个高变区中断的“框架”区, 也被称为“互补决定区”或“CDR”。CDR 可以通过常规方法定义或鉴别, 如根据 Kabat 等人通过序列 (Wu, TT 和 Kabat, E.A., 《实验医学期刊 (J Exp Med)》132(2):211-50, (1970); Borden, P. 和 Kabat E.A., 《美国国家科学院院刊 (PNAS)》, 84:2440-2443 (1987)) (参见 Kabat 等人, 《免疫学关注的蛋白序列 (Sequences of Proteins of Immunological Interest)》, 美国卫生与公共事业部 (U.S. Department of Health and Human Services), 1991, 其以引用的方式结合在此) 或根据 Chothia 等人通过结构 (Chothia, C. 和 Lesk, A.M., 《分子生物学期刊 (J Mol Biol)》, 196(4):901-917 (1987); Chothia, C. 等人, 《自然 (Nature)》, 342:877-883 (1989))。

[0191] 用于预测轻链 CDR 的规则说明性实例包含: CDR-L1 在约第 24 个残基处开始, 在 Cys 之后, 是约 10-17 个残基并且随后是 Trp (通常是 Trp-Tyr-Gln, 还可以是 Trp-Leu-Gln、Trp-Phe-Gln、Trp-Tyr-Leu); CDR-L2 在 CDR-L1 结束后约 16 个残基处开始, 通常在 Ile-Tyr 还有 Val-Tyr、Ile-Lys、Ile-Phe 之后并且是 7 个残基; 并且 CDR-L3 在 CDR-L2 结束后约 33 个残基处开始, 在 Cys 之后, 是 7-11 个残基并且随后是 Phe-Gly-XXX-Gly (XXX 是任何氨基酸) [SEQ ID NO:73]。

[0192] 用于预测重链 CDR 的规则说明性实例包含: CDR-H1 在约第 26 个残基处开始, 在 Cys-XXX-XXX-XXX (SEQ ID NO:74) 之后, 是 10-12 个残基并且随后是 Trp (通常是 Trp-Val, 也可以说 Trp-Ile、Trp-Ala); CDR-H2 在 CDR-H1 结束后约 15 个残基处开始, 通常在 Leu-Glu-Trp-Ile-Gly (SEQ ID NO:75) 或多个变型之后, 是 16-19 个残基并且随后是 Lys/Arg-Leu/Ile/Val/Phe/Thr/Ala-Thr/Ser/Ile/Ala; 并且 CDR-H3 在 CDR-H2 结束后约 33 个残基处开始, 在 Cys-XXX-XXX (通常是 Cys-Ala-Arg) 之后, 是 3 到 25 个残基并且随后是 Trp-Gly-XXX-Gly (SEQ ID NO:76)。

[0193] 在一个实施例中, 轻链 CDR 和重链 CDR 根据 Kabat 法确定。

[0194] 在一个实施例中, 轻链 CDR 以及重链 CDR2 和 CDR3 根据 Kabat 法确定, 并且重链 CDR1 根据 AbM 法确定, 所述 AbM 法是 Kabat 法与 Chothia 方法之间的折中方案, 参见例如 Whitelegg N. 和 Rees AR, 《蛋白质工程 (Protein Eng)》2000 年 12 月, 13(12):819-24 以及《分子生物学方法 (Methods Mol Biol.)》2004, 248:51-91。用于预测 CDR 的程序是公开可获得的, 例如, AbYsis (www.bioinf.org.uk/abysis/)。

[0195] 不同轻链或重链的框架区的序列在物种如人内是相对保守的。抗体的属于构成性轻链和重链的组合框架区的框架区用于在三维空间中定位和排列 CDR。CDR 主要负责与抗原的表位结合。每条链的 CDR 通常被称为从 N 末端开始顺序地编号的 CDR1、CDR2 和 CDR3 并且通常还通过特定 CDR 所在的链来鉴别。因此, 位于抗体的重链的可变结构域中的 CDR 被称为 CDRH1、CDRH2 和 CDRH3, 而位于抗体的轻链的可变结构域中的 CDR 被称为 CDRL1、CDRL2 和

CDRL3。具有不同特异性的抗体(即,针对不同抗原具有不同组合位点)具有不同的CDR。尽管正是CDR因抗体的不同而有所不同,但是CDR内仅有限数量的氨基酸位置直接参与抗原结合。CDR内的这些位置被称为特异性决定残基(SDR)。

[0196] 如本文所公开的,提及“VL”或“VL”指代免疫球蛋白轻链的可变区,包含抗体、Fv、scFv、dsFv、Fab或其它抗体片段的可变区。

[0197] 如本文所公开的,提及“VH”或“VH”指代免疫球蛋白重链的可变区,包含抗体、Fv、scFv、dsFv、Fab或其它抗体片段的可变区。

[0198] “单克隆抗体”是通过B淋巴细胞的单个克隆或通过单个抗体的轻链和重链基因已经转染到的细胞产生的抗体。单克隆抗体通过本领域技术人员已知的方法产生,例如通过根据骨髓瘤细胞与免疫脾细胞的融合制造杂合抗体形成细胞。单克隆抗体包含人源化单克隆抗体。

[0199] “嵌合抗体”具有来自一个物种如人的框架残基和来自另一个物种如小鼠的CDR(所述CDR通常赋予了抗原结合)。在特定的优选实施例中,抗原特异性结合结构域是嵌合抗体或其抗原结合片段。

[0200] 在特定实施例中,抗体是与靶抗原的特异性地结合的人抗体(如人单克隆抗体)或其抗原结合片段。如上所述,人抗体可以通过将选自人衍生的噬菌体展示文库的一个或多个Fv克隆可变结构域序列与一个或多个已知的人恒定结构域序列组合来构建。可替代地,人单克隆抗体可以通过杂交瘤法制成。用于产生人单克隆抗体的人骨髓瘤和小鼠-人异源骨髓瘤细胞系已经例如通过以下进行了描述:Kozbor,《免疫学期刊》,133:3001(1984); Brodeur等人,《单克隆抗体生产技术与应用(Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications)》,第51-63页(马塞尔·德克尔公司(Marcel Dekker, Inc),纽约,1987);以及Boerner等人,《免疫学期刊》,147:86(1991)。另外,转基因动物(例如,小鼠)可以用于在不存在内源免疫球蛋白产生的情况下产生完套人抗体库。参见例如Jakobovits等人,《美国国家科学院院刊(PNAS USA)》,90:2551(1993);Jakobovits等人,《自然》,362:255(1993);Bruggermann等人,《免疫学年度(Year in Immunol.)》,7:33(1993)。基因改组也可以用于从非人例如啮齿动物抗体获得人抗体,其中所述人抗体具有与起始非人抗体类似的亲和力和特异性。参见1993年4月1日公开的PCT WO 93/06213。与通过CDR接枝使非人抗体常规人源化不同,这一技术提供了不具有非人源FR或CDR残基的完全人抗体。

[0201] “人源化”抗体是包含人框架区和来自非人(例如小鼠、大鼠或合成)免疫球蛋白的一个或多个CDR的免疫球蛋白。提供CDR的非人免疫球蛋白被称为“供体”,并且提供框架的人免疫球蛋白被称为“受体”。在一个实施例中,所有CDR均来自人源化免疫球蛋白中的供体免疫球蛋白。不需要存在恒定区,但如果存在,则恒定区必须与人免疫球蛋白恒定区基本上相同,即,至少约85-90%如约95%或更多相同。因此,除了可能的CDR之外,人源化免疫球蛋白的所有部分均与天然人免疫球蛋白序列的对应部分基本上相同。人源化或其它单克隆抗体可以具有另外的保守氨基酸取代,所述保守氨基酸取代对抗原结合或其它免疫球蛋白功能基本上没有影响。人源化抗体可以通过基因工程构建(参见例如美国专利号5,585,089)。

[0202] 如本文所使用的,“骆驼Ig”或“骆驼科动物VHH”指代重链抗体的最小已知抗原结合单位(Koch-Nolte等人,《FASEB期刊(FASEB J.)》,21:3490-3498(2007))。“重链抗体”或

“骆驼科动物抗体”指代包含两个VH结构域并且不含轻链的抗体(Riechmann L.等人,《免疫学方法期刊(J. Immunol. Methods)》231:25-38(1999);W094/04678;W094/25591;美国专利号6,005,079)。

[0203] “免疫球蛋白新抗原受体”的“IgNAR”指代来自鲨鱼免疫库的抗体类别,其由一个可变新抗原受体(VNAR)结构域和五个恒定新抗原受体(CNAR)结构域的同源二聚体组成。IgNAR表示已知的最小的基于免疫球蛋白的蛋白质支架中的一些并且高度稳定并且具有高效结合特性。固有的稳定性可以归因于以下两者:(i)基础Ig支架,所述基础Ig支架与鼠类抗体中发现的常规抗体VH和VL结构域相比呈现出相当数量的带电和亲水表面暴露残基;以及(ii)使互补决定区(CDR)环路中的结构特征稳定,所述结构特征包含环间二硫键和环内氢键模式。

[0204] 抗体的木瓜蛋白酶消化产生了两个相同的抗原结合片段,被称为“Fab”片段和残留的“Fc”片段,所述Fab片段各自具有单个抗原结合位点,所述Fc片段的名称反映了其易于结晶的能力。胃蛋白酶处理产生了具有两个抗原组合位点并且仍能够交联抗原的F(ab')₂片段。

[0205] “Fv”是包含完全抗原结合位点的最小抗体片段。在一个实施例中,双链Fv物种由呈紧密非共价缔合的一个重链可变结构域和一个轻链可变结构域的二聚体组成。在单链Fv(scFv)物种中,一个重链可变结构域和一个轻链可变结构域可以通过柔性肽连接器共价连接,从而使得轻链和重链可以缔合成与双链Fv物种中二聚体结构类似的“二聚体”结构。正是在这种构造中,每个可变结构域的三个高变区(HVR)相互作用以限定VH-VL二聚体的表面上的抗原结合位点。总之,这六个HVR赋予了抗体抗原结合特异性。然而,即使是单可变结构域(或仅包括对抗原具有特异性的三个HVR的Fv的一半)也具有识别和结合抗原的能力,尽管以比完整结合位点更低的亲和力进行。

[0206] Fab片段包含重链可变结构域和轻链可变结构域并且还包含轻链的恒定结构域和重链的第一恒定结构域(CH1)。Fab'片段与Fab片段的不同之处在于在包括来自抗体铰链区的一个或多个半胱氨酸的重链CH1结构域的羧基末端加入几个残基。Fab'-SH是本文中对Fab'的命名,其中恒定结构域的一个或多个半胱氨酸残基携带游离巯醇基。F(ab')₂抗体片段最初是作为其间具有铰链半胱氨酸的Fab'片段对产生的。抗体片段的其它化学偶联也是已知的。

[0207] 术语“双抗体”指代具有两个抗原结合位点的抗体片段,所述片段包括与同一条多肽链(VH-VL)中的轻链可变结构域(VL)连接的重链可变结构域(VH)。通过使用太短以至于不允许在同一条链上的两个结构域之间配对的连接器,这些结构域被迫与另一条链的互补结构域配对并且产生两个抗原结合位点。双抗体可以是二价的或双特异性的。双抗体更全面地描述于例如以下中:EP 404,097;WO 1993/01161;Hudson等人,《自然医学(Nat. Med.)》,9:129-134(2003);以及Hollinger等人,《美国国家科学院院刊》90:6444-6448(1993)。三抗体和四抗体还被描述于Hudson等人,《自然医学》,9:129-134(2003)中。

[0208] “单结构域抗体”或“sdAb”或“纳米抗体”指代由抗体重链的可变区(VH结构域)或抗体轻链的可变区(VL结构域)组成的抗体片段(Holt, L.等人,《生物技术趋势(Trends in Biotechnology)》,21(11):484-490)。

[0209] “单链Fv”或“scFv”抗体片段包括抗体的VH结构域和VL结构域,其中这些结构域存

在于单个多肽链中并且处于任何朝向(例如,VL-VH或VH-VL)。通常,scFv多肽进一步包括使scFv能够形成用于抗原结合的期望结构的在VH结构域与VL结构域之间的多肽连接子。关于scFv的综述,参见Pluckthün,《单克隆抗体药理学(The Pharmacology of Monoclonal Antibodies)》,第113卷,Rosenburg和Moore编,(施普林格出版社(Springer Verlag),纽约,1994),第269-315页。

[0210] 单链抗体可以克隆自针对期望靶标具有特异性的杂交瘤的V区基因。这种杂交瘤的产生已经变得常规。可以用于克隆可变区重链(VH)和可变区轻链(VL)的技术已经描述于例如Orlandi等人,《美国国家科学院院刊》,1989,86:3833-3837中。

[0211] “连接子”指代被加入用于分子的适当间隔和构象的在各个多肽结构域之间例如在V_H结构域与V_L结构域之间的多个氨基酸残基。在特定实施例中,连接子是可变区连接序列。“可变区连接序列”是氨基酸序列,所述氨基酸序列连接V_H结构域和V_L结构域并且提供与两个子结合结构域的相互作用兼容的间隔子功能,使得所得多肽对与包括相同轻链可变区和重链可变区的抗体相同的靶分子保留特异性结合亲和力。在特定实施例中,连接子将一个或多个重链可变结构域或轻链可变结构域、铰链结构域、多聚化结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和/或初级信号传导结构域分开。

[0212] 适于在本文所设想的特定实施例中使用的连接子的说明性实例包括但不限于以下氨基酸序列:GGG;DGGGS(SEQ ID NO:36);TGEKP(SEQ ID NO:37)(参见例如Liu等人,《美国国家科学院院刊》5525-5530(1997));GGRR(SEQ ID NO:38)(Pomerantz等人,1995,同上);(GGGS)_n,其中n=1、2、3、4或5(SEQ ID NO:39)(Kim等人,《美国国家科学院院刊》93,1156-1160(1996);EGKSSGSGSESKVD(SEQ ID NO:40)(Chaudhary等人,1990,《美国国家科学院院刊(Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.)》87:1066-1070);KESGSVSSEQLAQFRSLD(SEQ ID NO:41)(Bird等人,1988,《科学(Science)》242:423-426);GGRRGGGS(SEQ ID NO:42);LRQRDGERP(SEQ ID NO:43);LRQKDGGGSERP(SEQ ID NO:44);LRQKD(GGGS)₂ERP(SEQ ID NO:45)。可替代地,可以使用能够对DNA结合位点和肽本身两者进行建模的计算机程序(Desjarlais和Berg,《美国国家科学院院刊》90:2256-2260(1993),《美国国家科学院院刊》91:11099-11103(1994))或通过噬菌体展示方法合理地设计柔性连接子。在一个实施例中,连接子包括以下氨基酸序列:GSTSGSGKPGSGEGSTKG(SEQ ID NO:46)(Cooper等人,《血液(Blood)》,101(4):1637-1644(2003))。

[0213] “间隔子结构域”指代将两个结构域分开的多肽。在一个实施例中,间隔子结构域使抗原结合结构域移动远离效应细胞表面以实现适当的细胞/细胞接触、抗原结合和活化(Patel等人,《基因疗法(Gene Therapy)》,1999,6:412-419)。在特定实施例中,间隔子结构域将一个或多个重链可变结构域或轻链可变结构域、多聚化结构域、跨膜结构域、共刺激结构域和/或初级信号传导结构域分开。间隔子结构域可以源自天然的、合成的、半合成的或重组的来源。在某些实施例中,间隔子结构域是免疫球蛋白的一部分,包含但不限于一个或多个重链恒定区,例如CH2和CH3。间隔子结构域可以包含天然存在的免疫球蛋白铰链区或更改的免疫球蛋白铰链区的氨基酸序列。

[0214] “铰链结构域”指代在将抗原结合结构域定位成远离效应细胞表面以实现适当的细胞/细胞接触、抗原结合和活化中起作用的多肽。在特定实施例中,多肽可以包括在结合结构域与多聚化结构域之间、在结合结构域与跨膜结构域(TM)之间或在多聚化结构域与跨

膜结构域之间的一个或多个铰链结构域。铰链结构域可以衍生自天然的、合成的、半合成的或重组的来源。铰链结构域可以包含天然存在的免疫球蛋白铰链区或更改的免疫球蛋白铰链区的氨基酸序列。

[0215] “更改的铰链区”指代：(a)天然存在的铰链区，其具有高达30%的氨基酸变化(例如，高达25%、20%、15%、10%或5%的氨基酸取代或缺失)；(b)天然存在的铰链区的一部分，其长度为至少10个氨基酸(例如，至少12个、13个、14个或15个氨基酸)，所述天然存在的铰链区具有高达30%的氨基酸变化(例如，高达25%、20%、15%、10%或5%氨基酸取代或缺失)；或(c)天然存在的铰链区的一部分，其包括核心铰链区(所述核心铰链区的长度可以为4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14或15个或者至少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)。在某些实施例中，天然存在的免疫球蛋白铰链区中的一个或多个半胱氨酸残基可以被一个或多个其它氨基酸残基(例如，一个或多个丝氨酸残基)取代。更改的免疫球蛋白铰链区可以可替代地或另外具有野生型免疫球蛋白铰链区的被另一个氨基酸残基(例如，丝氨酸残基)取代的脯氨酸残基。

[0216] 如本文所使用的，“多聚化结构域”指代直接或经由桥连分子优先与另一个不同的多肽相互作用或缔合的多肽，其中不同多聚化结构域的相互作用基本上有助于或高效地促进了多聚化(即，二聚体、三聚体或多分复合物的形成，所述二聚体、所述三聚体或所述多分复合物可以是同源二聚体、异源二聚体、同源三聚体、异源三聚体、同源多聚体、异多聚体)。多聚化结构域可以衍生自天然的、合成的、半合成的或重组的来源。

[0217] 适于在本文所设想的特定实施例中使用的多聚化结构域的说明性实例包含FKBP多肽、FRB多肽、钙调磷酸酶多肽、亲环素多肽、细菌DHFR多肽、PYL1多肽、ABI1多肽、GIB1多肽、GAI多肽或其变体。

[0218] “桥接因子”指代与两个或更多个多聚化结构域缔合并被安置在两个或更多个多聚化结构域之间的分子。在特定实施例中，多聚化结构域仅在桥接因子存在的情况下基本上有助于或高效地促进多肽复合物的形成。在特定实施例中，多聚化结构域在不存在桥接因子的情况下不会有助于或不会高效地促进多肽复合物的形成。适于在本文所设想的特定实施例中使用的桥接因子的说明性实例包含但不限于雷帕霉素(西罗莫司)或其雷帕霉素类似物、库马霉素或其衍生物、赤霉素或其衍生物、脱落酸(ABA)或其衍生物、甲氨基嘌呤或其衍生物、环孢菌素A或其衍生物、FKCsA或其衍生物、甲氧苄啶(Tmp)-FKBP合成配体(SLF)或其衍生物、或其任何组合。

[0219] 雷帕霉素类似物(rapamycin analog/rapalog)包含但不限于美国专利号6,649,595中公开的那些，其中雷帕霉素类似物结构通过引用整体并入本文中。在某些实施例中，桥接因子是与雷帕霉素相比具有显著降低的免疫抑制作用的雷帕霉素类似物。在优选实施例中，雷帕霉素类似物是AP21967衍生物(也被称为C-16-(S)-7-甲基吡啶雷帕霉素， $IC_{50}=10nM$ ，经过化学修饰的非免疫抑制雷帕霉素类似物)。

[0220] “显著降低的免疫抑制作用”指代是针对在临床上或在人免疫抑制活性的适当的体外(例如，抑制T细胞增殖)或体内替代物中测量的同一剂量观察或预期的免疫抑制作用的至少小于0.1倍到0.005倍。

[0221] 如本文所使用的，“锚定结构域”指代促进可二聚化受体与细胞表面栓系、锚定或缔合的氨基酸序列或其它分子。示例性锚定结构域包含具有在细胞膜中稳定的结构的氨基

酸序列或促进加入糖脂(也被称为糖基磷脂酰肌醇或GPI)的氨基酸序列等。在某些实施例中,锚定结构域是疏水结构域(例如,跨膜结构域)或GPI信号序列。在一些实施例中,对本文所设想的多肽进行编码的核酸分子包括锚定结构域,任选地其中所述锚定结构域是GPI分子。

[0222] “跨膜结构域”或“TM结构域”是将多肽与细胞的质膜锚定的结构域。TM结构域可以衍生自天然的、合成的、半合成的或重组的来源。

[0223] “细胞内信号传导结构域”指代蛋白质的一部分,所述部分转导效应子功能信号并引导细胞执行专门功能。虽然通常可以采用整个细胞内信号传导结构域,但在许多情况下不必使用整个结构域。在使用细胞内信号传导结构域的截短部分的程度上,可以使用这种截短部分代替整个结构域,只要其转导效应子功能信号即可。术语细胞内信号传导结构域意指包含细胞内信号传导结构域的足以转导效应子功能信号的任何截短部分。

[0224] 术语“效应子功能”或“效应细胞功能”指代免疫效应细胞的专门功能。效应子功能包含但不限于活化、细胞因子产生、增殖和细胞毒活性,包含细胞毒性因子的释放,或通过与免疫效应细胞上表达的受体进行抗原结合引发的其它细胞应答。

[0225] 已知的是,单独通过TCR产生的信号不足以完全活化T细胞,并且还需要次级信号或共刺激信号。因此,可以说T细胞活化由两种不同类别的细胞内信号传导结构域介导:初级信号传导结构域,其通过TCR(例如,TCR/CD3复合物)来启动抗原依赖性初级活化;以及共刺激信号传导结构域,其以抗原非依赖性方式起作用以提供次级信号或共刺激信号。

[0226] “初级信号传导结构域”指代以刺激方式或以抑制方式调节TCR复合物的初级活化的信号传导结构域。以刺激方式起作用的初级信号传导结构域可以含有信号传导基序,所述信号传导基序被称为基于免疫受体酪氨酸的活化基序或ITAM。适于在特定实施例中使用的含ITAM初级信号传导结构域的说明性实例包含但不限于衍生自FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD22、CD79a、CD79b和CD66d的那些。

[0227] 如本文所使用的,术语“共刺激信号传导结构域”或“共刺激结构域”指代共刺激分子的细胞内信号传导结构域。共刺激分子是除抗原受体或Fc受体之外的细胞表面分子,所述细胞表面分子提供在与抗原结合后使T淋巴细胞有效活化和起作用所需的第二信号。可以从其中分离共刺激结构域的这种共刺激分子的说明性实例包含但不限于:TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、CARD11、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54(ICAM)、CD83、CD134(OX40)、CD137(4-1BB)、CD278(ICOS)、DAP10、LAT、NKD2C、SLP76、TRIM和ZAP70。

[0228] “免疫病症”指代引起免疫系统应答的疾病。在特定实施例中,术语“免疫病症”指代癌症、自身免疫疾病或免疫缺陷。在一个实施例中,免疫病症涵盖传染病。

[0229] 如本文所使用的,术语“癌症”通常涉及异常细胞在没有控制的情况下分裂并且可能侵入附近组织的一类疾病或病状。

[0230] 如本文所使用的,术语“恶性”指代一组肿瘤细胞显示出不受控制的生长(即,超出正常限度的分裂)、侵入(即,侵入和破坏相邻组织)和转移(即,经由淋巴或血液扩散到体内的其它位置)中的一种或多种的癌症。如本文所使用的,术语“转移”指代癌症从身体的一个部位扩散到另一个部位。由已经扩散的细胞形成的肿瘤被称为“转移性肿瘤”或“转移”。转移性肿瘤含有与原始(原发性)肿瘤中的细胞相似的细胞。

[0231] 如本文所使用的,术语“良性”或“非恶性”指代可以长得更大但不扩散到身体的其它部位的肿瘤。良性肿瘤是自限性的并且通常不会侵入或转移。

[0232] “癌细胞”指代癌性生长或组织的单个细胞。癌细胞包含实体癌和液体癌。“肿瘤”或“肿瘤细胞”通常指代由细胞的异常生长形成的肿胀或病变,所述肿胀或病变可以是良性的、恶化前的(pre-malignant)或恶性的。大多数癌症形成肿瘤,但液体癌例如白血病不一定形成肿瘤。对于形成肿瘤的那些癌症,术语癌症(细胞)和肿瘤(细胞)可互换使用。个体中肿瘤的量是可以测量为肿瘤的数目、体积或重量的“肿瘤负荷”。

[0233] 术语“复发”指代经过一段时间的改进或缓解后诊断出癌症重现或重现体征和症状。

[0234] “缓解”也被称为“临床缓解”并且包含部分缓解和完全缓解两者。在部分缓解中,一些但并非所有癌症体征和症状已经消失。在完全缓解中,所有癌症体征和症状均已消失,尽管癌可能仍在体内。

[0235] “难治”指代癌症对用特定治疗剂进行的疗法具有抗性或无应答。癌症可以在治疗开始时是难治的(即,对初始暴露于治疗剂无应答),或者由于在第一治疗期内或在随后的治疗期期间对治疗剂产生抗性而是难治的。

[0236] “抗原阴性”指代不表达抗原或表达可忽略量的不可检测的抗原的细胞。在一个实施例中,抗原阴性细胞不结合被引导到抗原的受体。在一个实施例中,抗原阴性细胞基本上不结合被引导到抗原的受体。

[0237] “自身免疫疾病”指代身体对其自身组织的某个成分产生免疫原性(即,免疫系统)应答的疾病。换言之,免疫系统失去其将身体内的某个组织或系统识别为“自身”的能力并且靶向并攻击所述组织或系统,好像所述组织或系统是外来的一样。自身免疫疾病可以分为其中主要是一个器官受影响的疾病(例如,溶血性贫血和抗免疫性甲状腺炎)以及其中自身免疫疾病过程通过许多组织弥漫的疾病(例如,系统性红斑狼疮)。例如,多发性硬化被认为是由T细胞攻击包围脑和脊髓的神经纤维的鞘而引起的。这导致协调丧失、虚弱和视力模糊。自身免疫疾病在本领域中是已知的并且包含例如桥本氏甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、格雷夫氏病(Grave's disease)、狼疮、多发性硬化、风湿性关节炎、溶血性贫血、抗免疫性甲状腺炎、系统性红斑狼疮、乳糜泻、克罗恩氏病(Crohn's disease)、结肠炎、糖尿病、硬皮病、牛皮癣等。

[0238] “免疫缺陷”意指其免疫系统已经被疾病或化学品施用损害的患者状态。这一病状使系统缺乏防御外来物质所需的数目和类型的血细胞。免疫缺陷病状或疾病在本领域中是已知的并且包含例如AIDS(获得性免疫缺陷综合征)、SCID(严重联合免疫缺陷疾病)、选择性IgA缺乏症、常见变异型免疫缺陷、X连锁无丙种球蛋白血症、慢性肉芽肿病、高IgM综合征和糖尿病。

[0239] “传染病”指代可以从人到人或从生物体到生物体传播并且由微生物或病毒剂引起的疾病(例如,普通感冒)。传染病在本领域中是已知的并且包含例如肝炎、性传播疾病(例如,衣原体、淋病)、结核病、HIV/AIDS、白喉、B型肝炎、C型肝炎、霍乱和流感。

[0240] 如本文所使用的,术语“个体”和“受试者”经常可互换使用并且指代展现出可以用本文中其它地方所设想的组合物和方法治疗的癌症或其它免疫病症的症状的任何动物。适合的受试者(例如,患者)包含实验用动物(如小鼠、大鼠、兔或豚鼠)、农场动物和家养动物

或宠物(如猫或狗)。包含非人灵长类动物和优选地人类患者。典型的受试者包含患有、已经被诊断为患有或有风险患有癌症或另一种免疫病症的人类患者。

[0241] 如本文所使用的,术语“患者”指代已经被诊断为患有可以用本文中的其它地方所公开的组合物和方法治疗的癌症或另一种免疫病症的受试者。

[0242] 如本文所使用的,“治疗(treatment/treating)”包含对疾病或病理病症的症状或病理的任何有益的或期望的效果并且可以包含正在治疗的疾病或病症的一个或多个可测量标志物的甚至最小的减少。任选地,治疗可以涉及疾病或病症减少或者疾病或病症的进展延迟,例如延迟肿瘤生长。“治疗”不一定指示疾病或病症或者其关联症状的完全根除或治愈。

[0243] 如本文所使用的,“预防”和如“预防(prevented/preventing)”等类似词语指示用于预防、抑制或减少疾病或病症发生或复发的可能的方法。预防还指代延迟疾病或病症的发作或复发或者延迟疾病或病症的症状的发生或复发。如本文所使用的,“预防”和类似词语还包含在疾病或病症发作或复发之前减少疾病或病症的强度、效果、症状和/或负荷。

[0244] 如本文所使用的,短语“减轻……的至少一种症状”指代减少正在治疗的受试者的疾病或病症的一种或多种症状。在特定实施例中,被治疗的疾病或病症是癌症,其中所减轻的所述一种或多种症状包含但不限于虚弱、疲劳、呼吸短促、容易挫伤和出血、频繁感染、淋巴结肿大、腹部肿胀或疼痛(由于腹部器官肿大)、骨骼或关节疼痛、骨折、意外体重减轻、食欲不振、盗汗、持续性轻度发烧以及排尿减少(由于肾功能受损)。

[0245] “增强”或“促进”或者“增加”或“扩增”通常指代与由媒剂或对照分子/组合物引起的应答相比,本文所设想的组合物能够产生、引发或引起更大的生理应答(即,下游效应)。可测量的生理应答可以包含T细胞扩增、活化、持续、细胞因子分泌的增加和/或癌细胞杀伤能力的增加以及从本领域的理解和本文中的描述中显而易见的其它方面。“增加的”或“增强的”量通常是“统计上显著的”量并且可以包含是由媒剂或对照组合物产生的应答的1.1倍、1.2倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍或更多倍(例如,500倍、1000倍)(包含其间且在1以上的所有整数和小数点,例如1.5、1.6、1.7、1.8等)的增加。

[0246] “减小”或“减弱”或“变少”或“减少”或“减轻”通常指代与由媒剂或对照分子/组合物引起的应答相比,本文所设想的组合物能够产生、引发或引起更少的应答(即,生理应答)。“减小的”或“减少的”量通常是“统计上显著”的量并且可以包含是由媒剂、对照组合物或特定细胞谱系中的应答产生的应答(参考应答)的1.1倍、1.2倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍或更多倍(例如,500倍、1000倍)(包含其间且在1以上的所有整数和小数点,如1.5、1.6、1.7、1.8等)的减小。

[0247] “维持(maintain或maintenance)”或“保持”或“无变化”或“无实质变化”或“无实质减小”通常指代与由媒剂、对照分子/组合物或特定细胞谱系中的应答引起的应答相比,本文所设想的组合物能够在细胞中产生、引发或引起基本上类似的或相当的生理应答(即,下游效应)。相当的应答是与参考应答无显著差异或可测量差异的应答。

[0248] C.TGF β 信号转换器(嵌合TGF β 受体)

[0249] 在特定实施例中,设想了在暴露于TGF β 时转导免疫刺激信号的TGF β 信号转换器,TGF β 包含但不限于TGF β 1。如本文所使用的,术语“TGF β 信号转换器”指代将来自肿瘤微环境

的TGF β 免疫抑制信号转换为T细胞中的例如刺激免疫效应细胞活性和功能从而增加促炎性细胞因子的产生和/或分泌的免疫刺激信号的一种或多种非天然存在的多肽。在特定实施例中,术语“TGF β 信号转换器”与术语“一种或多种嵌合TGF β 受体”或“CTBR”或“CTBR信号转换器”可互换使用。

[0250] 在特定实施例中,CTBR信号转换器是多肽,其包括:TGF β R2的细胞外TGF β 结合结构域、跨膜结构域、免疫受体的细胞内信号传导结构域,所述免疫受体包含但不限于细胞因子受体、白细胞介素受体、模式识别受体和tol1样受体;多肽切割信号;以及TGF β R1的细胞外TGF β 结合结构域、跨膜结构域和免疫受体的细胞内信号传导结构域,所述免疫受体包含但不限于细胞因子受体、白细胞介素受体、模式识别受体和tol1样受体。

[0251] 在特定实施例中,CTBR信号转换器是融合多肽,其包括:第一多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 结合结构域、跨膜结构域、免疫受体的细胞内信号传导结构域,所述免疫受体包含但不限于细胞因子受体、白细胞介素受体、模式识别受体和tol1样受体;多肽切割信号;以及第二多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 结合结构域、跨膜结构域和免疫受体的细胞内信号传导结构域,所述免疫受体包含但不限于细胞因子受体、白细胞介素受体、模式识别受体和tol1样受体。

[0252] 在其它特定实施例中,CTBR信号转换器是多肽复合物,其包括:包括TGF β R2的细胞外TGF β 结合结构域、跨膜结构域、免疫受体的细胞内信号传导结构域的多肽,所述免疫受体包含但不限于细胞因子受体、白细胞介素受体、模式识别受体和tol1样受体;以及包括TGF β R1的细胞外TGF β 结合结构域、跨膜结构域和免疫受体的细胞内信号传导结构域的多肽,所述免疫受体包含但不限于细胞因子受体、白细胞介素受体、模式识别受体和tol1样受体。

[0253] 如本文所使用的,术语“免疫受体”指表达在免疫细胞的表面上的受体,所述免疫细胞在结合其同源配体时调节免疫应答。适于在特定实施例中使用的免疫受体包含但不限于:细胞因子受体、白细胞介素受体、模式识别受体和tol1样受体,其中通过免疫受体进行的信号传导刺激了免疫应答。

[0254] 可以在本文所设想的特定实施例中使用的免疫受体跨膜结构域和细胞内信号传导结构域的说明性实例包含但不限于从IL-12受体、IL-7受体、IL-15受体、IL-21受体、IL-2受体、IL-1受体、IL-18受体、IL-36受体、I型IFN受体、TLR1受体、TLR2受体、TLR3受体、TLR4受体、TLR5受体、TLR6受体、TLR7受体、TLR8受体、TLR9受体或TLR10受体中分离的跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。

[0255] 可以在本文所设想的特定实施例中使用的免疫受体跨膜结构域和细胞内信号传导结构域的另外的说明性实例包含但不限于从IL-12R β 2、IL-7R α 、IL-2R γ 、IL-2R β 、IL-21R、IL-18R1、IL-18RAP、IL-1R1、IL-1RAP、IFNAR1、IFNAR2、IL-1RL2、TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9或TLR10中分离的跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。

[0256] 可以在本文所设想的特定实施例中使用的细胞因子受体跨膜结构域和细胞内信号传导结构域的说明性实例包含但不限于从IL-12R β 2、IL-7R α 、IL-2R γ 、IL-2R β 、IL-21R、IL-18R1、IL-18RAP、IL-1R1、IL-1RAP、IFNAR1、IFNAR2和IL-1RL2中分离的跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。

[0257] 可以在本文所设想的特定实施例中使用的白细胞介素受体跨膜结构域和细胞内信号传导结构域的说明性实例包含但不限于从IL-12R β 2、IL-7R α 、IL-2R γ 、IL-2R β 、IL-

21R、IL-18R1、IL-18RAP、IL-1R1、IL-1RAP和IL-1RL2中分离的跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。

[0258] 可以在本文所设想的特定实施例中使用的tol1样受体跨膜结构域和细胞内信号传导结构域的说明性实例包括但不限于从TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9或TLR10中分离的跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。

[0259] 1. CTBR12信号转换器

[0260] 白细胞介素-12 (IL-12) 是通过部分地增加IFN γ 表达、增加T细胞增殖和加强IL-12信号传导来促进T细胞功能和活性的细胞因子。IL-12结合白细胞介素12受体 β 1 (IL-12R β 1, 也被称为CD212) 和白细胞介素12受体 β 2 (IL-12R β 2)。

[0261] 通过IL-12R β 1和IL-12R β 2进行的IL-12信号传导导致STAT3、STAT4和STAT5磷酸化。磷酸化STAT3/STAT4易位到核并且结合IFN γ 启动子以增加IFN γ 表达。磷酸化STAT4还募集Jun癌基因 (c-Jun) 到IFN γ 启动子以增加IFN γ 表达并且通过增加IL-12R β 2的转录来加强IL-12信号传导。STAT5磷酸化增加了T细胞增殖。

[0262] IL-12信号传导还通过募集STAT4和c-Jun到IL-2R的启动子来增加白细胞介素2受体 α (IL-2R) 的表达, 从而增强了T细胞增殖。

[0263] 在各个实施例中, 通过引入一种或多种对CTBR12信号转换器进行编码的多核苷酸或载体来修饰一种或多种免疫效应细胞, 包含表达工程化抗原受体的免疫效应细胞。在各个实施例中, 通过引入一种或多种对CTBR12信号转换器和工程化抗原受体进行编码的多核苷酸或载体来修饰一种或多种免疫效应细胞。

[0264] 在特定实施例中, CTBR12信号转换器将免疫抑制TGF β 信号转换为IL-12介导的免疫刺激信号。在特定实施例中, 本文所设想的CTBR12信号转换器包括: TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-12R β 1细胞内信号传导结构域; 多肽切割信号; 以及TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-12R β 2细胞内信号传导结构域。在特定实施例中, 本文所设想的CTBR12信号转换器包括: TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-12R β 2细胞内信号传导结构域; 多肽切割信号; 以及TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-12R β 1细胞内信号传导结构域。

[0265] 在特定实施例中, 本文所设想的CTBR12信号转换器包括融合多肽, 其包括: 第一多肽, 其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-12R β 1细胞内信号传导结构域; 多肽切割信号; 以及第二多肽, 其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-12R β 2细胞内信号传导结构域。在特定实施例中, 本文所设想的CTBR12信号转换器包括融合多肽, 其包括: 第一多肽, 其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-12R β 2细胞内信号传导结构域的第一多肽; 多肽切割信号; 以及第二多肽, 其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-12R β 1细胞内信号传导结构域。

[0266] 在特定实施例中, CTBR12信号转换器是多肽复合物, 其包括: 包括包含TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-12R β 1细胞内信号传导结构域的多肽的第一多肽; 以及包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-12R β 2细胞内信号传导结构域的多肽。在特定实施例中, CTBR12信号转换器是多肽复合物, 其包括: 包括包含TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-12R β 2细胞内信号传导结构域的多肽的第一多肽; 以及包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-12R β 1细胞内信号传导结

构域的多肽。

[0267] 在某些实施例中,多肽包括TGF β R1或TGF β R2的跨膜结构域。在某些实施例中,多肽包括IL-12R β 1或IL-12R β 2的跨膜结构域。在一个实施例中,多肽包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域以及IL-12R β 1跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。在一个实施例中,多肽包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域以及IL-12R β 2跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。在一个实施例中,多肽包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域以及IL-12R β 2跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。在一个实施例中,多肽包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域以及IL-12R β 1跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。

[0268] 在特定实施例中,多肽切割信号是病毒自切割多肽;更优选是病毒自切割2A多肽;并且更优选是选自由以下组成的组的病毒自切割多肽:口蹄疫病毒(FMDV)(F2A)肽、马A型鼻炎病毒(ERAV)(E2A)肽、明脉扁刺蛾 β 四体病毒(TaV)(T2A)肽、猪捷申病毒-1(PTV-1)(P2A)肽、泰勒病毒2A肽以及脑心肌炎病毒2A肽。在一个实施例中,多肽切割信号是P2A或T2A病毒自切割多肽。

[0269] 2. CTBR7信号转换器

[0270] 白细胞介素-7(IL-7)是通过部分地改进T细胞前体存活和增殖来促进T细胞功能和活性的细胞因子。IL-7结合白细胞介素7受体 α (IL-7R α ,也被称为CD127)和白细胞介素2受体共有 γ 链(IL-2R γ ,也被称为CD132和 γ c)。IL-7信号传导使JAK/STAT、PI-3K和Src激酶途径活化并且导致抗凋亡基因和促进T细胞前体增殖的基因发生转录。

[0271] 在各个实施例中,通过引入一种或多种对CTBR7信号转换器进行编码的多核苷酸或载体来修饰一种或多种免疫效应细胞,包含表达工程化抗原受体的免疫效应细胞。在各个实施例中,通过引入一种或多种对CTBR7信号转换器和工程化抗原受体进行编码的多核苷酸或载体来修饰一种或多种免疫效应细胞。

[0272] 在特定实施例中,TGF β 信号转换器将免疫抑制TGF β 信号转换为IL-7介导的免疫刺激信号。在特定实施例中,本文所设想的CTBR7信号转换器包括:TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-7R α 细胞内信号传导结构域;多肽切割信号;以及TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,本文所设想的CTBR7信号转换器包括:TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域;多肽切割信号;以及TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-7R α 细胞内信号传导结构域。

[0273] 在特定实施例中,本文所设想的CTBR7信号转换器包括融合多肽,其包括:第一多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-7R α 细胞内信号传导结构域;多肽切割信号;以及第二多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,本文所设想的CTBR7信号转换器包括融合多肽,其包括:第一多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域;多肽切割信号;以及第二多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-7R α 细胞内信号传导结构域。

[0274] 在特定实施例中,CTBR7信号转换器是多肽复合物,其包括:包括包含TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-7R α 细胞内信号传导结构域的多肽的第一多肽;以及包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域的

多肽。在特定实施例中,CTBR7信号转换器是多肽复合物,其包括:包括包含包括TGFBR1的细胞外TGFBR1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域的多肽的第一多肽;以及包括TGFBR2的细胞外TGFBR1结合结构域、跨膜结构域和IL-7R α 细胞内信号传导结构域的多肽。

[0275] 在某些实施例中,多肽包括TGFBR1或TGFBR2的跨膜结构域。在某些实施例中,多肽包括IL-7R α 或IL-2R γ 的跨膜结构域。在一个实施例中,多肽包括TGFBR1的细胞外TGFBR1结合结构域以及IL-7R α 跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。在一个实施例中,多肽包括TGFBR2的细胞外TGFBR1结合结构域以及IL-2R γ 跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。在一个实施例中,多肽包括TGFBR1的细胞外TGFBR1结合结构域以及IL-2R γ 跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。在一个实施例中,多肽包括TGFBR2的细胞外TGFBR1结合结构域以及IL-7R α 跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。

[0276] 在特定实施例中,多肽切割信号是病毒自切割多肽;更优选是病毒自切割2A多肽;并且更优选是选自以下组成的组的病毒自切割多肽:口蹄疫病毒(FMDV) (F2A) 肽、马A型鼻病毒(ERAV) (E2A) 肽、明脉扁刺蛾 β 四体病毒(TaV) (T2A) 肽、猪捷申病毒-1(PTV-1) (P2A) 肽、泰勒病毒2A肽以及脑心肌炎病毒2A肽。在一个实施例中,多肽切割信号是P2A或T2A病毒自切割多肽。

[0277] 3. CTBR15信号转换器

[0278] 白细胞介素-15(IL-15)是通过部分地改进T细胞前体存活和增殖来促进T细胞功能和活性的细胞因子。IL-15以高亲和力与IL-15R α (也被称为CD215)结合,IL-15R α 然后与包括表达在同一个细胞(顺式呈递)或不同细胞(反式呈递)上的IL-2R β (也被称为IL-15R β 和CD122)和IL-2R γ (也被称为CD132和 γc)的复合物缔合。IL-15信号传导使JAK/STAT、PI-3K和Src激酶途径活化并且导致抗凋亡基因和促进T细胞前体增殖的基因发生转录。

[0279] 在各个实施例中,通过引入一种或多种对CTBR15信号转换器进行编码的多核苷酸或载体和任选的对IL-15R α 多肽进行编码的多核苷酸或载体来修饰一种或多种免疫效应细胞,包含表达工程化抗原受体的免疫效应细胞。在各个实施例中,通过引入一种或多种对CTBR15信号转换器和工程化抗原受体进行编码的多核苷酸或载体以及任选的对IL-15R α 多肽进行编码的多核苷酸或载体来修饰一种或多种免疫效应细胞。

[0280] 在特定实施例中,TGFBR信号转换器将免疫抑制TGFBR信号转换为IL-15介导的免疫刺激信号。在特定实施例中,本文所设想的CTBR15信号转换器包括:TGFBR1的细胞外TGFBR1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R β 细胞内信号传导结构域;多肽切割信号;以及TGFBR2的细胞外TGFBR1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,本文所设想的CTBR15信号转换器包括:TGFBR1的细胞外TGFBR1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域;多肽切割信号;以及TGFBR2的细胞外TGFBR1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R β 细胞内信号传导结构域。

[0281] 在特定实施例中,本文所设想的CTBR15信号转换器包括融合多肽,其包括:第一多肽,其包括TGFBR1的细胞外TGFBR1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R β 细胞内信号传导结构域;多肽切割信号;以及第二多肽,其包括TGFBR2的细胞外TGFBR1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,本文所设想的CTBR15信号转换器包括融合多肽,其包括:第一多肽,其包括TGFBR1的细胞外TGFBR1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R

γ 细胞内信号传导结构域;多肽切割信号;以及第二多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R β 细胞内信号传导结构域。

[0282] 在特定实施例中,CTBR15信号转换器是多肽复合物,其包括:包括包含TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R β 细胞内信号传导结构域的多肽的第一多肽;以及包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域的多肽。在特定实施例中,CTBR15信号转换器是多肽复合物,其包括:包括包含TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域的多肽的第一多肽;以及包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R β 细胞内信号传导结构域的多肽。

[0283] 在某些实施例中,多肽包括TGF β R1或TGF β R2的跨膜结构域。在某些实施例中,多肽包括IL-2R β 或IL-2R γ 的跨膜结构域。在一个实施例中,多肽包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域以及IL-2R β 跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。在一个实施例中,多肽包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域以及IL-2R γ 跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。在一个实施例中,多肽包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域以及IL-2R γ 跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。在一个实施例中,多肽包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域以及IL-2R β 跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。

[0284] 在特定实施例中,多肽切割信号是病毒自切割多肽;更优选是病毒自切割2A多肽;并且更优选是选自由以下组成的组的病毒自切割多肽:口蹄疫病毒(FMDV) (F2A) 肽、马A型鼻炎病毒(ERAV) (E2A) 肽、明脉扁刺蛾 β 四体病毒(TaV) (T2A) 肽、猪捷申病毒-1 (PTV-1) (P2A) 肽、泰勒病毒2A肽以及脑心肌炎病毒2A肽。在一个实施例中,多肽切割信号是P2A或T2A病毒自切割多肽。

[0285] 4. CTBR21信号转换器

[0286] 白细胞介素-21 (IL-21) 是通过部分地改进T细胞前体存活和增殖来促进T细胞功能和活性的细胞因子。IL-21与白细胞介素21受体(IL-21R,也被称为CD360)和IL-2R γ (也被称为CD132和 γ c)结合。IL-21信号传导使JAK/STAT、PI-3K和Src激酶途径活化并且导致抗凋亡基因和促进T细胞前体增殖的基因发生转录。

[0287] 在各个实施例中,通过引入一种或多种对CTBR21信号转换器进行编码的多核苷酸或载体来修饰一种或多种免疫效应细胞,包含表达工程化抗原受体的免疫效应细胞。在各个实施例中,通过引入一种或多种对CTBR21信号转换器和工程化抗原受体进行编码的多核苷酸或载体来修饰一种或多种免疫效应细胞。

[0288] 在特定实施例中,TGF β 信号转换器将免疫抑制TGF β 信号转换为IL-21介导的免疫刺激信号。在特定实施例中,本文所设想的CTBR21信号转换器包括:TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-21R细胞内信号传导结构域;多肽切割信号;以及TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,本文所设想的CTBR21信号转换器包括:TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域;多肽切割信号;以及TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-21R细胞内信号传导结构域。

[0289] 在特定实施例中,本文所设想的CTBR21信号转换器包括融合多肽,其包括:第一多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-21R细胞内信号传导结构

域;多肽切割信号;以及第二多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,本文所设想的CTBR21信号转换器包括融合多肽,其包括:第一多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域;多肽切割信号;以及第二多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-21R细胞内信号传导结构域。

[0290] 在特定实施例中,CTBR21信号转换器是多肽复合物,其包括:包括包含TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-21R细胞内信号传导结构域的多肽的第一多肽;以及包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域的多肽。在特定实施例中,CTBR21信号转换器是多肽复合物,其包括:包括包含TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-2R γ 细胞内信号传导结构域的多肽的第一多肽;以及包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-21R细胞内信号传导结构域的多肽。

[0291] 在某些实施例中,多肽包括TGF β R1或TGF β R2的跨膜结构域。在某些实施例中,多肽包括IL-21R或IL-2R γ 的跨膜结构域。在一个实施例中,多肽包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域以及IL-21R跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。在一个实施例中,多肽包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域以及IL-2R γ 跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。在一个实施例中,多肽包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域以及IL-2R γ 跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。在一个实施例中,多肽包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域以及IL-21R跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。

[0292] 在特定实施例中,多肽切割信号是病毒自切割多肽;更优选是病毒自切割2A多肽;并且更优选是选自以下组成的组的病毒自切割多肽:口蹄疫病毒(FMDV) (F2A) 肽、马A型鼻肺炎病毒(ERAV) (E2A) 肽、明脉扁刺蛾 β 四体病毒(TaV) (T2A) 肽、猪捷申病毒-1 (PTV-1) (P2A) 肽、泰勒病毒2A肽以及脑心肌炎病毒2A肽。在一个实施例中,多肽切割信号是P2A或T2A病毒自切割多肽。

[0293] 5. CTBR18信号转换器

[0294] 白细胞介素-18(IL-18)是通过部分地增加IFN γ 表达、增加T细胞增殖和防止活化诱导的细胞死亡(AICD)来促进T细胞功能和活性的细胞因子。IL-18结合白细胞介素18受体 β 1(IL-18R1,也被称为CD218a)和白细胞介素18受体辅助蛋白(IL-18RAP、CD218b)。

[0295] 通过IL-18R1和IL-18RAP的IL-18进行的信号传导导致通过MyD88衔接蛋白和IRAK4磷酸化进行活化。IRAK4的磷酸化和随后IRAK1/2的磷酸化最终导致NF- κ B转录因子和AP-1转录因子活化,从而增加了IFN γ 表达并且增加了对IL-12的敏感性。由IL-18诱导的转录程序也增加了T细胞增殖并且防止了AICD。

[0296] 在各个实施例中,通过引入一种或多种对CTBR18信号转换器进行编码的多核苷酸或载体来修饰一种或多种免疫效应细胞,包含表达工程化抗原受体的免疫效应细胞。在各个实施例中,通过引入一种或多种对CTBR18信号转换器和工程化抗原受体进行编码的多核苷酸或载体来修饰一种或多种免疫效应细胞。

[0297] 在特定实施例中,TGF β 信号转换器将免疫抑制TGF β 信号转换为IL-18介导的免疫刺激信号。在特定实施例中,本文所设想的CTBR18信号转换器包括:TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-18RAP细胞内信号传导结构域;多肽切割信号;以及TGF β R2的

细胞外TGFβ1结合结构域、跨膜结构域和IL-18R1细胞内信号传导结构域。在特定实施例中，本文所设想的CTBR18信号转换器包括：TGFβR1的细胞外TGFβ1结合结构域、跨膜结构域和IL-18R1细胞内信号传导结构域；多肽切割信号；以及TGFβR2的细胞外TGFβ1结合结构域、跨膜结构域和IL-18RAP细胞内信号传导结构域。

[0298] 在特定实施例中，本文所设想的CTBR18信号转换器包括融合多肽，其包括：第一多肽，其包括TGFβR1的细胞外TGFβ1结合结构域、跨膜结构域和IL-18R1细胞内信号传导结构域；多肽切割信号；以及第二多肽，其包括TGFβR2的细胞外TGFβ1结合结构域、跨膜结构域和IL-18RAP细胞内信号传导结构域。在特定实施例中，本文所设想的CTBR18信号转换器包括融合多肽，其包括：第一多肽，其包括TGFβR1的细胞外TGFβ1结合结构域、跨膜结构域和IL-18RAP细胞内信号传导结构域；多肽切割信号；以及第二多肽，其包括TGFβR2的细胞外TGFβ1结合结构域、跨膜结构域和IL-18R1细胞内信号传导结构域。

[0299] 在特定实施例中，CTBR18信号转换器是多肽复合物，其包括：包括包含TGFβR1的细胞外TGFβ1结合结构域、跨膜结构域和IL-18RAP细胞内信号传导结构域的多肽的第一多肽；以及包括TGFβR2的细胞外TGFβ1结合结构域、跨膜结构域和IL-18R1细胞内信号传导结构域的多肽。在特定实施例中，CTBR18信号转换器是多肽复合物，其包括：包括包含TGFβR1的细胞外TGFβ1结合结构域、跨膜结构域和IL-18R1细胞内信号传导结构域的多肽的第一多肽；以及包括TGFβR2的细胞外TGFβ1结合结构域、跨膜结构域和IL-18RAP细胞内信号传导结构域的多肽。

[0300] 在某些实施例中，多肽包括TGFβR1或TGFβR2的跨膜结构域。在某些实施例中，多肽包括IL-18R1或IL-18RAP的跨膜结构域。在一个实施例中，多肽包括TGFβR1的细胞外TGFβ1结合结构域以及IL-18RAP跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。在一个实施例中，多肽包括TGFβR2的细胞外TGFβ1结合结构域以及IL-18R1跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。在一个实施例中，多肽包括TGFβR1的细胞外TGFβ1结合结构域以及IL-18R1跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。在一个实施例中，多肽包括TGFβR2的细胞外TGFβ1结合结构域以及IL-18RAP跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。

[0301] 在特定实施例中，多肽切割信号是病毒自切割多肽；更优选是病毒自切割2A多肽；并且更优选是选自由以下组成的组的病毒自切割多肽：口蹄疫病毒（FMDV）（F2A）肽、马A型鼻病毒（ERAV）（E2A）肽、明脉扁刺蛾β四体病毒（TaV）（T2A）肽、猪捷申病毒-1（PTV-1）（P2A）肽、泰勒病毒2A肽以及脑心肌炎病毒2A肽。在一个实施例中，多肽切割信号是P2A或T2A病毒自切割多肽。

[0302] 6. CTBR1信号转换器

[0303] 白细胞介素-1（IL-1）是通过部分地增加IFN γ 表达、增加T细胞增殖和加强防止活化诱导的细胞死亡（AICD）来促进T细胞功能和活性的细胞因子。IL-1结合白细胞介素1受体1（IL-1R1，也被称为CD121a）和白细胞介素1受体辅助蛋白（IL-1RAP）。

[0304] 通过IL-1R1和IL-1RAP进行的IL-1信号传导导致通过MyD88衔接蛋白和IRAK4磷酸化进行活化。IRAK4的磷酸化和随后IRAK1/2的磷酸化最终导致NF-κB转录因子和AP-1转录因子活化，从而增加了IFN γ 表达并且增加了对IL-12的敏感性。由IL-1诱导的转录程序也增加了T细胞增殖并且防止了AICD。

[0305] 在各个实施例中，通过引入一种或多种对CTBR1信号转换器进行编码的多核苷酸

或载体来修饰一种或多种免疫效应细胞,包含表达工程化抗原受体的免疫效应细胞。在各个实施例中,通过引入一种或多种对CTBR1信号转换器和工程化抗原受体进行编码的多核苷酸或载体来修饰一种或多种免疫效应细胞。

[0306] 在特定实施例中,TGF β 信号转换器将免疫抑制TGF β 信号转换为IL-1介导的免疫刺激信号。在特定实施例中,本文所设想的CTBR1信号转换器包括:TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-1RAP细胞内信号传导结构域;多肽切割信号;以及TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-1R1细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,本文所设想的CTBR1信号转换器包括:TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-1R1细胞内信号传导结构域;多肽切割信号;以及TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-1RAP细胞内信号传导结构域。

[0307] 在特定实施例中,本文所设想的CTBR1信号转换器包括融合多肽,其包括:第一多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-1R1细胞内信号传导结构域;多肽切割信号;以及第二多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-1RAP细胞内信号传导结构域。在特定实施例中,本文所设想的CTBR1信号转换器包括融合多肽,其包括:第一多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-1RAP细胞内信号传导结构域;多肽切割信号;以及第二多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-1R1细胞内信号传导结构域。

[0308] 在特定实施例中,CTBR1信号转换器是多肽复合物,其包括:包括包含TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-1RAP细胞内信号传导结构域的多肽的第一多肽;以及包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-1R1细胞内信号传导结构域的多肽。在特定实施例中,CTBR1信号转换器是多肽复合物,其包括:包括包含TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-1R1细胞内信号传导结构域的多肽的第一多肽;以及包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和IL-1RAP细胞内信号传导结构域的多肽。

[0309] 在某些实施例中,多肽包括TGF β R1或TGF β R2的跨膜结构域。在某些实施例中,多肽包括IL-1R1或IL-1RAP的跨膜结构域。在一个实施例中,多肽包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域以及IL-1RAP跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。在一个实施例中,多肽包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域以及IL-1R1跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。在一个实施例中,多肽包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域以及IL-1R1跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。在一个实施例中,多肽包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域以及IL-1RAP跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。

[0310] 在特定实施例中,多肽切割信号是病毒自切割多肽;更优选是病毒自切割2A多肽;并且更优选是选自由以下组成的组的病毒自切割多肽:口蹄疫病毒(FMDV) (F2A) 肽、马A型鼻病毒(ERAV) (E2A) 肽、明脉扁刺蛾 β 四体病毒(TaV) (T2A) 肽、猪捷申病毒-1(PTV-1) (P2A) 肽、泰勒病毒2A肽以及脑心肌炎病毒2A肽。在一个实施例中,多肽切割信号是P2A或T2A病毒自切割多肽。

[0311] 7. CTBR.TLR信号转换器

[0312] Toll样受体(TLR1到TLR10)是检测入侵的病原体并且使先天性和适应性免疫应答活化的模式识别受体。通过各种配体使TLR活化导致诱导促炎性转录程序并表达多种炎性

细胞因子。

[0313] TLR信号传导经由TLR信号传导结构域的同源二聚化发生,从而导致通过MyD88衔接蛋白和IRAK4磷酸化进行活化。IRAK4的磷酸化和随后IRAK1/2的磷酸化最终导致NF- κ B转录因子和AP-1转录因子活化,从而增加了炎性细胞因子产生并且诱导了增殖。TLR活化还会导致IRF3转录因子和IRF7转录因子活化。

[0314] 在各个实施例中,通过引入一种或多种对CTBR.TLR信号转换器进行编码的多核苷酸或载体来修饰一种或多种免疫效应细胞,包含表达工程化抗原受体的免疫效应细胞。在各个实施例中,通过引入一种或多种对CTBR.TLR信号转换器和工程化抗原受体进行编码的多核苷酸或载体来修饰一种或多种免疫效应细胞。

[0315] 在特定实施例中,TGF β 信号转换器将免疫抑制TGF β 信号转换为TLR介导的免疫刺激信号。在特定实施例中,本文所设想的CTBR.TLR信号转换器包括:TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和TLR细胞内信号传导结构域;多肽切割信号;以及TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和相同的TLR信号传导结构域。

[0316] 在特定实施例中,本文所设想的CTBR.TLR信号转换器包括融合多肽,其包括:第一多肽,其包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和TLR细胞内信号传导结构域;多肽切割信号;以及第二多肽,其包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和相同的TLR信号传导结构域。

[0317] 在特定实施例中,CTBR.TLR信号转换器是多肽复合物,其包括:包括包含TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和TLR细胞内信号传导结构域的多肽的第一多肽;以及包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域、跨膜结构域和相同的TLR细胞内信号传导结构域的多肽。

[0318] 在某些实施例中,多肽包括TGF β R1或TGF β R2的跨膜结构域。在某些实施例中,多肽包括TLR的跨膜结构域。在一个实施例中,多肽包括TGF β R1的细胞外TGF β 1结合结构域以及TLR跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。在一个实施例中,多肽包括TGF β R2的细胞外TGF β 1结合结构域以及TLR跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。

[0319] 在特定实施例中,多肽切割信号是病毒自切割多肽;更优选是病毒自切割2A多肽;并且更优选是选自由以下组成的组的病毒自切割多肽:口蹄疫病毒(FMDV) (F2A) 肽、马A型鼻病毒(ERAV) (E2A) 肽、明脉扁刺蛾 β 四体病毒(TaV) (T2A) 肽、猪捷申病毒-1 (PTV-1) (P2A) 肽、泰勒病毒2A肽以及脑心肌炎病毒2A肽。在一个实施例中,多肽切割信号是P2A或T2A病毒自切割多肽。

[0320] D. 工程化抗原受体

[0321] 在特定实施例中,多肽包括工程化抗原受体、多肽切割信号和CTBR。在其它特定实施例中,将对CTBR进行编码的多核苷酸或载体引入包括工程化抗原受体的免疫效应细胞中。在不希望受任何特定理论束缚的情况下,在特定实施例中设想的是,本领域中已知的任何机制均可以用于在同一免疫效应细胞或细胞群中引入和共表达工程化抗原受体和CTBR,从而增加免疫效应细胞对TME的抗性并且加强和增加免疫效应细胞应答的效率、效力和耐久性。

[0322] 在特定实施例中,本文所设想的免疫效应细胞包括工程化抗原受体和CTBR。在特定实施例中,工程化抗原受体是工程化T细胞受体(TCR)、嵌合抗原受体(CAR)、DARIC受体或

其组分、或zetakine。

[0323] 1. 工程化TCR

[0324] 在特定实施例中,本文所设想的免疫效应细胞包括工程化TCR和CTBR信号转换器。在一个实施例中,通过引入对通过一个或多个多肽切割信号分开的工程化TCR和CTBR信号转换器进行编码的多核苷酸或载体来工程化T细胞。在一个实施例中,通过引入对工程化TCR进行编码的多核苷酸或载体和对CTBR信号转换器进行编码的多核苷酸或载体来工程化T细胞。在一个实施例中,通过引入对CTBR信号转换器进行编码的多核苷酸或载体来进一步工程化被工程化以表达工程化TCR的T细胞。

[0325] 天然存在的T细胞受体包括两个亚单元, α 链亚单元和 β 链亚单元,这两个亚单元中的每一个均为通过每个T细胞的基因组中的重组事件产生的独特蛋白。可以筛选TCR文库对特定靶抗原的选择性。以此方式,可以选择、克隆并且随后将对靶抗原有高亲合力和反应性的天然TCR引入到用于过继性免疫疗法的T细胞群中。

[0326] 在一个实施例中,通过引入具有形成TCR的能力的TCR亚单元来修饰T细胞,所述TCR赋予T细胞对表达靶抗原的肿瘤细胞的特异性。在特定实施例中,与天然存在的亚单元相比,所述亚单元具有一个或多个氨基酸取代、缺失、插入或修饰,只要所述亚单元保留形成TCR的能力并赋予转染的T细胞归巢到靶细胞的能力,并且参与免疫相关的细胞因子信号传导。优选地,工程化TCR还以高亲合力结合显示相关肿瘤相关肽的靶细胞,并且任选地介导在体内呈递相关肽的靶细胞的有效杀伤。

[0327] 对工程化TCR进行编码的核酸优选地从其在T细胞的(天然存在的)染色体中的自然背景中分离,并且可以被并入如本文中其它地方所描述的适合的载体中。核酸和包括其的载体两者可以转移到细胞中,优选地,在特定实施例中,转移到T细胞中。然后,经过修饰的T细胞能够表达由一个或多个经过转导的核酸编码的TCR的一条或多条链。在优选实施例中,工程化TCR是外源TCR,因为其被引入到通常不表达特定TCR的T细胞中。工程化TCR的基本方面是其对主要组织相容性复合物(MHC)或类似免疫组分呈递的肿瘤抗原具有高亲合力。与工程化TCR相比,CAR被工程化以便以MHC非依赖性方式结合靶抗原。

[0328] TCR可以和与TCR的 α 链或 β 链的氨基末端部分或羧基末端部分附接的另外的多肽一起表达,只要附接的另外的多肽不干扰 α 链或 β 链形成功能性T细胞受体以及MHC依赖性抗原识别的能力即可。

[0329] 通过特定实施例中设想的工程化TCR识别的抗原包含但不限于癌抗原,包含血液癌和实体瘤两者上的抗原。说明性抗原包含但不限于 α 叶酸受体、5T4、 α v β 6整联蛋白、BCMA、B7-H3、B7-H6、CAIX、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD138、CD171、CEA、CSPG4、EGFR、包含ErbB2 (HER2) 的EGFR家族、EGFRvIII、EGP2、EGP40、EPCAM、EphA2、EpCAM、FAP、胎儿AchR、FR α 、GD2、GD3、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 (GPC3)、HLA-A1+MAGE1、HLA-A2+MAGE1、HLA-A3+MAGE1、HLA-A1+NY-ESO-1、HLA-A2+NY-ESO-1、HLA-A3+NY-ESO-1、IL-11R α 、IL-13R α 2、 λ 、Lewis-Y、 κ 、间皮素、Muc1、Muc16、NCAM、NKG2D配体、NY-ESO-1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX、存活蛋白、TAG72、TEM、VEGFR2以及WT-1。

[0330] 2. 嵌合抗原受体

[0331] 在各个实施例中,免疫效应细胞表达将细胞毒性重定向到肿瘤细胞的CAR。CAR是将针对靶抗原(例如,肿瘤抗原)的基于抗体的特异性与T细胞受体活化细胞内结构域组合

以生成展现出特异性抗肿瘤细胞免疫活性的嵌合蛋白的分子。如本文所使用的,术语“嵌合”描述了由来自不同来源的不同蛋白质或DNA的各个部分构成。

[0332] 在特定实施例中,本文所设想的免疫效应细胞包括CAR和CTBR信号转换器。在一个实施例中,通过引入对通过一个或多个多肽切割信号分开的CAR和CTBR信号转换器进行编码的多核苷酸或载体来工程化T细胞。在一个实施例中,通过引入进行编码CAR的多核苷酸或载体和进行编码CTBR信号转换器的多核苷酸或载体来工程化T细胞。在一个实施例中,通过引入对CTBR信号转换器进行编码的多核苷酸或载体来进一步工程化被工程化以表达CAR的T细胞。

[0333] 在各个实施例中,CAR包括与特异性靶抗原结合的细胞外结构域(也被称为结合结构域或抗原特异性结合结构域)、跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。CAR的主要特性是其能够利用单克隆抗体、可溶性配体或细胞特异性共同受体的细胞特异性靶向能力来重定向免疫效应子细胞特异性,从而触发增殖、细胞因子产生、吞噬作用或可以以主要组织相容性(MHC)非依赖方式介导靶抗原表达细胞的细胞死亡的分子的产生。

[0334] 在特定实施例中,CAR包括与表达在肿瘤细胞上的靶多肽例如靶抗原特异性地结合的细胞外结合结构域。如本文所使用的,术语“结合结构域”、“细胞外结构域”、“细胞外结合结构域”、“抗原结合结构域”、“抗原特异性结合结构域”和“细胞外抗原特异性结合结构域”可互换使用并且为嵌合受体例如CAR或DARIC提供了与所关注的靶抗原特异性地结合的能力。结合结构域可以包括拥有特异性地识别并结合生物分子(例如,细胞表面受体或肿瘤蛋白、脂质、多糖、或其它细胞表面靶分子、或其组分)的能力的任何蛋白质、多肽、寡肽或肽。结合结构域包含所关注的生物分子的任何天然存在的、合成的、半合成的或重组产生的结合配偶体。

[0335] 在特定实施例中,细胞外结合结构域包括抗体或其抗原结合片段。

[0336] “抗体”指代属于包括至少轻链或重链免疫球蛋白可变区的多肽的结合剂,所述轻链或重链免疫球蛋白可变区特异性地识别和结合靶抗原的表位,如肽、脂质、多糖或含有抗原决定簇的核酸,如通过免疫细胞识别的那些。抗体包含抗原结合片段,例如骆驼Ig(骆驼科抗体或其VHH片段)、Ig NAR、Fab片段、Fab'片段、F(ab)'2片段、F(ab)'3片段、Fv、单链Fv抗体(“scFv”)、双-scFv、(scFv)2、迷你抗体、双抗体、三抗体、四抗体、二硫化物稳定化Fv蛋白(“dsFv”)和单结构域抗体(sdAb,纳米抗体)或其其它抗体片段。所述术语还包含基因工程化形式,如嵌合抗体(例如,人源化鼠类抗体)、异源缀合抗体(如双特异性抗体)及其抗原结合片段。还参见《皮尔斯目录与手册》,1994-1995(伊利诺伊州罗克福德市皮尔斯化学公司);Kuby,《免疫学期刊》,第3版,W.H.弗里曼公司,纽约,1997。

[0337] 在一个优选实施例中,结合结构域是scFv。

[0338] 在另一个优选实施例中,结合结构域是骆驼科动物抗体。

[0339] 在特定实施例中,CAR包括结合选自以下组成的组的抗原的细胞外结构域: α 叶酸受体、5T4、 α v β 6整联蛋白、BCMA、B7-H3、B7-H6、CAIX、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD138、CD171、CEA、CSPG4、EGFR、包含ErbB2(HER2)的EGFR家族、EGFRvIII、EGP2、EGP40、EPCAM、EphA2、EpCAM、FAP、胎儿AChR、FR α 、GD2、GD3、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC3)、HLA-A1+MAGE1、HLA-A2+MAGE1、HLA-A3+MAGE1、HLA-A1+NY-ESO-1、HLA-A2+NY-ESO-1、HLA-A3+NY-ESO-1、IL-11R α 、IL-13R α 2、 λ 、Lewis-Y、 κ 、

间皮素、Muc1、Muc16、NCAM、NKG2D配体、NY-ESO-1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX、存活蛋白、TAG72、TEM、VEGFR2以及WT-1。

[0340] 在特定实施例中，CAR包括细胞外结合结构域，例如结合抗原的抗体或其抗原结合片段，其中所述抗原是MHC-肽复合物，如I类MHC-肽复合物或II类MHC-肽复合物。

[0341] 在某些实施例中，CAR包括各个结构域之间的连接子残基。“可变区连接序列”是氨基酸序列，所述氨基酸序列将重链可变区与轻链可变区连接并且提供与这两个子结合结构域的相互作用兼容的间隔子功能，使得所得多肽保留对与包括相同轻链可变区和重链可变区的抗体相同的靶分子的特异性结合亲和力。在特定实施例中，CAR包括一个、两个、三个、四个或五个或更多个连接子。在特定实施例中，连接子的长度为约1个到约25个氨基酸、约5个到约20个氨基酸、或约10个到约20个氨基酸、或任何中间长度的氨基酸。在一些实施例中，连接子的长度为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、15个、16个、17个、18个、19个、20个、21个、22个、23个、24个、25个或更多个氨基酸。

[0342] 在特定实施例中，CAR的结合结构域之后是一个或多个“间隔子结构域”，所述间隔子结构域指代使抗原结合结构域移动远离效应细胞表面以实现适当的细胞/细胞接触、抗原结合和活化的区(Patel等人，《基因疗法》，1999,6:412-419)。间隔子结构域可以源自天然的、合成的、半合成的或重组的来源。在某些实施例中，间隔子结构域是免疫球蛋白的一部分，包含但不限于一个或多个重链恒定区，例如CH2和CH3。间隔子结构域可以包含天然存在的免疫球蛋白铰链区或更改的免疫球蛋白铰链区的氨基酸序列。

[0343] 在一个实施例中，间隔子结构域包括IgG1、IgG4或IgD的CH2和CH3。

[0344] 在一个实施例中，CAR的结合结构域与一个或多个“铰链结构域”连接，所述一个或多个铰链结构域在将抗原结合结构域定位成远离效应细胞表面以实现适当的细胞/细胞接触、抗原结合和活化中起作用。CAR通常包括结合结构域与跨膜结构域(TM)之间的一个或多个铰链结构域。铰链结构域可以衍生自天然的、合成的、半合成的或重组的来源。铰链结构域可以包含天然存在的免疫球蛋白铰链区或更改的免疫球蛋白铰链区的氨基酸序列。

[0345] 适于在本文所描述的CAR中使用的说明性铰链结构域包含衍生自如CD8 α 和CD4等1型膜蛋白的细胞外区的铰链区，所述铰链区可以是来自这些分子的野生型铰链区或可以被更改。在另一个实施例中，铰链结构域包括CD8 α 铰链区。

[0346] 在一个实施例中，铰链是PD-1铰链或CD152铰链。

[0347] “跨膜结构域”是CAR的一部分，所述部分融合细胞外结合部分和细胞内信号传导结构域并且将CAR锚定到免疫效应细胞的质膜上。TM结构域可以衍生自天然的、合成的、半合成的或重组的来源。

[0348] 说明性TM结构域可以衍生自即至少包括以下的一个或多个跨膜区：T细胞受体的 α 或 β 链、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 γ 、CD3 ζ 、CD4、CD5、CD8 α 、CD9、CD16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、CD154、AMN以及PD-1。

[0349] 在一个实施例中，CAR包括衍生自CD8 α 的TM结构域。在另一个实施例中，本文所设想的CAR包括衍生自CD8 α 的TM结构域和优选地长度在1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个氨基酸之间的连接TM结构域和CAR的细胞内信号传导结构域的短寡肽或多肽连接子。甘氨酸-丝氨酸连接子提供了特别适合的连接子。

[0350] 在特定实施例中，CAR包括细胞内信号传导结构域。“细胞内信号传导结构域”指代

CAR的一部分,所述部分参与将与靶抗原结合的有效CAR的消息转导到免疫效应细胞内部以引发效应细胞功能,例如活化、细胞因子产生、增殖和细胞毒活性或用与细胞外CAR结构域结合的抗原引发的其它细胞应答,所述细胞毒活性包含向CAR结合的靶细胞释放细胞毒性因子。

[0351] 术语“效应子功能”指代细胞的专门功能。T细胞的效应子功能例如可以是细胞溶解活性或辅助活性,包含细胞因子的分泌。因此,术语“细胞内信号传导结构域”指代蛋白质的一部分,所述部分转导效应子功能信号并引导细胞执行专门功能。虽然通常可以采用整个细胞内信号传导结构域,但在许多情况下不必使用整个结构域。在使用细胞内信号传导结构域的截短部分的程度上,可以使用这种截短部分代替整个结构域,只要其转导效应子功能信号即可。术语细胞内信号传导结构域意指包含细胞内信号传导结构域的足以转导效应子功能信号的任何截短部分。

[0352] 已知的是,单独通过TCR产生的信号不足以完全活化T细胞,并且还需要次级信号或共刺激信号。因此,可以说T细胞活化由两种不同类别的细胞内信号传导结构域介导:初级信号传导结构域,其通过TCR(例如,TCR/CD3复合物)来启动抗原依赖性初级活化;以及共刺激信号传导结构域,其以抗原非依赖性方式起作用以提供次级信号或共刺激信号。在优选实施例中,CAR包括细胞内信号传导结构域,所述细胞内信号传导结构域包括一个或多个“共刺激信号传导结构域”和“初级信号传导结构域”。

[0353] 初级信号传导结构域以刺激方式或以抑制方式调节TCR复合物的初级活化。以刺激方式起作用的初级信号传导结构域可以含有信号传导基序,所述信号传导基序被称为基于免疫受体酪氨酸的活化基序或ITAM。

[0354] 适于在特定实施例中设想的CAR中使用的含ITAM初级信号传导结构域的说明性实例包含衍生自FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD22、CD79a、CD79b和CD66d的那些。在特定优选的实施例中,CAR包括CD3 ζ 初级信号传导结构域以及一个或多个共刺激信号传导结构域。细胞内初级信号传导结构域和共刺激信号传导结构域可以按任何顺序与跨膜结构域的羧基末端串联连接。

[0355] 在特定实施例中,CAR包括用于增强表达CAR受体的T细胞的疗效和扩增的一个或多个共刺激信号传导结构域。如本文所使用的,术语“共刺激信号传导结构域”或“共刺激结构域”是指共刺激分子的细胞内信号传导结构域。

[0356] 适于在特定实施例中设想的CAR中使用的这种共刺激分子的说明性实例包含:TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、CARD11、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54(ICAM)、CD83、CD134(OX40)、CD137(4-1BB)、CD278(ICOS)、DAP10、LAT、NKD2C、SLP76、TRIM以及ZAP70。在一个实施例中,CAR包括选自由CD28、CD137和CD134组成的组的一个或多个共刺激信号传导结构域和CD3 ζ 初级信号传导结构域。

[0357] 在各个实施例中,CAR包括:结合选自由以下组成的组的抗原的细胞外结构域:BCMA、CD19、CSPG4、PSCA、ROR1和TAG72;从选自由以下组成的组的多肽中分离的跨膜结构域:CD4、CD8 α 、CD154和PD-1;从选自由以下组成的组的多肽中分离的一个或多个细胞内共刺激信号结构域:CD28、CD134和CD137;以及从选自由以下组成的组的多肽中分离的信号传导结构域:FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD22、CD79a、CD79b和CD66d。

[0358] 3.DARIC

[0359] 在特定实施例中,免疫效应细胞包括DARIC受体的一条或多条链。如本文所使用的,术语“DARIC受体”指代多链工程化抗原受体。

[0360] 在特定实施例中,本文所设想的免疫效应细胞包括DARIC受体的一条或多条链和CTBR信号转换器。在一个实施例中,通过引入对通过一个或多个多肽切割信号分开的DARIC受体的一条或多条链和CTBR信号转换器进行编码的多核苷酸或载体来工程化T细胞。在一个实施例中,通过引入对DARIC受体的一条或多条链进行编码的多核苷酸或载体和对CTBR信号转换器进行编码的多核苷酸或载体来工程化T细胞。在一个实施例中,通过引入对CTBR信号转换器进行编码的多核苷酸或载体来进一步工程化被工程化以表达DARIC受体的一条或多条链的T细胞。

[0361] DARIC架构和组分的说明性实例公开在PCT公开号W02015/017214和美国专利公开号20150266973中,所述公开号中的每一个均以全文引用的方式并入本文中。

[0362] 在一个实施例中,供体修复模板包括以下DARIC组分:信号传导多肽,其包括第一多聚化结构域、第一跨膜结构域和一个或多个细胞内共刺激信号传导结构域和/或初级信号传导结构域;以及结合多肽,其包括结合结构域、第二多聚化结构域和任意的第二跨膜结构域。功能性DARIC包括桥接因子,所述桥接因子促进在细胞表面上形成DARIC受体复合物,其中所述桥接因子与信号传导多肽和结合多肽的多聚化结构域缔合并被安置在信号传导多肽和结合多肽的多聚化结构域之间。

[0363] 在特定实施例中,第一多聚化结构域和第二多聚化结构域与选自以下组成的组的桥接因子缔合:雷帕霉素或其雷帕霉素类似物、库马霉素或其衍生物、赤霉素或其衍生物、脱落酸(ABA)或其衍生物、甲氨蝶呤或其衍生物、环孢菌素A或其衍生物、FKCsA或其衍生物、甲氧苄啶(Tmp)-FKBP合成配体(SLF)或其衍生物、及其任何组合。

[0364] 雷帕霉素类似物(rapamycin analog/rapalog)的说明性实例包含美国专利号6,649,595中公开的那些,其中雷帕霉素类似物结构通过引用整体并入本文中。在某些实施例中,桥接因子是与雷帕霉素相比具有显著降低的免疫抑制作用的雷帕霉素类似物。“显著降低的免疫抑制作用”指代雷帕霉素类似物具有至少小于0.1倍到0.005倍的针对等摩尔量的雷帕霉素观察或预期的免疫抑制作用,如在临床上或在人类免疫抑制活性的适当的体外(例如,抑制T细胞增殖)或体内替代物中测量的。在一个实施例中,“显著降低的免疫抑制作用”指代雷帕霉素类似物在这种体外测定中的EC50值比在相同测定中针对雷帕霉素观察到的EC50值大至少10倍到250倍。

[0365] 雷帕霉素类似物的其它说明性实例包含但不限于依维莫司(everolimus)、诺氟莫司(novolimus)、吡美莫司(pimecrolimus)、地磷莫司(ridaforolimus)、他克莫司(tacrolimus)、替西罗莫司(temsirolimus)、佐他莫司(umirolimus)和唑他莫司(zotarolimus)。

[0366] 在某些实施例中,多聚化结构域将会与属于雷帕霉素或其雷帕霉素类似物的桥接因子缔合。例如,第一多聚化结构域和第二多聚化结构域是选自FKBP和FRB的一对。FRB结构域是能够与FKBP蛋白质和雷帕霉素或其雷帕霉素类似物一起形成三分复合物的多肽区(蛋白“结构域”)。FRB结构域存在于许多天然存在的蛋白质中,所述天然存在的蛋白质包含:来自人类和其它物种的mTOR蛋白(在文献中也被称为FRAP、RAP1或RAFT);包含Tor1和Tor2的酵母蛋白;以及念珠菌FRAP同系物。关于这些蛋白质的核苷酸序列、克隆和其它方面的信息

在本领域中已经是已知的。例如，人mTOR的蛋白序列登录号是基因库 (GenBank) 登录号 L34075.1 (Brown等人,《自然》369:756,1994)。

[0367] 适于在本文所设想的特定实施例中使用的FRB结构域通常含有至少约85个到约100个氨基酸残基。在某些实施例中，基于基因库登录号为L34075.1的氨基酸序列，用于在本公开的融合蛋白中使用的FRB氨基酸序列将会包括93个氨基酸序列Ile-2021到Lys-2113以及T2098L的突变。用于在特定实施例中设想的DARIC中使用的FRB结构域将能够结合与雷帕霉素或其雷帕霉素类似物结合的FKBP蛋白的复合物。在某些实施例中，FRB结构域的肽序列包括：(a)天然存在的肽序列，其至少跨越人mTOR的指定的93个氨基酸区或同源蛋白的对应区；(b)天然存在的FRB的变体，其中天然存在的肽的至多约十个氨基酸、或约1个到约5个氨基酸、或约1个到约3个氨基酸、或在一些实施例中仅一个氨基酸已经缺失、被插入或被取代；或(c)由核酸分子或DNA序列编码的肽，所述核酸分子能够与对天然存在的FRB结构域进行编码的DNA分子选择性地杂交，所述DNA序列将会能够仅出于遗传密码的简并性而与对天然存在的FRB结构域进行编码的DNA分子选择性地杂交。

[0368] FKBP (FK506结合蛋白) 是如FK506、FK520和雷帕霉素等大环内酯的细胞溶质受体并且在各个物种系中高度保守。FKBP是能够与雷帕霉素或其雷帕霉素类似物结合并且与含FRB的蛋白质或融合蛋白进一步形成三分复合物的蛋白质或蛋白结构域。FKBP结构域也可以称为“雷帕霉素结合结构域”。关于各种FKBP物种的核苷酸序列、克隆和其它方面的信息在本领域中是已知的 (参见例如Staendart等人,《自然》346:671,1990 (人FKBP12) ;Kay,《生物化学期刊 (Biochem. J.)》314:361,1996)。其它哺乳动物物种、酵母和其它生物体中的同源FKBP蛋白在本领域中也是已知的并且可以用于本文所公开的融合蛋白中。特定实施例中设想的FKBP结构域将能够与雷帕霉素或其雷帕霉素类似物结合并且参与与含FRB的蛋白质的三分复合物 (如可以通过用于检测这种结合的任何直接或间接的方式确定的)。

[0369] 适于在特定实施例中设想的DARIC中使用的FKBP结构域的说明性实例包括但不限于：优选地从人FKBP12蛋白 (基因库登录号AAA58476.1) 中分离的天然存在的FKBP肽序列或从其中分离、从另一种人FKBP中分离、从鼠类或其它哺乳动物FKBP中分离、或从其它某种动物、酵母或真菌FKBP中分离的肽序列；天然存在的FKBP序列的变体，其中天然存在的肽的至多约十个氨基酸、或约1个到约5个氨基酸、或约1个到约3个氨基酸、或在一些实施例中仅一个氨基酸已经缺失、被插入或被取代；或由核酸分子或DNA序列编码的肽序列，所述核酸分子能够与对天然存在的FKBP进行编码的DNA分子选择性地杂交，所述DNA序列将会能够仅出于遗传密码的简并性而与对天然存在的FKBP进行编码的DNA分子选择性地杂交。

[0370] 适于在特定实施例中设想的DARIC中使用的多聚化结构域对的其它说明性实例包括但不限于包含FKBP和FRB、FKBP和钙调磷酸酶、FKBP和亲环素、FKBP和细菌DHFR、钙调磷酸酶和亲环素、PYL1和ABI1、或GIB1和GAI、或其变体。

[0371] 在又其它实施例中，抗桥接因子阻断信号传导多肽和结合多肽与桥接因子的缔合。例如，环孢菌素或FK506可以用作抗桥接因子以滴定雷帕霉素并且因此停止信号传导，因为结合了仅一个多聚化结构域。在某些实施例中，抗桥接因子 (例如，环孢菌素、FK506) 是免疫抑制剂。例如，免疫抑制抗桥接因子可以用于阻断或最小化特定实施例中设想的DARIC组分的功能并且同时抑制或阻断临床环境中不想要的或病理学炎性应答。

[0372] 在一个实施例中，第一多聚化结构域包括FRB T2098L，第二多聚化结构域包括

FKBP12,并且桥接因子是雷帕霉素类似物AP21967。

[0373] 在另一个实施例中,第一多聚化结构域包括FRB,第二多聚化结构域包括FKBP12,并且桥接因子是雷帕霉素、替西罗莫司或依维莫司。

[0374] 在特定实施例中,信号传导多肽、第一跨膜结构域和结合多肽包括第二跨膜结构域或GPI锚。第一跨膜结构域和第二跨膜结构域的说明性实例从独立地选自由以下组成的组的多肽中分离:CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 γ 、CD3 ζ 、CD4、CD5、CD8 α 、CD9、CD 16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD 134、CD137、CD152、CD154、AMN和PD-1。

[0375] 在一个实施例中,信号传导多肽包括一个或多个细胞内共刺激信号传导结构域和/或初级信号传导结构域。

[0376] 适于在特定实施例中设想的DARIC信号传导组分中使用的初级信号传导结构域的说明性实例包含衍生自FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD22、CD79a、CD79b和CD66d的那些。在特定的优选实施例中,DARIC信号传导组分包括CD3 ζ 初级信号传导结构域和一个或多个共刺激信号传导结构域。细胞内初级信号传导结构域和共刺激信号传导结构域可以按任何顺序与跨膜结构域的羧基末端串联连接。

[0377] 适于在特定实施例中设想的DARIC信号传导组分中使用的这种共刺激分子的说明性实例包含TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、CARD11、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54 (ICAM)、CD83、CD134 (OX40)、CD137 (4-1BB)、CD278 (ICOS)、DAP10、LAT、NKD2C、SLP76、TRIM和ZAP70。在一个实施例中,DARIC信号传导组分包括选自由CD28、CD137和CD134组成的组的一个或多个共刺激信号传导结构域以及CD3 ζ 初级信号传导结构域。

[0378] 在特定实施例中,DARIC结合组分包括结合结构域。在一个实施例中,结合结构域是抗体或其抗原结合片段。

[0379] 抗体或其抗原结合片段包括至少轻链或重链免疫球蛋白可变区,所述轻链或重链免疫球蛋白可变区特异性地识别并结合靶抗原的表位,如肽、脂质、多糖或含有抗原决定簇的核酸,如通过免疫细胞识别的那些。抗体包含抗原结合片段,例如骆驼Ig (骆驼科抗体或其VHH片段)、Ig NAR、Fab片段、Fab'片段、F(ab)'2片段、F(ab)'3片段、Fv、单链Fv抗体("scFv")、双-scFv、(scFv)2、迷你抗体、双抗体、三抗体、四抗体、二硫化物稳定化Fv蛋白("dsFv")和单结构域抗体(sdAb,纳米抗体)或其其它抗体片段。所述术语还包含基因工程化形式,如嵌合抗体(例如,人源化鼠类抗体)、异源缀合抗体(如双特异性抗体)及其抗原结合片段。还参见《皮尔斯目录与手册》,1994-1995 (伊利诺伊州罗克福德市皮尔斯化学公司);Kuby,《免疫学期刊》,第3版,W.H. 弗里曼公司,纽约,1997。

[0380] 在一个优选实施例中,结合结构域是scFv。

[0381] 在另一个优选实施例中,结合结构域是骆驼科动物抗体。

[0382] 在特定实施例中,DARIC结合组分包括结合选自由以下组成的组的抗原的细胞外结构域: α 叶酸受体、5T4、 α v β 6整联蛋白、BCMA、B7-H3、B7-H6、CAIX、CD16、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD79a、CD79b、CD123、CD138、CD171、CEA、CSPG4、EGFR、包含ErbB2 (HER2) 的EGFR家族、EGFRvIII、EGP2、EGP40、EPCAM、EphA2、EpCAM、FAP、胎儿AchR、FR α 、GD2、GD3、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 (GPC3)、HLA-A1+MAGE1、HLA-A2+MAGE1、HLA-A3+MAGE1、HLA-A1+NY-ESO-1、HLA-A2+NY-ESO-1、HLA-A3+NY-ESO-1、IL-11R α 、IL-13R α 2、 λ 、

Lewis-Y、 κ 、间皮素、Muc1、Muc16、NCAM、NKG2D配体、NY-ESO-1、PRAME、PSCA、PSMA、ROR1、SSX、存活蛋白、TAG72、TEM、VEGFR2以及WT-1。

[0383] 在一个实施例中，DARIC结合组分包括细胞外结构域，例如结合如I类MHC-肽复合物或II类MHC-肽复合物等MHC-肽复合物的抗体或其抗原结合片段。

[0384] 在特定实施例中，本文所设想的DARIC组分包括连接两个蛋白质、多肽、肽、结构域、区或基序的连接子或间隔子。在某些实施例中，连接子包括约两个到约35个氨基酸、或约四个到约20个氨基酸、或约八个到约15个氨基酸、或约15个到约25个氨基酸。在其它实施例中，间隔子可以具有特定结构，如抗体CH2CH3结构域、铰链结构域等。在一个实施例中，间隔子包括IgG1、IgG4或IgD的CH2结构域和CH3结构域。

[0385] 在特定实施例中，本文所设想的DARIC组分包括一个或多个“铰链结构域”，所述一个或多个铰链结构域在定位结构域以实现适当的细胞/细胞接触、抗原结合和活化中起作用。DARIC可以包括在结合结构域与多聚化结构域和/或跨膜结构域(TM)之间或在多聚化结构域与跨膜结构域之间的一个或多个铰链结构域。铰链结构域可以衍生自天然的、合成的、半合成的或重组的来源。铰链结构域可以包含天然存在的免疫球蛋白铰链区或更改的免疫球蛋白铰链区的氨基酸序列。在特定实施例中，铰链是CD8 α 铰链或CD4铰链。

[0386] 在一个实施例中，DARIC包括信号传导多肽，所述信号传导多肽包括FRB T2098L的第一多聚化结构域、CD8跨膜结构域、4-1BB共刺激结构域和CD3 ζ 初级信号传导结构域；结合多肽包括结合CD19的scFv、FKBP12的第二多聚化结构域和CD4跨膜结构域；并且桥接因子是雷帕霉素类似物AP21967。

[0387] 在一个实施例中，DARIC包括信号传导多肽，所述信号传导多肽包括FRB的第一多聚化结构域、CD8跨膜结构域、4-1BB共刺激结构域和CD3 ζ 初级信号传导结构域；结合多肽包括结合CD19的scFv、FKBP12的第二多聚化结构域和CD4跨膜结构域；并且桥接因子是雷帕霉素、替西罗莫司或依维莫司。

[0388] 4. Zetakine

[0389] 在各个实施例中，免疫效应细胞包括将细胞毒性重定向到肿瘤细胞的嵌合细胞因子受体。zetakine是包括以下的嵌合跨膜免疫受体：细胞外结构域，其包括与能够将细胞外结构域栓系到细胞表面的支持区连接的可溶性受体配体；跨膜区；以及细胞内信号传导结构域。当在T淋巴细胞的表面上表达时，zetakine将T细胞活性引导到表达可溶性受体配体针对其具有特异性的受体的那些细胞。zetakine嵌合免疫受体对T细胞的抗原特异性进行重定向，尤其是经由人类恶性肿瘤所利用的自分泌/旁分泌细胞因子系统应用于治疗各种癌症。

[0390] 在特定实施例中，本文所设想的免疫效应细胞包括zetakine受体的一条或多条链和CTBR信号转换器。在一个实施例中，通过引入对通过一个或多个多肽切割信号分开的zetakine受体的一条或多条链和CTBR信号转换器进行编码的多核苷酸或载体来工程化T细胞。在一个实施例中，通过引入对zetakine受体的一条或多肽链进行编码的多核苷酸或载体和对CTBR信号转换器进行编码的多核苷酸或载体来工程化T细胞。在一个实施例中，通过引入对CTBR信号转换器进行编码的多核苷酸或载体来进一步工程化被工程化以表达zetakine受体的一条或多肽链的T细胞。

[0391] 在特定实施例中，zetakine包括免疫抑制细胞因子或其细胞因子受体结合变体、

连接子、跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。

[0392] 在特定实施例中,细胞因子或其细胞因子受体结合变体选自由以下组成的组:白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-10(IL-10)和白细胞介素-13(IL-13)。

[0393] 在某些实施例中,连接子包括CH2CH3结构域、铰链结构域等。在一个实施例中,连接子包括IgG1、IgG4或IgD的CH2结构域和CH3结构域。在一个实施例中,连接子包括CD8 α 或CD4铰链结构域。

[0394] 在特定实施例中,跨膜结构域选自由以下组成的组:T细胞受体的 α 链或 β 链、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 γ 、CD3 ζ 、CD4、CD5、CD8 α 、CD9、CD 16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD 134、CD137、CD152、CD154、AMN和PD-1。

[0395] 在特定实施例中,细胞内信号传导结构域选自由以下组成的组:含ITAM初级信号传导结构域和/或共刺激结构域。

[0396] 在特定实施例中,细胞内信号传导结构域选自由以下组成的组:FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD22、CD79a、CD79b和CD66d。

[0397] 在特定实施例中,细胞内信号传导结构域选自由以下组成的组:TLR1、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TLR10、CARD11、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54(ICAM)、CD83、CD134(OX40)、CD137(4-1BB)、CD278(ICOS)、DAP10、LAT、NKD2C、SLP76、TRIM和ZAP70。

[0398] 在一个实施例中,嵌合细胞因子受体包括选自由CD28、CD137和CD134组成的组的一个或多个共刺激信号传导结构域以及CD3 ζ 初级信号传导结构域。

[0399] E. 多肽

[0400] 本文中设想了各种多肽,包括但不限于TGF β 信号转换器多肽、CTBR、工程化TCR、CAR、DARIC、zetakine、包括前述多肽的融合多肽及其片段。在优选实施例中,多肽包括SEQ ID NO:1到71中任一个所述的氨基酸序列。除非相反地规定,否则“多肽”、“肽”和“蛋白质”可互换使用,并且根据常规含义即作为氨基酸序列使用。在一个实施例中,“多肽”包含融合多肽和其它变体。多肽可以使用各种公知的重组和/或合成技术中的任何一种技术制备。多肽不限于具体长度,例如,多肽可以包括全长蛋白序列、全长蛋白的片段或融合蛋白,并且可以包含多肽的转译后修饰例如糖基化、乙酰化、磷酸化等以及本领域中已知的天然存在的和非天然存在的其它修饰。

[0401] 如本文所使用的,“分离的肽”或“分离的多肽”等指代从细胞环境中和从与细胞的其它组分的缔合中体外分离和/或纯化而来的肽或多肽分子,即,肽或多肽分子与体内物质未显著缔合。

[0402] 多肽包含“多肽变体”。多肽变体与天然存在的多肽的不同之处可以在于一个或多个取代、缺失、添加和/或插入。这种变体可以是天然存在的或可以通过合成生成,例如通过修饰上述多肽序列中的一个或多个。例如,在特定实施例中,可以期望通过将一个或多个取代、缺失、添加和/或插入引入到多肽中来改进多肽的结合亲和力和/或其它生物性质。在特定实施例中,多肽包含与本文所设想的参考序列中的任何一个有至少约65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、86%、97%、

98%或99%氨基酸一致性的多肽,通常其中变体维持参考序列的至少一种生物活性。

[0403] 多肽变体包含生物活性“多肽片段”。具有生物活性的多肽片段的说明性实例包含DNA结合结构域、核酸酶结构域等。如本文所使用的,术语“生物活性片段”或“最小生物活性片段”指代保留天然存在的多肽活性的至少100%、至少90%、至少80%、至少70%、至少60%、至少50%、至少40%、至少30%、至少20%、至少10%或至少5%的多肽片段。在某些实施例中,多肽片段可以包括长度为至少5个到约1700个氨基酸的氨基酸链。应理解,在某些实施例中,片段的长度为至少5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个、21个、22个、23个、24个、25个、26个、27个、28个、29个、30个、31个、32个、33个、34个、35个、36个、37个、38个、39个、40个、41个、42个、43个、44个、45个、46个、47个、48个、49个、50个、55个、60个、65个、70个、75个、80个、85个、90个、95个、100个、110个、150个、200个、250个、300个、350个、400个、450个、500个、550个、600个、650个、700个、750个、800个、850个、900个、950个、1000个、1100个、1200个、1300个、1400个、1500个、1600个、1700个或更多个氨基酸。

[0404] 在特定实施例中,本文所述的多肽可以包括表示为“X”的一个或多个氨基酸。“X”如果存在于氨基酸SEQ ID NO中则指代任何一个或多个氨基酸。在特定实施例中,表示融合蛋白的SEQ ID NO包括累积地代表任何氨基酸序列的连续X残基的序列。

[0405] 如上文中指出的,可以通过多种方法来更改多肽,包含氨基酸取代、缺失、截短和插入。用于这种操纵的方法通常是本领域中已知的。例如,参考多肽的氨基酸序列变体可以通过DNA中的突变来制备。用于诱变和核苷酸序列更改的方法是本领域中公知的。参见例如Kunkel (1985,《美国国家科学院院刊》,82:488-492);Kunkel等人(1987,《酶学方法(Methods in Enzymol)》,154:367-382);美国专利号4,873,192;Watson,J.D.等人(《基因分子生物学(Molecular Biology of the Gene)》,第四版,本杰明/卡明斯出版公司(Benjamin/Cummings),门洛帕克,加利福尼亚州,1987);以及本文所引用的参考文献。关于不影响所关注的蛋白质的生物活性的适当氨基酸取代的指南可以在Dayhoff等人,(1978)《蛋白序列和结构图谱(Atlas of Protein Sequence and Structure)》(美国国家生物医学研究基金会(Natl.Biomed.Res.Found.),华盛顿特区)的模型中找到。

[0406] 在某些实施例中,多肽变体包括一个或多个保守取代。“保守取代”是这样的取代:氨基酸被具有类似性质的另一个氨基酸取代,从而使得肽化学领域的技术人员会预期多肽的次级结构和亲水性基本上不变。修饰可以针对特定实施例中设想的多核苷酸和多肽的结构进行并且仍然获得了对具有期望特性的变体或衍生多肽进行编码的功能分子。当期望更改多肽的氨基酸序列以产生等效的或甚至改进的变体多肽时,本领域技术人员例如可以例如根据表1改变编码DNA序列的密码子中的一个或多个。

[0407] 表1—氨基酸密码子

[0408]

氨基酸	单字母代码	三字母代码	密码子			
丙氨酸	A	Ala	GCA	GCC	GCG	GCU
半胱氨酸	C	Cys	UGC	UGU		
天冬氨酸	D	Asp	GAC	GAU		
谷氨酸	E	Glu	GAA	GAG		
苯丙氨酸	F	Phe	UUC	UUU		

[0409]

甘氨酸	G	Gly	GGA	GGC	GGG	GGU
组氨酸	H	His	CAC	CAU		
异亮氨酸	I	Iso	AUA	AUC	AUU	
赖氨酸	K	Lys	AAA	AAG		
亮氨酸	L	Leu	UUA	UUG	CUA	CUC
蛋氨酸	M	Met	AUG			
天冬酰胺	N	Asn	AAC	AAU		
脯氨酸	P	Pro	CCA	CCC	CCG	CCU
谷氨酰胺	Q	Gln	CAA	CAG		
精氨酸	R	Arg	AGA	AGG	CGA	CGC
丝氨酸	S	Ser	AGC	AGU	UCA	UCC
苏氨酸	T	Thr	ACA	ACC	ACG	ACU
缬氨酸	V	Val	GUA	GUC	GUG	GUU
色氨酸	W	Trp	UGG			
酪氨酸	Y	Tyr	UAC	UAU		

[0410] 可以使用本领域中公知的计算机程序如DNASTAR、DNA Strider、Geneious、MacVector或Vector NTI软件找到关于确定哪些氨基酸残基可以被取代、插入或缺失而不消除生物活性的指南。优选地,本文公开的蛋白质变体的氨基酸变化是保守氨基酸变化,即带类似电荷或不带电荷的氨基酸的取代。保守氨基酸变化涉及在其侧链方面相关的氨基酸家族中的一个的取代。天然存在的氨基酸通常分为四个家族:酸性氨基酸(天冬氨酸、谷氨酸)、碱性氨基酸(赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、非极性氨基酸(丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、色氨酸)和不带电极性氨基酸(甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、半胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸)。苯丙氨酸、色氨酸和酪氨酸有时被共同分类为芳族氨基酸。在肽或蛋白质中,氨基酸的适合的保守取代对本领域技术人员而言是已知的并且通常可以在不更改所得分子的生物活性的情况下进行。本领域技术人员应认识到,通常,在多肽的非必要区中的单个氨基酸取代基本上不更改生物活性(参见例如Watson等人,《基因分子生物学》,第4版,1987,本杰明/卡明斯出版公司(Benjamin/Cummings PubCo.),第224页)。

[0411] 在一个实施例中,在期望表达两个或更多个多肽的情况下,如本文中其它地方所公开的,对所述两个或多个多肽进行编码的多核苷酸序列可以通过IRES序列分开。

[0412] 特定实施例中设想的多肽包含融合多肽。在特定实施例中,提供了融合多肽和对融合多肽进行编码的多核苷酸。融合多肽和融合蛋白指代具有至少两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个或十个多肽区段的多肽。

[0413] 在另一个实施例中,可以将两个或更多个多肽表达为包括如本文中其它地方所公开的一个或多个自切割多肽序列的融合蛋白。

[0414] 融合多肽可以包括:一个或多个多肽结构域或片段,包括但不限于信号肽、细胞渗透性肽结构域(CPP)、DNA结合结构域、核酸酶结构域等;表位标签(例如,麦芽糖结合蛋白(“MBP”)、谷胱甘肽S转移酶(GST)、HIS6、MYC、FLAG、V5、VSV-G和HA);多肽连接子;以及多肽切割信号。融合多肽通常是C末端与N末端连接的,但是融合多肽还可以是C末端与C末端、N末端与N末端或N末端与C末端连接的。在特定实施例中,融合蛋白的多肽可以是任何顺序。融合多肽或融合蛋白还可以包含保守修饰的变体、多态变体、等位基因、突变体、子序列和种间同系物,只要保持了融合多肽的期望活性即可。融合多肽可以通过化学合成法或通过

这两个部分之间的化学连接产生,或者通常可以使用其它标准技术制备。如本文中其它地方所公开的,包括融合多肽的连接的DNA序列与适合的转录或转译控制元件可操作地连接。

[0415] 融合多肽可以任选地包括可以用于连接多肽内的一个或多个多肽或结构域的连接子。肽连接子序列可以用于将任何两种或更多种多肽组分分离足够的距离,以确保每种多肽折叠成其合适的次级结构和三级结构,从而允许多肽结构域发挥其所期望功能。这种肽连接子序列使用本领域中的标准技术并入到融合多肽中。适合的肽连接子序列可以基于以下因素进行选择:(1)其能够采用灵活的扩展构象;(2)其不能采用可以与第一多肽和第二多肽上的功能性表位相互作用的次级结构;以及(3)缺乏可以与多肽功能性表位反应的疏水残基或带电残基。优选的肽连接子序列包含Gly、Asn和Ser残基。还可以在连接子序列中使用其它近中性氨基酸,如Thr和Ala。可以有效地用作连接子的氨基酸序列包含以下文献中公开的那些:Maratea等人,《基因(Gene)》40:39-46,1985;Murphy等人,《美国国家科学院院刊》83:8258-8262,1986;美国专利号4,935,233;以及美国专利号4,751,180。当特定融合多肽片段包含可以用于将功能结构域分开并防止空间干扰的非必需N末端氨基酸区时,不需要连接子序列。优选的连接子通常是被合成为重组融合蛋白的一部分的柔性氨基酸子序列。连接子多肽可以为长度在1个与200个氨基酸之间、长度在1个与100个氨基酸之间或者长度在1个与50个氨基酸之间,包含其间的所有整数值。

[0416] 示例性多肽切割信号包含多肽切割识别位点,如蛋白酶切割位点、核酸酶切割位点(例如,稀有限制酶识别位点、自切割核酶识别位点)和自切割病毒寡肽(参见deFelipe和Ryan,2004.《转运(Traffic)》,5(8),616-26)。

[0417] 适合的蛋白酶切割位点和自切割肽对于本领域技术人员而言是已知的(参见例如Ryan等人,1997.《普通病毒学期刊(J. Gener. Virol)》78,699-722;Scymczak等人,(2004)《自然生物技术(Nature Biotech.)》5,589-594)。示例性蛋白酶切割位点包括但不限于以下的切割位点:马铃薯Y病毒NIa蛋白酶(例如,烟草蚀纹病毒蛋白酶)、马铃薯Y病毒HC蛋白酶、马铃薯Y病毒P1(P35)蛋白酶、自带病毒(byovirus)NIa蛋白酶、自带病毒RNA-2编码蛋白酶、口疮病毒L蛋白酶、肠病毒2A蛋白酶、鼻病毒2A蛋白酶、病毒科3C蛋白酶、豇豆花叶病毒24K蛋白酶、线虫传多面体病毒24K蛋白酶、RTSV(水稻东格鲁球形病毒)3C样蛋白酶、PYVF(欧洲防风黄点病毒)3C样蛋白酶、肝素、凝血酶、因子Xa以及肠激酶。由于其的高切割严格性,在一个实施例中,优选TEV(烟草蚀纹病毒)蛋白酶切割位点,例如EXXYXQ(G/S)(SEQ ID NO:47),例如ENLYFQG(SEQ ID NO:48)和ENLYFQS(SEQ ID NO:49),其中X表示任何氨基酸(通过TEV进行的切割发生在Q与G或Q与S之间)。

[0418] 在某些实施例中,自切割多肽位点包括2A或2A样位点、序列或结构域(Donnelly等人,2001.《普通病毒学期刊》,82:1027-1041)。在特定实施例中,病毒2A肽是口疮病毒2A肽、马铃薯Y病毒2A肽或心脏病毒2A肽。

[0419] 在一个实施例中,病毒2A肽选自由以下组成的组:口蹄疫病毒(FMDV)(F2A)肽、马A型鼻炎病毒(ERAV)(E2A)肽、明脉扁刺蛾β四体病毒(TaV)(T2A)肽、猪捷申病毒-1(PTV-1)(P2A)肽、泰勒病毒2A肽以及脑心肌炎病毒2A肽。

[0420] 表2中提供了2A位点的说明性实例。

[0421] 表2:

[0422]

SEQ ID NO: 50	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP
SEQ ID NO: 51	ATNFSLLKQAGDVEENPGP
SEQ ID NO: 52	LLKQAGDVEENPGP
SEQ ID NO: 53	GSGEGRGSLTTCGDVEENPGP
SEQ ID NO: 54	EGRGSLTTCGDVEENPGP
SEQ ID NO: 55	LLTCGDVEENPGP
SEQ ID NO: 56	GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 57	QCTNYALLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 58	LLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 59	GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 60	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 61	LLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 62	LLNFDLLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 63	TLNFDLLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 64	LLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 65	NFDLLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 66	QLNFDLLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 67	APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 68	VTELLYRMKRAETCYCPRLAIHPTEARHKQKIVAPVKQT
SEQ ID NO: 69	LNFDLLKLAGDVESNPGP

[0423]

SEQ ID NO: 70	LLAIHPTEARHKQKIVAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
SEQ ID NO: 71	EARHKQKIVAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

[0424] 在优选的实施例中,多肽包括CTBR信号转导多肽。

[0425] F. 多核苷酸

[0426] 在特定实施例中,提供了对TGFβ信号转换器进行编码的多肽、CTBR、工程化TCR、CAR、DARIC、zetakine、包括前述多肽的融合蛋白及其片段。如本文所使用的,术语“多核苷酸”或“核酸”指代脱氧核糖核酸(DNA)、核糖核酸(RNA)和DNA/RNA杂合体。多核苷酸可以是单链的或双链的并且重组的、合成的或分离的。多核苷酸包含但不限于:前信使RNA(前mRNA)、信使RNA(mRNA)、RNA、短干扰RNA(siRNA)、短发夹RNA(shRNA)、微RNA(miRNA)、核酶、基因组RNA(gRNA)、正链RNA(RNA(+))、负链RNA(RNA(-))、tracrRNA、crRNA、单指导RNA(sgRNA)、合成RNA、合成mRNA、基因组DNA(gDNA)、PCR扩增DNA、互补DNA(cDNA)、合成DNA或重组DNA。多核苷酸指代长度为至少5个、至少10个、至少15个、至少20个、至少25个、至少30个、至少40个、至少50个、至少100个、至少200个、至少300个、至少400个、至少500个、至少1000个、至少5000个、至少10000个或至少15000个或更多个核苷酸的核苷酸聚合形式、核糖核苷酸或脱氧核糖核苷酸或者任一类型的核苷酸的经过修饰的形式、以及所有中间长度。应当容易理解的是,在这个上下文中,“中间长度”意指在引用值之间的任何长度,如6、7、8、9等;101、102、103等;151、152、153等;201、202、203等。在特定实施例中,多核苷酸或变体与参考序列具有至少或者约50%、55%、60%、65%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的序列一致性。

[0427] 在特定实施例中,多核苷酸可以是经过密码子优化的。如本文所使用的,术语“经过密码子优化的”指代取代对多肽进行编码的多核苷酸中的密码子以增加多肽的表达、稳定性和/或活性。影响密码子优化的因素包含但不限于以下中的一种或多种:(i)两个或更多个生物体或基因之间的密码子偏倚或者合成地构成的偏倚表格的变化;(ii)生物体、基

因或基因组内的密码子偏倚度的变化；(iii) 包含背景在内的密码子的系统变化；(iv) 密码子根据其解码tRNA的变化；(v) 密码子根据GC%在总体上或在三联体中的一个位置处的变化；(vi) 与参考序列例如天然存在的序列的相似度的变化；(vii) 密码子频率截止的变化；(viii) 从DNA序列转录的mRNA的结构性质；(ix) 关于设计密码子取代组所基于的DNA序列的功能的先验知识；(x) 每个氨基酸的密码子组的系统变化；和/或(xi) 假性转译起始位点的经过分离的移除。

[0428] 如本文所使用的，术语“核苷酸”指代与磷酸化糖呈N-糖苷连接的杂环含氮碱基。核苷酸被理解成包含天然碱基和各种经过本领域认可的经过修饰的碱基。这种碱基通常位于核苷酸糖部分的1'位置处。核苷酸通常包括碱基、糖和磷酸基。在核糖核酸(RNA)中，糖为核糖，并且在脱氧核糖核酸(DNA)中，糖为脱氧核糖，即缺少核糖中存在的羟基的糖。示例性天然含氮碱基包含嘌呤、腺苷(A)和胍(G)以及嘧啶、胞苷(C)和胸苷(T) (或在RNA的背景下，尿嘧啶(U))。脱氧核糖的C-1原子与嘧啶的N-1或嘌呤的N-9键合。核苷酸通常是单磷酸、二磷酸或三磷酸。核苷酸可以是未经修饰的或者在糖、磷酸和/或碱基部分进行修饰(也可互换地被称为核苷酸类似物、核苷酸衍生物、经过修饰的核苷酸、非天然核苷酸和非标准核苷酸；参见例如，WO 92/07065和WO 93/15187)。由Limbach等人(1994,《核酸研究(Nucleic Acids Res.)》22,2183-2196)总结了经过修饰的核酸碱基的实例。

[0429] 核苷酸也可以被认为是核苷的磷酸酯，酯化发生在与糖的C-5附接的羟基上。如本文所使用的，术语“核苷”指代与糖呈N-糖苷连接的杂环含氮碱基。核苷在本领域中被认为包含天然碱基并且还包含公知的经过修饰的碱基。这种碱基通常位于核苷糖部分的1'位置处。核苷通常包括碱基和糖基。核苷可以是未经修饰的或者在糖和/或碱基部分进行修饰(也可互换地被称为核苷类似物、核苷衍生物、经过修饰的核苷、非天然核苷或非标准核苷)。也如上文所述，由Limbach等人(1994,《核酸研究》22,2183-2196)总结了经过修饰的核酸碱基的实例。

[0430] 多核苷酸的说明性实例包含但不限于对SEQ ID NO:1-71进行编码的多核苷酸。

[0431] 在各个说明性实施例中，本文所设想的多核苷酸包含但不限于对TGFβ信号转换器进行编码的多核苷酸、CTBR信号转换器、工程化抗原受体、融合多肽和表达载体、病毒载体以及包括本文所设想的多核苷酸的转移质粒。

[0432] 如本文所使用的，术语“多核苷酸变体”和“变体”等指代显示出与参考多核苷酸序列或在下文中定义的严格条件下与参考序列杂交的多核苷酸具有实质性序列一致性的多核苷酸。这些术语还涵盖了与参考多核苷酸的区别在于至少一个核苷酸的添加、缺失、取代或修饰的多核苷酸。因此，术语“多核苷酸变体”和“变体”包含这样的多核苷酸：已经用不同核苷酸添加或缺失或修饰或代替一个或多个核苷酸。在此方面，本领域中充分理解的是，可以对参考多核苷酸作出包含突变、添加、缺失和取代在内的某些更改，由此更改的多核苷酸保留参考多核苷酸的生物功能或活性。

[0433] 在一个实施例中，多核苷酸包括在严格条件下与靶核酸序列杂交的核苷酸序列。在“严格条件”下杂交描述了这样的杂交方案：彼此至少60%相同的核苷酸序列维持杂交。通常，严格条件在限定的离子强度和pH下被选择为比特定序列的热熔点(T_m)低约5°C。 T_m 是温度(在限定的离子强度、pH和核酸浓度下)，在所述温度下，与靶序列互补的探针中的50%在平衡时与靶序列杂交。由于靶序列通常过量存在，所以在 T_m 下，探针中的50%在平衡时被

占据。

[0434] 如本文所使用的,陈述“序列一致性”或例如包括“与……50%相同的序列”指代在比较窗口内,序列在逐个核苷酸的基础上或在逐个氨基酸的基础上相同的程度。因此,“序列一致性百分比”可以通过以下方式计算:在比较窗口内比较两个经过最佳比对的序列;确定相同的核酸碱基(例如,A、T、C、G、I)或相同的氨基酸残基(例如,Ala、Pro、Ser、Thr、Gly、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、Lys、Arg、His、Asp、Glu、Asn、Gln、Cys和Met)出现在这两个序列中的位置数以得到匹配位置数;将匹配位置数除以比较窗口中的位置总数(即,窗口大小);以及将结果乘以100以得到序列一致性百分比。包含与本文所描述的参考序列中的任何一个具有至少约50%、55%、60%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、86%、97%、98%或99%序列一致性的核苷酸和多肽,通常其中多肽变体维持参考多肽的至少一种生物活性。

[0435] 用于描述两个或更多个多核苷酸或多肽之间的序列关系的术语包含“参考序列”、“比较窗口”、“序列一致性”、“序列一致性百分比”和“实质性一致性”。“参考序列”的长度为至少12个、但通常为15个到18个并且经常为至少25个单体单元,包含核苷酸和氨基酸残基。因为两个多核苷酸可以各自包括(1)在这两个多核苷酸之间类似的序列(即,完整多核苷酸序列的仅一部分)和(2)在这两个多核苷酸之间存在差异的序列,两个(或更多个)多核苷酸之间的序列比较通常通过以下执行:在“比较窗口”内比较这两个多核苷酸的序列以识别和比较具有序列相似性的局部区。“比较窗口”指代具有至少6个连续位置的概念性区段,通常为约50个到约100个,更通常为约100个到约150个,其中序列与具有相同数目的连续位置的参考序列在这两个序列进行最佳比对后进行比较。比较窗口可以包括与参考序列(所述参考序列不包括添加或缺失)相比约20%或更少的添加或缺失(即,缺口)以用于这两个序列的最佳比对。用于比对比较窗口的序列的最佳比对可以通过算法的计算机化实施方案(美国威斯康星州麦迪逊科学大道575号遗传学电脑集团(Genetics Computer Group, 575 Science Drive Madison, WI, USA)的威斯康星遗传学软件包7.0版本(Wisconsin Genetics Software Package Release 7.0)的GAP、BESTFIT、FASTA和TFASTA)或者通过检查和由所选择的各种方法中的任何一种生成的最佳比对(即,导致比较窗口内的最高百分比同源性)来进行。还可以参考例如通过Altschul等人,1997,《核酸研究》25:3389公开的BLAST程序家族。序列分析的详细讨论可以见于Ausubel等人,《当代分子生物学实验手册》,约翰威立父子公司(John Wiley&Sons, Inc.), 1994-1998,第15章,第19.3单元。

[0436] 如本文所使用的,“分离的多核苷酸”是指已经从其两侧的处于天然存在状态的序列纯化的多核苷酸,例如,已经从通常与其相邻的序列移除的DNA片段。“分离的多核苷酸”还指互补DNA(cDNA)、重组DNA或自然中不存在且已经通过人手制造的其它多核苷酸。

[0437] 在各个实施例中,多核苷酸包括编码本文所设想的多肽的mRNA。在某些实施例中,mRNA包括帽、一个或多个核苷酸和poly(A)尾。

[0438] 描述多核苷酸朝向的术语包含:5' (通常是具有游离磷酸基团的多核苷酸的末端)和3' (通常是具有游离羟基(OH)基团的多核苷酸的末端)。多核苷酸序列可以以5'-3'朝向或3'-5'朝向注释。对于DNA和mRNA,5'-3'链被指定为“有义”链、“正”链或“编码”链,因为其序列与前信使(前mRNA)的序列是一致的[RNA中的尿嘧啶(U)而非DNA中的胸腺嘧啶(T)除

外]。对于DNA和mRNA,作为由RNA聚合酶转录的链的互补3'-5'链被指定为“模板”链、“反义”链、“负”链或“非编码”链。如本文所使用的,术语“相反取向”是指以3'-5'朝向书写的5'-3'序列或以5'-3'朝向书写的3'-5'序列。

[0439] 术语“互补”和“互补性”是指通过碱基配对规则相关的多核苷酸(即,核苷酸序列)。例如,DNA序列5'A G T C A T G 3'的互补链是3'T C A G T A C 5'。后一个序列常常写成左边为5'末端且右边为3'末端的相反补体5'C A T G A C T 3'。与其相反补体相等的序列被称为回文序列。互补性可以是“部分的”,其中仅一些核酸的碱基根据碱基配对规则是匹配的。或者,核酸之间可以存在“完全”或“全部”的互补性。

[0440] 此外,本领域的普通技术人员应理解,由于遗传密码的简并性,存在许多对多肽或其变体片段进行编码的核苷酸序列,如本文所描述的。这些多核苷酸中的一些与任何天然基因的核苷酸序列具有最小的同源性。尽管如此,在特定实施例具体地设想由于密码子使用的差异而变化的多核苷酸,例如针对人类和/或灵长类动物密码子选择而优化的多核苷酸。在特定实施例中,多核苷酸是针对表达和/或稳定性而优化的密码子。此外,还可以使用包括本文所提供的多核苷酸序列的基因的等位基因。等位基因是由于如核苷酸的缺失、添加和/或取代等一个或多个突变而改变的内源基因。

[0441] 如本文所使用的,术语“核酸盒”或“表达盒”是指载体内可以表达RNA和随后表达多肽的基因序列。在一个实施例中,核酸盒含有一个或多个所关注的基因,例如一个或多个所关注的多核苷酸。在另一个实施例中,核酸盒含有一个或多个表达控制序列,例如,启动子、增强子、poly(A)序列和一个或多个所关注基因,例如,一个或多个所关注多核苷酸。载体可以包括1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个或更多个核酸盒。核酸盒在载体内定位且顺序地朝向,使得可以将盒中的核酸转录成RNA并在必要时转译成蛋白质或多肽、经历在转化细胞中具有活性所需的适当的转译后修饰并且通过将适合的细胞内隔区靶向细胞外隔区或分泌到细胞外隔区而易位到适合的隔区以具有生物活性。优选地,盒使其3'末端和5'末端适于准备插入到载体中,例如,其在每一末端均具有限制性核酸内切酶位点。在优选实施例中,核酸盒含有用于治疗、预防或改善遗传性障碍的治疗基因的序列。盒可以作为单个单元移除和插入到质粒或病毒载体中。

[0442] 多核苷酸包含一个或多个所关注的多核苷酸。如本文所使用的,术语“所关注的多核苷酸”是指对多肽或融合多肽进行编码的多核苷酸或充当用于转录抑制性多核苷酸的模板的多核苷酸,如本文所设想的。

[0443] 如本文其它地方所公开的或如本领域已知的,无论编码序列本身的长度如何,本文所设想的多核苷酸可以与其它DNA序列组合,如启动子和/或增强子、非转译区(UTR)、信号序列、Kozak序列、多腺苷酸化信号、另外的限制酶位点、多克隆位点、内部核糖体进入位点(IRES)、重组酶识别位点(例如,LoxP位点、FRT位点和Att位点)、终止密码子、转录终止信号以及对自切割多肽、表位标记进行编码的多核苷酸,使得所述多核苷酸的总长度可以显著变化。因此设想可以采用几乎任何长度的多核苷酸片段,其总长度优选地受制备的容易性和在预期的重组DNA方案中的使用的限制。

[0444] 可以使用本领域中已知和可用的各种已经确立的技术来制备、操纵、表达和/或递送多核苷酸。为了表达所期望的多肽,可以将对多肽进行编码的核苷酸序列插入到适当的载体中。

[0445] 载体的说明性实例包含但不限于：质粒、自主复制序列和转座元件，例如，睡美人 (Sleeping Beauty)、PiggyBac。

[0446] 载体的另外的说明性实例包含但不限于：质粒、噬菌粒、粘粒、人工染色体如酵母人工染色体 (YAC)、细菌人工染色体 (BAC) 或 P1 衍生的人工染色体 (PAC)、如 λ 噬菌体或 M13 噬菌体等噬菌体以及动物病毒。

[0447] 可以用作载体的病毒的说明性实例包含但不限于：逆转录病毒 (包含慢病毒)、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒 (例如，单纯疱疹病毒)、痘病毒、杆状病毒、乳头瘤病毒以及乳多空病毒 (例如，SV40)。

[0448] 表达载体的说明性实例包含但不限于：用于在哺乳动物细胞中表达的 pCIneo 载体 (普洛麦格公司 (Promega))；用于在哺乳动物细胞中进行慢病毒介导的基因转移和表达的 pLenti4/V5-DESTTM、pLenti6/V5-DESTTM 和 pLenti6.2/V5-GW/lacZ (英杰公司 (Invitrogen))。在特定实施例中，本文所公开的多肽的编码序列可以连接到用于在哺乳动物细胞中表达多肽的此类表达载体中。

[0449] 在特定实施例中，载体是附加型载体或在染色体外维持的载体。如本文所使用的，术语“附加型”是指能够复制而不整合到宿主的染色体 DNA 中且不会从分裂的宿主细胞中逐渐丧失的载体，这还意味着所述载体在染色体外或附加地复制。

[0450] 表达载体中存在的“表达控制序列”、“控制元件”或“调控序列”是载体一复制起点的那些非转译区、选择盒、启动子、增强子、翻译起始信号 (Shine Dalgarno 序列或 Kozak 序列) 内含子、多腺苷酸化序列、5' 和 3' 非转译区一其与宿主细胞蛋白相互作用以进行转录和转译。这些元件的强度和特异性可能不同。根据所利用的载体系统和宿主，可以使用任何数量的合适的转录和转译元件，包含普遍存在的启动子和诱导型启动子。

[0451] 在特定实施例中，多核苷酸包括载体，所述载体包含但不限于表达载体和病毒载体。载体可以包括一种或多种外源、内源或异源控制序列，如启动子和/或增强子。“内源控制序列”是与基因组中的给定基因天然连接的序列。“外源控制序列”是通过基因操纵 (即分子生物学技术) 与被放置成与基因并置使得此基因的转录由所连接的增强子/启动子引导的序列。“异源控制序列”是与被基因操纵的细胞来自不同物种的外源序列。“合成”控制序列可以包括一种或多种内源和/或外源序列和/或在体外或计算机中所确定的为特定疗法提供最佳启动子和/或增强子活性的序列的元件。

[0452] 如本文所使用的，术语“启动子”是指 RNA 聚合酶结合的多核苷酸 (DNA 或 RNA) 的识别位点。RNA 聚合酶启动并转录与启动子可操作地连接的多核苷酸。在特定实施例中，在哺乳动物细胞中起作用的启动子包括位于起始转录位点上游大约 25 个到 30 个碱基的 AT 富含区和/或发现距离转录起始上游 70 个到 80 个碱基的另一个序列，即 N 可以是任何核苷酸的 CNCAAT 区。

[0453] 术语“增强子”是指含有能够提供增强的转录的序列并且在一些情况下可以不依赖于其相对于另一个控制序列的朝向而起作用的 DNA 的区段。增强子可以与启动子和/或其它增强子元件协同地或相加性地起作用。术语“启动子/增强子”是指含有能够提供启动子和增强子两者的功能的序列的 DNA 的区段。

[0454] 术语“可操作地连接”是指并置，其中所描述的组分处于允许其以其预期的方式起作用的关系中。在一个实施例中，所述术语是指核酸表达控制序列 (如启动子和/或增强子)

与第二多核苷酸序列,例如,所关注的多核苷酸之间的功能性连接,其中表达控制序列引导对应于第二序列的核酸的转录。

[0455] 如本文所使用的,术语“组成性表达控制序列”是指连续地或连续不断地允许可操作地连接的序列的转录的启动子、增强子或启动子/增强子。组成性表达控制序列可以是允许在各种各样的细胞和组织类型中表达的“普遍存在的”启动子、增强子或启动子/增强子或分别允许在受限种类的细胞和组织类型中表达的“细胞特异性”、“细胞类型特异性”、“细胞谱系特异性”或“组织特异性”启动子、增强子或启动子/增强子。

[0456] 适合于在特定实施例中的使用的示例性普遍存在的表达控制序列包括但不限于:巨细胞病毒(CMV)立即早期启动子、病毒猿猴病毒40(SV40)(例如,早期或晚期)、莫洛尼鼠白血病毒(MoMLV)LTR启动子、Rous肉瘤病毒(RSV)LTR、单纯疱疹病毒(HSV)(胸苷激酶)启动子、H5、来自牛痘病毒的P7.5启动子和P11启动子、延伸因子1- α (EF1 α)启动子、早期生长应答1(EGF1)、铁蛋白H(FerH)、铁蛋白L(FerL)、甘油醛3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、真核翻译起始因子4A1(EIF4A1)、热休克70kDa蛋白5(HSPA5)、热休克蛋白90kDa β 、成员1(HSP90B1)、热休克蛋白70kDa(HSP70)、 β -驱动蛋白(β -KIN)、人类R0SA26基因座(Irions等人,《自然生物技术(Nature Biotechnology)》,25,1477-1482(2007))、泛素C启动子(UBC)、磷酸甘油酸激酶-1(PGK)启动子、巨细胞病毒增强子/鸡 β -肌动蛋白(CAG)启动子、 β -肌动蛋白启动子和骨髓增殖性肉瘤病毒增强子阴性对照区缺失的dl587rev引物结合位点取代的(MND)启动子(Challita等人,《病毒学期刊(J Virol)》,69(2):748-55(1995))。

[0457] 在一个实施例中,载体包括MND启动子。

[0458] 在一个实施例中,载体包括包含人EF1 α 基因的第一内含子的EF1 α 启动子。

[0459] 在一个实施例中,载体包括缺少人EF1 α 基因的第一内含子的EF1 α 启动子。

[0460] 在特定实施例中,可能期望使用细胞、细胞类型、细胞谱系或组织特异性表达控制序列来实现期望的多核苷酸序列的细胞类型特异性、谱系特异性或组织特异性表达(例如,仅在细胞类型、细胞谱系或组织的子集中或在发育的特定阶段期间表达编码多肽的特定核酸)。

[0461] 在特定实施例中,可能需要将多核苷酸表达为T细胞特异性启动子。

[0462] 如本文所使用的,“条件表达”可以指任何类型的条件表达,包括但不限于:诱导型表达;可抑制表达;具有特定生理、生物或疾病状态等的细胞或组织中表达。此定义不旨在排除细胞类型或组织特异性表达。某些实施例提供了所关注多核苷酸的条件表达,例如,通过使细胞、组织、生物体等经受导致多核苷酸表达或导致由所关注多核苷酸编码的多核苷酸的表达增加或减少的治疗或病状来控制表达。

[0463] 诱导型启动子/系统的说明性实例包括但不限于:类固醇诱导型启动子如编码糖皮质激素或雌激素受体的基因的启动子(通过用对应的激素处理可诱导)、金属硫蛋白启动子(通过各种重金属处理可诱导)、MX-1启动子(通过干扰素可诱导)、“基因开关(GeneSwitch)”米非司酮可调控系统(Sirin等人,2003,《基因(Gene)》,323:67)、cumate诱导型基因开关(WO 2002/088346)、四环素依赖性调控系统等。诱导剂包括但不限于糖皮质激素、雌激素、米非司酮(RU486)、金属、干扰素、小分子、cumate、四环素、多西环素及其变体。

[0464] 还可以通过使用位点特异性DNA重组酶来实现条件表达。根据某些实施例,载体包

括由位点特异性重组酶介导的重组的至少一个(通常两个)位点。如本文所使用的,术语“重组酶”或“位点特异性重组酶”包含切除或整合蛋白、酶、辅因子或参与涉及一个或多个重组位点(例如,两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或更多个)的重组反应的相关蛋白,所述蛋白可以是野生型蛋白质(参见,Landy,《生物技术当前述评(Current Opinion in Biotechnology)》3:699-707(1993))或突变体、衍生物(例如,含有重组蛋白序列或其片段的融合蛋白)、片段及其变体。适合于在特定实施例中使用重组酶的说明性实例包含但不限于:Cre、Int、IHF、Xis、Flp、Fis、Hin、Gin、 Φ C31、Cin、Tn3解离酶、TndX、XerC、XerD、TnpX、Hjc、Gin、SpCCE1和ParA。

[0465] 多核苷酸可以包括各种各样的位点特异性重组酶中的任何一种的一个或多个重组位点。应当理解的是,位点特异性重组酶的靶位点是对整合载体(例如,逆转录载体或慢病毒载体)所需的任何一个或多个位点的补充。如本文所使用的,术语“重组序列”、“重组位点”或“位点特异性重组位点”是指重组酶识别和结合的特定核酸序列。

[0466] 例如,Cre重组酶的一个重组位点是loxP,其是34碱基对序列,所述碱基对序列包括8碱基对核心序列两侧的两个13碱基对反向重复序列(用作重组酶结合位点)(参见图1中Sauer,B.,《生物技术当前述评》,5:521-527(1994))。其它示例性loxP位点包含但不限于:lox511(Hoess等人,1996;Bethke和Sauer,1997)、lox5171(Lee和Saito,1998)、lox2272(Lee和Saito,1998)、m2(Langer等人,2002)、lox71(Albert等人,1995)以及lox66(Albert等人,1995)。

[0467] FLP重组酶的适合的识别位点包含但不限于:FRT(McLeod等人,1996)、 F_1, F_2, F_3 (Schlake和Bode,1994)、 F_4, F_5 (Schlake和Bode,1994)、FRT(LE)(Senecoff等人,1988)、FRT(RE)(Senecoff等人,1988)。

[0468] 识别序列的其它实例为attB序列、attP序列、attL序列和attR序列,其被重组酶 λ 整合酶识别,例如phi-c31。 ϕ C31 SSR介导仅在异型位点attB(长度为34bp)与attP(长度为39bp)之间的重组(Groth等人,2000)。分别以细菌和噬菌体基因组上用于噬菌体整合酶的衔接位点命名的attB和attP均含有可能由 ϕ C31同源二聚体结合的不完全的反向重复序列(Groth等人,2000)。产物位点attL和attR对进一步的 ϕ C31介导的重组具有有效惰性(Belteki等人,2003),使得反应不可逆。对于催化插入,已经发现携带attB的DNA插入基因组attP位点比attP位点插入基因组attB位点更容易(Thyagarajan等人,2001;Belteki等人,2003)。因此,典型策略通过同源重组将带有attP的“对接位点”定位到限定的基因座中,然后所述基因座与带有attB的进入序列配合进行插入。

[0469] 如本文所使用的,“内部核糖体进入位点”或“IRES”是指促进引导内部核糖体进入顺反子(蛋白编码区)的如ATG等起始密码子由此导致基因的帽依赖性翻译的元件。参见例如Jackson等人,1990,《生物化学科学趋势(Trends Biochem Sci)》,15(12):477-83)以及Jackson和Kaminski,1995,《RNA》1(10):985-1000。本领域的技术人员通常采用的IRES的实例包含美国专利第6,692,736号中所描述的IRES。本领域已知的“IRES”的另外的实例包含但不限于可从小核糖核酸病毒(Jackson等人,1990)获得的IRES以及可从病毒或细胞mRNA源获得的IRES,如例如,免疫球蛋白重链结合蛋白(BiP)、血管内皮生长因子(VEGF)(Huez等人,1998,《分子细胞生物学(Mol.Cell.Biol.)》18(11):6178-6190)、成纤维细胞生长因子2(FGF-2)以及胰岛素样生长因子(IGFII)、可翻译起始因子eIF4G与酵母转录因子TFIID和

HAP4、可从Novagen商购获得的脑心肌炎病毒(EMCV) (Duke等人,1992.《病毒学期刊》,66(3):1602-9)和VEGF IRES(Huez等人,1998,《分子细胞生物学》,18(11):6178-90)。在小核糖核酸病毒科、二顺反子病毒科与黄病毒科的病毒基因组以及在HCV、弗里德(Firend)鼠白血病毒(FrMLV)和莫洛尼鼠白血病毒(MoMLV)中也报告了IRES。

[0470] 在一个实施例中,本文所设想的多核苷酸中使用的IRES是EMCV IRES。

[0471] 在特定实施例中,多核苷酸包括具有共有Kozak序列且编码期望的多肽的多核苷酸。如本文所使用的,术语“Kozak序列”是指极大促进mRNA与核糖体的小亚单元的初始结合并增加翻译的短核苷酸序列。共有Kozak序列是(GCC)RCCATGG (SEQ ID NO:72),其中R是嘌呤(A或G) (Kozak,1986,《细胞(Cell.)》,44(2):283-92以及Kozak,1987,《核酸研究》,15(20):8125-48)。

[0472] 引导异源核酸转录物的有效终止和多腺苷酸化的元件增加了异源基因表达。通常在多腺苷酸化信号的下流发现转录终止信号。在特定实施例中,载体包括对待表达多肽进行编码的多核苷酸的3'处的多腺苷酸化序列。如本文所使用的,术语“polyA位点”或“polyA序列”表示通过RNA聚合酶II引导新生RNA转录物的终止和多腺苷酸化的DNA序列。多腺苷酸化序列可以通过向编码序列的3'末端添加polyA尾来促进mRNA稳定性,并且因此有助于提高翻译效率。切割和多腺苷酸化由RNA中的poly(A)序列引导。哺乳动物前mRNA的核心poly(A)序列具有位于切割-多腺苷酸化位点两侧的两个识别元件。通常,几乎不变的AAUAAA六聚体位于富含U或GU残基的更加可变元件的上游20个到50个核苷酸处。新生转录物的切割发生在这两种元件之间,并且与向5'切割产物添加的多达250个腺苷偶联。在特定实施例中,核心poly(A)序列是理想的polyA序列(例如,AATAAA、ATTAAA、AGTAAA)。在特定实施例中,poly(A)序列是SV40polyA序列、牛生长激素polyA序列(BGHpA)、兔β-球蛋白polyA序列(rβgpA)或本领域已知的另一适合的异源或内源polyA序列。

[0473] 在一些实施例中,多核苷酸或携带多核苷酸的细胞利用自杀基因(包含可诱导的自杀基因)来降低直接毒性和/或不受控制的增殖的风险。在特定实施例中,自杀基因对携带多核苷酸或细胞的宿主没有免疫原性。可以使用的自杀基因的某个实例是半胱天冬酶-9或半胱天冬酶-8或胞嘧啶脱氨酶。可以使用特定的二聚化学诱导剂(CID)来活化半胱天冬酶-9。

[0474] 在某些实施例中,多核苷酸包括导致免疫效应细胞(例如,T细胞)易于在体内进行阴性选择的基因片段。“阴性选择”是指由于个体的体内病状的改变而可以消除的输注细胞。阴性可选择表型可以由赋予施用药剂剂例如化合物敏感性的基因的插入而产生。阴性可选择基因在本领域是已知的,并且包含但不限于:赋予更昔洛韦敏感性的单纯疱疹病毒I型胸苷激酶(HSV-I TK)基因(Wigler等人,《细胞》,11:223,1977);细胞次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶(HPRT)基因;细胞腺嘌呤磷酸核糖转移酶(APRT)基因以及细菌胞嘧啶脱氨酶,(Mullen等人,《美国国家科学院院刊》,89:33(1992))。

[0475] 在一些实施例中,如T细胞等基因修饰的免疫效应细胞包括多核苷酸,所述多核苷酸进一步包括能够在体外选择阴性可选择表型的细胞的阳性标志物。阳性可选择标志物可以是基因,其在被引入宿主细胞后表达允许阳性选择携带基因的细胞的显性表型。这种类型的基因是本领域已知的,并且包含但不限于:赋予潮霉素B抗性的潮霉素-B磷酸转移酶基因(hph)、来自编码对抗生素G418的抗性的Tn5的氨基糖苷磷酸转移酶基因(neo或aph)、二

氢叶酸还原酶(DHFR)基因、腺苷脱氨酶基因(ADA)以及多抗药性(MDR)基因。

[0476] 在一个实施例中,阳性可选择标志物与阴性可选择元件连接,使得阴性可选择元件的损失也必然伴随着阳性可选择标志物的丧失。在特定实施例中,阳性可选择标志物和阴性可选择标志物融合,使得一个的丧失必须导致另一个的丧失。作为表达产物产生赋予上文所描述的期望阳性和阴性选择特征的多肽的融合多核苷酸的实例是潮霉素磷酸转移酶胸苷激酶融合基因(HyTK)。此基因的表达产生赋予体外阳性选择的潮霉素B抗性以及体内阴性选择的更昔洛韦敏感性的多肽。还参见S.D.Lupton的公开案PCTUS91/08442和PCT/US94/05601,其描述了使用通过将显性阳性可选择标记与阴性可选择标记融合衍生的双官能可选择融合基因。

[0477] 优选的阳性可选择标志物衍生自选自hph、nco和gpt组成的组的基因,并且优选的阴性可选择标志物衍生自选自胞嘧啶脱氨酶、HSV-I TK、VZV TK、HPRT、APRT和gpt组成的组的基因。在特定实施例中所设想的示例性双功能可选择融合基因包含但不限于其中阳性可选择标志物衍生自hph或neo并且阴性可选择标志物衍生自胞嘧啶脱氨酶或TK基因或可选择标志物的基因。

[0478] 在特定实施例中,编码一种或多种多肽或融合多肽的多核苷酸可以通过非病毒和病毒方法引入到免疫效应细胞中,例如T细胞。在特定实施例中,一种或多种多核苷酸的递送可以通过相同的方法或通过不同的方法和/或通过相同的载体或通过不同的载体来提供。

[0479] 术语“载体”在本文中用于指能够转移或转运另一核酸分子的核酸分子。转移的核酸通常与载体核酸分子连接,例如,插入载体核酸分子中。载体可以包含引导细胞中自主复制的序列,或者可以包含足以允许整合到宿主细胞DNA中的序列。在特定实施例中,非病毒载体用于将本文所设想的一个或多个多核苷酸递送到T细胞。

[0480] 非病毒载体的说明性实例包含但不限于质粒(例如,DNA质粒或RNA质粒)、转座子、粘粒以及细菌人工染色体。

[0481] 在特定实施例中所设想的多核苷酸的非病毒递送的说明性方法包含但不限于:电穿孔、声孔、脂质转染、显微注射、基因枪法、病毒体、脂质体、免疫脂质体、纳米颗粒、聚阳离子或脂质:核酸缀合物、裸DNA、人工病毒粒子、DEAE-葡聚糖介导的转移、基因枪和热休克。

[0482] 适合在特定实施例中所设想的特定实施例中使用的多核苷酸递送系统的说明性实例包含但不限于由Amaya Biosystems、Maxcyte, Inc.、BTX Molecular Delivery Systems和Copernicus Therapeutics Inc.提供的系统。脂质转染试剂是商业销售的(例如,TransfectamTM和LipofectinTM)。已经在文献中描述了适合于多核苷酸的有效受体识别脂质转染的阳离子脂质和中性脂质。参见例如Liu等人,(2003)《基因疗法》,10:180-187;以及Balazs等人,(2011)《药物递送期刊(Journal of Drug Delivery)》,2011:1-12。在特定实施例中还设想了抗体靶向的、细菌衍生的、非生物的基于纳米细胞的递送。

[0483] 如下文所描述的,包括在特定实施例中所设想的多核苷酸的病毒载体可以通过向个体患者施用进行体内递送,通常通过全身施用(例如,静脉内、腹膜内、肌肉内、皮下或颅内输注)或局部应用。可替代地,载体可以离体递送到细胞,如从个体患者移植的细胞(例如,动员的外周血、淋巴细胞、骨髓抽吸物、组织活检等)或通用供体造血干细胞,然后将细胞再植入患者体内。

[0484] 在一个实施例中,直接向生物体施用包括核酸酶变体和/或供体修复模板的病毒载体以在体内转导细胞。可替代地,可以施用裸DNA。通过通常用于引入分子与血液或组织细胞最终接触的任何途径施用,包括但不限于注射、输注、局部施用和电穿孔。施用这种核酸的合适的方法是本领域技术人员可获得的并且是公知的,并且尽管可以使用多于一种途径来施用特定组合物,但是特定途径通常可以提供比另一条途径更直接且更有效的反应。

[0485] 适合于在特定实施例中所设想的特定实施例中使用的病毒载体系统的说明性实例包含但不限于腺相关病毒(AAV)、逆转录病毒、单纯疱疹病毒、腺病毒以及痘苗病毒载体。

[0486] 在各个实施例中,通过用包括一个或多个多核苷酸的重组腺相关病毒(rAAV)转导细胞,将一个或多个多核苷酸引入到免疫效应细胞中,例如,T细胞。

[0487] AAV是一种小型(约26nm)复制缺陷型、主要是附加型无包膜病毒。AAV可以感染分裂和非分裂细胞,并且可以将其基因组并入到宿主细胞的基因组中。重组AAV(rAAV)通常至少由转基因及其调控序列和5'和3' AAV反向末端重复序列(ITR)构成。ITR序列的长度约为145bp。在特定实施例中,rAAV包括从AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9或AAV10分离的ITR和衣壳序列。

[0488] 在一些实施例中,使用嵌合rAAV,从一种AAV血清型分离ITR序列,并从不同的AAV血清型分离衣壳序列。例如,具有衍生自AAV2的ITR序列和衍生自AAV6的衣壳序列的rAAV被称为AAV2/AAV6。在特定实施例中,rAAV载体可以包括来自AAV2的ITR以及来自AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9或AAV10中任一种的衣壳蛋白。在优选实施例中,rAAV包括衍生自AAV2的ITR序列和衍生自AAV6的衣壳序列。在优选实施例中,rAAV包括衍生自AAV2的ITR序列和衍生自AAV2的衣壳序列。

[0489] 在一些实施例中,工程和选择方法可以应用于AAV衣壳,以使其更有可能转导所关注细胞。

[0490] 已经公开了rAAV载体的构建、制备和其纯化,例如在美国专利第9,169,494号;第9,169,492号;第9,012,224号;第8,889,641号;第8,809,058号;以及第8,784,799号中,所述美国专利中的每一个以全文引用的方式并入本文中。

[0491] 在各个实施例中,通过用包括一个或多个多核苷酸的逆转录病毒(例如,慢病毒)转导细胞,将一个或多个多核苷酸引入到免疫效应细胞中,例如,T细胞。

[0492] 如本文所使用的,术语“逆转录病毒”是指RNA病毒,所述RNA病毒将其基因组RNA逆转录为直线型双链DNA拷贝,并且随后将其基因组DNA共价整合到宿主基因组中。适合于在特定实施例中使用的说明性逆转录病毒包括但不限于:莫洛尼鼠白血病病毒(M-MuLV)、莫洛尼鼠肉瘤病毒(MoMSV)、哈维鼠肉瘤病毒(HaMuSV)、鼠类乳腺肿瘤病毒(MuMTV)、长臂猿白血病病毒(GaLV)、猫白血病病毒(FLV)、泡沫病毒、弗里德鼠白血病病毒、鼠干细胞病毒(MSCV)和劳斯肉瘤病毒(RSV)以及慢病毒。

[0493] 如本文所使用的,术语“慢病毒”是指复杂逆转录病毒的组(或属)。说明性慢病毒包括但不限于:HIV(人类免疫缺陷病毒;包含HIV 1型和HIV 2型);维斯纳-梅迪病毒(VMV)病毒;山羊关节炎-脑炎病毒(CAEV);马传染性贫血病毒(EIAV);猫免疫缺陷病毒(FIV);牛免疫缺陷病毒(BIV);以及猿猴免疫缺陷病毒(SIV)。在一个实施例中,优选基于HIV的载体主链(即,HIV顺式作用序列元件)。

[0494] 在各个实施例中,本文所设想的慢病毒载体包括一个或多个LTR,以及以下辅助元

件中的一个或多个或全部:cPPT/FLAP、Psi (Ψ) 包装信号、输出元件、poly (A) 序列,并且可以任选地包括WPRe或HPRe、绝缘子元件、可选择标志物和细胞自杀基因,如本文其它地方所讨论的。

[0495] 在特定实施例中,本文所设想的慢病毒载体可以是整合的或非整合的或整合缺陷型慢病毒。如本文所使用的,术语“整合缺陷型慢病毒”或“IDLV”是指具有缺乏将病毒基因组整合到宿主细胞的基因组的能力的整合酶的慢病毒。已经在专利申请W0 2006/010834中描述了无整合能力的病毒载体,所述专利申请以全文引用的方式并入本文中。

[0496] 适合于降低整合酶活性的HIV-1pol基因中的说明性突变包含但不限于:H12N、H12C、H16C、H16V、S81R、D41A、K42A、H51A、Q53C、D55V、D64E、D64V、E69A、K71A、E85A、E87A、D116N、D116I、D116A、N120G、N120I、N120E、E152G、E152A、D35E、K156E、K156A、E157A、K159E、K159A、K160A、R166A、D167A、E170A、H171A、K173A、K186Q、K186T、K188T、E198A、R199c、R199T、R199A、D202A、K211A、Q214L、Q216L、Q221L、W235F、W235E、K236S、K236A、K246A、G247W、D253A、R262A、R263A以及K264H。

[0497] 术语“长末端重复序列(LTR)”是指位于逆转录病毒DNA末端的碱基对的结构域,其在天然序列环境中是直接重复序列并含有U3、R和U5区。

[0498] 如本文所使用的,术语“FLAP元件”或“cPPT/FLAP”是指其序列包含逆转录病毒的中心多嘌呤段和中心终止序列(cPPT和CTS)例如HIV-1和HIV-2的核酸。在美国专利第6,682,907号和Zennou等人,2000,《细胞》,101:173中描述了适合的FLAP元件。

[0499] 如本文所使用的,术语“包装信号”或“包装序列”是指位于逆转录病毒基因组内的psi [Ψ] 序列,所述序列是将病毒RNA插入病毒衣壳或颗粒中所需要的,参见例如Clever等人,1995,《病毒学期刊》,第69卷,第4期;第2101-2109页。

[0500] 术语“输出元件”是指调节RNA转录物从细胞核向细胞质转运的顺式作用转录后调节元件。RNA输出元件的实例包含但不限于人类免疫缺陷病毒(HIV) rev应答元件(RRE) (参见例如Cullen等人,1991,《病毒学期刊》,65:1053;以及Cullen等人,1991,《细胞》,58:423),以及乙型肝炎病毒转录后调控元件(HPRE)。

[0501] 在特定实施例中,通过将转录后调节元件、有效的多腺苷酸化位点和任选地转录终止信号结合到载体中来增加病毒载体中异源序列的表达。各种转录后调节元件可以增加异源核酸在蛋白上的表达,例如,土拨鼠肝炎病毒转录后调节元件(WPRE;Zufferey等人,1999,《病毒学期刊》,73:2886);乙型肝炎病毒中存在的转录后调节元件(HPRE) (Huang等人,《分子细胞生物学》,5:3864);以及等(Liu等人,1995,《基因与发展(GenesDev.)》,9:1766)。

[0502] 由于修饰LTR,慢病毒载体优选地含有几种安全性增强。“自失活”(SIN) 载体是指复制缺陷型载体,例如,逆转录病毒载体或慢病毒载体,其中被称为U3区的右(3')LTR增强子-启动子区已经被修饰(例如,通过缺失或取代)以防止病毒转录超过第一轮病毒复制。优选地通过在载体DNA的3'LTR的U3区引入缺失(即,用于产生载体RNA的DNA)来实现自失活。因此,在逆转录期间,此缺失被转移到前病毒DNA的5'LTR。在特定实施例中,期望消除足够的U3序列以大大减少或完全消除LTR的转录活性,从而大大减少或消除转导细胞中全长载体RNA的产生。在基于HIV的慢病毒载体的情况下,已经发现这种载体耐受显著的U3缺失,包含去除LTR TATA盒(例如,从-418到-18的缺失),而没有显著降低载体滴度。

[0503] 通过用异源启动子替换5'LTR的U3区来提供另外的安全性增强以在病毒颗粒的产生过程中驱动病毒基因组的转录。可以使用的异源启动子的实例包含例如病毒猿猴病毒40 (SV40) (例如, 早期或晚期)、巨细胞病毒 (CMV) (例如, 立即早期)、莫洛尼鼠白血病毒 (MoMLV)、劳斯肉瘤病毒 (RSV) 和单纯疱疹病毒 (HSV) (胸苷激酶) 启动子。

[0504] 如本文所使用的术语“假型”或“假型包装”是指其病毒包膜蛋白已经被具有优选特性的另一病毒的病毒包膜蛋白取代的病毒。例如, HIV可以用水疱性口炎病毒G蛋白 (VSV-G) 包膜蛋白进行假型包装, 这允许HIV感染更广泛的细胞, 因为HIV包膜蛋白 (由env基因编码) 通常将病毒靶向CD4⁺呈递细胞。

[0505] 在某些实施例中, 根据已知方法产生慢病毒载体。参见例如Kutner等人, 《BMC生物技术 (BMC Biotechnol)》2009;9:10doi:10.1186/1472-6750-9-10; Kutner等人, 《自然实验手册 (Nat. Protoc.)》2009;4(4):495-505.doi:10.1038/nprot.2009.22。

[0506] 根据本文所设想的某些具体实施例, 大多数或所有病毒载体主链序列都衍生自慢病毒, 例如, HIV-1。然而, 应当理解, 可以使用或组合逆转录病毒和/或慢病毒序列的许多不同的源, 并且可以适应某些慢病毒序列中的许多取代和更改, 而不损害转移载体执行本文所描述的功能的能力。此外, 多种慢病毒载体在本领域是已知的, 参见Naldini等人, (1996a、1996b和1998); Zufferey等人, (1997); Dull等人, 1998, 美国专利第6,013,516号; 和第5,994,136号, 其中许多可以适于产生本文所设想的病毒载体或转移质粒。

[0507] 在各个实施例中, 通过用包括一个或多个多核苷酸的腺病毒转导细胞, 将一个或多个多核苷酸引入到免疫效应细胞中。

[0508] 基于腺病毒的载体能够在许多细胞类型中具有极高转导效率并且并不需要细胞分裂。使用这种载体, 已经获得了高滴度和高表达水平。此载体可以在相对简单的系统中大量制备。将大多数腺病毒载体工程化, 使得转基因取代Ad E1a、E1b和/或E3基因; 随后, 在以反式提供缺失的基因功能的人293细胞中繁殖复制缺陷型载体。Ad载体可以在体内转导多种类型的组织, 包含如在肝、肾和肌肉中发现的非分裂的分化细胞。常规Ad载体具有很大的承载能力。

[0509] 复制缺陷的当前腺病毒载体的产生和繁殖可以利用命名为293的独特辅助细胞系, 所述辅助细胞系通过Ad5DNA片段从人胚胎肾细胞转化并组成性地表达E1蛋白 (Graham等人, 1977)。由于E3区可从腺病毒基因组中分配出来 (Jones和Shenk, 1978), 所以目前的腺病毒载体在293细胞的帮助下在E1、D3区或两个区中携带外源DNA (Graham和Prevec, 1991)。腺病毒载体已经用于真核基因表达 (Levrero等人, 1991; Gomez-Foix等人, 1992) 和疫苗开发 (Grunhaus和Horwitz, 1992; Graham和Prevec, 1992)。向不同的组织施用重组腺病毒方面的研究包含气管滴注 (Rosenfeld等人, 1991; Rosenfeld等人, 1992)、肌肉注射 (Ragot等人, 1993)、外周静脉注射 (Herz和Gerard, 1993) 以及立体定向脑内接种 (Le Gal La Salle等人, 1993)。在临床试验中使用Ad载体的实例涉及用于伴随肌肉注射的抗肿瘤免疫的多核苷酸疗法 (Sterman等人, 《人类基因疗法 (Hum. Gene Ther.)》7:1083-9 (1998))。

[0510] 在各个实施例中, 通过用包括一个或多个多核苷酸的单纯疱疹病毒例如, HSV-1、HSV-2转导细胞, 将一个或多个多核苷酸引入到免疫效应细胞中。

[0511] 成熟HSV病毒粒子由包膜的二十面体衣壳组成, 其中病毒基因组由152kb的线性双链DNA分子组成。在一个实施例中, 基于HSV的病毒载体缺乏一个或多个必需或非必需的HSV

基因。在一个实施例中,基于HSV的病毒载体为复制缺陷型。大多数复制缺陷型HSV载体含有缺失以去除一个或多个中早期、早期或晚期HSV基因从而防止复制。例如,HSV载体可能缺乏选自以下组成的组的立即早期基因:ICP4、ICP22、ICP27、ICP47及其组合。HSV载体的优点是其进入可以导致长期DNA表达的潜伏期的能力,以及其可以容纳高达25kb的外源DNA插入物的大型病毒DNA基因组。在例如美国专利第5,837,532号、第5,846,782号和第5,804,413号及国际专利申请WO 91/02788、WO 96/04394、WO 98/15637和WO 99/06583中描述了基于HSV的载体,所述专利中的每一个以全文引用的方式并入本文中。

[0512] G. 基因修饰细胞

[0513] 在各个实施例中,对细胞进行修饰以表达用于治疗癌症的本文所设想的TGF β 信号转换器多肽、CTBR、工程化TCR、CAR、DARIC、zetakine和融合蛋白。可以对细胞进行非基因修饰以表达本文所设想的多肽,或者在特定优选的实施例中,可以对细胞进行基因修饰以表达本文所设想的多肽。如本文所使用的,术语“基因工程化”或“基因修饰”指代将额外的基因材料以DNA或RNA的形式添加到细胞中的总基因材料中。在特定实施例中,术语“基因修饰细胞”、“修饰细胞”和“重定向的细胞”可互换使用。

[0514] 在特定实施例中,本文所设想的CTBR信号转换器多肽被引入并在免疫效应细胞中表达,以改进细胞对TGF β 介导的TME中的免疫抑制信号的抗性。在特定实施例中,CTBR信号转换器多肽被引入并在免疫效应细胞中表达,所述免疫效应细胞通过在细胞中共表达工程化抗原受体而被重定向到靶细胞。

[0515] “免疫效应细胞”是免疫系统的任何细胞,其具有一种或多种效应功能(例如,细胞毒性细胞杀伤活性,细胞因子分泌,ADCC和/或CDC的诱导)。本文所设想的说明性免疫效应细胞是T淋巴细胞,具体地细胞毒性T细胞(CTL;CD8⁺T细胞)、TIL和辅助T细胞(HTL;CD4⁺T细胞)。在一个实施例中,免疫效应细胞包含自然杀伤(NK)细胞。在一个实施例中,免疫效应细胞包含自然杀伤T(NKT)细胞。免疫受体细胞可以是自体的(autologous/autogeneic) (“自身的”)或非自体的 (“非自身的”,例如同种异体的、同基因的或异种的)。

[0516] 如本文所使用的,“自体”是指来自同一受试者的细胞。如本文所使用的,“同种异体”是指同一物种的在基因上与比较细胞不同的细胞。如本文所使用的,“同基因”是指不同受试者的在基因上与比较细胞完全相同的细胞。如本文所使用的,“异种”是指与比较细胞属于不同物种的细胞。在优选实施例中,细胞是自体的。

[0517] 适用于引入本文所设想的CTBR信号转换器多肽的说明性免疫效应细胞包含T淋巴细胞。术语“T细胞”或“T淋巴细胞”是本领域公认的并且旨在包含胸腺细胞、未成熟T淋巴细胞、成熟T淋巴细胞、静息T淋巴细胞或活化T淋巴细胞。T细胞可以是T辅助(Th)细胞,例如T辅助1(Th1)细胞或T辅助2(Th2)细胞。T细胞可以是辅助T细胞(HTL;CD4⁺T细胞)、CD4⁺T细胞、细胞毒性T细胞(CTL;CD8⁺T细胞)、CD4⁺CD8⁺T细胞、CD4⁺CD8⁻T细胞或任何其它的T细胞亚群。适于用于特定实施例中的其它说明性T细胞群包含原初T细胞和记忆T细胞。

[0518] 如本领域技术人员所理解的,其它细胞还可以用作具有本文所设想的CTBR信号转换器多肽的免疫效应细胞。具体地,免疫效应细胞还包含NK细胞、NKT细胞、嗜中性粒细胞和巨噬细胞。免疫效应细胞还包含效应细胞的祖细胞,其中可以在体内或体外诱导这种祖细胞分化成免疫效应细胞。因此,在特定实施例中,免疫效应细胞包含免疫效应细胞的祖细胞,如源自脐带血、骨髓或动员的外周血的CD34⁺细胞群内含有的造血干细胞(HSC),所述

HSC在受试者中施用后分化为成熟免疫效应细胞,或可以在体外诱导所述HSC分化为成熟免疫效应细胞。

[0519] 如本文所使用的,经基因工程化以含有特异性嵌合受体的免疫效应细胞可以被称为“抗原特异性重定向免疫效应细胞”。

[0520] 如本文所使用的,术语“CD34+细胞”是指在其细胞表面上表达CD34蛋白的细胞。如本文所使用的,“CD34”是指通常充当细胞—细胞粘附因子并且参与T细胞进入淋巴结的细胞表面糖蛋白(例如,唾液黏蛋白)。CD34+细胞群含有造血干细胞(HSC),其在施用给患者时分化并促成所有造血谱系,包含T细胞、NK细胞、NKT细胞、嗜中性粒细胞和单核细胞/巨噬细胞谱系的细胞。

[0521] 在特定实施例中,提供了用于制备表达本文所设想的TGFβ信号转换器多肽的免疫效应细胞的方法。在一个实施例中,所述方法包括转染或转导从个体分离的免疫效应细胞,使得免疫效应细胞表达如本文所设想的一种或多种TGFβ信号转换器多肽。在一个实施例中,所述方法包括转染或转导从个体分离的免疫效应细胞,使得免疫效应细胞表达如本文所设想的一种或多种TGFβ信号转换器多肽和工程化抗原受体。在某些实施例中,免疫效应细胞从个体分离并经基因修饰而无需在体外进一步操纵。然后,可以将这种细胞直接再次施用到个体。在另外的实施例中,免疫效应细胞在基因修饰之前首先在体外被活化和刺激以增殖。在这方面,可以在基因修饰之前和/或之后培养免疫效应细胞。

[0522] 在特定实施例中,在本文所述的免疫效应细胞的体外操纵或基因修饰之前,从受试者获得细胞来源。在特定实施例中,经过修饰的免疫效应细胞包括T细胞。

[0523] 可以从许多来源获得T细胞,包括但不限于:外周血单核细胞、骨髓、淋巴结组织、脐带血、胸腺组织、来自感染部位的组织、腹水、胸腔积液、脾组织和肿瘤。在某些实施例中,可以使用技术人员已知的任何数目的技术如沉降(例如FICOLL™分离)从采集自受试者的单位血液中获得T细胞。

[0524] 在其它实施例中,使用分离的或纯化的T细胞群。在一些实施例中,在PBMC的分离之后,可以在活化、扩增和/或基因修饰之前或之后将细胞毒性和辅助T淋巴细胞分类为原初、记忆和效应T细胞亚群。

[0525] 在一个实施例中,分离的或纯化的T细胞群表达包含但不限于以下的标记物中的一个或多个:CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺或其组合。

[0526] 在某些实施例中,T细胞从个体分离,并且在被修饰以表达TGFβ信号转换器多肽之前首先进行体外活化和刺激以增殖。

[0527] 为了实现足够治疗剂量的T细胞组合物,通常对T细胞进行一轮或多轮刺激、活化和/或扩增。通常可以使用如例如以下美国专利中所述的方法使T细胞活化和扩增:6,352,694;6,534,055;6,905,680;6,692,964;5,858,358;6,887,466;6,905,681;7,144,575;7,067,318;7,172,869;7,232,566;7,175,843;5,883,223;6,905,874;6,797,514;以及6,867,041,所述美国专利中的每一个以全文引用的方式并入本文中。在特定实施例中,在引入编码TGFβ信号转换器多肽的载体或多核苷酸之前,使T细胞活化和扩增约6小时、约12小时、约18小时或约24小时。任选地,与本文所设想的工程化抗原受体组合。

[0528] 在一个实施例中,T细胞在被修饰的同时被活化。

[0529] 在各个实施例中,一种产生免疫效应细胞的方法包括:活化包括T细胞的细胞群以

及扩增所述T细胞群。T细胞活化可以通过以下方式实现：通过T细胞TCR/CD3复合物提供初级刺激信号以及通过辅助分子例如CD28提供次级共刺激信号。

[0530] 可以通过使T细胞与适当的CD3结合剂例如CD3配体或抗CD3单克隆抗体接触来刺激TCR/CD3复合物。CD3抗体的说明性实例包含但不限于：OKT3、G19-4、BC3和64.1。

[0531] 除了通过TCR/CD3复合物提供的初级刺激信号外，T细胞应答的诱导还需要第二共刺激信号。在特定实施例中，CD28结合剂可以用于提供共刺激信号。CD28结合剂的说明性实例包含但不限于：天然CD 28配体，例如，CD28的天然配体（例如，B7蛋白家族的成员，如B7-1（CD80）和B7-2（CD86）；以及能够交联CD28分子的抗CD28单克隆抗体或其片段，例如，单克隆抗体9.3、B-T3、XR-CD28、KOLT-2、15E8、248.23.2和EX5.3D10。

[0532] 在一个实施例中，提供初级刺激信号的分子例如通过TCR/CD3复合物提供刺激的分子以及共刺激分子偶联到同一表面。

[0533] 在某些实施例中，提供刺激和共刺激信号的结合剂定位于细胞的表面上。这可以通过以下方式实现：使用以适合于结合剂在细胞表面上的表达的形式对结合剂进行编码的核酸转染或转导细胞，或者可替代地将结合剂偶联到细胞表面。

[0534] 在另一个实施例中，提供初级刺激信号的分子例如通过TCR/CD3复合物提供刺激的分子以及共刺激分子展现在抗原呈递细胞上。

[0535] 在一个实施例中，提供初级刺激信号的分子例如通过TCR/CD3复合物提供刺激的分子以及共刺激分子提供于单独的表面上。

[0536] 在某个实施例中，所述结合剂中提供刺激信号和共刺激信号的一种结合剂是可溶的（在溶液中提供），而另一种或其它结合剂提供于一个或多个表面上。

[0537] 在特定实施例中，提供刺激信号和共刺激信号的结合剂两者均以可溶形式（在溶液中提供）提供。

[0538] 在各个实施例中，本文所设想的用于制备T细胞的方法包括：使用抗CD3和抗CD28抗体活化T细胞。

[0539] 在一个实施例中，扩增通过本文所设想的方法活化的T细胞进一步包括：培养包括T细胞的细胞群若干小时（约3小时）到约7天到约28天或其间的任何小时整数值。在另一个实施例中，可以将T细胞组合物培养14天。在特定实施例中，将T细胞培养约21天。在另一个实施例中，将T细胞组合物培养约2到3天。还可以期望若干刺激/活化/扩增循环，使得T细胞的培养时间可以是60天或更长。

[0540] 在特定实施例中，适合T细胞培养的条件包含适当的培养基（例如，最小必需培养基或RPMI培养基1640或X-vivo 15（Lonza））和增殖和活力所必需的一个或多个因子，包含但不限于：血清（例如，胎牛血清或人类血清）、白细胞介素-2（IL-2）、胰岛素、IFN- γ 、IL-4、IL-7、IL-21、GM-CSF、IL-10、IL-12、IL-15、TGF β 和TNF- α 或本领域的技术人员已知的适合于细胞生长的任何其它添加剂。

[0541] 细胞培养基的另外的说明性实例包含但不限于：RPMI 1640、Clicks、AIM-V、DMEM、MEM、 α -MEM、F-12、X-Vivo 15和X-Vivo 20、Optimizer，其添加有氨基酸、丙酮酸钠和维生素，其无血清或补充有适量血清（或血浆）或一组限定的激素和/或足以使T细胞生长和扩增的量的一个或多个细胞因子。

[0542] 抗生素（例如，青霉素和链霉素）仅在实验培养时包含，而在培养待注入受试者体

内的细胞时不包含。靶细胞保持处于支持生长所需的条件下,例如适当的温度(例如,37℃)和大气(例如,空气加5%的CO₂)。

[0543] 在特定实施例中,在具有适当细胞因子如IL-2、IL-7和/或IL-15等培养基中使PBMC或分离的T细胞与通常附接到珠粒或其它表面的刺激剂和共刺激剂如抗CD3和抗CD28抗体接触。

[0544] 在其它实施例中,通过工程化K562、U937、721.221、T2和C1R细胞制备人工APC(aAPC)以引导各种共刺激分子和细胞因子的稳定表达和分泌。在特定实施例中,K32或U32aAPC用于引导一个或多个基于抗体的刺激分子在AAPC细胞表面上显示。T细胞群可以通过表达各种共刺激分子的aAPC扩增,包含但不限于CD137L(4-1BBL)、CD134L(OX40L)和/或CD80或CD86。最后,aAPC提供用于扩增经过基因修饰的T细胞并且保持CD8T细胞上的CD28表达的高效平台。WO 03/057171和US2003/0147869中提供的aAPC以全文引用的方式并入本文中。

[0545] 在特定实施例中,将编码TGFβ信号转换器和工程化抗原受体的多核苷酸引入到T细胞群中。在特定实施例中,将编码TGFβ信号转换器的多核苷酸引入到表达工程化抗原受体的T细胞群中。可以通过显微注射、转染、脂质转染、热休克、电穿孔、转导、基因枪、显微注射、DEAE-葡聚糖介导的转移等将多核苷酸引入到T细胞中。

[0546] 在优选实施例中,通过病毒转导将多核苷酸引入到T细胞中。

[0547] 适合于将多核苷酸引入到免疫效应细胞或CD34+细胞中的病毒载体系统的说明性实例包含但不限于用于基因转移的腺相关病毒(AAV)、逆转录病毒、单纯疱疹病毒、腺病毒、牛痘病毒载体。

[0548] 在一个实施例中,通过AAV转导将多核苷酸引入到T细胞中。

[0549] 在一个实施例中,通过逆转录病毒转导将多核苷酸引入到T细胞中。

[0550] 在一个实施例中,通过慢病毒转导将多核苷酸引入到T细胞中。

[0551] 在一个实施例中,通过腺病毒转导将多核苷酸引入到T细胞中。

[0552] 在一个实施例中,通过单纯疱疹病毒转导将多核苷酸引入到T细胞中。

[0553] 在一个实施例中,通过牛痘病毒转导将多核苷酸引入到T细胞中。

[0554] H. 组合物和配制品

[0555] 本文所设想的组合物可以包括一种或多种多肽、多核苷酸、包括其的载体、基因修饰的免疫效应细胞等。组合物包含但不限于药物组合物。“药物组合物”是指在药学上可接受的或生理学上可接受的溶液中配制的用于单独地或与一种或多种其它治疗形式组合地向细胞或动物施用的组合物。还应理解的是,如果期望,则组合物也可以与其它药剂组合地施用,如例如细胞因子、生长因子、激素、小分子、化学治疗剂、前药、药物、抗体或其它各种药物活性剂。对组合物中还可以包含的其它组分实际上不存在限制,条件是另外的药剂不会不利地影响组合物递送预期疗法的能力。

[0556] 本文采用的短语“药学上可接受的”是指在合理医学判断范围内的那些化合物、材料、组合物和/或剂型,其适合用于与人类和动物的组织接触使用而没有过多的毒性、刺激、过敏反应或其它问题或并发症,与合理的效益/风险比相称。

[0557] 术语“药学上可接受的载体”是指对多肽、多核苷酸、包括其的载体或基因修饰的免疫效应细胞施用的稀释剂、佐剂、赋形剂或媒剂。药物载剂的说明性实例可以是无菌液

体,如细胞培养基、水和油,包含石油、动物、植物或合成来源的那些油,如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。盐水溶液以及葡萄糖和甘油水溶液也可以用作液体载剂,特别是对于可注射溶液而言。在特定实施例中,合适的药物赋形剂包含淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、稻米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂奶粉、甘油、丙烯、乙二醇、水、乙醇等。除了任何常规培养基或药剂与所述活性成分不相容的情况之外,设想其在治疗性组合物中的用途。补充性活性成分也可以并入到组合物中。

[0558] 在一个实施例中,包括药学上可接受的载剂的组合物适合于向受试者施用。在特定实施例中,包括载剂的组合物适合于肠胃外施用,例如,血管内(静脉内或动脉内)、腹膜内或肌肉内施用。在特定实施例中,包括药学上可接受的载剂的组合物适合于心室内、脊柱内或鞘内施用。药学上可接受的载剂包含无菌水溶液、细胞培养基或分散体。这些培养基和药剂用于药物活性物质的用途是本领域公知的。除了任何常规培养基或药剂与多肽、多核苷酸、包括其的载体或基因修饰的免疫效应细胞不相容的情况之外,设想其在药物组合物中的用途。

[0559] 在特定实施例中,本文所设想的组合物包括基因修饰的T细胞和药学上可接受的载剂。包括本文所设想的基于细胞的组合物的组合物可以通过肠内或肠胃外施用方法单独地施用或与其它适合的化合物组合地施用,以实现期望的治疗目的。

[0560] 药学上可接受的载剂必须具有足够高的纯度和足够低的毒性,以使其适合于向正在治疗的人类受试者施用。药学上可接受的载剂应当保持或增加组合物的稳定性。药学上可接受的载剂可以是液体的或固体的并且在考虑计划的施用方式的情况下被选择成在与组合物的其它组分组合时提供期望的容积、稠度等。例如,药学上可接受的载剂可以是但不限于:粘合剂(例如,预糊化玉米淀粉、聚乙烯吡咯烷酮或羟丙基甲基纤维素等)、填充剂(例如,乳糖和其它糖、微晶纤维素、果胶、明胶、硫酸钙、乙基纤维素、聚丙烯酸酯、磷酸氢钙等)、润滑剂(例如,硬脂酸镁、滑石、二氧化硅、胶体二氧化硅、硬脂酸、金属硬脂酸盐、氢化植物油、玉米淀粉、聚乙二醇、苯甲酸钠、乙酸钠等)、崩解剂(例如,淀粉、羧基乙酸淀粉钠等)或润湿剂(例如,月桂基硫酸钠等)。本文所设想的其它合适的药学上可接受载剂包含但不限于:水、盐溶液、醇、聚乙二醇、明胶、直链淀粉、硬脂酸镁、滑石、硅酸、粘性石蜡、羟甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮等。

[0561] 这些载剂溶液还可以含有缓冲剂、稀释剂和其它合适的添加剂。如本文所使用的术语“缓冲剂”是指其化学组成中和酸或碱而不显著改变pH的溶液或液体。本文所设想的缓冲剂的实例包含但不限于杜尔贝克氏(Dulbecco's)磷酸盐缓冲盐水(PBS)、林格氏(Ringer's)溶液、5%葡萄糖水溶液(D5W)、正常(normal)/生理(physiologic)盐水(0.9% NaCl)。

[0562] 药学上可接受的载剂可以以足以维持组合物的pH为约7的量存在。可替代地,组合物的pH范围为约6.8到约7.4,例如,6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3和7.4。在又一实施例中,组合物具有约7.4的pH。

[0563] 本文所设想的组合物可以包括无毒的药学上可接受的培养基。所述组合物可以是悬浮液。如本文所使用的术语“悬浮液”是指细胞不附着于固体支持物的非粘附条件。例如,可以搅拌(stirred)或搅动(agitated)保持为悬浮液的细胞并且使其不粘附于如培养皿等支持物。

[0564] 在特定实施例中,本文所设想的组合物在悬浮液中配制,其中经过修饰的T细胞分散在静脉注射(IV)袋等中的可接受的液体培养基或溶液例如盐水或无血清培养基内。可接受的稀释剂包含但不限于水、PlasmaLyte、林格氏溶液、等渗氯化钠(盐水)溶液、无血清细胞培养基和适合于低温储存的培养基,例如Cryostor®培养基。

[0565] 在某些实施例中,药学上可接受的载剂基本上不含源于人或动物的天然蛋白,并且适合于储存包括经过修饰的T细胞群的组合物。治疗组合物旨在施用于人类患者,并且因此基本上不含细胞培养组分,如牛血清白蛋白、马血清和胎牛血清。

[0566] 在一些实施例中,组合物在药学上可接受的细胞培养基中配制。这种组合物适合于向人类受试者施用。在特定实施例中,药学上可接受的细胞培养基为无血清培养基。

[0567] 与含有血清的培养基相比,无血清培养基具有若干优点,包含简化的和更好定义的组合物、降低的污染程度、消除潜在的感染药剂来源以及更低的成本。在各个实施例中,无血清培养基是无动物的,并且可以任选地是无蛋白的。任选地,培养基可以含有生物药学上可接受的重组蛋白。“无动物”培养基是指其中组分衍生自非动物来源的培养基。重组蛋白在无动物培养基中代替天然动物蛋白质,并且营养物质来自合成、植物或微生物来源。相比之下,“无蛋白”培养基被定义为基本上不含蛋白质。

[0568] 在特定组合物中使用的无血清培养基的说明性实例包含但不限于QBSF-60(质量生物有限公司(Quality Biological, Inc.))、StemPro-34(生命技术公司(Life Technologies))和X-VIVO 10。

[0569] 在优选实施例中,包括经过修饰的T细胞的组合物在PlasmaLyte中配制。

[0570] 在各个实施例中,包括经过修饰的T细胞的组合物在冷冻保存培养基中配制。例如,具有冷冻保存剂的冷冻保存培养基可以用于在解冻后维持高细胞活力结果。在特定组合物中使用的冷冻保存培养基的说明性实例包含但不限于CryoStor CS10、CryoStor CS5和CryoStor CS2。

[0571] 在一个实施例中,组合物在包括50:50PlasmaLyte A:CryoStor CS10的溶液中配制。

[0572] 在特定实施例中,组合物基本上不含支原体、内毒素和微生物污染。关于内毒素,“基本上不含”是指每剂细胞的内毒素含量低于FDA允许的制剂的含量,其为每天5EU/kg体重的总内毒素,针对平均70kg的人而言为350EU单位总剂量细胞。在特定实施例中,包括用本文所设想的逆转录病毒载体转导的造血干细胞或祖细胞的组合物含有约0.5EU/mL到约5.0EU/mL或约0.5EU/mL、1.0EU/mL、1.5EU/mL、2.0EU/mL、2.5EU/mL、3.0EU/mL、3.5EU/mL、4.0EU/mL、4.5EU/mL或5.0EU/mL。

[0573] 在特定实施例中,药学上可接受的载剂溶液的配制是本领域技术人员所公知的,和适合的给药和治疗方案的发展一样,以将本文所描述的特定组合物用于各种治疗方案中,包含例如,肠内和肠胃外,例如血管内、静脉内、动脉内、骨内、心室内、脑内、颅内、脊柱内、鞘内以及髓内施用和配制。本领域技术人员应当理解,本文所设想的特定实施例可以包括如制药领域公知的配制品等其它配制品,并且在例如以下各项中描述:《雷明顿:药学科学与实践(Remington:The Science and Practice of Pharmacy)》,第I卷和第II卷,第22版,Loyd V.Allen Jr编辑.Philadelphia,PA:医药出版社;2012,所述文档以全文引用的方式并入本文中。

[0574] 在特定实施例中,组合物包括表达本文所设想的CTBR信号转换器的一定量的免疫效应细胞,包含CAR T细胞。如本文所使用的,术语“量”是指包括本文所设想的CTBR信号转换器等用于实现有益或期望的预防或治疗结果(包含临床结果)的“有效量(an amount effective/an amount effective)”的细胞。

[0575] “预防有效量”是指包括本文所设想的CTBR信号转换器等对于实现所期望的预防结果有效的细胞的量。通常但不是必须地,因为在疾病之前或疾病的早期阶段在受试者中使用预防剂量,预防有效量小于治疗有效量。

[0576] “治疗有效量”是指包括本文所设想的CTBR信号转换器的对于“治疗”受试者(例如,患者)有效的细胞的量。当指示治疗量时,待施用的组合物的精确量可以由内科医生考虑年龄、体重、肿瘤大小、感染程度或转移程度以及患者(受试者)的病状的个体差异来确定。通常可以说,包括本文所述的免疫效应细胞的药物组合物可以以 10^2 到 10^{10} 个细胞/kg体重,优选地 10^5 到 10^6 个细胞/kg体重(包含那些范围内的所有整数值)的剂量施用。细胞的数目将取决于组合物期望的最终用途,如其中包含的细胞的类型那样。对于本文所提供的用途,细胞的体积通常为一升或更少,可以为500mL或更少,甚至250mL或100mL或更少。因此,所期望细胞的密度通常大于 10^6 个细胞/mL,并且通常大于 10^7 个细胞/mL,通常 10^8 个细胞/mL或更大。临床相关数目的免疫细胞可以分配到累积等于或超过 10^5 个、 10^6 个、 10^7 个、 10^8 个、 10^9 个、 10^{10} 个、 10^{11} 个或 10^{12} 个细胞的多次输注中。在一些实施例中,特别是因为所有输注的细胞将被重新定向到特定的靶抗原,所以可以施用范围在 10^6 /千克(每患者 10^6 到 10^{11} 个)的较低数目的细胞。如果需要,治疗还可以包含施用如本文所描述的有丝分裂原(例如,PHA)或淋巴因子、细胞因子和/或趋化因子(例如,IFN- γ 、IL-2、IL-12、TNF- α 、IL-18和TNF- β 、GM-CSF、IL-4、IL-13、Flt3-L、RANTES、MIP1 α 等)以增强免疫应答的诱导。

[0577] 通常,包括如本文所描述的活化和扩增的细胞的组合物可以用于治疗和预防免疫受损个体中出现的疾病。特别地,本文所设想的组合物用于治疗癌症。在特定实施例中,免疫效应细胞可以单独施用,或作为药物组合物与载剂、稀释剂、赋形剂和/或与如IL-2等其它组分或其它细胞因子或细胞群组合施用。

[0578] 在特定实施例中,药物组合物包括与一种或多种药学上或生理学上可接受的载剂、稀释剂或赋形剂组合的一定量的基因修饰的T细胞。

[0579] 在特定实施例中,组合物包括有效量的免疫效应细胞,所述免疫效应细胞包括本文所设想的单独或与一种或多种治疗剂组合的CTBR信号转换器,如放射疗法、化学疗法、移植、免疫疗法、激素疗法、光动力疗法等。所述组合物还可以与抗生素组合施用。本领域可接受这种治疗剂作为如本文所描述的如特定癌症等特定疾病状态的标准治疗。所设想的示例性治疗剂包含细胞因子、生长因子、类固醇、NSAID、DMARD、抗炎剂、化学治疗剂、放射治疗剂、治疗性抗体或其它活性剂和辅助剂。

[0580] 在某些实施例中,包括包含本文所设想的CTBR信号转换器的免疫效应细胞的组合物可以与任何数目的化学治疗剂结合施用。化学治疗剂的说明性实例包含:烷化剂,如硫柳汞和环磷酰胺(CYTOXANTM);烷基磺酸盐,如白消安、英丙舒凡(improsulfan)和哌泊舒凡(piposulfan);氮杂环丙烷,如苯佐替哌(benzodopa)、卡波醌、美妥替哌(meturedopa)和乌瑞替哌(uredopa);亚乙基亚胺和甲基胺类(methylamelamines),包含六甲蜜胺、曲他胺、替派、三亚乙基硫代磷酰胺和三羟甲密胺(trimethylolomelamine);氮芥类(nitrogen

mustard), 如苯丁酸氮芥、萘氮芥、氯磷酰胺(cholophosphamide)、雌氮芥、依弗酰胺、氮芥(mechlorethamine)、盐酸甲氧氮芥、美法仑、新恩比兴(novembichin)、苯芥胆甾醇、泼尼莫司汀、曲磷胺、尿嘧啶氮芥;亚硝基脲(nitrosurea), 如卡莫司汀、氯脲霉素、福莫司汀、洛莫司汀、尼莫司汀、雷莫司汀;抗生素, 如阿克拉霉素、放线菌素、安曲霉素、重氮丝氨酸、博来霉素、放线菌素C、卡奇霉素、卡拉比星、洋红霉素、嗜癌菌素、色霉素、放线菌素D、柔红霉素、地托比星、6-二氮-5-氧代-L-正亮氨酸、阿霉素、表柔比星、依索比星、去甲氧基柔红霉素、麻西罗霉素、丝裂霉素类、菌酚酸、诺加霉素、橄榄霉素类、培洛霉素、泊非霉素(potfiromycin)、嘌呤霉素、三铁阿霉素、罗多比星、链黑菌素、链脲菌素、杀结核菌素、乌苯美司、净司他丁、佐柔比星;抗代谢物类, 如甲氨蝶呤和5-氟脲嘧啶(5-FU);叶酸类似物, 如二甲叶酸、氨甲蝶呤、蝶罗呤、三甲曲沙;嘌呤类似物, 如氟达拉滨、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤、硫鸟嘌呤;嘧啶类似物, 如安西他滨、阿扎胞苷、6-氮杂尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、双脱氧尿苷、去氧氟尿苷、依诺他滨、氟尿苷、5-FU;雄激素类, 如卡普睾酮、丙酸屈他雄酮、环硫雄醇、美雄烷、睾内酯;抗-肾上腺类, 如氨鲁米特、米托坦、曲洛司坦;叶酸补充剂, 如亚叶酸;醋葡醛内酯;醛磷酰胺糖苷;氨基乙酰丙酸;安吡啶;百垂布西;比生群;依达曲沙;地磷酰胺;地美可辛;地吡酮;依氟鸟氨酸(elformithine);依利醋铵;依托格鲁;硝酸镓;羟基脲;香菇多糖;氯尼达明;米托胍脲;米托蒽醌;莫哌达醇;二胺硝吡啶;喷司他丁;蛋氨酸;吡柔比星;鬼臼酸;2-乙基酰肼;丙卡巴肼;PSK®;雷佐生;西佐喃;螺旋锳;细交链孢菌酮酸;三环乙亚胺醌;2,2',2''-三氯三乙胺;乌拉坦;长春地辛;达卡巴嗪;甘露醇氮芥;二溴甘露醇;二溴卫矛醇;哌泊溴烷;盖克托辛(gacytosine);阿拉伯糖苷("Ara-C");环磷酰胺;噻替派;紫杉烷, 例如, 紫杉醇(TAXOL®, 百时美施贵宝肿瘤学(Bristol-Myers Squibb Oncology)、新泽西州普林斯顿)和多西紫杉醇(TAXOTERE®, Rhne-Poulenc Rorer, Antony, France);苯丁酸氮芥;吉西他滨;6-硫鸟嘌呤;巯基嘌呤;甲氨蝶呤;铂类似物例如顺铂和卡铂;长春碱;铂;依托泊苷(VP-16);异环磷酰胺;丝裂霉素C;米托蒽醌;长春新碱;长春瑞滨;诺维本;诺安托;替尼泊苷;道诺霉素;氨蝶呤;希罗达(xeloda);伊班膦酸盐;CPT-11;拓扑异构酶抑制剂RFS 2000;二氟甲基鸟氨酸(DMF0);视黄酸衍生物, 如Targretin™(贝沙罗汀)、Panretin™(阿利维A酸);ONTAK™(地尼白细胞介素-毒素连接物);埃斯波霉素;卡培他滨;以及药学上可接受的盐、酸或以上任一种的衍生物。此定义还包含用于调控或抑制对癌症的激素作用的抗激素剂, 如抗雌激素包含例如它莫西芬、雷洛昔芬、芳香酶抑制4(5)-咪唑、4-羟基三苯氧胺、曲沃昔芬、雷洛西芬(keoxifene)、LY117018、奥那司酮和托瑞米芬(法乐通);和抗雄激素类, 如氟他胺、尼鲁米特、比卡鲁胺、亮丙瑞林和戈舍瑞林;以及药学上可接受的盐、酸或以上任一种的衍生物。

[0581] 多种其它治疗剂可以与本文所述的组合物结合使用。在一个实施例中, 包括包含本文所设想的CTBR信号转换器的免疫效应细胞的组合物与抗炎剂一起施用。抗炎剂或药物包含但不限于类固醇和糖皮质激素(包含倍他米松、布地奈德、地塞米松、醋酸氢化可的松、氢化可的松、甲基强的松龙、泼尼松龙、泼尼松、曲安奈德)、包含阿司匹林的甾体类抗炎药(NSAIDs)、布洛芬、萘普生、甲氨蝶呤、柳氮磺胺吡啶、来氟米特、抗TNF药物、环磷酰胺和霉酚酸酯。

[0582] 其它示例性NSAID选自以下组成的组: 布洛芬、萘普生、萘普生钠、如VIOXX®(罗非昔布)和CELEBREX®(塞来昔布)等Cox-2抑制剂以及唾液酸盐。示例性镇痛药选自

由以下组成的组：对乙酰氨基酚、羟考酮、盐酸丙氧芬的曲马多。示例性糖皮质激素选自由以下组成的组：可的松、地塞米松、氢化可的松、甲基强的松龙、泼尼松龙或泼尼松。示例性生物应答调节剂包含针对细胞表面标记物（例如，CD4、CD5等）的分子，细胞因子抑制剂如TNF拮抗剂（例如，依那西普（ENBREL®）、阿达木单抗（HUMIRA®）和英夫利昔单抗（REMICADE®）、趋化因子抑制剂和粘附分子抑制剂。生物应答调节剂包含单克隆抗体以及重组形式的分子。示例性DMARD包含硫唑嘌呤、环磷酰胺、环孢菌素、甲氨蝶呤、青霉胺、来氟米特、柳氮磺胺吡啶、羟氯喹、金（口服（金诺芬）和肌内）和米诺环素。

[0583] 适合与包括本文所设想的CTBR信号转换器的经过修饰的T细胞组合的治疗性抗体的说明性实例包含但不限于巴维昔单抗（bavituximab）、贝伐珠单抗（bevacizumab）（阿瓦斯汀）、莫比伐珠单抗（bivatuzumab）、博纳吐单抗（blinatumomab）、可那木单抗（conatumumab）、达雷木单抗（daratumumab）、杜利他单抗（duligotumab）、达西珠单抗（dacetuzumab）、达洛珠单抗（dalotuzumab）、埃罗妥珠单抗（elotuzumab）（HuLuc63）、吉妥珠单抗（gemtuzumab）、替伊莫单抗（ibritumomab）、因达单抗（indatuximab）、奥妥珠单抗（inotuzumab）、罗沃单抗（lorvotuzumab）、卢卡珠单抗（lucatumumab）、米拉珠单抗（milatuzumab）、莫西姆单抗（moxetumomab）、奥卡鲁单抗（ocaratuzumab）、奥法木单抗（ofatumumab）、利妥昔单抗（rituximab）、西妥昔单抗（Siltuximab）、四丙珠单抗（teprotumumab）和乌布妥昔单抗（ublituximab）。

[0584] 在某些实施例中，本文所述的组合物与细胞因子结合施用。如本文所使用的“细胞因子”是指由一种细胞群释放的蛋白质的通用术语，所述蛋白质作为细胞间介体作用于另一种细胞。这种细胞因子的实例是淋巴因子、单核因子以及传统的多肽激素。细胞因子中包含生长激素，如人类生长激素、N-甲硫氨酰人类生长激素和牛生长激素甲状旁腺激素；甲状旁腺激素；胰岛素；胰岛素原；松弛肽；松弛素（prorelaxin）；糖蛋白激素，如促卵泡激素（FSH）、促甲状腺激素（TSH）和黄体产生素（LH）；肝细胞生长因子；纤维母细胞生长因子；催乳激素；胎盘催乳激素；肿瘤坏死因子 α 和肿瘤坏死因子 β ；副中肾管抑制物质；小鼠促性腺激素相关肽；抑制素；活化素；血管内皮生长因子；整联蛋白；血小板产生素（TPO）；神经生长因子，如NGF- β ；血小板生长因子；转化生长因子（TGFs），如TGF- α 和TGF- β ；胰岛素样生长因子-I和胰岛素样生长因子-II；促红细胞产生素（EPO）；骨诱导因子；干扰素，如干扰素- α 、干扰素 β 和干扰素- γ ；集落刺激因子（CSF），如巨噬细胞-CSF（M-CSF）；粒细胞-巨噬细胞-CSF（GM-CSF）；以及粒细胞-CSF（G-CSF）；白细胞介素（IL），如IL-1、IL-1 α 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12；IL-15，一种肿瘤坏死因子，如TNF- α 或TNF- β ；以及其它包含LIF和试剂盒配体（KL）的多肽因子。如本文所使用的，术语细胞因子包含来自天然来源或来自重组细胞培养物的蛋白质以及天然序列细胞因子的生物活性等同物。

[0585] I. 治疗方法

[0586] 包括本文所设想的CTBR的包含CAR T细胞的免疫效应细胞提供了用于预防、治疗和改善癌症或用于预防、治疗或改善与癌症相关的至少一种症状的过继免疫疗法的改进方法。

[0587] 包括本文所设想的工程化受体和CTBR的免疫效应细胞提供了改进的药物产品以用于预防、治疗癌症、GVHD、传染病、自身免疫性疾病、炎症性疾病或免疫缺陷或改善其的至少一种症状。如本文所使用的，术语“药物产品”是指使用本文所设想的组合物和方法产生的

经过修饰的细胞。在特定实施例中，药物产品包括基因修饰的免疫效应细胞、包括工程化受体的T细胞或进一步修饰以表达CTBR信号转换器的CAR T细胞。此外，在特定实施例中所设想的经过修饰的T细胞提供更安全和更有效的过继细胞疗法，因为它们对T细胞耗竭具有抗性并且在可以导致持续治疗的肿瘤微环境中显示出增加的耐久性和持久性。

[0588] 在特定实施例中，向受试者施用包括工程化受体和CTBR信号转换器的有效量的经过修饰的免疫效应细胞或T细胞，以预防、治疗癌症、GVHD、传染病、自身免疫性疾病、炎症疾病或免疫缺陷或改善其的至少一种症状。

[0589] 在特定实施例中，预防、治疗癌症或改善其的至少一种症状的方法包括向受试者施用有效量的经过修饰的免疫效应细胞或包括CTBR信号转换器和工程化TCR、CAR或Daric或其它治疗性转基因的T细胞，以将细胞重新定向到肿瘤或癌症。经过基因修饰的细胞是更耐久和持久的药物产物，因为通过将免疫抑制TGFβ信号转换为免疫刺激信号使细胞对来自肿瘤微环境的免疫抑制信号更具抗性。

[0590] 在特定实施例中，本文所设想的经过修饰的免疫效应细胞用于治疗实体瘤或癌症。

[0591] 在特定实施例中，本文所设想的经过修饰的免疫效应细胞用于治疗实体瘤或癌症，包括但不限于：肾上腺癌、肾上腺皮质癌、肛门癌、阑尾癌、星形细胞瘤、非典型畸胎样/横纹肌样瘤、基底细胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨癌、脑/CNS癌、乳腺癌、支气管肿瘤、心脏肿瘤、宫颈癌、胆管癌、软骨肉瘤、脊索瘤、结肠癌、结直肠癌、颅咽管瘤、原位导管癌(DCIS)子宫内膜癌、室管膜瘤、食管癌、鼻腔神经胶质瘤、尤文氏肉瘤、颅外生殖细胞肿瘤、性腺外生殖细胞肿瘤、眼癌、输卵管癌、纤维组织肉瘤、纤维肉瘤、胆囊癌、胃癌、胃肠道类癌、胃肠道间质瘤(GIST)、生殖细胞肿瘤、胶质瘤、胶质母细胞瘤、头颈癌、血管母细胞瘤、肝细胞癌、下咽癌、眼内黑色素瘤、卡波西肉瘤、肾癌、喉癌、平滑肌肉瘤、唇癌、脂肪肉瘤、肝癌、肺癌、非小细胞肺癌、肺类癌、恶性间皮瘤、髓样癌、成神经管细胞瘤、脑膜瘤、黑色素瘤、梅克尔细胞癌、中线癌、口腔癌、粘膜肉瘤、骨髓增生异常综合征、骨髓增生性肿瘤、鼻腔和鼻窦癌、鼻咽癌、神经母细胞瘤、少突神经胶质瘤、口腔癌、口腔癌、口咽癌、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、胰岛细胞肿瘤、乳头状癌、副神经节瘤、甲状旁腺癌、阴茎癌、咽癌、嗜铬细胞瘤、松果体瘤、垂体瘤、胸膜肺母细胞瘤、原发性腹膜癌、前列腺癌、直肠癌、视网膜母细胞瘤、肾细胞癌、肾盂和输尿管癌、横纹肌肉瘤、唾液腺癌、皮脂腺癌、皮肤癌、软组织肉瘤、鳞状细胞癌、小细胞肺癌、小肠癌、胃癌、汗腺癌、滑膜瘤、睾丸癌、咽喉癌、胸腺癌、甲状腺癌，尿道癌症、子宫癌、子宫肉瘤、阴道癌、血管癌、外阴癌和威尔姆斯肿瘤。

[0592] 在特定实施例中，本文所设想的经过修饰的免疫效应细胞用于治疗实体瘤或癌症，包括但不限于肝癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌、膀胱癌、脑癌、骨癌、甲状腺癌、肾癌或皮肤癌。

[0593] 在特定实施例中，本文所设想的经过修饰的免疫效应细胞用于治疗各种癌症，包括但不限于胰腺癌、膀胱癌和肺癌。

[0594] 在特定实施例中，本文所设想的经过修饰的免疫效应细胞用于治疗液体癌或血液癌。

[0595] 在特定实施例中，本文所设想的经过修饰的免疫效应细胞用于治疗B细胞恶性肿瘤，包括但不限于：白血病、淋巴瘤和多发性骨髓瘤。

[0596] 在特定实施例中,本文所设想的经过修饰的免疫效应细胞用于治疗液体癌,包括但不限于白血病、淋巴瘤和多发性骨髓瘤:急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)、成髓细胞白血病、早幼粒细胞白血病、髓单核细胞白血病、单核细胞白血病、红白血病、毛细胞白血病(HCL)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)和慢性粒细胞白血病(CML)、慢性髓单核细胞白血病(CMML)和真性红细胞增多症、霍奇金淋巴瘤(Hodgkin lymphoma)、结节性淋巴细胞为主的霍奇金淋巴瘤、伯基特淋巴瘤(Burkitt lymphoma)、小淋巴细胞淋巴瘤(SLL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、免疫母细胞性大细胞淋巴瘤、前体B淋巴母细胞淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、蕈样真菌病、间变性大细胞淋巴瘤、塞扎里氏综合征(Sézary syndrome)、前体T淋巴母细胞淋巴瘤、多发性骨髓瘤、明显多发性骨髓瘤、冒烟型多发性骨髓瘤、浆细胞白血病、非分泌性骨髓瘤、IgD骨髓瘤、骨硬化性骨髓瘤、骨的孤立性浆细胞瘤以及髓外浆细胞瘤。

[0597] 在本文所设想的方法中使用的优选细胞包含自体(autologous/autogeneic) (“自我”)细胞、优选地造血细胞、更优选地T细胞以及更优选地免疫效应细胞。

[0598] 在特定实施例中,提供了包括以下的方法:将本文所设想的治疗有效量的经过修饰的免疫效应细胞或包括其的组合物单独施用或与一种或多种治疗剂组合施用给有需要的患者。在某些实施例中,细胞用于治疗患有癌症、GVHD、传染病、自身免疫性疾病,炎性疾病或免疫缺陷风险的患者。因此,特定实施例包括治疗或预防癌症、传染病、自身免疫性疾病、炎性疾病或免疫缺陷或改善其的至少一种症状,包括向有需要的受试者施用本文所设想的治疗有效量的经过基因组编辑的细胞。

[0599] 在一个实施例中,治疗有需要的受试者的癌症、GVHD、传染病、自身免疫性疾病、炎性疾病或免疫缺陷的方法包括施用有效量的例如治疗有效量的包括本文所设想的经过修饰的免疫效应细胞的组合物。施用的数量和频率将由如患者的病状以及患者的疾病的类型和严重性等因素确定,但是适当的剂量可以通过临床试验确定。

[0600] 在一个说明性实施例中,提供给受试者的有效量的经过修饰的免疫效应细胞为至少 2×10^6 个细胞/kg、至少 3×10^6 个细胞/kg、至少 4×10^6 个细胞/kg、至少 5×10^6 个细胞/kg、至少 6×10^6 个细胞/kg、至少 7×10^6 个细胞/kg、至少 8×10^6 个细胞/kg、至少 9×10^6 个细胞/kg、或至少 10×10^6 个细胞/kg或更多个细胞/kg,包含所有中间剂量的细胞。

[0601] 在另一个说明性实施例中,提供给受试者的有效量的经过修饰的免疫效应细胞为约 2×10^6 个细胞/kg、约 3×10^6 个细胞/kg、约 4×10^6 个细胞/kg、约 5×10^6 个细胞/kg、约 6×10^6 个细胞/kg、约 7×10^6 个细胞/kg、约 8×10^6 个细胞/kg、约 9×10^6 个细胞/kg、或约 10×10^6 个细胞/kg或更多个细胞/kg,包含所有中间剂量的细胞。

[0602] 在另一个说明性实施例中,提供给受试者的有效量的经过修饰的免疫效应细胞为约 2×10^6 个细胞/kg到约 10×10^6 个细胞/kg、约 3×10^6 个细胞/kg到约 10×10^6 个细胞/kg、约 4×10^6 个细胞/kg到约 10×10^6 个细胞/kg、约 5×10^6 个细胞/kg到约 10×10^6 个细胞/kg、 2×10^6 个细胞/kg到约 6×10^6 个细胞/kg、 2×10^6 个细胞/kg到约 7×10^6 个细胞/kg、 2×10^6 个细胞/kg到约 8×10^6 个细胞/kg、 3×10^6 个细胞/kg到约 6×10^6 个细胞/kg、 3×10^6 个细胞/kg到约 7×10^6 个细胞/kg、 3×10^6 个细胞/kg到约 8×10^6 个细胞/kg、 4×10^6 个细胞/kg到约 6×10^6 个细胞/kg、 4×10^6 个细胞/kg到约 7×10^6 个细胞/kg、 4×10^6 个细胞/kg到约 8×10^6 个细胞/kg、 5×10^6 个细胞/kg到约 6×10^6 个细胞/kg、 5×10^6 个细胞/kg到约 7×10^6 个细胞/kg、 5×10^6

个细胞/kg到约 8×10^6 个细胞/kg或 6×10^6 个细胞/kg到约 8×10^6 个细胞/kg,包含所有中间剂量的细胞。

[0603] 本领域普通技术人员将认识到,可能需要多次施用特定实施例中设想的组合物以实现期望的疗法。例如,组合物可以在1周、2周、3周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、1年、2年、5年、10年或更长时间的跨度内施用1次、2次、3次、4次、5次、6次、7次、8次、9次或10次或更多次。

[0604] 在某些实施例中,可能希望向受试者施用活化的T细胞,并且随后重新抽血(或进行单采血液成分术)、从中活化T细胞并且向患者重新输注这些活化的和扩增的T细胞。可以每隔几周进行多次此过程。在某些实施例中,可以抽取10cc到400cc的血来活化T细胞。在某些实施例中,抽取20cc、30cc、40cc、50cc、60cc、70cc、80cc、90cc、100cc、150cc、200cc、250cc、300cc、350cc或400cc或更多量的血来活化T细胞。不受理论束缚,使用此多次抽血/多次重新输注方案可以用于选出某些T细胞群。

[0605] 在一个实施例中,治疗诊断患有癌症的受试者的方法包括:从受试者中除去免疫效应细胞;通过引入编码工程化抗原受体和TGF β 信号转换器的一种或多种载体修饰免疫效应细胞并且产生经过修饰的免疫效应细胞群;以及向同一受试者施用经过修饰的免疫效应细胞群。在优选实施例中,免疫效应细胞包括T细胞。

[0606] 用于施用特定实施例中所设想的细胞组合物的方法包含任何有效导致重新引入经过离体修饰的免疫效应细胞或重新引入免疫效应细胞的经过修饰的祖细胞的方法,所述免疫效应细胞在引入受试者时分化为成熟免疫效应细胞。一种方法包括通过引入一种或多种编码工程化抗原受体和TGF β 信号转换器的载体并且将转导的细胞返回到受试者来离体修饰外周血T细胞。

[0607] 本说明书中引用的所有出版物、专利申请和授权专利均通过引用并入本文,如同每个单独的出版物、专利申请或授权专利被具体地和单独地指示通过引用并入本文。

[0608] 尽管以上实施例已经出于清楚理解的目的通过说明和举例的方式进行了一些详细的描述,但是对于本领域的普通技术人员而言根据本文预期的教导应该容易清楚的是,在不偏离所附权利要求书的精神或范围下可以对其进行某些改变和变更。仅通过说明的方式而不是通过限制的方式提供以下实例。本领域技术人员将容易识别可以被改变或修改以产生本质上类似的结果的各种非关键参数。

[0609] 实例

[0610] 实例1

[0611] T细胞表达TGF β IL-12R信号转换器(CTBR12)和嵌合抗原受体(CAR)

[0612] 如图1所示出的,设计基于说明性TGF β IL-12R的信号转换器构建体。

[0613] 通过在IL-12连接之后使IL-12R β 1和IL-12R β 2亚单元的细胞内结构域二聚化来引发最佳IL-12受体信号传导。为了转换TGF β 信号以在暴露于TGF β 后诱导IL-12受体信号传导,分别用IL-12R β 1和IL-12R β 2信号传导结构域代替TGF β 受体1(TGF β R1)和TGF β 受体2(TGF β R2)的细胞内结构域。将IL-12R β 1和IL-12R β 2跨膜结构域和信号传导结构域克隆到编码CAR且通过2A自切割多肽序列(CAR.CTBR12)分离的慢病毒载体中。

[0614] 用可溶性抗CD3(1 μ g/mL)和抗CD28(5 μ g/mL)活化并用表达以下的媒剂或慢病毒载体转导来自健康供体PBMC的原代人T细胞:(i)抗ROR1 CAR;(ii)抗ROR1CAR和显性阴性TGF β

受体(抗ROR1.DNR);(iii)抗ROR1 CAR和TGF β R2亚单元;或(iv)抗ROR1 CAR和CTBR12(抗ROR1.CTBR12)。在含IL-2的生长培养基中培养10天后,通过流式细胞术确定抗ROR1 CAR和TGF β R2的细胞表面表达。与R-藻红蛋白(R-PE)缀合的重组人ROR1蛋白用于对表达抗ROR1 CAR的T细胞进行特异性染色。可商购的针对TGFBR2的抗体用于检测CTBR12。在图2中示出了代表性表达数据。

[0615] 用编码抗ROR1 CAR和CTBR12的慢病毒载体转导的T细胞的50%共表达抗ROR1 CAR和CTBR12(图2的最右侧图)。相比之下,在未转导的T细胞中未检测到抗ROR1 CAR或CTBR12,这表明针对TGFBR2的抗体未检测到内源性TGFBR2。

[0616] 实例2

[0617] CTBR12抑制的免疫抑制TGF β 信号传导

[0618] TGF β 1连接到含有2个单位的TGF β R1和2个单位的TGF β R2的四聚体复合物诱导SMAD2和SMAD3磷酸化以将免疫抑制信号传播到细胞核。截短的TGF β R2(显性阴性TGF β 受体-DNR)的过表达使得T细胞对TGF β 不敏感,如通过应答TGF β 处理而损失SMAD2/3磷酸化所示出的。因此,磷酸-SMAD2/3表达用于探询TGF β 信号传导途径活化。

[0619] 用可溶性抗CD3(1 μ g/mL)和抗CD28(5 μ g/mL)活化并用表达以下的媒剂或慢病毒载体转导来自健康供体PBMC的原代人T细胞:(i)抗ROR1 CAR;(ii)抗ROR1 CAR和显性阴性TGF β 受体(抗ROR1.DNR);(iii)抗ROR1 CAR和TGF β R2亚单元;或(iv)抗ROR1 CAR和CTBR12(抗ROR1.CTBR12)。在含IL-2的生长培养基中培养10天后,用10ng/mL重组人TGF β 1处理培养物20分钟。用对磷酸化SMAD2/3具有特异性的抗体评估SMAD2/3磷酸化。表达CTBR12或DNR的T细胞被完全保护免于SMAD2/3的磷酸化(图3)。这些数据证实CTBR12的表达使得抗ROR1 CAR T细胞对TGF β 免疫抑制信号传导不敏感。

[0620] 实例3

[0621] CTBR12在暴露于TGF β 1时转导IL-12R信号传导

[0622] 对IL-12的细胞应答由STAT4和STAT5的受体二聚化和磷酸化引发。因此,磷酸-STAT4和磷酸-STAT5表达用于估计IL-12受体信号传导途径活化。

[0623] 用可溶性抗CD3(1 μ g/mL)和抗CD28(5 μ g/mL)活化并用表达以下的媒剂或慢病毒载体转导来自健康供体PBMC的原代人T细胞:(i)抗ROR1 CAR;(ii)抗ROR1 CAR和显性阴性TGF β 受体(抗ROR1.DNR);(iii)抗ROR1 CAR和TGF β R2亚单元;或(iv)抗ROR1 CAR和CTBR12(抗ROR1.CTBR12)。在含IL-2的生长培养基中培养10天后,用50ng/mL重组人IL-12或用10ng/mL重组人TGF β 1处理培养物20分钟。

[0624] 表达抗ROR1 CAR细胞的T细胞表现出增加的磷酸化STAT4水平(图4,顶行,将最右边的4个图与未转导的对照(UTD)进行比较)。仅表达CTBR12的CAR T细胞示出在用重组人TGF β 1处理时可检测的磷酸-STAT4表达水平(图4,底行,将最右侧的图与其它图进行比较)。相比之下,仅表达信号转换器的TGF β R2部分的CAR T细胞不使应答TGF β 处理的STAT4磷酸化(图4,底行,右边四张图)。

[0625] 表达CTBR12的CAR T细胞还展现出在用IL-12或TGF β 1处理时可检测的磷酸-STAT5水平,这证实转换的TGF β 信号诱导内源性IL-12受体信号传导(图5)。

[0626] 在存在或不存在TGF β 1的情况下,在抗原驱动连续扩增测定中测量表达抗ROR1.CTBR12的CAR T细胞的基因表达。简而言之,在存在或不存在重组人TGF β 1的情况下,

使用表达人ROR1抗原的GFP标记的K562靶细胞连续扩增CAR T细胞。在存在或不存在5ng/mL重组人TGFβ1的情况下,用靶细胞以1:1的比率每七天刺激CAR T细胞一次。采集T细胞并在初始刺激后第21天分离用于基因表达分析的mRNA。使用Nanostring免疫谱图进行基因表达分析。在表达抗ROR1.CTBR12的细胞中识别了由TGFβ1处理驱动的显著基因表达变化(图6,左图),包含已知的IL-12R调控转录物IFNG、SELL、IL18RAP、IL18R1和IL21R的上调(图6,右图)。

[0627] 实例4

[0628] 表达CTBR12的CAR T细胞在暴露于抗原和TGFβ1后分泌增加的IFN γ

[0629] 人T细胞中的IL-12受体信号传导驱动TH1分化并增加效应子功能。IL-12受体信号传导可以与TCR信号配合以增加应答抗原刺激的IFN γ 的释放。

[0630] 当在存在重组人TGFβ1的情况下通过TCR或CAR刺激T细胞时,R2/R1信号转换器扩增了IFN γ 的产生。用可溶性抗CD3(1μg/mL)和抗CD28(5μg/mL)活化并用表达以下的媒介或慢病毒载体转导来自健康供体PBMC的原代人T细胞:(i)抗ROR1 CAR;(ii)抗ROR1 CAR和显性阴性TGFβ受体(抗ROR1.DNR);或(iii)抗ROR1 CAR和CTBR12(抗ROR1.CTBR12)。在含IL-2的生长培养基中培养10天后,在存在或不存在5ng/mL重组人TGFβ1的情况下,将细胞铺板于板结合的抗CD3抗体(1μg/mL)或重组人ROR1蛋白(100ng/mL)上。铺板后四十八小时,收集上清液并通过Luminex分析可溶性细胞因子含量。

[0631] 当在存在重组人TGFβ1的情况下通过TCR或CAR刺激时,CTBR12表达细胞产生明显高于其它细胞类型的量的IFN γ (图7)。

[0632] 实例5

[0633] 表达CTBR12的CAR T细胞对TGFβ1免疫抑制信号具有抗性

[0634] TGFβ信号传导降低应答抗原刺激的T细胞扩增。相比之下,IL-12信号传导增加T细胞增殖并且减少由慢性抗原暴露引起的T细胞功能减退。

[0635] 用可溶性抗CD3(1μg/mL)和抗CD28(5μg/mL)活化并用表达以下的媒介或慢病毒载体转导来自健康供体PBMC的原代人T细胞:(i)抗ROR1 CAR;(ii)抗ROR1 CAR和显性阴性TGFβ受体(抗ROR1.DNR);或(iii)抗ROR1 CAR和CTBR12(抗ROR1.CTBR12)。在含IL-2的生长培养基中培养10天后,对细胞进行体外连续再刺激测定。

[0636] 简而言之,在存在或不存在重组人TGFβ1的情况下,使用表达人ROR1抗原的GFP标记的K562靶细胞连续扩增CAR T细胞。在存在或不存在5ng/mL重组人TGFβ1的情况下,用靶细胞以1:1的比率每七天刺激CART细胞一次。在存在5ng/mL重组人TGFβ1的情况下,对照抗ROR1 CAR-T细胞在测定过程中显示出最小的扩增。相比之下,显著地保护共表达TGFβDNR或CTBR12的抗ROR1 CAR T细胞免受免疫抑制TGFβ1介导的信号传导。图8.这些结果与DNR和CTBR12阻断SMAD磷酸化的能力相关(图8)。

[0637] 实例6

[0638] T细胞表达TGFβ-IL-7R信号转换器R2/R1(CTBR7)和嵌合抗原受体(CAR)

[0639] 如图1所示出的,设计基于说明性TGFβIL-7R的信号转换器(CTBR7)构建体。

[0640] 通过在IL-7连接之后使IL-7Rα的细胞内结构域和共同γ链(γc;IL-2Rγ)二聚化来引发最佳IL-7受体信号传导。为了转换TGFβ信号以在暴露于TGFβ后诱导IL-7受体信号传导,分别用IL-2Rγ和IL-7Rα信号传导结构域代替TGFβ受体1(TGFβR1)和TGFβ受体2(TGFβR2)。

R2)的细胞内结构域,从而产生IL-7信号传导嵌合TGF β 受体(CTBR7)。将IL-2R γ 和IL-7R α 跨膜结构域和信号传导结构域克隆到编码CAR并通过2A自切割多肽序列(CAR.CTBR7)分离的慢病毒载体中。

[0641] 用可溶性抗CD3(1 μ g/mL)和抗CD28(5 μ g/mL)活化并用表达以下的媒介或慢病毒载体转导来自健康供体PBMC的原代人T细胞:(i)抗ROR1 CAR;(ii)抗ROR1 CAR和显性阴性TGF β 受体(抗ROR1.DNR);(iii)抗ROR1 CAR和CTBR7(抗ROR1.CTBR7)。在含IL-2的生长培养基中培养10天后,通过流式细胞术确定抗ROR1CAR和TGF β R2的细胞表面表达。与R-藻红蛋白(R-PE)缀合的重组人ROR1蛋白用于对表达抗ROR1 CAR的T细胞进行特异性染色。可商购的针对TGFBR2的抗体用于检测CTBR7。在图9中示出了代表性表达数据。

[0642] 用编码抗ROR1 CAR和CTBR7的慢病毒载体转导的T细胞的40%共表达抗ROR1 CAR和CTBR7(图9的最右侧图)。相比之下,在未转导的T细胞中未检测到抗ROR1 CAR或CTBR7,这表明针对TGFBR2的抗体未检测到内源性TGFBR2。

[0643] 实例7

[0644] CTBR7抑制的免疫抑制TGF β 信号传导

[0645] TGF β 1连接到含有2个单位的TGF β R1和2个单位的TGF β R2的四聚体复合物诱导SMAD2和SMAD3磷酸化以将免疫抑制信号传播到细胞核。截短的TGF β R2(显性阴性TGF β 受体-DNR)的过表达使得T细胞对TGF β 不敏感,如通过应答TGF β 处理而损失SMAD2/3磷酸化所示出的。因此,磷酸-SMAD2/3表达用于探询TGF β 信号传导途径活化。

[0646] 用可溶性抗CD3(1 μ g/mL)和抗CD28(5 μ g/mL)活化并用表达以下的媒介或慢病毒载体转导来自健康供体PBMC的原代人T细胞:(i)抗ROR1 CAR;(ii)抗ROR1 CAR和显性阴性TGF β 受体(抗ROR1.DNR);(iii)抗ROR1 CAR和CTBR7(抗ROR1.CTBR7)。在含IL-2的生长培养基中培养10天后,用10ng/mL重组人TGF β 1处理培养物20分钟。用对磷酸化SMAD2/3具有特异性的抗体评估SMAD2/3磷酸化。保护表达CTBR7或DNR的T细胞免受SMAD2/3的磷酸化(图10)。这些数据证实CTBR7的表达使得抗ROR1 CART细胞对TGF β 免疫抑制信号传导不敏感。

[0647] 实例8

[0648] CTBR7在暴露于TGF β 1时转导IL-7R信号传导

[0649] 对IL-7的细胞应答由STAT5的受体二聚化和磷酸化引发。因此,磷酸-STAT5表达用于估计表达CTBR7的T细胞的IL-7受体信号传导途径活化。

[0650] 用可溶性抗CD3(1 μ g/mL)和抗CD28(5 μ g/mL)活化并用表达以下的媒介或慢病毒载体转导来自健康供体PBMC的原代人T细胞:(i)抗ROR1 CAR;(ii)抗ROR1 CAR和显性阴性TGF β 受体(抗ROR1.DNR);(iii)抗ROR1 CAR和CTBR7(抗ROR1.CTBR7)。在含IL-2的生长培养基中培养10天后,用10ng/mL重组人TGF β 1处理培养物20分钟。仅表达CTBR7的CAR T细胞示出在用重组人TGF β 1处理时可检测的磷酸-STAT5表达水平(图11,将最右侧的图与其它图进行比较)。

[0651] 为了进一步探询转换的IL-7R信号传导,确定了CTBR7表达细胞应答连续TGF β 1暴露而上调Bcl-2蛋白表达的能力。在不存在外源细胞因子支持物和存在或不存在TGF β 1的情况下,对共表达DNR(抗ROR1.DNR)或CTBR7(抗ROR1.CTBR7)的对照CAR T细胞或CAR T细胞进行抗原驱动连续扩增测定。简而言之,在存在或不存在重组人TGF β 1的情况下,使用表达人ROR1抗原的GFP标记的K562靶细胞连续扩增CAR T细胞。在存在或不存在5ng/mL重组人

TGFβ1的情况下,用靶细胞以1:1的比率每七天刺激CAR T细胞一次。在第二次刺激后六天,通过流式细胞术探询抗ROR1 CAR、抗ROR1 CAR.DNR或抗ROR1 CAR.CTBR7T细胞的Bcl-2蛋白表达。仅表达CTBR7的CAR T细胞展示出在存在TGFβ1的情况下扩增时增加的Bcl-2蛋白表达水平(图12)。

[0652] 实例9

[0653] 共表达CTBR7的CAR T细胞在不存在外源IL-2和存在TGFβ1的情况下证实持续的效应子活性

[0654] TGFβ信号传导降低应答抗原刺激的T细胞扩增。相比之下,IL-7信号传导可以诱导T细胞增殖和存活,这种活性对记忆T细胞群特别明显。为了估计CTBR7信号传导是否可以在存在TGFβ1的情况下增加CAR T细胞效应子活性,我们在没有提供外源IL-2细胞因子支持物的情况下比较了CAR.CTBR7在连续再刺激测定中针对对照CAR T细胞和CAR.DNR T细胞的扩增和抗肿瘤活性。

[0655] 用可溶性抗CD3(1μg/mL)和抗CD28(5μg/mL)活化并用表达以下的媒介或慢病毒载体转导来自健康供体PBMC的原代人T细胞:(i)抗ROR1 CAR;(ii)抗ROR1CAR和显性阴性TGFβ受体(抗ROR1.DNR);或(iii)抗ROR1 CAR和CTBR7(抗ROR1.CTBR7)。在含IL-2的生长培养基中培养10天后,在不存在外源IL-2细胞因子支持物的情况下对细胞进行体外连续再刺激测定。

[0656] 简而言之,在存在或不存在重组人TGFβ1的情况下,使用表达人ROR1抗原的GFP标记的K562靶细胞连续扩增CAR T细胞。在存在或不存在5ng/mL重组人TGFβ1的情况下,用靶细胞以1:1的比率每七天刺激CAR T细胞一次。在此测定中,外源IL-2不用作支持物。在存在5ng/mL重组人TGFβ1的情况下,对照抗ROR1 CAR T细胞在测定过程中显示出最小的扩增。共表达DNR的CAR T细胞在存在TGFβ1的情况下扩增时还证实了减少的扩增。相比之下,与不存在TGFβ1的情况下扩增的相同细胞相比,共表达CTBR7的抗ROR1 CAR T细胞证实了增强的扩增(图13)。这些数据证实,与单独的CAR相比,活性CTBR7信号传导增加了T细胞的扩增。

[0657] 共表达CTBR7的CAR T细胞在上述没有IL-2支持物的连续再刺激测定中从培养物中清除了肿瘤细胞。在第二轮刺激后,仅共表达CTBR7并用TGFβ1处理的CAR T细胞完全清除了肿瘤群(如通过保留在培养物中的GFP阳性肿瘤细胞的存在监测到的)(图13)。这些数据证实CTBR7信号传导足以在单独CAR信号传导不充分的条件下支持效应子功能。

[0658] 实例10

[0659] T细胞表达嵌合抗原受体(CAR)和CTBR12或CTBR7

[0660] 如图1所示出的,设计说明性TGFβIL-12R或TGFβIL-7R信号转换器构建体。

[0661] 将IL-12Rβ1和IL-12Rβ2跨膜结构域和信号传导结构域克隆到编码抗EGFR CAR且通过2A自切割多肽序列(抗EGFR.CTBR12)分离的慢病毒载体中。

[0662] 将IL-2Rγ和IL-7Rα跨膜结构域和信号传导结构域克隆到编码抗EGFR CAR且通过2A自切割多肽序列(抗EGFR.CTBR7)分离的慢病毒载体中。

[0663] 用可溶性抗CD3(1μg/mL)和抗CD28(5μg/mL)活化并用表达以下的媒介或慢病毒载体转导来自健康供体PBMC的原代人T细胞:(i)抗EGFR CAR;(ii)抗EGFR CAR和显性阴性TGFβ受体(抗EGFR.DNR);(iii)抗EGFR CAR和CTBR12(抗EGFR.CTBR12);以及(iv)抗EGFR CAR和CTBR7(抗EGFR.CTBR7)。在含IL-2的生长培养基中培养10天后,通过流式细胞术确定抗EGFR

CAR和TGFβR2的细胞表面表达。在图15中示出了代表性表达数据(顶部图)。

[0664] 实例11

[0665] 通过表达抗EGFR CAR和CTBR12或抗EGFR CAR和CTBR7的T细胞抑制免疫抑制TGF β信号传导

[0666] 用可溶性抗CD3(1μg/mL)和抗CD28(5μg/mL)活化并用表达以下的媒剂或慢病毒载体转导来自健康供体PBMC的原代人T细胞:(i)抗EGFR CAR;(ii)抗EGFR CAR和显性阴性TGF β受体(抗EGFR.DNR);(iii)抗EGFR CAR和CTBR12(抗EFGR.CTBR12);以及(iv)抗EGFR CAR和CTBR7(抗EFGR.CTBR7)。在含IL-2的生长培养基中培养10天后,用10ng/mL重组人TGFβ1处理培养物20分钟。用对磷酸化SMAD2/3具有特异性的抗体评估SMAD2/3磷酸化。表达DNR、CTBR12或CTBR7的T细胞被完全保护免于SMAD2/3的磷酸化(图15,底部图)。这些数据证实CTBR12或CTBR7的表达使得抗EGFR CAR T细胞对TGFβ免疫抑制信号传导不敏感。

[0667] 实例12

[0668] CTBR在暴露于TGFβ1时转导IL-R信号传导

[0669] 对IL-12的细胞应答由STAT4和STAT5的受体二聚化和磷酸化引发。磷酸-STAT4表达用于估计表达抗EGFR.CTBR12的T细胞的IL-12受体信号传导途径活化。

[0670] 对IL-7的细胞应答由STAT5的受体二聚化和磷酸化引发。因此,磷酸-STAT5表达用于估计表达抗EGFR.CTBR7的T细胞的IL-7受体信号传导途径活化。

[0671] 用可溶性抗CD3(1μg/mL)和抗CD28(5μg/mL)活化并用表达以下的媒剂或慢病毒载体转导来自健康供体PBMC的原代人T细胞:(i)抗EGFR CAR;(ii)抗EGFR CAR和CTBR12(抗EFGR.CTBR12);以及(iii)抗EGFR CAR和CTBR7(抗EFGR.CTBR7)。在含IL-2的生长培养基中培养10天后,用重组人IL-12或重组人TGFβ1处理T细胞培养物20分钟(图16)或用重组人IL-7或重组人TGFβ1处理所述T细胞培养物20分钟(图17)。

[0672] 表达抗EGFR CAR或抗EFGR.CTBR12的T细胞示出在存在IL-12的情况下增加的磷酸化STAT4水平(图16,左图),而仅表达抗EFGR.CTBR12的T细胞示出在存在TGFβ1的情况下增加的磷酸化STAT4水平(图16,右下图)。

[0673] 表达抗EGFR CAR或抗EFGR.CTBR7的T细胞示出在存在IL-7的情况下增加的磷酸化STAT5水平(图17,左图),而仅表达抗EFGR.CTBR7的T细胞示出在存在TGFβ1的情况下增加的磷酸化STAT4水平(图17,右下图)。

[0674] 实例13

[0675] 表达CTBR12的CAR T细胞在暴露于抗原和TGFβ1后分泌增加的IFN γ

[0676] 用可溶性抗CD3(1μg/mL)和抗CD28(5μg/mL)活化并用表达以下的媒剂或慢病毒载体转导来自健康供体PBMC的原代人T细胞:(i)抗EGFR CAR;(ii)抗EGFR CAR和显性阴性TGF β受体(抗EGFR.DNR);或(iii)抗EGFR CAR和CTBR12(抗EFGR.CTBR12)。在含IL-2的生长培养基中培养10天后,在存在或不存在5ng/mL重组人TGFβ1的情况下,将表达CAR和CTBR的T细胞与Jurkat细胞(EGFR(-))、A549细胞(EGFR(+))或HT1080细胞(EGFR(+))一起培养48小时。收集上清液并通过Luminex分析可溶性细胞因子含量。

[0677] 与在存在重组人TGFβ1的情况下用EGFR(-)细胞系培养相比,表达CTBR12的细胞在使用EGFR(+)细胞系培养时产生显著更大量的IFN γ(图18)。

[0678] 实例14

[0679] 共表达CTBR的抗EGFR CAR T细胞在不存在外源IL-2和存在TGFβ1的情况下证实持续的效应子活性

[0680] 用可溶性抗CD3(1μg/mL)和抗CD28(5μg/mL)活化并用表达以下的媒介或慢病毒载体转导来自健康供体PBMC的原代人T细胞:(i)抗EGFR CAR;(ii)抗EGFR CAR和显性阴性TGFβ受体(抗EGFR.DNR);(iii)抗EGFR CAR和CTBR12(抗EGFR.CTBR12);以及(iv)抗EGFR CAR和CTBR7(抗EGFR.CTBR7)。在含IL-2的生长培养基中培养10天后,在不存在外源IL-2细胞因子支持物的情况下对细胞进行体外连续再刺激测定。

[0681] 简而言之,在存在或不存在重组人TGFβ1的情况下,使用表达人EGFR抗原的GFP标记的靶细胞连续扩增CAR T细胞。在存在或不存在5ng/mL重组人TGFβ1的情况下,用靶细胞以1:1的比率每七天刺激CAR T细胞一次。在此测定中,外源IL-2不用作支持物。对照抗EGFR CAR T细胞在存在5ng/mL重组人TGFβ1的情况下通过第一次刺激显示出最小的扩增,并且未进一步培养。共表达DNR的CAR T细胞在存在TGFβ1的情况下扩增时还证实了减少的扩增。相比之下,与在不存在TGFβ1的情况下扩增的相同细胞相比,共表达CTBR12或CTBR7的抗EGFR CAR T细胞证实增强的扩增(图19)。这些数据证实,与单独的CAR相比,活性CTBR12或CTBR7信号传导增加了T细胞扩增。

[0682] 实例15

[0683] 共表达CTBR的NY-ESO1 TCR T细胞在不存在外源IL-2和存在TGFβ1的情况下证实持续的效应子活性

[0684] 如图20所示出的,设计了基于说明性TCR的TGFβIL-12R和TGFβIL-R信号转换器构建体。

[0685] 将IL-12Rβ1和IL-12Rβ2跨膜结构域和信号传导结构域克隆到编码抗NY-ESO1 TCR且通过2A自切割多肽序列(NY-ESO1.CTBR12)分离的慢病毒载体中。

[0686] 将IL-2Rγ和IL-7Rα跨膜结构域和信号传导结构域克隆到编码NY-ESO1 TCR且通过2A自切割多肽序列(NY-ESO1.CTBR7)分离的慢病毒载体中。

[0687] 用可溶性抗CD3(1μg/mL)和抗CD28(5μg/mL)活化并用表达以下的媒介或慢病毒载体转导来自健康供体PBMC的原代人T细胞:(i)NY-ESO1 TCR;(ii)NY-ESO1 TCR和显性阴性TGFβ受体(NY-ESO1.DNR);(iii)NY-ESO1 TCR和CTBR12(NY-ESO1.CTBR12);以及(iv)NY-ESO1 TCR和CTBR7(NY-ESO1.CTBR7)。在含IL-2的生长培养基中培养10天后,通过流式细胞术确定NY-ESO1 TCRR和TGFβR2的细胞表面表达。表达了所有构建体。

[0688] 实例16

[0689] 通过表达NY-ESO TCR和CTBR12或NY-ESO TCR和CTBR7的T细胞抑制免疫抑制TGFβ信号传导

[0690] 用可溶性抗CD3(1μg/mL)和抗CD28(5μg/mL)活化并用表达以下的媒介或慢病毒载体转导来自健康供体PBMC的原代人T细胞:(i)NY-ESO1 TCR;(ii)NY-ESO1 TCR和显性阴性TGFβ受体(NY-ESO1.DNR);(iii)NY-ESO1 TCR和CTBR12(NY-ESO1.CTBR12);以及(iv)NY-ESO1 TCR和CTBR7(NY-ESO1.CTBR7)。在含IL-2的生长培养基中培养10天后,用10ng/mL重组人TGFβ1处理培养物20分钟。用对磷酸化SMAD2/3具有特异性的抗体评估SMAD2/3磷酸化。表达DNR、CTBR12或CTBR7的T细胞被完全保护免于SMAD2/3的磷酸化(图21)。这些数据证实CTBR12或CTBR7的表达使得NY-ESO1 TCR T细胞对TGFβ免疫抑制信号传导不敏感。

[0691] 实例17

[0692] CTBR在暴露于TGFβ1时转导IL-R信号传导

[0693] 对IL-12的细胞应答由STAT4和STAT5的受体二聚化和磷酸化引发。磷酸-STAT4表达用于估计表达NY-ES01.CTBR12的T细胞的IL-12受体信号传导途径活化。

[0694] 对IL-7的细胞应答由STAT5的受体二聚化和磷酸化引发。因此,磷酸-STAT5表达用于估计表达NY-ES01.CTBR7的T细胞的IL-7受体信号传导途径活化。

[0695] 用可溶性抗CD3 (1μg/mL) 和抗CD28 (5μg/mL) 活化并用表达以下的媒剂或慢病毒载体转导来自健康供体PBMC的原代人T细胞: (i) NY-ES01 TCR和CTBR12 (NY-ES01.CTBR12); 以及(ii) NY-ES01 TCR和CTBR7 (NY-ES01.CTBR7)。在含IL-2的生长培养基中培养10天后, 用重组人IL-7或重组人TGFβ1处理T细胞培养物20分钟(图22, 顶部图) 或用重组人IL-12或重组人TGFβ1处理所述T细胞培养物20分钟(图22, 底部图)。

[0696] 实例18

[0697] 表达CTBR12的CAR T细胞在暴露于抗原和TGFβ1后分泌增加的IFN γ

[0698] 用可溶性抗CD3 (1μg/mL) 和抗CD28 (5μg/mL) 活化并用表达以下的媒剂或慢病毒载体转导来自健康供体PBMC的原代人T细胞: (i) NY-ES01 TCR; (ii) NY-ES01 TCR和显性阴性TGFβ受体 (NY-ES01.DNR); (iii) NY-ES01 TCR和CTBR12 (NY-ES01.CTBR12); 以及(iv) NY-ES01 TCR和CTBR7 (NY-ES01.CTBR7)。在含IL-2的生长培养基中培养10天后, 在存在或不存在5ng/mL重组人TGFβ1的情况下, 用SaOs2细胞 (A2, NY-ES01 (+)) 或A549.A2.NY-ES01细胞 (A2, NY-ES01 (+)) 以T细胞与靶细胞的5:1比率培养表达CAR和CTBRT的T细胞48小时。收集上清液并通过Luminex分析可溶性细胞因子含量。

[0699] 与A2和NY-ES01 (+) 细胞系相比, 当在存在重组人TGFβ1的情况下用A2和NY-ES01 (+) 细胞系培养时, 表达CTBR12的细胞产生显着更大量的IFN γ (图23)。表达CTBR的细胞证实了对免疫抑制TGFβ信号传导的抗性。

[0700] 总之, 在以下权利要求书中, 所使用的术语不应当被解释为将权利要求限制于本说明书和权利要求书中所公开的特定实施例, 而是应当被解释为包含所有可能的实施例, 连同这种权利要求书有权获得的等效物的整个范围。因此, 权利要求书不受本公开限制。

[0001]	序列表																
[0002]	<110>	蓝鸟生物公司(bluebird bio, Inc.)															
[0003]		本杰明·博埃里纳斯(Boyerinas, Benjamin)															
[0004]	<120>	TGFB信号转换器															
[0005]	<130>	BLBD-080/02W0 315698-2628															
[0006]	<150>	US 62/467,496															
[0007]	<151>	2017-03-06															
[0008]	<150>	US 62/423,565															
[0009]	<151>	2016-11-17															
[0010]	<160>	76															
[0011]	<170>	SIPOSequenceListing 1.0															
[0012]	<210>	1															
[0013]	<211>	507															
[0014]	<212>	PRT															
[0015]	<213>	智人(Homo sapiens)															
[0016]	<400>	1															
[0017]	Met Glu Ala Ala Val Ala Ala Pro Arg Pro Arg Leu Leu Leu Leu Val																
[0018]	1	5				10				15							
[0019]	Leu Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Leu Leu Pro Gly Ala Thr																
[0020]	20				25				30								
[0021]	Ala Leu Gln Cys Phe Cys His Leu Cys Thr Lys Asp Asn Phe Thr Cys																
[0022]	35				40				45								
[0023]	Val Thr Asp Gly Leu Cys Phe Val Ser Val Thr Glu Thr Thr Asp Lys																
[0024]	50				55				60								
[0025]	Val Ile His Asn Ser Met Cys Ile Ala Glu Ile Asp Leu Ile Pro Arg																
[0026]	65	70				75				80							
[0027]	Asp Arg Pro Phe Val Cys Ala Pro Ser Ser Lys Thr Gly Ser Val Thr																
[0028]	85				90				95								
[0029]	Thr Thr Tyr Cys Cys Asn Gln Asp His Cys Asn Lys Ile Glu Leu Pro																
[0030]	100				105				110								
[0031]	Thr Thr Gly Pro Phe Ser Val Lys Ser Ser Pro Gly Leu Gly Pro Val																
[0032]	115				120				125								
[0033]	Glu Leu Ala Ala Val Ile Ala Gly Pro Val Cys Phe Val Cys Ile Ser																
[0034]	130				135				140								
[0035]	Leu Met Leu Met Val Tyr Ile Cys His Asn Arg Thr Val Ile His His																
[0036]	145	150				155				160							
[0037]	Arg Val Pro Asn Glu Glu Asp Pro Ser Leu Asp Arg Pro Phe Ile Ser																
[0038]	165				170				175								

[0039]	Glu Gly Thr Thr Leu Lys Asp Leu Ile Tyr Asp Met Thr Thr Ser Gly		
[0040]		180	185
[0041]	Ser Gly Ser Gly Leu Pro Leu Leu Val Gln Arg Thr Ile Ala Arg Thr		190
[0042]		195	200
[0043]	Ile Val Leu Gln Glu Ser Ile Gly Lys Gly Arg Phe Gly Glu Val Trp		205
[0044]		210	215
[0045]	Arg Gly Lys Trp Arg Gly Glu Glu Val Ala Val Lys Ile Phe Ser Ser		220
[0046]	225	230	235
[0047]	Arg Glu Glu Arg Ser Trp Phe Arg Glu Ala Glu Ile Tyr Gln Thr Val		240
[0048]		245	250
[0049]	Met Leu Arg His Glu Asn Ile Leu Gly Phe Ile Ala Ala Asp Asn Lys		255
[0050]		260	265
[0051]	Asp Asn Gly Thr Trp Thr Gln Leu Trp Leu Val Ser Asp Tyr His Glu		270
[0052]		275	280
[0053]	His Gly Ser Leu Phe Asp Tyr Leu Asn Arg Tyr Thr Val Thr Val Glu		285
[0054]		290	295
[0055]	Gly Met Ile Lys Leu Ala Leu Ser Thr Ala Ser Gly Leu Ala His Leu		300
[0056]	305	310	315
[0057]	His Met Glu Ile Val Gly Thr Gln Gly Lys Pro Ala Ile Ala His Arg		320
[0058]		325	330
[0059]	Asp Leu Lys Ser Lys Asn Ile Leu Val Lys Lys Asn Gly Thr Cys Cys		335
[0060]		340	345
[0061]	Ile Ala Asp Leu Gly Leu Ala Val Arg His Asp Ser Ala Thr Asp Thr		350
[0062]		355	360
[0063]	Ile Asp Ile Ala Pro Asn His Arg Val Gly Thr Lys Arg Tyr Met Ala		365
[0064]		370	375
[0065]	Pro Glu Val Leu Asp Asp Ser Ile Asn Met Lys His Phe Glu Ser Phe		380
[0066]	385	390	395
[0067]	Lys Arg Ala Asp Ile Tyr Ala Met Gly Leu Val Phe Trp Glu Ile Ala		400
[0068]		405	410
[0069]	Arg Arg Cys Ser Ile Gly Gly Ile His Glu Asp Tyr Gln Leu Pro Tyr		415
[0070]		420	425
[0071]	Tyr Asp Leu Val Pro Ser Asp Pro Ser Val Glu Glu Met Arg Lys Val		430
[0072]		435	440
[0073]	Val Cys Glu Gln Lys Leu Arg Pro Asn Ile Pro Asn Arg Trp Gln Ser		445
[0074]		450	455
[0075]	Cys Glu Ala Leu Arg Val Met Ala Lys Ile Met Arg Glu Cys Trp Tyr		460
[0076]	465	470	475
[0077]	Ala Asn Gly Ala Ala Arg Leu Thr Ala Leu Arg Ile Lys Lys Thr Leu		480

[0078]		485		490		495
[0079]	Ser Gln Leu Ser Gln Gln Glu Gly Ile Lys Met					
[0080]		500		505		
[0081]	<210> 2					
[0082]	<211> 567					
[0083]	<212> PRT					
[0084]	<213> 智人(Homo sapiens)					
[0085]	<400> 2					
[0086]	Met Gly Arg Gly Leu Leu Arg Gly Leu Trp Pro Leu His Ile Val Leu					
[0087]	1	5		10		15
[0088]	Trp Thr Arg Ile Ala Ser Thr Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Val					
[0089]		20		25		30
[0090]	Asn Asn Asp Met Ile Val Thr Asp Asn Asn Gly Ala Val Lys Phe Pro					
[0091]		35		40		45
[0092]	Gln Leu Cys Lys Phe Cys Asp Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln					
[0093]		50		55		60
[0094]	Lys Ser Cys Met Ser Asn Cys Ser Ile Thr Ser Ile Cys Glu Lys Pro					
[0095]	65	70		75		80
[0096]	Gln Glu Val Cys Val Ala Val Trp Arg Lys Asn Asp Glu Asn Ile Thr					
[0097]		85		90		95
[0098]	Leu Glu Thr Val Cys His Asp Pro Lys Leu Pro Tyr His Asp Phe Ile					
[0099]		100		105		110
[0100]	Leu Glu Asp Ala Ala Ser Pro Lys Cys Ile Met Lys Glu Lys Lys Lys					
[0101]		115		120		125
[0102]	Pro Gly Glu Thr Phe Phe Met Cys Ser Cys Ser Ser Asp Glu Cys Asn					
[0103]		130		135		140
[0104]	Asp Asn Ile Ile Phe Ser Glu Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp Leu					
[0105]	145	150		155		160
[0106]	Leu Leu Val Ile Phe Gln Val Thr Gly Ile Ser Leu Leu Pro Pro Leu					
[0107]		165		170		175
[0108]	Gly Val Ala Ile Ser Val Ile Ile Ile Phe Tyr Cys Tyr Arg Val Asn					
[0109]		180		185		190
[0110]	Arg Gln Gln Lys Leu Ser Ser Thr Trp Glu Thr Gly Lys Thr Arg Lys					
[0111]		195		200		205
[0112]	Leu Met Glu Phe Ser Glu His Cys Ala Ile Ile Leu Glu Asp Asp Arg					
[0113]		210		215		220
[0114]	Ser Asp Ile Ser Ser Thr Cys Ala Asn Asn Ile Asn His Asn Thr Glu					
[0115]	225	230		235		240
[0116]	Leu Leu Pro Ile Glu Leu Asp Thr Leu Val Gly Lys Gly Arg Phe Ala					

[0117]	245																250				255					
[0118]	Glu	Val	Tyr	Lys	Ala	Lys	Leu	Lys	Gln	Asn	Thr	Ser	Glu	Gln	Phe	Glu										
[0119]	260																265				270					
[0120]	Thr	Val	Ala	Val	Lys	Ile	Phe	Pro	Tyr	Glu	Glu	Tyr	Ala	Ser	Trp	Lys										
[0121]	275																280				285					
[0122]	Thr	Glu	Lys	Asp	Ile	Phe	Ser	Asp	Ile	Asn	Leu	Lys	His	Glu	Asn	Ile										
[0123]	290																295				300					
[0124]	Leu	Gln	Phe	Leu	Thr	Ala	Glu	Glu	Arg	Lys	Thr	Glu	Leu	Gly	Lys	Gln										
[0125]	305																310				315				320	
[0126]	Tyr	Trp	Leu	Ile	Thr	Ala	Phe	His	Ala	Lys	Gly	Asn	Leu	Gln	Glu	Tyr										
[0127]	325																330				335					
[0128]	Leu	Thr	Arg	His	Val	Ile	Ser	Trp	Glu	Asp	Leu	Arg	Lys	Leu	Gly	Ser										
[0129]	340																345				350					
[0130]	Ser	Leu	Ala	Arg	Gly	Ile	Ala	His	Leu	His	Ser	Asp	His	Thr	Pro	Cys										
[0131]	355																360				365					
[0132]	Gly	Arg	Pro	Lys	Met	Pro	Ile	Val	His	Arg	Asp	Leu	Lys	Ser	Ser	Asn										
[0133]	370																375				380					
[0134]	Ile	Leu	Val	Lys	Asn	Asp	Leu	Thr	Cys	Cys	Leu	Cys	Asp	Phe	Gly	Leu										
[0135]	385																390				395				400	
[0136]	Ser	Leu	Arg	Leu	Asp	Pro	Thr	Leu	Ser	Val	Asp	Asp	Leu	Ala	Asn	Ser										
[0137]	405																410				415					
[0138]	Gly	Gln	Val	Gly	Thr	Ala	Arg	Tyr	Met	Ala	Pro	Glu	Val	Leu	Glu	Ser										
[0139]	420																425				430					
[0140]	Arg	Met	Asn	Leu	Glu	Asn	Val	Glu	Ser	Phe	Lys	Gln	Thr	Asp	Val	Tyr										
[0141]	435																440				445					
[0142]	Ser	Met	Ala	Leu	Val	Leu	Trp	Glu	Met	Thr	Ser	Arg	Cys	Asn	Ala	Val										
[0143]	450																455				460					
[0144]	Gly	Glu	Val	Lys	Asp	Tyr	Glu	Pro	Pro	Phe	Gly	Ser	Lys	Val	Arg	Glu										
[0145]	465																470				475				480	
[0146]	His	Pro	Cys	Val	Glu	Ser	Met	Lys	Asp	Asn	Val	Leu	Arg	Asp	Arg	Gly										
[0147]	485																490				495					
[0148]	Arg	Pro	Glu	Ile	Pro	Ser	Phe	Trp	Leu	Asn	His	Gln	Gly	Ile	Gln	Met										
[0149]	500																505				510					
[0150]	Val	Cys	Glu	Thr	Leu	Thr	Glu	Cys	Trp	Asp	His	Asp	Pro	Glu	Ala	Arg										
[0151]	515																520				525					
[0152]	Leu	Thr	Ala	Gln	Cys	Val	Ala	Glu	Arg	Phe	Ser	Glu	Leu	Glu	His	Leu										
[0153]	530																535				540					
[0154]	Asp	Arg	Leu	Ser	Gly	Arg	Ser	Cys	Ser	Glu	Glu	Lys	Ile	Pro	Glu	Asp										
[0155]	545																550				555				560	

[0156]	Gly Ser Leu Asn Thr Thr Lys		
[0157]		565	
[0158]	<210>	3	
[0159]	<211>	662	
[0160]	<212>	PRT	
[0161]	<213>	智人(Homo sapiens)	
[0162]	<400>	3	
[0163]	Met Glu Pro Leu Val Thr Trp Val Val Pro Leu Leu Phe Leu Phe Leu		
[0164]	1	5	10 15
[0165]	Leu Ser Arg Gln Gly Ala Ala Cys Arg Thr Ser Glu Cys Cys Phe Gln		
[0166]		20	25 30
[0167]	Asp Pro Pro Tyr Pro Asp Ala Asp Ser Gly Ser Ala Ser Gly Pro Arg		
[0168]		35	40 45
[0169]	Asp Leu Arg Cys Tyr Arg Ile Ser Ser Asp Arg Tyr Glu Cys Ser Trp		
[0170]		50	55 60
[0171]	Gln Tyr Glu Gly Pro Thr Ala Gly Val Ser His Phe Leu Arg Cys Cys		
[0172]	65	70	75 80
[0173]	Leu Ser Ser Gly Arg Cys Cys Tyr Phe Ala Ala Gly Ser Ala Thr Arg		
[0174]		85	90 95
[0175]	Leu Gln Phe Ser Asp Gln Ala Gly Val Ser Val Leu Tyr Thr Val Thr		
[0176]		100	105 110
[0177]	Leu Trp Val Glu Ser Trp Ala Arg Asn Gln Thr Glu Lys Ser Pro Glu		
[0178]		115	120 125
[0179]	Val Thr Leu Gln Leu Tyr Asn Ser Val Lys Tyr Glu Pro Pro Leu Gly		
[0180]		130	135 140
[0181]	Asp Ile Lys Val Ser Lys Leu Ala Gly Gln Leu Arg Met Glu Trp Glu		
[0182]	145	150	155 160
[0183]	Thr Pro Asp Asn Gln Val Gly Ala Glu Val Gln Phe Arg His Arg Thr		
[0184]		165	170 175
[0185]	Pro Ser Ser Pro Trp Lys Leu Gly Asp Cys Gly Pro Gln Asp Asp Asp		
[0186]		180	185 190
[0187]	Thr Glu Ser Cys Leu Cys Pro Leu Glu Met Asn Val Ala Gln Glu Phe		
[0188]		195	200 205
[0189]	Gln Leu Arg Arg Arg Gln Leu Gly Ser Gln Gly Ser Ser Trp Ser Lys		
[0190]		210	215 220
[0191]	Trp Ser Ser Pro Val Cys Val Pro Pro Glu Asn Pro Pro Gln Pro Gln		
[0192]	225	230	235 240
[0193]	Val Arg Phe Ser Val Glu Gln Leu Gly Gln Asp Gly Arg Arg Arg Leu		
[0194]		245	250 255

[0195]	Thr	Leu	Lys	Glu	Gln	Pro	Thr	Gln	Leu	Glu	Leu	Pro	Glu	Gly	Cys	Gln
[0196]				260					265					270		
[0197]	Gly	Leu	Ala	Pro	Gly	Thr	Glu	Val	Thr	Tyr	Arg	Leu	Gln	Leu	His	Met
[0198]				275					280					285		
[0199]	Leu	Ser	Cys	Pro	Cys	Lys	Ala	Lys	Ala	Thr	Arg	Thr	Leu	His	Leu	Gly
[0200]				290					295					300		
[0201]	Lys	Met	Pro	Tyr	Leu	Ser	Gly	Ala	Ala	Tyr	Asn	Val	Ala	Val	Ile	Ser
[0202]	305						310				315					320
[0203]	Ser	Asn	Gln	Phe	Gly	Pro	Gly	Leu	Asn	Gln	Thr	Trp	His	Ile	Pro	Ala
[0204]					325					330					335	
[0205]	Asp	Thr	His	Thr	Glu	Pro	Val	Ala	Leu	Asn	Ile	Ser	Val	Gly	Thr	Asn
[0206]				340						345					350	
[0207]	Gly	Thr	Thr	Met	Tyr	Trp	Pro	Ala	Arg	Ala	Gln	Ser	Met	Thr	Tyr	Cys
[0208]				355					360					365		
[0209]	Ile	Glu	Trp	Gln	Pro	Val	Gly	Gln	Asp	Gly	Gly	Leu	Ala	Thr	Cys	Ser
[0210]				370					375					380		
[0211]	Leu	Thr	Ala	Pro	Gln	Asp	Pro	Asp	Pro	Ala	Gly	Met	Ala	Thr	Tyr	Ser
[0212]	385					390					395					400
[0213]	Trp	Ser	Arg	Glu	Ser	Gly	Ala	Met	Gly	Gln	Glu	Lys	Cys	Tyr	Tyr	Ile
[0214]				405						410					415	
[0215]	Thr	Ile	Phe	Ala	Ser	Ala	His	Pro	Glu	Lys	Leu	Thr	Leu	Trp	Ser	Thr
[0216]				420						425					430	
[0217]	Val	Leu	Ser	Thr	Tyr	His	Phe	Gly	Gly	Asn	Ala	Ser	Ala	Ala	Gly	Thr
[0218]				435					440						445	
[0219]	Pro	His	His	Val	Ser	Val	Lys	Asn	His	Ser	Leu	Asp	Ser	Val	Ser	Val
[0220]				450					455					460		
[0221]	Asp	Trp	Ala	Pro	Ser	Leu	Leu	Ser	Thr	Cys	Pro	Gly	Val	Leu	Lys	Glu
[0222]	465					470					475					480
[0223]	Tyr	Val	Val	Arg	Cys	Arg	Asp	Glu	Asp	Ser	Lys	Gln	Val	Ser	Glu	His
[0224]				485						490					495	
[0225]	Pro	Val	Gln	Pro	Thr	Glu	Thr	Gln	Val	Thr	Leu	Ser	Gly	Leu	Arg	Ala
[0226]				500						505					510	
[0227]	Gly	Val	Ala	Tyr	Thr	Val	Gln	Val	Arg	Ala	Asp	Thr	Ala	Trp	Leu	Arg
[0228]				515					520					525		
[0229]	Gly	Val	Trp	Ser	Gln	Pro	Gln	Arg	Phe	Ser	Ile	Glu	Val	Gln	Val	Ser
[0230]				530					535					540		
[0231]	Asp	Trp	Leu	Ile	Phe	Phe	Ala	Ser	Leu	Gly	Ser	Phe	Leu	Ser	Ile	Leu
[0232]	545					550					555					560
[0233]	Leu	Val	Gly	Val	Leu	Gly	Tyr	Leu	Gly	Leu	Asn	Arg	Ala	Ala	Arg	His

[0234]		565		570		575
[0235]	Leu Cys Pro Pro Leu Pro Thr Pro Cys Ala Ser Ser Ala Ile Glu Phe					
[0236]		580		585		590
[0237]	Pro Gly Gly Lys Glu Thr Trp Gln Trp Ile Asn Pro Val Asp Phe Gln					
[0238]		595		600		605
[0239]	Glu Glu Ala Ser Leu Gln Glu Ala Leu Val Val Glu Met Ser Trp Asp					
[0240]		610		615		620
[0241]	Lys Gly Glu Arg Thr Glu Pro Leu Glu Lys Thr Glu Leu Pro Glu Gly					
[0242]	625		630		635	640
[0243]	Ala Pro Glu Leu Ala Leu Asp Thr Glu Leu Ser Leu Glu Asp Gly Asp					
[0244]		645		650		655
[0245]	Arg Cys Lys Ala Lys Met					
[0246]		660				
[0247]	<210> 4					
[0248]	<211> 776					
[0249]	<212> PRT					
[0250]	<213> 智人(Homo sapiens)					
[0251]	<400> 4					
[0252]	Met Ala His Thr Phe Arg Gly Cys Ser Leu Ala Phe Met Phe Ile Ile					
[0253]	1	5		10		15
[0254]	Thr Trp Leu Leu Ile Lys Ala Lys Ile Asp Ala Cys Lys Arg Gly Asp					
[0255]		20		25		30
[0256]	Val Thr Val Lys Pro Ser His Val Ile Leu Leu Gly Ser Thr Val Asn					
[0257]		35		40		45
[0258]	Ile Thr Cys Ser Leu Lys Pro Arg Gln Gly Cys Phe His Tyr Ser Arg					
[0259]	50		55		60	
[0260]	Arg Asn Lys Leu Ile Leu Tyr Lys Phe Asp Arg Arg Ile Asn Phe His					
[0261]	65		70		75	80
[0262]	His Gly His Ser Leu Asn Ser Gln Val Thr Gly Leu Pro Leu Gly Thr					
[0263]		85		90		95
[0264]	Thr Leu Phe Val Cys Lys Leu Ala Cys Ile Asn Ser Asp Glu Ile Gln					
[0265]		100		105		110
[0266]	Ile Cys Gly Ala Glu Ile Phe Val Gly Val Ala Pro Glu Gln Pro Gln					
[0267]		115		120		125
[0268]	Asn Leu Ser Cys Ile Gln Lys Gly Glu Gln Gly Thr Val Ala Cys Thr					
[0269]	130		135		140	
[0270]	Trp Glu Arg Gly Arg Asp Thr His Leu Tyr Thr Glu Tyr Thr Leu Gln					
[0271]	145		150		155	160
[0272]	Leu Ser Gly Pro Lys Asn Leu Thr Trp Gln Lys Gln Cys Lys Asp Ile					

[0273]					165					170						175
[0274]	Tyr	Cys	Asp	Tyr	Leu	Asp	Phe	Gly	Ile	Asn	Leu	Thr	Pro	Glu	Ser	Pro
[0275]					180					185						190
[0276]	Glu	Ser	Asn	Phe	Thr	Ala	Lys	Val	Thr	Ala	Val	Asn	Ser	Leu	Gly	Ser
[0277]					195					200						205
[0278]	Ser	Ser	Ser	Leu	Pro	Ser	Thr	Phe	Thr	Phe	Leu	Asp	Ile	Val	Arg	Pro
[0279]					210					215						220
[0280]	Leu	Pro	Pro	Trp	Asp	Ile	Arg	Ile	Lys	Phe	Gln	Lys	Ala	Ser	Val	Ser
[0281]					225					230						240
[0282]	Arg	Cys	Thr	Leu	Tyr	Trp	Arg	Asp	Glu	Gly	Leu	Val	Leu	Leu	Asn	Arg
[0283]					245					250						255
[0284]	Leu	Arg	Tyr	Arg	Pro	Ser	Asn	Ser	Arg	Leu	Trp	Asn	Met	Val	Asn	Val
[0285]					260					265						270
[0286]	Thr	Lys	Ala	Lys	Gly	Arg	His	Asp	Leu	Leu	Asp	Leu	Lys	Pro	Phe	Thr
[0287]					275					280						285
[0288]	Glu	Tyr	Glu	Phe	Gln	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	His	Leu	Tyr	Lys	Gly	Ser
[0289]					290					295						300
[0290]	Trp	Ser	Asp	Trp	Ser	Glu	Ser	Leu	Arg	Ala	Gln	Thr	Pro	Glu	Glu	Glu
[0291]					305					310						320
[0292]	Pro	Thr	Gly	Met	Leu	Asp	Val	Trp	Tyr	Met	Lys	Arg	His	Ile	Asp	Tyr
[0293]					325					330						335
[0294]	Ser	Arg	Gln	Gln	Ile	Ser	Leu	Phe	Trp	Lys	Asn	Leu	Ser	Val	Ser	Glu
[0295]					340					345						350
[0296]	Ala	Arg	Gly	Lys	Ile	Leu	His	Tyr	Gln	Val	Thr	Leu	Gln	Glu	Leu	Thr
[0297]					355					360						365
[0298]	Gly	Gly	Lys	Ala	Met	Thr	Gln	Asn	Ile	Thr	Gly	His	Thr	Ser	Trp	Thr
[0299]					370					375						380
[0300]	Thr	Val	Ile	Pro	Arg	Thr	Gly	Asn	Trp	Ala	Val	Ala	Val	Ser	Ala	Ala
[0301]					385					390						400
[0302]	Asn	Ser	Lys	Gly	Ser	Ser	Leu	Pro	Thr	Arg	Ile	Asn	Ile	Met	Asn	Leu
[0303]					405					410						415
[0304]	Cys	Glu	Ala	Gly	Leu	Leu	Ala	Pro	Arg	Gln	Val	Ser	Ala	Asn	Ser	Glu
[0305]					420					425						430
[0306]	Gly	Met	Asp	Asn	Ile	Leu	Val	Thr	Trp	Gln	Pro	Pro	Arg	Lys	Asp	Pro
[0307]					435					440						445
[0308]	Ser	Ala	Val	Gln	Glu	Tyr	Val	Val	Glu	Trp	Arg	Glu	Leu	His	Pro	Gly
[0309]					450					455						460
[0310]	Gly	Asp	Thr	Gln	Val	Pro	Leu	Asn	Trp	Leu	Arg	Ser	Arg	Pro	Tyr	Asn
[0311]					465					470						480

[0312]	Val Ser Ala Leu Ile Ser Glu Ile Pro Tyr Arg Val Ser Gln Asn Ser		
[0313]		485	490
[0314]	His Pro Ile Asn Ser Leu Gln Pro Arg Val Thr Tyr Val Leu Trp Met		495
[0315]		500	505
[0316]	Thr Ala Leu Thr Ala Ala Gly Glu Ser Ser His Gly Asn Glu Arg Glu		510
[0317]		515	520
[0318]	Phe Cys Leu Gln Gly Lys Ala Asn Trp Met Ala Phe Val Ala Pro Ser		525
[0319]		530	535
[0320]	Ile Cys Ile Ala Ile Ile Met Val Gly Ile Phe Ser Thr His Tyr Phe		540
[0321]	545	550	555
[0322]	Gln Gln Lys Val Phe Val Leu Leu Ala Ala Leu Arg Pro Gln Trp Cys		560
[0323]		565	570
[0324]	Ser Arg Glu Ile Pro Asp Pro Ala Asn Ser Thr Cys Ala Lys Lys Tyr		575
[0325]		580	585
[0326]	Pro Ile Ala Glu Glu Lys Thr Gln Leu Pro Leu Asp Arg Leu Leu Ile		590
[0327]		595	600
[0328]	Asp Trp Pro Thr Pro Glu Asp Pro Glu Pro Leu Val Ile Ser Glu Val		605
[0329]		610	615
[0330]	Leu His Gln Val Thr Pro Val Phe Arg His Pro Pro Cys Ser Asn Trp		620
[0331]	625	630	635
[0332]	Pro Gln Arg Glu Lys Gly Ile Gln Gly His Gln Ala Ser Glu Lys Asp		640
[0333]		645	650
[0334]	Met Met His Ser Ala Ser Ser Pro Pro Pro Pro Arg Ala Leu Gln Ala		655
[0335]		660	665
[0336]	Glu Ser Arg Gln Leu Val Asp Leu Tyr Lys Val Leu Glu Ser Arg Gly		670
[0337]		675	680
[0338]	Ser Asp Pro Lys Pro Glu Asn Pro Ala Cys Pro Trp Thr Val Leu Pro		685
[0339]		690	695
[0340]	Ala Gly Asp Leu Pro Thr His Asp Gly Tyr Leu Pro Ser Asn Ile Asp		700
[0341]	705	710	715
[0342]	Asp Leu Pro Ser His Glu Ala Pro Leu Ala Asp Ser Leu Glu Glu Leu		720
[0343]		725	730
[0344]	Glu Pro Gln His Ile Ser Leu Ser Val Phe Pro Ser Ser Ser Leu His		735
[0345]		740	745
[0346]	Pro Leu Thr Phe Ser Cys Gly Asp Lys Leu Thr Leu Asp Gln Leu Lys		750
[0347]		755	760
[0348]	Met Arg Cys Asp Ser Leu Met Leu		765
[0349]		770	775
[0350]	<210> 5		

[0351]	<211>	459
[0352]	<212>	PRT
[0353]	<213>	智人(Homo sapiens)
[0354]	<400>	5
[0355]	Met Thr Ile Leu Gly Thr Thr Phe Gly Met Val Phe Ser Leu Leu Gln	
[0356]	1	5 10 15
[0357]	Val Val Ser Gly Glu Ser Gly Tyr Ala Gln Asn Gly Asp Leu Glu Asp	
[0358]	20	25 30
[0359]	Ala Glu Leu Asp Asp Tyr Ser Phe Ser Cys Tyr Ser Gln Leu Glu Val	
[0360]	35	40 45
[0361]	Asn Gly Ser Gln His Ser Leu Thr Cys Ala Phe Glu Asp Pro Asp Val	
[0362]	50	55 60
[0363]	Asn Thr Thr Asn Leu Glu Phe Glu Ile Cys Gly Ala Leu Val Glu Val	
[0364]	65	70 75 80
[0365]	Lys Cys Leu Asn Phe Arg Lys Leu Gln Glu Ile Tyr Phe Ile Glu Thr	
[0366]	85	90 95
[0367]	Lys Lys Phe Leu Leu Ile Gly Lys Ser Asn Ile Cys Val Lys Val Gly	
[0368]	100	105 110
[0369]	Glu Lys Ser Leu Thr Cys Lys Lys Ile Asp Leu Thr Thr Ile Val Lys	
[0370]	115	120 125
[0371]	Pro Glu Ala Pro Phe Asp Leu Ser Val Ile Tyr Arg Glu Gly Ala Asn	
[0372]	130	135 140
[0373]	Asp Phe Val Val Thr Phe Asn Thr Ser His Leu Gln Lys Lys Tyr Val	
[0374]	145	150 155 160
[0375]	Lys Val Leu Met His Asp Val Ala Tyr Arg Gln Glu Lys Asp Glu Asn	
[0376]	165	170 175
[0377]	Lys Trp Thr His Val Asn Leu Ser Ser Thr Lys Leu Thr Leu Leu Gln	
[0378]	180	185 190
[0379]	Arg Lys Leu Gln Pro Ala Ala Met Tyr Glu Ile Lys Val Arg Ser Ile	
[0380]	195	200 205
[0381]	Pro Asp His Tyr Phe Lys Gly Phe Trp Ser Glu Trp Ser Pro Ser Tyr	
[0382]	210	215 220
[0383]	Tyr Phe Arg Thr Pro Glu Ile Asn Asn Ser Ser Gly Glu Met Asp Pro	
[0384]	225	230 235 240
[0385]	Ile Leu Leu Thr Ile Ser Ile Leu Ser Phe Phe Ser Val Ala Leu Leu	
[0386]	245	250 255
[0387]	Val Ile Leu Ala Cys Val Leu Trp Lys Lys Arg Ile Lys Pro Ile Val	
[0388]	260	265 270
[0389]	Trp Pro Ser Leu Pro Asp His Lys Lys Thr Leu Glu His Leu Cys Lys	

[0390]	275	280	285
[0391]	Lys Pro Arg Lys Asn Leu Asn Val Ser Phe Asn Pro Glu Ser Phe Leu		
[0392]	290	295	300
[0393]	Asp Cys Gln Ile His Arg Val Asp Asp Ile Gln Ala Arg Asp Glu Val		
[0394]	305	310	315
[0395]	Glu Gly Phe Leu Gln Asp Thr Phe Pro Gln Gln Leu Glu Glu Ser Glu		
[0396]	325	330	335
[0397]	Lys Gln Arg Leu Gly Gly Asp Val Gln Ser Pro Asn Cys Pro Ser Glu		
[0398]	340	345	350
[0399]	Asp Val Val Ile Thr Pro Glu Ser Phe Gly Arg Asp Ser Ser Leu Thr		
[0400]	355	360	365
[0401]	Cys Leu Ala Gly Asn Val Ser Ala Cys Asp Ala Pro Ile Leu Ser Ser		
[0402]	370	375	380
[0403]	Ser Arg Ser Leu Asp Cys Arg Glu Ser Gly Lys Asn Gly Pro His Val		
[0404]	385	390	395
[0405]	Tyr Gln Asp Leu Leu Leu Ser Leu Gly Thr Thr Asn Ser Thr Leu Pro		
[0406]	405	410	415
[0407]	Pro Pro Phe Ser Leu Gln Ser Gly Ile Leu Thr Leu Asn Pro Val Ala		
[0408]	420	425	430
[0409]	Gln Gly Gln Pro Ile Leu Thr Ser Leu Gly Ser Asn Gln Glu Glu Ala		
[0410]	435	440	445
[0411]	Tyr Val Thr Met Ser Ser Phe Tyr Gln Asn Gln		
[0412]	450	455	
[0413]	<210> 6		
[0414]	<211> 369		
[0415]	<212> PRT		
[0416]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[0417]	<400> 6		
[0418]	Met Leu Lys Pro Ser Leu Pro Phe Thr Ser Leu Leu Phe Leu Gln Leu		
[0419]	1	5	10
[0420]	Pro Leu Leu Gly Val Gly Leu Asn Thr Thr Ile Leu Thr Pro Asn Gly		
[0421]	20	25	30
[0422]	Asn Glu Asp Thr Thr Ala Asp Phe Phe Leu Thr Thr Met Pro Thr Asp		
[0423]	35	40	45
[0424]	Ser Leu Ser Val Ser Thr Leu Pro Leu Pro Glu Val Gln Cys Phe Val		
[0425]	50	55	60
[0426]	Phe Asn Val Glu Tyr Met Asn Cys Thr Trp Asn Ser Ser Ser Glu Pro		
[0427]	65	70	75
[0428]	Gln Pro Thr Asn Leu Thr Leu His Tyr Trp Tyr Lys Asn Ser Asp Asn		

[0429]		85		90		95
[0430]	Asp Lys Val Gln Lys Cys Ser His Tyr Leu Phe Ser Glu Glu Ile Thr					
[0431]		100		105		110
[0432]	Ser Gly Cys Gln Leu Gln Lys Lys Glu Ile His Leu Tyr Gln Thr Phe					
[0433]		115		120		125
[0434]	Val Val Gln Leu Gln Asp Pro Arg Glu Pro Arg Arg Gln Ala Thr Gln					
[0435]		130		135		140
[0436]	Met Leu Lys Leu Gln Asn Leu Val Ile Pro Trp Ala Pro Glu Asn Leu					
[0437]	145		150		155	160
[0438]	Thr Leu His Lys Leu Ser Glu Ser Gln Leu Glu Leu Asn Trp Asn Asn					
[0439]		165		170		175
[0440]	Arg Phe Leu Asn His Cys Leu Glu His Leu Val Gln Tyr Arg Thr Asp					
[0441]		180		185		190
[0442]	Trp Asp His Ser Trp Thr Glu Gln Ser Val Asp Tyr Arg His Lys Phe					
[0443]		195		200		205
[0444]	Ser Leu Pro Ser Val Asp Gly Gln Lys Arg Tyr Thr Phe Arg Val Arg					
[0445]		210		215		220
[0446]	Ser Arg Phe Asn Pro Leu Cys Gly Ser Ala Gln His Trp Ser Glu Trp					
[0447]	225		230		235	240
[0448]	Ser His Pro Ile His Trp Gly Ser Asn Thr Ser Lys Glu Asn Pro Phe					
[0449]		245		250		255
[0450]	Leu Phe Ala Leu Glu Ala Val Val Ile Ser Val Gly Ser Met Gly Leu					
[0451]		260		265		270
[0452]	Ile Ile Ser Leu Leu Cys Val Tyr Phe Trp Leu Glu Arg Thr Met Pro					
[0453]		275		280		285
[0454]	Arg Ile Pro Thr Leu Lys Asn Leu Glu Asp Leu Val Thr Glu Tyr His					
[0455]		290		295		300
[0456]	Gly Asn Phe Ser Ala Trp Ser Gly Val Ser Lys Gly Leu Ala Glu Ser					
[0457]	305		310		315	320
[0458]	Leu Gln Pro Asp Tyr Ser Glu Arg Leu Cys Leu Val Ser Glu Ile Pro					
[0459]		325		330		335
[0460]	Pro Lys Gly Gly Ala Leu Gly Glu Gly Pro Gly Ala Ser Pro Cys Asn					
[0461]		340		345		350
[0462]	Gln His Ser Pro Tyr Trp Ala Pro Pro Cys Tyr Thr Leu Lys Pro Glu					
[0463]		355		360		365
[0464]	Thr					
[0465]	<210> 7					
[0466]	<211> 551					
[0467]	<212> PRT					

[0468]	<213>	智人(Homo sapiens)
[0469]	<400>	7
[0470]	Met Ala Ala Pro Ala Leu Ser Trp Arg Leu Pro Leu Leu Ile Leu Leu	
[0471]	1	5 10 15
[0472]	Leu Pro Leu Ala Thr Ser Trp Ala Ser Ala Ala Val Asn Gly Thr Ser	
[0473]		20 25 30
[0474]	Gln Phe Thr Cys Phe Tyr Asn Ser Arg Ala Asn Ile Ser Cys Val Trp	
[0475]		35 40 45
[0476]	Ser Gln Asp Gly Ala Leu Gln Asp Thr Ser Cys Gln Val His Ala Trp	
[0477]	50	55 60
[0478]	Pro Asp Arg Arg Arg Trp Asn Gln Thr Cys Glu Leu Leu Pro Val Ser	
[0479]	65	70 75 80
[0480]	Gln Ala Ser Trp Ala Cys Asn Leu Ile Leu Gly Ala Pro Asp Ser Gln	
[0481]		85 90 95
[0482]	Lys Leu Thr Thr Val Asp Ile Val Thr Leu Arg Val Leu Cys Arg Glu	
[0483]		100 105 110
[0484]	Gly Val Arg Trp Arg Val Met Ala Ile Gln Asp Phe Lys Pro Phe Glu	
[0485]		115 120 125
[0486]	Asn Leu Arg Leu Met Ala Pro Ile Ser Leu Gln Val Val His Val Glu	
[0487]	130	135 140
[0488]	Thr His Arg Cys Asn Ile Ser Trp Glu Ile Ser Gln Ala Ser His Tyr	
[0489]	145	150 155 160
[0490]	Phe Glu Arg His Leu Glu Phe Glu Ala Arg Thr Leu Ser Pro Gly His	
[0491]		165 170 175
[0492]	Thr Trp Glu Glu Ala Pro Leu Leu Thr Leu Lys Gln Lys Gln Glu Trp	
[0493]		180 185 190
[0494]	Ile Cys Leu Glu Thr Leu Thr Pro Asp Thr Gln Tyr Glu Phe Gln Val	
[0495]		195 200 205
[0496]	Arg Val Lys Pro Leu Gln Gly Glu Phe Thr Thr Trp Ser Pro Trp Ser	
[0497]	210	215 220
[0498]	Gln Pro Leu Ala Phe Arg Thr Lys Pro Ala Ala Leu Gly Lys Asp Thr	
[0499]	225	230 235 240
[0500]	Ile Pro Trp Leu Gly His Leu Leu Val Gly Leu Ser Gly Ala Phe Gly	
[0501]		245 250 255
[0502]	Phe Ile Ile Leu Val Tyr Leu Leu Ile Asn Cys Arg Asn Thr Gly Pro	
[0503]		260 265 270
[0504]	Trp Leu Lys Lys Val Leu Lys Cys Asn Thr Pro Asp Pro Ser Lys Phe	
[0505]		275 280 285
[0506]	Phe Ser Gln Leu Ser Ser Glu His Gly Gly Asp Val Gln Lys Trp Leu	

[0507]	290	295	300
[0508]	Ser Ser Pro Phe Pro Ser Ser Ser Phe Ser Pro Gly Gly Leu Ala Pro		
[0509]	305	310	315 320
[0510]	Glu Ile Ser Pro Leu Glu Val Leu Glu Arg Asp Lys Val Thr Gln Leu		
[0511]	325	330	335
[0512]	Leu Leu Gln Gln Asp Lys Val Pro Glu Pro Ala Ser Leu Ser Ser Asn		
[0513]	340	345	350
[0514]	His Ser Leu Thr Ser Cys Phe Thr Asn Gln Gly Tyr Phe Phe Phe His		
[0515]	355	360	365
[0516]	Leu Pro Asp Ala Leu Glu Ile Glu Ala Cys Gln Val Tyr Phe Thr Tyr		
[0517]	370	375	380
[0518]	Asp Pro Tyr Ser Glu Glu Asp Pro Asp Glu Gly Val Ala Gly Ala Pro		
[0519]	385	390	395 400
[0520]	Thr Gly Ser Ser Pro Gln Pro Leu Gln Pro Leu Ser Gly Glu Asp Asp		
[0521]	405	410	415
[0522]	Ala Tyr Cys Thr Phe Pro Ser Arg Asp Asp Leu Leu Leu Phe Ser Pro		
[0523]	420	425	430
[0524]	Ser Leu Leu Gly Gly Pro Ser Pro Pro Ser Thr Ala Pro Gly Gly Ser		
[0525]	435	440	445
[0526]	Gly Ala Gly Glu Glu Arg Met Pro Pro Ser Leu Gln Glu Arg Val Pro		
[0527]	450	455	460
[0528]	Arg Asp Trp Asp Pro Gln Pro Leu Gly Pro Pro Thr Pro Gly Val Pro		
[0529]	465	470	475 480
[0530]	Asp Leu Val Asp Phe Gln Pro Pro Pro Glu Leu Val Leu Arg Glu Ala		
[0531]	485	490	495
[0532]	Gly Glu Glu Val Pro Asp Ala Gly Pro Arg Glu Gly Val Ser Phe Pro		
[0533]	500	505	510
[0534]	Trp Ser Arg Pro Pro Gly Gln Gly Glu Phe Arg Ala Leu Asn Ala Arg		
[0535]	515	520	525
[0536]	Leu Pro Leu Asn Thr Asp Ala Tyr Leu Ser Leu Gln Glu Leu Gln Gly		
[0537]	530	535	540
[0538]	Gln Asp Pro Thr His Leu Val		
[0539]	545	550	
[0540]	<210> 8		
[0541]	<211> 538		
[0542]	<212> PRT		
[0543]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[0544]	<400> 8		
[0545]	Met Pro Arg Gly Trp Ala Ala Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gln Gly		

[0546]	1	5	10	15
[0547]	Gly Trp Gly Cys Pro Asp Leu Val Cys Tyr Thr Asp Tyr Leu Gln Thr			
[0548]	20	25	30	
[0549]	Val Ile Cys Ile Leu Glu Met Trp Asn Leu His Pro Ser Thr Leu Thr			
[0550]	35	40	45	
[0551]	Leu Thr Trp Gln Asp Gln Tyr Glu Glu Leu Lys Asp Glu Ala Thr Ser			
[0552]	50	55	60	
[0553]	Cys Ser Leu His Arg Ser Ala His Asn Ala Thr His Ala Thr Tyr Thr			
[0554]	65	70	75	80
[0555]	Cys His Met Asp Val Phe His Phe Met Ala Asp Asp Ile Phe Ser Val			
[0556]	85	90	95	
[0557]	Asn Ile Thr Asp Gln Ser Gly Asn Tyr Ser Gln Glu Cys Gly Ser Phe			
[0558]	100	105	110	
[0559]	Leu Leu Ala Glu Ser Ile Lys Pro Ala Pro Pro Phe Asn Val Thr Val			
[0560]	115	120	125	
[0561]	Thr Phe Ser Gly Gln Tyr Asn Ile Ser Trp Arg Ser Asp Tyr Glu Asp			
[0562]	130	135	140	
[0563]	Pro Ala Phe Tyr Met Leu Lys Gly Lys Leu Gln Tyr Glu Leu Gln Tyr			
[0564]	145	150	155	160
[0565]	Arg Asn Arg Gly Asp Pro Trp Ala Val Ser Pro Arg Arg Lys Leu Ile			
[0566]	165	170	175	
[0567]	Ser Val Asp Ser Arg Ser Val Ser Leu Leu Pro Leu Glu Phe Arg Lys			
[0568]	180	185	190	
[0569]	Asp Ser Ser Tyr Glu Leu Gln Val Arg Ala Gly Pro Met Pro Gly Ser			
[0570]	195	200	205	
[0571]	Ser Tyr Gln Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Asp Pro Val Ile Phe Gln			
[0572]	210	215	220	
[0573]	Thr Gln Ser Glu Glu Leu Lys Glu Gly Trp Asn Pro His Leu Leu Leu			
[0574]	225	230	235	240
[0575]	Leu Leu Leu Leu Val Ile Val Phe Ile Pro Ala Phe Trp Ser Leu Lys			
[0576]	245	250	255	
[0577]	Thr His Pro Leu Trp Arg Leu Trp Lys Lys Ile Trp Ala Val Pro Ser			
[0578]	260	265	270	
[0579]	Pro Glu Arg Phe Phe Met Pro Leu Tyr Lys Gly Cys Ser Gly Asp Phe			
[0580]	275	280	285	
[0581]	Lys Lys Trp Val Gly Ala Pro Phe Thr Gly Ser Ser Leu Glu Leu Gly			
[0582]	290	295	300	
[0583]	Pro Trp Ser Pro Glu Val Pro Ser Thr Leu Glu Val Tyr Ser Cys His			
[0584]	305	310	315	320

[0585]	Pro	Pro	Arg	Ser	Pro	Ala	Lys	Arg	Leu	Gln	Leu	Thr	Glu	Leu	Gln	Glu
[0586]					325				330						335	
[0587]	Pro	Ala	Glu	Leu	Val	Glu	Ser	Asp	Gly	Val	Pro	Lys	Pro	Ser	Phe	Trp
[0588]				340					345						350	
[0589]	Pro	Thr	Ala	Gln	Asn	Ser	Gly	Gly	Ser	Ala	Tyr	Ser	Glu	Glu	Arg	Asp
[0590]			355					360					365			
[0591]	Arg	Pro	Tyr	Gly	Leu	Val	Ser	Ile	Asp	Thr	Val	Thr	Val	Leu	Asp	Ala
[0592]		370					375					380				
[0593]	Glu	Gly	Pro	Cys	Thr	Trp	Pro	Cys	Ser	Cys	Glu	Asp	Asp	Gly	Tyr	Pro
[0594]	385					390				395						400
[0595]	Ala	Leu	Asp	Leu	Asp	Ala	Gly	Leu	Glu	Pro	Ser	Pro	Gly	Leu	Glu	Asp
[0596]				405					410						415	
[0597]	Pro	Leu	Leu	Asp	Ala	Gly	Thr	Thr	Val	Leu	Ser	Cys	Gly	Cys	Val	Ser
[0598]			420					425					430			
[0599]	Ala	Gly	Ser	Pro	Gly	Leu	Gly	Gly	Pro	Leu	Gly	Ser	Leu	Leu	Asp	Arg
[0600]		435					440					445				
[0601]	Leu	Lys	Pro	Pro	Leu	Ala	Asp	Gly	Glu	Asp	Trp	Ala	Gly	Gly	Leu	Pro
[0602]		450					455					460				
[0603]	Trp	Gly	Gly	Arg	Ser	Pro	Gly	Gly	Val	Ser	Glu	Ser	Glu	Ala	Gly	Ser
[0604]	465				470					475					480	
[0605]	Pro	Leu	Ala	Gly	Leu	Asp	Met	Asp	Thr	Phe	Asp	Ser	Gly	Phe	Val	Gly
[0606]				485					490						495	
[0607]	Ser	Asp	Cys	Ser	Ser	Pro	Val	Glu	Cys	Asp	Phe	Thr	Ser	Pro	Gly	Asp
[0608]			500					505					510			
[0609]	Glu	Gly	Pro	Pro	Arg	Ser	Tyr	Leu	Arg	Gln	Trp	Val	Val	Ile	Pro	Pro
[0610]		515					520					525				
[0611]	Pro	Leu	Ser	Ser	Pro	Gly	Pro	Gln	Ala	Ser						
[0612]		530					535									
[0613]	<210>	9														
[0614]	<211>	541														
[0615]	<212>	PRT														
[0616]	<213>	智人(Homo sapiens)														
[0617]	<400>	9														
[0618]	Met	Asn	Cys	Arg	Glu	Leu	Pro	Leu	Thr	Leu	Trp	Val	Leu	Ile	Ser	Val
[0619]	1			5						10					15	
[0620]	Ser	Thr	Ala	Glu	Ser	Cys	Thr	Ser	Arg	Pro	His	Ile	Thr	Val	Val	Glu
[0621]			20						25					30		
[0622]	Gly	Glu	Pro	Phe	Tyr	Leu	Lys	His	Cys	Ser	Cys	Ser	Leu	Ala	His	Glu
[0623]			35					40					45			

[0624]	Ile	Glu	Thr	Thr	Thr	Lys	Ser	Trp	Tyr	Lys	Ser	Ser	Gly	Ser	Gln	Glu
[0625]	50						55					60				
[0626]	His	Val	Glu	Leu	Asn	Pro	Arg	Ser	Ser	Ser	Arg	Ile	Ala	Leu	His	Asp
[0627]	65					70					75					80
[0628]	Cys	Val	Leu	Glu	Phe	Trp	Pro	Val	Glu	Leu	Asn	Asp	Thr	Gly	Ser	Tyr
[0629]					85					90					95	
[0630]	Phe	Phe	Gln	Met	Lys	Asn	Tyr	Thr	Gln	Lys	Trp	Lys	Leu	Asn	Val	Ile
[0631]				100					105					110		
[0632]	Arg	Arg	Asn	Lys	His	Ser	Cys	Phe	Thr	Glu	Arg	Gln	Val	Thr	Ser	Lys
[0633]			115					120					125			
[0634]	Ile	Val	Glu	Val	Lys	Lys	Phe	Phe	Gln	Ile	Thr	Cys	Glu	Asn	Ser	Tyr
[0635]	130						135					140				
[0636]	Tyr	Gln	Thr	Leu	Val	Asn	Ser	Thr	Ser	Leu	Tyr	Lys	Asn	Cys	Lys	Lys
[0637]	145					150					155					160
[0638]	Leu	Leu	Leu	Glu	Asn	Asn	Lys	Asn	Pro	Thr	Ile	Lys	Lys	Asn	Ala	Glu
[0639]					165					170					175	
[0640]	Phe	Glu	Asp	Gln	Gly	Tyr	Tyr	Ser	Cys	Val	His	Phe	Leu	His	His	Asn
[0641]				180					185					190		
[0642]	Gly	Lys	Leu	Phe	Asn	Ile	Thr	Lys	Thr	Phe	Asn	Ile	Thr	Ile	Val	Glu
[0643]			195					200					205			
[0644]	Asp	Arg	Ser	Asn	Ile	Val	Pro	Val	Leu	Leu	Gly	Pro	Lys	Leu	Asn	His
[0645]	210						215					220				
[0646]	Val	Ala	Val	Glu	Leu	Gly	Lys	Asn	Val	Arg	Leu	Asn	Cys	Ser	Ala	Leu
[0647]	225					230					235					240
[0648]	Leu	Asn	Glu	Glu	Asp	Val	Ile	Tyr	Trp	Met	Phe	Gly	Glu	Glu	Asn	Gly
[0649]					245					250					255	
[0650]	Ser	Asp	Pro	Asn	Ile	His	Glu	Glu	Lys	Glu	Met	Arg	Ile	Met	Thr	Pro
[0651]				260					265					270		
[0652]	Glu	Gly	Lys	Trp	His	Ala	Ser	Lys	Val	Leu	Arg	Ile	Glu	Asn	Ile	Gly
[0653]			275					280					285			
[0654]	Glu	Ser	Asn	Leu	Asn	Val	Leu	Tyr	Asn	Cys	Thr	Val	Ala	Ser	Thr	Gly
[0655]	290						295					300				
[0656]	Gly	Thr	Asp	Thr	Lys	Ser	Phe	Ile	Leu	Val	Arg	Lys	Ala	Asp	Met	Ala
[0657]	305					310					315					320
[0658]	Asp	Ile	Pro	Gly	His	Val	Phe	Thr	Arg	Gly	Met	Ile	Ile	Ala	Val	Leu
[0659]					325					330				335		
[0660]	Ile	Leu	Val	Ala	Val	Val	Cys	Leu	Val	Thr	Val	Cys	Val	Ile	Tyr	Arg
[0661]				340						345				350		
[0662]	Val	Asp	Leu	Val	Leu	Phe	Tyr	Arg	His	Leu	Thr	Arg	Arg	Asp	Glu	Thr

[0663]	355	360	365
[0664]	Leu Thr Asp Gly Lys Thr Tyr Asp Ala Phe Val Ser Tyr Leu Lys Glu		
[0665]	370	375	380
[0666]	Cys Arg Pro Glu Asn Gly Glu Glu His Thr Phe Ala Val Glu Ile Leu		
[0667]	385	390	395
[0668]	Pro Arg Val Leu Glu Lys His Phe Gly Tyr Lys Leu Cys Ile Phe Glu		
[0669]	405	410	415
[0670]	Arg Asp Val Val Pro Gly Gly Ala Val Val Asp Glu Ile His Ser Leu		
[0671]	420	425	430
[0672]	Ile Glu Lys Ser Arg Arg Leu Ile Ile Val Leu Ser Lys Ser Tyr Met		
[0673]	435	440	445
[0674]	Ser Asn Glu Val Arg Tyr Glu Leu Glu Ser Gly Leu His Glu Ala Leu		
[0675]	450	455	460
[0676]	Val Glu Arg Lys Ile Lys Ile Ile Leu Ile Glu Phe Thr Pro Val Thr		
[0677]	465	470	475
[0678]	Asp Phe Thr Phe Leu Pro Gln Ser Leu Lys Leu Leu Lys Ser His Arg		
[0679]	485	490	495
[0680]	Val Leu Lys Trp Lys Ala Asp Lys Ser Leu Ser Tyr Asn Ser Arg Phe		
[0681]	500	505	510
[0682]	Trp Lys Asn Leu Leu Tyr Leu Met Pro Ala Lys Thr Val Lys Pro Gly		
[0683]	515	520	525
[0684]	Arg Asp Glu Pro Glu Val Leu Pro Val Leu Ser Glu Ser		
[0685]	530	535	540
[0686]	<210> 10		
[0687]	<211> 599		
[0688]	<212> PRT		
[0689]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[0690]	<400> 10		
[0691]	Met Leu Cys Leu Gly Trp Ile Phe Leu Trp Leu Val Ala Gly Glu Arg		
[0692]	1	5	10
[0693]	Ile Lys Gly Phe Asn Ile Ser Gly Cys Ser Thr Lys Lys Leu Leu Trp		
[0694]	20	25	30
[0695]	Thr Tyr Ser Thr Arg Ser Glu Glu Glu Phe Val Leu Phe Cys Asp Leu		
[0696]	35	40	45
[0697]	Pro Glu Pro Gln Lys Ser His Phe Cys His Arg Asn Arg Leu Ser Pro		
[0698]	50	55	60
[0699]	Lys Gln Val Pro Glu His Leu Pro Phe Met Gly Ser Asn Asp Leu Ser		
[0700]	65	70	75
[0701]	Asp Val Gln Trp Tyr Gln Gln Pro Ser Asn Gly Asp Pro Leu Glu Asp		

[0702]					85					90						95
[0703]	Ile	Arg	Lys	Ser	Tyr	Pro	His	Ile	Ile	Gln	Asp	Lys	Cys	Thr	Leu	His
[0704]					100					105						110
[0705]	Phe	Leu	Thr	Pro	Gly	Val	Asn	Asn	Ser	Gly	Ser	Tyr	Ile	Cys	Arg	Pro
[0706]					115					120						125
[0707]	Lys	Met	Ile	Lys	Ser	Pro	Tyr	Asp	Val	Ala	Cys	Cys	Val	Lys	Met	Ile
[0708]					130					135						140
[0709]	Leu	Glu	Val	Lys	Pro	Gln	Thr	Asn	Ala	Ser	Cys	Glu	Tyr	Ser	Ala	Ser
[0710]					145					150						160
[0711]	His	Lys	Gln	Asp	Leu	Leu	Leu	Gly	Ser	Thr	Gly	Ser	Ile	Ser	Cys	Pro
[0712]					165					170						175
[0713]	Ser	Leu	Ser	Cys	Gln	Ser	Asp	Ala	Gln	Ser	Pro	Ala	Val	Thr	Trp	Tyr
[0714]					180					185						190
[0715]	Lys	Asn	Gly	Lys	Leu	Leu	Ser	Val	Glu	Arg	Ser	Asn	Arg	Ile	Val	Val
[0716]					195					200						205
[0717]	Asp	Glu	Val	Tyr	Asp	Tyr	His	Gln	Gly	Thr	Tyr	Val	Cys	Asp	Tyr	Thr
[0718]					210					215						220
[0719]	Gln	Ser	Asp	Thr	Val	Ser	Ser	Trp	Thr	Val	Arg	Ala	Val	Val	Gln	Val
[0720]					225					230						240
[0721]	Arg	Thr	Ile	Val	Gly	Asp	Thr	Lys	Leu	Lys	Pro	Asp	Ile	Leu	Asp	Pro
[0722]					245					250						255
[0723]	Val	Glu	Asp	Thr	Leu	Glu	Val	Glu	Leu	Gly	Lys	Pro	Leu	Thr	Ile	Ser
[0724]					260					265						270
[0725]	Cys	Lys	Ala	Arg	Phe	Gly	Phe	Glu	Arg	Val	Phe	Asn	Pro	Val	Ile	Lys
[0726]					275					280						285
[0727]	Trp	Tyr	Ile	Lys	Asp	Ser	Asp	Leu	Glu	Trp	Glu	Val	Ser	Val	Pro	Glu
[0728]					290					295						300
[0729]	Ala	Lys	Ser	Ile	Lys	Ser	Thr	Leu	Lys	Asp	Glu	Ile	Ile	Glu	Arg	Asn
[0730]					305					310						320
[0731]	Ile	Ile	Leu	Glu	Lys	Val	Thr	Gln	Arg	Asp	Leu	Arg	Arg	Lys	Phe	Val
[0732]					325					330						335
[0733]	Cys	Phe	Val	Gln	Asn	Ser	Ile	Gly	Asn	Thr	Thr	Gln	Ser	Val	Gln	Leu
[0734]					340					345						350
[0735]	Lys	Glu	Lys	Arg	Gly	Val	Val	Leu	Leu	Tyr	Ile	Leu	Leu	Gly	Thr	Ile
[0736]					355					360						365
[0737]	Gly	Thr	Leu	Val	Ala	Val	Leu	Ala	Ala	Ser	Ala	Leu	Leu	Tyr	Arg	His
[0738]					370					375						380
[0739]	Trp	Ile	Glu	Ile	Val	Leu	Leu	Tyr	Arg	Thr	Tyr	Gln	Ser	Lys	Asp	Gln
[0740]					385					390						400

[0741]	Thr	Leu	Gly	Asp	Lys	Lys	Asp	Phe	Asp	Ala	Phe	Val	Ser	Tyr	Ala	Lys
[0742]					405				410						415	
[0743]	Trp	Ser	Ser	Phe	Pro	Ser	Glu	Ala	Thr	Ser	Ser	Leu	Ser	Glu	Glu	His
[0744]					420				425						430	
[0745]	Leu	Ala	Leu	Ser	Leu	Phe	Pro	Asp	Val	Leu	Glu	Asn	Lys	Tyr	Gly	Tyr
[0746]					435				440						445	
[0747]	Ser	Leu	Cys	Leu	Leu	Glu	Arg	Asp	Val	Ala	Pro	Gly	Gly	Val	Tyr	Ala
[0748]					450				455						460	
[0749]	Glu	Asp	Ile	Val	Ser	Ile	Ile	Lys	Arg	Ser	Arg	Arg	Gly	Ile	Phe	Ile
[0750]	465					470					475					480
[0751]	Leu	Ser	Pro	Asn	Tyr	Val	Asn	Gly	Pro	Ser	Ile	Phe	Glu	Leu	Gln	Ala
[0752]					485						490					495
[0753]	Ala	Val	Asn	Leu	Ala	Leu	Asp	Asp	Gln	Thr	Leu	Lys	Leu	Ile	Leu	Ile
[0754]					500				505						510	
[0755]	Lys	Phe	Cys	Tyr	Phe	Gln	Glu	Pro	Glu	Ser	Leu	Pro	His	Leu	Val	Lys
[0756]					515				520						525	
[0757]	Lys	Ala	Leu	Arg	Val	Leu	Pro	Thr	Val	Thr	Trp	Arg	Gly	Leu	Lys	Ser
[0758]					530				535						540	
[0759]	Val	Pro	Pro	Asn	Ser	Arg	Phe	Trp	Ala	Lys	Met	Arg	Tyr	His	Met	Pro
[0760]	545					550					555					560
[0761]	Val	Lys	Asn	Ser	Gln	Gly	Phe	Thr	Trp	Asn	Gln	Leu	Arg	Ile	Thr	Ser
[0762]					565						570					575
[0763]	Arg	Ile	Phe	Gln	Trp	Lys	Gly	Leu	Ser	Arg	Thr	Glu	Thr	Thr	Gly	Arg
[0764]					580						585					590
[0765]	Ser	Ser	Gln	Pro	Lys	Glu	Trp									
[0766]					595											
[0767]	<210>	11														
[0768]	<211>	569														
[0769]	<212>	PRT														
[0770]	<213>	智人(Homo sapiens)														
[0771]	<400>	11														
[0772]	Met	Lys	Val	Leu	Leu	Arg	Leu	Ile	Cys	Phe	Ile	Ala	Leu	Leu	Ile	Ser
[0773]	1				5					10					15	
[0774]	Ser	Leu	Glu	Ala	Asp	Lys	Cys	Lys	Glu	Arg	Glu	Glu	Lys	Ile	Ile	Leu
[0775]					20					25					30	
[0776]	Val	Ser	Ser	Ala	Asn	Glu	Ile	Asp	Val	Arg	Pro	Cys	Pro	Leu	Asn	Pro
[0777]					35					40					45	
[0778]	Asn	Glu	His	Lys	Gly	Thr	Ile	Thr	Trp	Tyr	Lys	Asp	Asp	Ser	Lys	Thr
[0779]					50										60	

[0780]	Pro	Val	Ser	Thr	Glu	Gln	Ala	Ser	Arg	Ile	His	Gln	His	Lys	Glu	Lys
[0781]	65					70				75					80	
[0782]	Leu	Trp	Phe	Val	Pro	Ala	Lys	Val	Glu	Asp	Ser	Gly	His	Tyr	Tyr	Cys
[0783]					85				90						95	
[0784]	Val	Val	Arg	Asn	Ser	Ser	Tyr	Cys	Leu	Arg	Ile	Lys	Ile	Ser	Ala	Lys
[0785]					100				105					110		
[0786]	Phe	Val	Glu	Asn	Glu	Pro	Asn	Leu	Cys	Tyr	Asn	Ala	Gln	Ala	Ile	Phe
[0787]					115				120					125		
[0788]	Lys	Gln	Lys	Leu	Pro	Val	Ala	Gly	Asp	Gly	Gly	Leu	Val	Cys	Pro	Tyr
[0789]					130				135					140		
[0790]	Met	Glu	Phe	Phe	Lys	Asn	Glu	Asn	Asn	Glu	Leu	Pro	Lys	Leu	Gln	Trp
[0791]	145					150				155					160	
[0792]	Tyr	Lys	Asp	Cys	Lys	Pro	Leu	Leu	Leu	Asp	Asn	Ile	His	Phe	Ser	Gly
[0793]					165					170					175	
[0794]	Val	Lys	Asp	Arg	Leu	Ile	Val	Met	Asn	Val	Ala	Glu	Lys	His	Arg	Gly
[0795]					180				185					190		
[0796]	Asn	Tyr	Thr	Cys	His	Ala	Ser	Tyr	Thr	Tyr	Leu	Gly	Lys	Gln	Tyr	Pro
[0797]					195				200					205		
[0798]	Ile	Thr	Arg	Val	Ile	Glu	Phe	Ile	Thr	Leu	Glu	Glu	Asn	Lys	Pro	Thr
[0799]					210				215					220		
[0800]	Arg	Pro	Val	Ile	Val	Ser	Pro	Ala	Asn	Glu	Thr	Met	Glu	Val	Asp	Leu
[0801]	225					230				235					240	
[0802]	Gly	Ser	Gln	Ile	Gln	Leu	Ile	Cys	Asn	Val	Thr	Gly	Gln	Leu	Ser	Asp
[0803]					245					250					255	
[0804]	Ile	Ala	Tyr	Trp	Lys	Trp	Asn	Gly	Ser	Val	Ile	Asp	Glu	Asp	Asp	Pro
[0805]					260				265					270		
[0806]	Val	Leu	Gly	Glu	Asp	Tyr	Tyr	Ser	Val	Glu	Asn	Pro	Ala	Asn	Lys	Arg
[0807]					275				280					285		
[0808]	Arg	Ser	Thr	Leu	Ile	Thr	Val	Leu	Asn	Ile	Ser	Glu	Ile	Glu	Ser	Arg
[0809]					290				295					300		
[0810]	Phe	Tyr	Lys	His	Pro	Phe	Thr	Cys	Phe	Ala	Lys	Asn	Thr	His	Gly	Ile
[0811]	305					310				315					320	
[0812]	Asp	Ala	Ala	Tyr	Ile	Gln	Leu	Ile	Tyr	Pro	Val	Thr	Asn	Phe	Gln	Lys
[0813]					325					330					335	
[0814]	His	Met	Ile	Gly	Ile	Cys	Val	Thr	Leu	Thr	Val	Ile	Ile	Val	Cys	Ser
[0815]					340				345					350		
[0816]	Val	Phe	Ile	Tyr	Lys	Ile	Phe	Lys	Ile	Asp	Ile	Val	Leu	Trp	Tyr	Arg
[0817]					355				360					365		
[0818]	Asp	Ser	Cys	Tyr	Asp	Phe	Leu	Pro	Ile	Lys	Ala	Ser	Asp	Gly	Lys	Thr

[0819]	370	375	380
[0820]	Tyr Asp Ala Tyr Ile Leu Tyr Pro Lys Thr Val Gly Glu Gly Ser Thr		
[0821]	385	390	395 400
[0822]	Ser Asp Cys Asp Ile Phe Val Phe Lys Val Leu Pro Glu Val Leu Glu		
[0823]	405	410	415
[0824]	Lys Gln Cys Gly Tyr Lys Leu Phe Ile Tyr Gly Arg Asp Asp Tyr Val		
[0825]	420	425	430
[0826]	Gly Glu Asp Ile Val Glu Val Ile Asn Glu Asn Val Lys Lys Ser Arg		
[0827]	435	440	445
[0828]	Arg Leu Ile Ile Ile Leu Val Arg Glu Thr Ser Gly Phe Ser Trp Leu		
[0829]	450	455	460
[0830]	Gly Gly Ser Ser Glu Glu Gln Ile Ala Met Tyr Asn Ala Leu Val Gln		
[0831]	465	470	475 480
[0832]	Asp Gly Ile Lys Val Val Leu Leu Glu Leu Glu Lys Ile Gln Asp Tyr		
[0833]	485	490	495
[0834]	Glu Lys Met Pro Glu Ser Ile Lys Phe Ile Lys Gln Lys His Gly Ala		
[0835]	500	505	510
[0836]	Ile Arg Trp Ser Gly Asp Phe Thr Gln Gly Pro Gln Ser Ala Lys Thr		
[0837]	515	520	525
[0838]	Arg Phe Trp Lys Asn Val Arg Tyr His Met Pro Val Gln Arg Arg Ser		
[0839]	530	535	540
[0840]	Pro Ser Ser Lys His Gln Leu Leu Ser Pro Ala Thr Lys Glu Lys Leu		
[0841]	545	550	555 560
[0842]	Gln Arg Glu Ala His Val Pro Leu Gly		
[0843]	565		
[0844]	<210> 12		
[0845]	<211> 570		
[0846]	<212> PRT		
[0847]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[0848]	<400> 12		
[0849]	Met Thr Leu Leu Trp Cys Val Val Ser Leu Tyr Phe Tyr Gly Ile Leu		
[0850]	1	5	10 15
[0851]	Gln Ser Asp Ala Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met		
[0852]	20	25	30
[0853]	Arg Gln Ile Gln Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys Cys Pro		
[0854]	35	40	45
[0855]	Leu Phe Glu His Phe Leu Lys Phe Asn Tyr Ser Thr Ala His Ser Ala		
[0856]	50	55	60
[0857]	Gly Leu Thr Leu Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp Leu Glu		

[0858]	65	70	75	80
[0859]	Glu Pro Ile Asn Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys Glu Lys			
[0860]		85	90	95
[0861]	Asp Val Leu Trp Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly Asn Tyr			
[0862]		100	105	110
[0863]	Thr Cys Met Leu Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro			
[0864]		115	120	125
[0865]	Leu Glu Val Val Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Pro Met Lys Leu			
[0866]		130	135	140
[0867]	Pro Val His Lys Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile Thr Cys			
[0868]	145	150	155	160
[0869]	Pro Asn Val Asp Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr Ile Thr			
[0870]		165	170	175
[0871]	Trp Tyr Met Gly Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val Ile Pro			
[0872]		180	185	190
[0873]	Glu Gly Met Asn Leu Ser Phe Leu Ile Ala Leu Ile Ser Asn Asn Gly			
[0874]		195	200	205
[0875]	Asn Tyr Thr Cys Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr Phe His			
[0876]		210	215	220
[0877]	Leu Thr Arg Thr Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asn Ala			
[0878]	225	230	235	240
[0879]	Val Pro Pro Val Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr Glu Lys			
[0880]		245	250	255
[0881]	Glu Pro Gly Glu Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe Ser Phe			
[0882]		260	265	270
[0883]	Leu Met Asp Ser Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys			
[0884]		275	280	285
[0885]	Pro Asp Asp Ile Thr Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile Ser His			
[0886]		290	295	300
[0887]	Ser Arg Thr Glu Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys			
[0888]	305	310	315	320
[0889]	Val Thr Ser Glu Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala Arg Ser			
[0890]		325	330	335
[0891]	Ala Lys Gly Glu Val Ala Lys Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Val Pro			
[0892]		340	345	350
[0893]	Ala Pro Arg Tyr Thr Val Glu Leu Ala Cys Gly Phe Gly Ala Thr Val			
[0894]		355	360	365
[0895]	Leu Leu Val Val Ile Leu Ile Val Val Tyr His Val Tyr Trp Leu Glu			
[0896]		370	375	380

[0897]	Met Val Leu Phe Tyr Arg Ala His Phe Gly Thr Asp Glu Thr Ile Leu
[0898]	385 390 395 400
[0899]	Asp Gly Lys Glu Tyr Asp Ile Tyr Val Ser Tyr Ala Arg Asn Ala Glu
[0900]	405 410 415
[0901]	Glu Glu Glu Phe Val Leu Leu Thr Leu Arg Gly Val Leu Glu Asn Glu
[0902]	420 425 430
[0903]	Phe Gly Tyr Lys Leu Cys Ile Phe Asp Arg Asp Ser Leu Pro Gly Gly
[0904]	435 440 445
[0905]	Ile Val Thr Asp Glu Thr Leu Ser Phe Ile Gln Lys Ser Arg Arg Leu
[0906]	450 455 460
[0907]	Leu Val Val Leu Ser Pro Asn Tyr Val Leu Gln Gly Thr Gln Ala Leu
[0908]	465 470 475 480
[0909]	Leu Glu Leu Lys Ala Gly Leu Glu Asn Met Ala Ser Arg Gly Asn Ile
[0910]	485 490 495
[0911]	Asn Val Ile Leu Val Gln Tyr Lys Ala Val Lys Glu Thr Lys Val Lys
[0912]	500 505 510
[0913]	Glu Leu Lys Arg Ala Lys Thr Val Leu Thr Val Ile Lys Trp Lys Gly
[0914]	515 520 525
[0915]	Glu Lys Ser Lys Tyr Pro Gln Gly Arg Phe Trp Lys Gln Leu Gln Val
[0916]	530 535 540
[0917]	Ala Met Pro Val Lys Lys Ser Pro Arg Arg Ser Ser Ser Asp Glu Gln
[0918]	545 550 555 560
[0919]	Gly Leu Ser Tyr Ser Ser Leu Lys Asn Val
[0920]	565 570
[0921]	<210> 13
[0922]	<211> 557
[0923]	<212> PRT
[0924]	<213> 智人(Homo sapiens)
[0925]	<400> 13
[0926]	Met Met Val Val Leu Leu Gly Ala Thr Thr Leu Val Leu Val Ala Val
[0927]	1 5 10 15
[0928]	Ala Pro Trp Val Leu Ser Ala Ala Ala Gly Gly Lys Asn Leu Lys Ser
[0929]	20 25 30
[0930]	Pro Gln Lys Val Glu Val Asp Ile Ile Asp Asp Asn Phe Ile Leu Arg
[0931]	35 40 45
[0932]	Trp Asn Arg Ser Asp Glu Ser Val Gly Asn Val Thr Phe Ser Phe Asp
[0933]	50 55 60
[0934]	Tyr Gln Lys Thr Gly Met Asp Asn Trp Ile Lys Leu Ser Gly Cys Gln
[0935]	65 70 75 80

[0936]	Asn Ile Thr Ser Thr Lys Cys Asn Phe Ser Ser Leu Lys Leu Asn Val
[0937]	85 90 95
[0938]	Tyr Glu Glu Ile Lys Leu Arg Ile Arg Ala Glu Lys Glu Asn Thr Ser
[0939]	100 105 110
[0940]	Ser Trp Tyr Glu Val Asp Ser Phe Thr Pro Phe Arg Lys Ala Gln Ile
[0941]	115 120 125
[0942]	Gly Pro Pro Glu Val His Leu Glu Ala Glu Asp Lys Ala Ile Val Ile
[0943]	130 135 140
[0944]	His Ile Ser Pro Gly Thr Lys Asp Ser Val Met Trp Ala Leu Asp Gly
[0945]	145 150 155 160
[0946]	Leu Ser Phe Thr Tyr Ser Leu Val Ile Trp Lys Asn Ser Ser Gly Val
[0947]	165 170 175
[0948]	Glu Glu Arg Ile Glu Asn Ile Tyr Ser Arg His Lys Ile Tyr Lys Leu
[0949]	180 185 190
[0950]	Ser Pro Glu Thr Thr Tyr Cys Leu Lys Val Lys Ala Ala Leu Leu Thr
[0951]	195 200 205
[0952]	Ser Trp Lys Ile Gly Val Tyr Ser Pro Val His Cys Ile Lys Thr Thr
[0953]	210 215 220
[0954]	Val Glu Asn Glu Leu Pro Pro Pro Glu Asn Ile Glu Val Ser Val Gln
[0955]	225 230 235 240
[0956]	Asn Gln Asn Tyr Val Leu Lys Trp Asp Tyr Thr Tyr Ala Asn Met Thr
[0957]	245 250 255
[0958]	Phe Gln Val Gln Trp Leu His Ala Phe Leu Lys Arg Asn Pro Gly Asn
[0959]	260 265 270
[0960]	His Leu Tyr Lys Trp Lys Gln Ile Pro Asp Cys Glu Asn Val Lys Thr
[0961]	275 280 285
[0962]	Thr Gln Cys Val Phe Pro Gln Asn Val Phe Gln Lys Gly Ile Tyr Leu
[0963]	290 295 300
[0964]	Leu Arg Val Gln Ala Ser Asp Gly Asn Asn Thr Ser Phe Trp Ser Glu
[0965]	305 310 315 320
[0966]	Glu Ile Lys Phe Asp Thr Glu Ile Gln Ala Phe Leu Leu Pro Pro Val
[0967]	325 330 335
[0968]	Phe Asn Ile Arg Ser Leu Ser Asp Ser Phe His Ile Tyr Ile Gly Ala
[0969]	340 345 350
[0970]	Pro Lys Gln Ser Gly Asn Thr Pro Val Ile Gln Asp Tyr Pro Leu Ile
[0971]	355 360 365
[0972]	Tyr Glu Ile Ile Phe Trp Glu Asn Thr Ser Asn Ala Glu Arg Lys Ile
[0973]	370 375 380
[0974]	Ile Glu Lys Lys Thr Asp Val Thr Val Pro Asn Leu Lys Pro Leu Thr

[0975]	385	390	395	400
[0976]	Val Tyr Cys Val Lys Ala Arg Ala His Thr Met Asp Glu Lys Leu Asn			
[0977]	405	410	415	
[0978]	Lys Ser Ser Val Phe Ser Asp Ala Val Cys Glu Lys Thr Lys Pro Gly			
[0979]	420	425	430	
[0980]	Asn Thr Ser Lys Ile Trp Leu Ile Val Gly Ile Cys Ile Ala Leu Phe			
[0981]	435	440	445	
[0982]	Ala Leu Pro Phe Val Ile Tyr Ala Ala Lys Val Phe Leu Arg Cys Ile			
[0983]	450	455	460	
[0984]	Asn Tyr Val Phe Phe Pro Ser Leu Lys Pro Ser Ser Ser Ile Asp Glu			
[0985]	465	470	475	480
[0986]	Tyr Phe Ser Glu Gln Pro Leu Lys Asn Leu Leu Leu Ser Thr Ser Glu			
[0987]	485	490	495	
[0988]	Glu Gln Ile Glu Lys Cys Phe Ile Ile Glu Asn Ile Ser Thr Ile Ala			
[0989]	500	505	510	
[0990]	Thr Val Glu Glu Thr Asn Gln Thr Asp Glu Asp His Lys Lys Tyr Ser			
[0991]	515	520	525	
[0992]	Ser Gln Thr Ser Gln Asp Ser Gly Asn Tyr Ser Asn Glu Asp Glu Ser			
[0993]	530	535	540	
[0994]	Glu Ser Lys Thr Ser Glu Glu Leu Gln Gln Asp Phe Val			
[0995]	545	550	555	
[0996]	<210> 14			
[0997]	<211> 515			
[0998]	<212> PRT			
[0999]	<213> 智人(Homo sapiens)			
[1000]	<400> 14			
[1001]	Met Leu Leu Ser Gln Asn Ala Phe Ile Phe Arg Ser Leu Asn Leu Val			
[1002]	1	5	10	15
[1003]	Leu Met Val Tyr Ile Ser Leu Val Phe Gly Ile Ser Tyr Asp Ser Pro			
[1004]	20	25	30	
[1005]	Asp Tyr Thr Asp Glu Ser Cys Thr Phe Lys Ile Ser Leu Arg Asn Phe			
[1006]	35	40	45	
[1007]	Arg Ser Ile Leu Ser Trp Glu Leu Lys Asn His Ser Ile Val Pro Thr			
[1008]	50	55	60	
[1009]	His Tyr Thr Leu Leu Tyr Thr Ile Met Ser Lys Pro Glu Asp Leu Lys			
[1010]	65	70	75	80
[1011]	Val Val Lys Asn Cys Ala Asn Thr Thr Arg Ser Phe Cys Asp Leu Thr			
[1012]	85	90	95	
[1013]	Asp Glu Trp Arg Ser Thr His Glu Ala Tyr Val Thr Val Leu Glu Gly			

[1014]																	
[1015]	Phe	Ser	Gly	Asn	Thr	Thr	Leu	Phe	Ser	Cys	Ser	His	Asn	Phe	Trp	Leu	
[1016]																	
[1017]	Ala	Ile	Asp	Met	Ser	Phe	Glu	Pro	Pro	Glu	Phe	Glu	Ile	Val	Gly	Phe	
[1018]																	
[1019]	Thr	Asn	His	Ile	Asn	Val	Met	Val	Lys	Phe	Pro	Ser	Ile	Val	Glu	Glu	
[1020]																	
[1021]	Glu	Leu	Gln	Phe	Asp	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Glu	Glu	Gln	Ser	Glu	Gly	
[1022]																	
[1023]	Ile	Val	Lys	Lys	His	Lys	Pro	Glu	Ile	Lys	Gly	Asn	Met	Ser	Gly	Asn	
[1024]																	
[1025]	Phe	Thr	Tyr	Ile	Ile	Asp	Lys	Leu	Ile	Pro	Asn	Thr	Asn	Tyr	Cys	Val	
[1026]																	
[1027]	Ser	Val	Tyr	Leu	Glu	His	Ser	Asp	Glu	Gln	Ala	Val	Ile	Lys	Ser	Pro	
[1028]																	
[1029]	Leu	Lys	Cys	Thr	Leu	Leu	Pro	Pro	Gly	Gln	Glu	Ser	Glu	Ser	Ala	Glu	
[1030]																	
[1031]	Ser	Ala	Lys	Ile	Gly	Gly	Ile	Ile	Thr	Val	Phe	Leu	Ile	Ala	Leu	Val	
[1032]																	
[1033]	Leu	Thr	Ser	Thr	Ile	Val	Thr	Leu	Lys	Trp	Ile	Gly	Tyr	Ile	Cys	Leu	
[1034]																	
[1035]	Arg	Asn	Ser	Leu	Pro	Lys	Val	Leu	Asn	Phe	His	Asn	Phe	Leu	Ala	Trp	
[1036]																	
[1037]	Pro	Phe	Pro	Asn	Leu	Pro	Pro	Leu	Glu	Ala	Met	Asp	Met	Val	Glu	Val	
[1038]																	
[1039]	Ile	Tyr	Ile	Asn	Arg	Lys	Lys	Lys	Val	Trp	Asp	Tyr	Asn	Tyr	Asp	Asp	
[1040]																	
[1041]	Glu	Ser	Asp	Ser	Asp	Thr	Glu	Ala	Ala	Pro	Arg	Thr	Ser	Gly	Gly	Gly	
[1042]																	
[1043]	Tyr	Thr	Met	His	Gly	Leu	Thr	Val	Arg	Pro	Leu	Gly	Gln	Ala	Ser	Ala	
[1044]																	
[1045]	Thr	Ser	Thr	Glu	Ser	Gln	Leu	Ile	Asp	Pro	Glu	Ser	Glu	Glu	Glu	Pro	
[1046]																	
[1047]	Asp	Leu	Pro	Glu	Val	Asp	Val	Glu	Leu	Pro	Thr	Met	Pro	Lys	Asp	Ser	
[1048]																	
[1049]	Pro	Gln	Gln	Leu	Glu	Leu	Leu	Ser	Gly	Pro	Cys	Glu	Arg	Arg	Lys	Ser	
[1050]																	
[1051]	Pro	Leu	Gln	Asp	Pro	Phe	Pro	Glu	Glu	Asp	Tyr	Ser	Ser	Thr	Glu	Gly	
[1052]																	

[1053]	Ser Gly Gly Arg Ile Thr Phe Asn Val Asp Leu Asn Ser Val Phe Leu
[1054]	420 425 430
[1055]	Arg Val Leu Asp Asp Glu Asp Ser Asp Asp Leu Glu Ala Pro Leu Met
[1056]	435 440 445
[1057]	Leu Ser Ser His Leu Glu Glu Met Val Asp Pro Glu Asp Pro Asp Asn
[1058]	450 455 460
[1059]	Val Gln Ser Asn His Leu Leu Ala Ser Gly Glu Gly Thr Gln Pro Thr
[1060]	465 470 475 480
[1061]	Phe Pro Ser Pro Ser Ser Glu Gly Leu Trp Ser Glu Asp Ala Pro Ser
[1062]	485 490 495
[1063]	Asp Gln Ser Asp Thr Ser Glu Ser Asp Val Asp Leu Gly Asp Gly Tyr
[1064]	500 505 510
[1065]	Ile Met Arg
[1066]	515
[1067]	<210> 15
[1068]	<211> 575
[1069]	<212> PRT
[1070]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1071]	<400> 15
[1072]	Met Trp Ser Leu Leu Leu Cys Gly Leu Ser Ile Ala Leu Pro Leu Ser
[1073]	1 5 10 15
[1074]	Val Thr Ala Asp Gly Cys Lys Asp Ile Phe Met Lys Asn Glu Ile Leu
[1075]	20 25 30
[1076]	Ser Ala Ser Gln Pro Phe Ala Phe Asn Cys Thr Phe Pro Pro Ile Thr
[1077]	35 40 45
[1078]	Ser Gly Glu Val Ser Val Thr Trp Tyr Lys Asn Ser Ser Lys Ile Pro
[1079]	50 55 60
[1080]	Val Ser Lys Ile Ile Gln Ser Arg Ile His Gln Asp Glu Thr Trp Ile
[1081]	65 70 75 80
[1082]	Leu Phe Leu Pro Met Glu Trp Gly Asp Ser Gly Val Tyr Gln Cys Val
[1083]	85 90 95
[1084]	Ile Lys Gly Arg Asp Ser Cys His Arg Ile His Val Asn Leu Thr Val
[1085]	100 105 110
[1086]	Phe Glu Lys His Trp Cys Asp Thr Ser Ile Gly Gly Leu Pro Asn Leu
[1087]	115 120 125
[1088]	Ser Asp Glu Tyr Lys Gln Ile Leu His Leu Gly Lys Asp Asp Ser Leu
[1089]	130 135 140
[1090]	Thr Cys His Leu His Phe Pro Lys Ser Cys Val Leu Gly Pro Ile Lys
[1091]	145 150 155 160

[1092]	Trp	Tyr	Lys	Asp	Cys	Asn	Glu	Ile	Lys	Gly	Glu	Arg	Phe	Thr	Val	Leu
[1093]					165					170					175	
[1094]	Glu	Thr	Arg	Leu	Leu	Val	Ser	Asn	Val	Ser	Ala	Glu	Asp	Arg	Gly	Asn
[1095]					180					185					190	
[1096]	Tyr	Ala	Cys	Gln	Ala	Ile	Leu	Thr	His	Ser	Gly	Lys	Gln	Tyr	Glu	Val
[1097]					195					200					205	
[1098]	Leu	Asn	Gly	Ile	Thr	Val	Ser	Ile	Thr	Glu	Arg	Ala	Gly	Tyr	Gly	Gly
[1099]					210					215					220	
[1100]	Ser	Val	Pro	Lys	Ile	Ile	Tyr	Pro	Lys	Asn	His	Ser	Ile	Glu	Val	Gln
[1101]	225									230						240
[1102]	Leu	Gly	Thr	Thr	Leu	Ile	Val	Asp	Cys	Asn	Val	Thr	Asp	Thr	Lys	Asp
[1103]					245					250						255
[1104]	Asn	Thr	Asn	Leu	Arg	Cys	Trp	Arg	Val	Asn	Asn	Thr	Leu	Val	Asp	Asp
[1105]					260					265						270
[1106]	Tyr	Tyr	Asp	Glu	Ser	Lys	Arg	Ile	Arg	Glu	Gly	Val	Glu	Thr	His	Val
[1107]					275					280						285
[1108]	Ser	Phe	Arg	Glu	His	Asn	Leu	Tyr	Thr	Val	Asn	Ile	Thr	Phe	Leu	Glu
[1109]					290					295						300
[1110]	Val	Lys	Met	Glu	Asp	Tyr	Gly	Leu	Pro	Phe	Met	Cys	His	Ala	Gly	Val
[1111]	305									310						320
[1112]	Ser	Thr	Ala	Tyr	Ile	Ile	Leu	Gln	Leu	Pro	Ala	Pro	Asp	Phe	Arg	Ala
[1113]					325					330						335
[1114]	Tyr	Leu	Ile	Gly	Gly	Leu	Ile	Ala	Leu	Val	Ala	Val	Ala	Val	Ser	Val
[1115]					340					345						350
[1116]	Val	Tyr	Ile	Tyr	Asn	Ile	Phe	Lys	Ile	Asp	Ile	Val	Leu	Trp	Tyr	Arg
[1117]					355					360						365
[1118]	Ser	Ala	Phe	His	Ser	Thr	Glu	Thr	Ile	Val	Asp	Gly	Lys	Leu	Tyr	Asp
[1119]					370					375						380
[1120]	Ala	Tyr	Val	Leu	Tyr	Pro	Lys	Pro	His	Lys	Glu	Ser	Gln	Arg	His	Ala
[1121]	385									390						400
[1122]	Val	Asp	Ala	Leu	Val	Leu	Asn	Ile	Leu	Pro	Glu	Val	Leu	Glu	Arg	Gln
[1123]					405					410						415
[1124]	Cys	Gly	Tyr	Lys	Leu	Phe	Ile	Phe	Gly	Arg	Asp	Glu	Phe	Pro	Gly	Gln
[1125]					420					425						430
[1126]	Ala	Val	Ala	Asn	Val	Ile	Asp	Glu	Asn	Val	Lys	Leu	Cys	Arg	Arg	Leu
[1127]					435					440						445
[1128]	Ile	Val	Ile	Val	Val	Pro	Glu	Ser	Leu	Gly	Phe	Gly	Leu	Leu	Lys	Asn
[1129]					450					455						460
[1130]	Leu	Ser	Glu	Glu	Gln	Ile	Ala	Val	Tyr	Ser	Ala	Leu	Ile	Gln	Asp	Gly

[1131]	465	470	475	480
[1132]	Met Lys Val Ile Leu Ile Glu Leu Glu Lys Ile Glu Asp Tyr Thr Val			
[1133]		485	490	495
[1134]	Met Pro Glu Ser Ile Gln Tyr Ile Lys Gln Lys His Gly Ala Ile Arg			
[1135]		500	505	510
[1136]	Trp His Gly Asp Phe Thr Glu Gln Ser Gln Cys Met Lys Thr Lys Phe			
[1137]		515	520	525
[1138]	Trp Lys Thr Val Arg Tyr His Met Pro Pro Arg Arg Cys Arg Pro Phe			
[1139]		530	535	540
[1140]	Pro Pro Val Gln Leu Leu Gln His Thr Pro Cys Tyr Arg Thr Ala Gly			
[1141]	545	550	555	560
[1142]	Pro Glu Leu Gly Ser Arg Arg Lys Lys Cys Thr Leu Thr Thr Gly			
[1143]		565	570	575
[1144]	<210>	16		
[1145]	<211>	786		
[1146]	<212>	PRT		
[1147]	<213>	智人(Homo sapiens)		
[1148]	<400>	16		
[1149]	Met Thr Ser Ile Phe His Phe Ala Ile Ile Phe Met Leu Ile Leu Gln			
[1150]	1	5	10	15
[1151]	Ile Arg Ile Gln Leu Ser Glu Glu Ser Glu Phe Leu Val Asp Arg Ser			
[1152]		20	25	30
[1153]	Lys Asn Gly Leu Ile His Val Pro Lys Asp Leu Ser Gln Lys Thr Thr			
[1154]		35	40	45
[1155]	Ile Leu Asn Ile Ser Gln Asn Tyr Ile Ser Glu Leu Trp Thr Ser Asp			
[1156]		50	55	60
[1157]	Ile Leu Ser Leu Ser Lys Leu Arg Ile Leu Ile Ile Ser His Asn Arg			
[1158]	65	70	75	80
[1159]	Ile Gln Tyr Leu Asp Ile Ser Val Phe Lys Phe Asn Gln Glu Leu Glu			
[1160]		85	90	95
[1161]	Tyr Leu Asp Leu Ser His Asn Lys Leu Val Lys Ile Ser Cys His Pro			
[1162]		100	105	110
[1163]	Thr Val Asn Leu Lys His Leu Asp Leu Ser Phe Asn Ala Phe Asp Ala			
[1164]		115	120	125
[1165]	Leu Pro Ile Cys Lys Glu Phe Gly Asn Met Ser Gln Leu Lys Phe Leu			
[1166]		130	135	140
[1167]	Gly Leu Ser Thr Thr His Leu Glu Lys Ser Ser Val Leu Pro Ile Ala			
[1168]	145	150	155	160
[1169]	His Leu Asn Ile Ser Lys Val Leu Leu Val Leu Gly Glu Thr Tyr Gly			

[1170]	165															170			175					
[1171]	Glu	Lys	Glu	Asp	Pro	Glu	Gly	Leu	Gln	Asp	Phe	Asn	Thr	Glu	Ser	Leu								
[1172]	180															185			190					
[1173]	His	Ile	Val	Phe	Pro	Thr	Asn	Lys	Glu	Phe	His	Phe	Ile	Leu	Asp	Val								
[1174]	195															200			205					
[1175]	Ser	Val	Lys	Thr	Val	Ala	Asn	Leu	Glu	Leu	Ser	Asn	Ile	Lys	Cys	Val								
[1176]	210															215			220					
[1177]	Leu	Glu	Asp	Asn	Lys	Cys	Ser	Tyr	Phe	Leu	Ser	Ile	Leu	Ala	Lys	Leu								
[1178]	225															230			235			240		
[1179]	Gln	Thr	Asn	Pro	Lys	Leu	Ser	Asn	Leu	Thr	Leu	Asn	Asn	Ile	Glu	Thr								
[1180]	245															250			255					
[1181]	Thr	Trp	Asn	Ser	Phe	Ile	Arg	Ile	Leu	Gln	Leu	Val	Trp	His	Thr	Thr								
[1182]	260															265			270					
[1183]	Val	Trp	Tyr	Phe	Ser	Ile	Ser	Asn	Val	Lys	Leu	Gln	Gly	Gln	Leu	Asp								
[1184]	275															280			285					
[1185]	Phe	Arg	Asp	Phe	Asp	Tyr	Ser	Gly	Thr	Ser	Leu	Lys	Ala	Leu	Ser	Ile								
[1186]	290															295			300					
[1187]	His	Gln	Val	Val	Ser	Asp	Val	Phe	Gly	Phe	Pro	Gln	Ser	Tyr	Ile	Tyr								
[1188]	305															310			315			320		
[1189]	Glu	Ile	Phe	Ser	Asn	Met	Asn	Ile	Lys	Asn	Phe	Thr	Val	Ser	Gly	Thr								
[1190]	325															330			335					
[1191]	Arg	Met	Val	His	Met	Leu	Cys	Pro	Ser	Lys	Ile	Ser	Pro	Phe	Leu	His								
[1192]	340															345			350					
[1193]	Leu	Asp	Phe	Ser	Asn	Asn	Leu	Leu	Thr	Asp	Thr	Val	Phe	Glu	Asn	Cys								
[1194]	355															360			365					
[1195]	Gly	His	Leu	Thr	Glu	Leu	Glu	Thr	Leu	Ile	Leu	Gln	Met	Asn	Gln	Leu								
[1196]	370															375			380					
[1197]	Lys	Glu	Leu	Ser	Lys	Ile	Ala	Glu	Met	Thr	Thr	Gln	Met	Lys	Ser	Leu								
[1198]	385															390			395			400		
[1199]	Gln	Gln	Leu	Asp	Ile	Ser	Gln	Asn	Ser	Val	Ser	Tyr	Asp	Glu	Lys	Lys								
[1200]	405															410			415					
[1201]	Gly	Asp	Cys	Ser	Trp	Thr	Lys	Ser	Leu	Leu	Ser	Leu	Asn	Met	Ser	Ser								
[1202]	420															425			430					
[1203]	Asn	Ile	Leu	Thr	Asp	Thr	Ile	Phe	Arg	Cys	Leu	Pro	Pro	Arg	Ile	Lys								
[1204]	435															440			445					
[1205]	Val	Leu	Asp	Leu	His	Ser	Asn	Lys	Ile	Lys	Ser	Ile	Pro	Lys	Gln	Val								
[1206]	450															455			460					
[1207]	Val	Lys	Leu	Glu	Ala	Leu	Gln	Glu	Leu	Asn	Val	Ala	Phe	Asn	Ser	Leu								
[1208]	465															470			475			480		

[1209]	Thr	Asp	Leu	Pro	Gly	Cys	Gly	Ser	Phe	Ser	Ser	Leu	Ser	Val	Leu	Ile
[1210]					485					490					495	
[1211]	Ile	Asp	His	Asn	Ser	Val	Ser	His	Pro	Ser	Ala	Asp	Phe	Phe	Gln	Ser
[1212]					500					505					510	
[1213]	Cys	Gln	Lys	Met	Arg	Ser	Ile	Lys	Ala	Gly	Asp	Asn	Pro	Phe	Gln	Cys
[1214]					515					520					525	
[1215]	Thr	Cys	Glu	Leu	Gly	Glu	Phe	Val	Lys	Asn	Ile	Asp	Gln	Val	Ser	Ser
[1216]					530					535					540	
[1217]	Glu	Val	Leu	Glu	Gly	Trp	Pro	Asp	Ser	Tyr	Lys	Cys	Asp	Tyr	Pro	Glu
[1218]					545					550					555	
[1219]	Ser	Tyr	Arg	Gly	Thr	Leu	Leu	Lys	Asp	Phe	His	Met	Ser	Glu	Leu	Ser
[1220]					565					570					575	
[1221]	Cys	Asn	Ile	Thr	Leu	Leu	Ile	Val	Thr	Ile	Val	Ala	Thr	Met	Leu	Val
[1222]					580					585					590	
[1223]	Leu	Ala	Val	Thr	Val	Thr	Ser	Leu	Cys	Ser	Tyr	Leu	Asp	Leu	Pro	Trp
[1224]					595					600					605	
[1225]	Tyr	Leu	Arg	Met	Val	Cys	Gln	Trp	Thr	Gln	Thr	Arg	Arg	Arg	Ala	Arg
[1226]					610					615					620	
[1227]	Asn	Ile	Pro	Leu	Glu	Glu	Leu	Gln	Arg	Asn	Leu	Gln	Phe	His	Ala	Phe
[1228]					625					630					635	
[1229]	Ile	Ser	Tyr	Ser	Gly	His	Asp	Ser	Phe	Trp	Val	Lys	Asn	Glu	Leu	Leu
[1230]					645					650					655	
[1231]	Pro	Asn	Leu	Glu	Lys	Glu	Gly	Met	Gln	Ile	Cys	Leu	His	Glu	Arg	Asn
[1232]					660					665					670	
[1233]	Phe	Val	Pro	Gly	Lys	Ser	Ile	Val	Glu	Asn	Ile	Ile	Thr	Cys	Ile	Glu
[1234]					675					680					685	
[1235]	Lys	Ser	Tyr	Lys	Ser	Ile	Phe	Val	Leu	Ser	Pro	Asn	Phe	Val	Gln	Ser
[1236]					690					695					700	
[1237]	Glu	Trp	Cys	His	Tyr	Glu	Leu	Tyr	Phe	Ala	His	His	Asn	Leu	Phe	His
[1238]					705					710					715	
[1239]	Glu	Gly	Ser	Asn	Ser	Leu	Ile	Leu	Ile	Leu	Leu	Glu	Pro	Ile	Pro	Gln
[1240]					725					730					735	
[1241]	Tyr	Ser	Ile	Pro	Ser	Ser	Tyr	His	Lys	Leu	Lys	Ser	Leu	Met	Ala	Arg
[1242]					740					745					750	
[1243]	Arg	Thr	Tyr	Leu	Glu	Trp	Pro	Lys	Glu	Lys	Ser	Lys	Arg	Gly	Leu	Phe
[1244]					755					760					765	
[1245]	Trp	Ala	Asn	Leu	Arg	Ala	Ala	Ile	Asn	Ile	Lys	Leu	Thr	Glu	Gln	Ala
[1246]					770					775					780	
[1247]	Lys	Lys														

[1287]	260	265	270
[1288]	Leu Asn Gln Ile Ser Gly Leu Leu Glu Leu Glu Phe Asp Asp Cys Thr		
[1289]	275	280	285
[1290]	Leu Asn Gly Val Gly Asn Phe Arg Ala Ser Asp Asn Asp Arg Val Ile		
[1291]	290	295	300
[1292]	Asp Pro Gly Lys Val Glu Thr Leu Thr Ile Arg Arg Leu His Ile Pro		
[1293]	305	310	315
[1294]	Arg Phe Tyr Leu Phe Tyr Asp Leu Ser Thr Leu Tyr Ser Leu Thr Glu		
[1295]	325	330	335
[1296]	Arg Val Lys Arg Ile Thr Val Glu Asn Ser Lys Val Phe Leu Val Pro		
[1297]	340	345	350
[1298]	Cys Leu Leu Ser Gln His Leu Lys Ser Leu Glu Tyr Leu Asp Leu Ser		
[1299]	355	360	365
[1300]	Glu Asn Leu Met Val Glu Glu Tyr Leu Lys Asn Ser Ala Cys Glu Asp		
[1301]	370	375	380
[1302]	Ala Trp Pro Ser Leu Gln Thr Leu Ile Leu Arg Gln Asn His Leu Ala		
[1303]	385	390	395
[1304]	Ser Leu Glu Lys Thr Gly Glu Thr Leu Leu Thr Leu Lys Asn Leu Thr		
[1305]	405	410	415
[1306]	Asn Ile Asp Ile Ser Lys Asn Ser Phe His Ser Met Pro Glu Thr Cys		
[1307]	420	425	430
[1308]	Gln Trp Pro Glu Lys Met Lys Tyr Leu Asn Leu Ser Ser Thr Arg Ile		
[1309]	435	440	445
[1310]	His Ser Val Thr Gly Cys Ile Pro Lys Thr Leu Glu Ile Leu Asp Val		
[1311]	450	455	460
[1312]	Ser Asn Asn Asn Leu Asn Leu Phe Ser Leu Asn Leu Pro Gln Leu Lys		
[1313]	465	470	475
[1314]	Glu Leu Tyr Ile Ser Arg Asn Lys Leu Met Thr Leu Pro Asp Ala Ser		
[1315]	485	490	495
[1316]	Leu Leu Pro Met Leu Leu Val Leu Lys Ile Ser Arg Asn Ala Ile Thr		
[1317]	500	505	510
[1318]	Thr Phe Ser Lys Glu Gln Leu Asp Ser Phe His Thr Leu Lys Thr Leu		
[1319]	515	520	525
[1320]	Glu Ala Gly Gly Asn Asn Phe Ile Cys Ser Cys Glu Phe Leu Ser Phe		
[1321]	530	535	540
[1322]	Thr Gln Glu Gln Gln Ala Leu Ala Lys Val Leu Ile Asp Trp Pro Ala		
[1323]	545	550	555
[1324]	Asn Tyr Leu Cys Asp Ser Pro Ser His Val Arg Gly Gln Gln Val Gln		
[1325]	565	570	575

[1326]	Asp	Val	Arg	Leu	Ser	Val	Ser	Glu	Cys	His	Arg	Thr	Ala	Leu	Val	Ser
[1327]				580					585					590		
[1328]	Gly	Met	Cys	Cys	Ala	Leu	Phe	Leu	Leu	Ile	Leu	Leu	Thr	Gly	Val	Leu
[1329]			595					600					605			
[1330]	Cys	His	Arg	Phe	His	Gly	Leu	Trp	Tyr	Met	Lys	Met	Met	Trp	Ala	Trp
[1331]		610					615				620					
[1332]	Leu	Gln	Ala	Lys	Arg	Lys	Pro	Arg	Lys	Ala	Pro	Ser	Arg	Asn	Ile	Cys
[1333]	625					630					635				640	
[1334]	Tyr	Asp	Ala	Phe	Val	Ser	Tyr	Ser	Glu	Arg	Asp	Ala	Tyr	Trp	Val	Glu
[1335]				645					650				655			
[1336]	Asn	Leu	Met	Val	Gln	Glu	Leu	Glu	Asn	Phe	Asn	Pro	Pro	Phe	Lys	Leu
[1337]			660						665				670			
[1338]	Cys	Leu	His	Lys	Arg	Asp	Phe	Ile	Pro	Gly	Lys	Trp	Ile	Ile	Asp	Asn
[1339]		675					680					685				
[1340]	Ile	Ile	Asp	Ser	Ile	Glu	Lys	Ser	His	Lys	Thr	Val	Phe	Val	Leu	Ser
[1341]		690					695				700					
[1342]	Glu	Asn	Phe	Val	Lys	Ser	Glu	Trp	Cys	Lys	Tyr	Glu	Leu	Asp	Phe	Ser
[1343]	705					710					715				720	
[1344]	His	Phe	Arg	Leu	Phe	Asp	Glu	Asn	Asn	Asp	Ala	Ala	Ile	Leu	Ile	Leu
[1345]				725					730				735			
[1346]	Leu	Glu	Pro	Ile	Glu	Lys	Lys	Ala	Ile	Pro	Gln	Arg	Phe	Cys	Lys	Leu
[1347]			740						745				750			
[1348]	Arg	Lys	Ile	Met	Asn	Thr	Lys	Thr	Tyr	Leu	Glu	Trp	Pro	Met	Asp	Glu
[1349]		755					760					765				
[1350]	Ala	Gln	Arg	Glu	Gly	Phe	Trp	Val	Asn	Leu	Arg	Ala	Ala	Ile	Lys	Ser
[1351]		770					775					780				
[1352]	<210>	18														
[1353]	<211>	904														
[1354]	<212>	PRT														
[1355]	<213>	智人(Homo sapiens)														
[1356]	<400>	18														
[1357]	Met	Arg	Gln	Thr	Leu	Pro	Cys	Ile	Tyr	Phe	Trp	Gly	Gly	Leu	Leu	Pro
[1358]	1			5					10					15		
[1359]	Phe	Gly	Met	Leu	Cys	Ala	Ser	Ser	Thr	Thr	Lys	Cys	Thr	Val	Ser	His
[1360]			20						25				30			
[1361]	Glu	Val	Ala	Asp	Cys	Ser	His	Leu	Lys	Leu	Thr	Gln	Val	Pro	Asp	Asp
[1362]			35						40				45			
[1363]	Leu	Pro	Thr	Asn	Ile	Thr	Val	Leu	Asn	Leu	Thr	His	Asn	Gln	Leu	Arg
[1364]		50							55				60			

[1365]	Arg	Leu	Pro	Ala	Ala	Asn	Phe	Thr	Arg	Tyr	Ser	Gln	Leu	Thr	Ser	Leu
[1366]	65					70					75					80
[1367]	Asp	Val	Gly	Phe	Asn	Thr	Ile	Ser	Lys	Leu	Glu	Pro	Glu	Leu	Cys	Gln
[1368]					85					90					95	
[1369]	Lys	Leu	Pro	Met	Leu	Lys	Val	Leu	Asn	Leu	Gln	His	Asn	Glu	Leu	Ser
[1370]				100					105					110		
[1371]	Gln	Leu	Ser	Asp	Lys	Thr	Phe	Ala	Phe	Cys	Thr	Asn	Leu	Thr	Glu	Leu
[1372]			115					120					125			
[1373]	His	Leu	Met	Ser	Asn	Ser	Ile	Gln	Lys	Ile	Lys	Asn	Asn	Pro	Phe	Val
[1374]		130					135					140				
[1375]	Lys	Gln	Lys	Asn	Leu	Ile	Thr	Leu	Asp	Leu	Ser	His	Asn	Gly	Leu	Ser
[1376]	145				150					155						160
[1377]	Ser	Thr	Lys	Leu	Gly	Thr	Gln	Val	Gln	Leu	Glu	Asn	Leu	Gln	Glu	Leu
[1378]				165					170					175		
[1379]	Leu	Leu	Ser	Asn	Asn	Lys	Ile	Gln	Ala	Leu	Lys	Ser	Glu	Glu	Leu	Asp
[1380]				180					185					190		
[1381]	Ile	Phe	Ala	Asn	Ser	Ser	Leu	Lys	Lys	Leu	Glu	Leu	Ser	Ser	Asn	Gln
[1382]			195					200					205			
[1383]	Ile	Lys	Glu	Phe	Ser	Pro	Gly	Cys	Phe	His	Ala	Ile	Gly	Arg	Leu	Phe
[1384]		210					215					220				
[1385]	Gly	Leu	Phe	Leu	Asn	Asn	Val	Gln	Leu	Gly	Pro	Ser	Leu	Thr	Glu	Lys
[1386]	225				230					235						240
[1387]	Leu	Cys	Leu	Glu	Leu	Ala	Asn	Thr	Ser	Ile	Arg	Asn	Leu	Ser	Leu	Ser
[1388]				245					250					255		
[1389]	Asn	Ser	Gln	Leu	Ser	Thr	Thr	Ser	Asn	Thr	Thr	Phe	Leu	Gly	Leu	Lys
[1390]			260					265					270			
[1391]	Trp	Thr	Asn	Leu	Thr	Met	Leu	Asp	Leu	Ser	Tyr	Asn	Asn	Leu	Asn	Val
[1392]			275					280					285			
[1393]	Val	Gly	Asn	Asp	Ser	Phe	Ala	Trp	Leu	Pro	Gln	Leu	Glu	Tyr	Phe	Phe
[1394]		290					295				300					
[1395]	Leu	Glu	Tyr	Asn	Asn	Ile	Gln	His	Leu	Phe	Ser	His	Ser	Leu	His	Gly
[1396]	305				310					315						320
[1397]	Leu	Phe	Asn	Val	Arg	Tyr	Leu	Asn	Leu	Lys	Arg	Ser	Phe	Thr	Lys	Gln
[1398]				325					330					335		
[1399]	Ser	Ile	Ser	Leu	Ala	Ser	Leu	Pro	Lys	Ile	Asp	Asp	Phe	Ser	Phe	Gln
[1400]				340					345				350			
[1401]	Trp	Leu	Lys	Cys	Leu	Glu	His	Leu	Asn	Met	Glu	Asp	Asn	Asp	Ile	Pro
[1402]			355					360					365			
[1403]	Gly	Ile	Lys	Ser	Asn	Met	Phe	Thr	Gly	Leu	Ile	Asn	Leu	Lys	Tyr	Leu

[1404]	370	375	380
[1405]	Ser Leu Ser Asn Ser Phe Thr Ser Leu Arg Thr Leu Thr Asn Glu Thr		
[1406]	385	390	395 400
[1407]	Phe Val Ser Leu Ala His Ser Pro Leu His Ile Leu Asn Leu Thr Lys		
[1408]	405	410	415
[1409]	Asn Lys Ile Ser Lys Ile Glu Ser Asp Ala Phe Ser Trp Leu Gly His		
[1410]	420	425	430
[1411]	Leu Glu Val Leu Asp Leu Gly Leu Asn Glu Ile Gly Gln Glu Leu Thr		
[1412]	435	440	445
[1413]	Gly Gln Glu Trp Arg Gly Leu Glu Asn Ile Phe Glu Ile Tyr Leu Ser		
[1414]	450	455	460
[1415]	Tyr Asn Lys Tyr Leu Gln Leu Thr Arg Asn Ser Phe Ala Leu Val Pro		
[1416]	465	470	475 480
[1417]	Ser Leu Gln Arg Leu Met Leu Arg Arg Val Ala Leu Lys Asn Val Asp		
[1418]	485	490	495
[1419]	Ser Ser Pro Ser Pro Phe Gln Pro Leu Arg Asn Leu Thr Ile Leu Asp		
[1420]	500	505	510
[1421]	Leu Ser Asn Asn Asn Ile Ala Asn Ile Asn Asp Asp Met Leu Glu Gly		
[1422]	515	520	525
[1423]	Leu Glu Lys Leu Glu Ile Leu Asp Leu Gln His Asn Asn Leu Ala Arg		
[1424]	530	535	540
[1425]	Leu Trp Lys His Ala Asn Pro Gly Gly Pro Ile Tyr Phe Leu Lys Gly		
[1426]	545	550	555 560
[1427]	Leu Ser His Leu His Ile Leu Asn Leu Glu Ser Asn Gly Phe Asp Glu		
[1428]	565	570	575
[1429]	Ile Pro Val Glu Val Phe Lys Asp Leu Phe Glu Leu Lys Ile Ile Asp		
[1430]	580	585	590
[1431]	Leu Gly Leu Asn Asn Leu Asn Thr Leu Pro Ala Ser Val Phe Asn Asn		
[1432]	595	600	605
[1433]	Gln Val Ser Leu Lys Ser Leu Asn Leu Gln Lys Asn Leu Ile Thr Ser		
[1434]	610	615	620
[1435]	Val Glu Lys Lys Val Phe Gly Pro Ala Phe Arg Asn Leu Thr Glu Leu		
[1436]	625	630	635 640
[1437]	Asp Met Arg Phe Asn Pro Phe Asp Cys Thr Cys Glu Ser Ile Ala Trp		
[1438]	645	650	655
[1439]	Phe Val Asn Trp Ile Asn Glu Thr His Thr Asn Ile Pro Glu Leu Ser		
[1440]	660	665	670
[1441]	Ser His Tyr Leu Cys Asn Thr Pro Pro His Tyr His Gly Phe Pro Val		
[1442]	675	680	685

[1443]	Arg	Leu	Phe	Asp	Thr	Ser	Ser	Cys	Lys	Asp	Ser	Ala	Pro	Phe	Glu	Leu
[1444]	690							695				700				
[1445]	Phe	Phe	Met	Ile	Asn	Thr	Ser	Ile	Leu	Leu	Ile	Phe	Ile	Phe	Ile	Val
[1446]	705							710				715				720
[1447]	Leu	Leu	Ile	His	Phe	Glu	Gly	Trp	Arg	Ile	Ser	Phe	Tyr	Trp	Asn	Val
[1448]						725					730				735	
[1449]	Ser	Val	His	Arg	Val	Leu	Gly	Phe	Lys	Glu	Ile	Asp	Arg	Gln	Thr	Glu
[1450]						740						745			750	
[1451]	Gln	Phe	Glu	Tyr	Ala	Ala	Tyr	Ile	Ile	His	Ala	Tyr	Lys	Asp	Lys	Asp
[1452]						755								760		765
[1453]	Trp	Val	Trp	Glu	His	Phe	Ser	Ser	Met	Glu	Lys	Glu	Asp	Gln	Ser	Leu
[1454]	770							775						780		
[1455]	Lys	Phe	Cys	Leu	Glu	Glu	Arg	Asp	Phe	Glu	Ala	Gly	Val	Phe	Glu	Leu
[1456]	785							790						795		800
[1457]	Glu	Ala	Ile	Val	Asn	Ser	Ile	Lys	Arg	Ser	Arg	Lys	Ile	Ile	Phe	Val
[1458]								805						810		815
[1459]	Ile	Thr	His	His	Leu	Leu	Lys	Asp	Pro	Leu	Cys	Lys	Arg	Phe	Lys	Val
[1460]								820						825		830
[1461]	His	His	Ala	Val	Gln	Gln	Ala	Ile	Glu	Gln	Asn	Leu	Asp	Ser	Ile	Ile
[1462]								835						840		845
[1463]	Leu	Val	Phe	Leu	Glu	Glu	Ile	Pro	Asp	Tyr	Lys	Leu	Asn	His	Ala	Leu
[1464]	850													855		860
[1465]	Cys	Leu	Arg	Arg	Gly	Met	Phe	Lys	Ser	His	Cys	Ile	Leu	Asn	Trp	Pro
[1466]	865							870						875		880
[1467]	Val	Gln	Lys	Glu	Arg	Ile	Gly	Ala	Phe	Arg	His	Lys	Leu	Gln	Val	Ala
[1468]								885						890		895
[1469]	Leu	Gly	Ser	Lys	Asn	Ser	Val	His								
[1470]								900								
[1471]	<210>	19														
[1472]	<211>	839														
[1473]	<212>	PRT														
[1474]	<213>	智人(Homo sapiens)														
[1475]	<400>	19														
[1476]	Met	Met	Ser	Ala	Ser	Arg	Leu	Ala	Gly	Thr	Leu	Ile	Pro	Ala	Met	Ala
[1477]	1					5					10				15	
[1478]	Phe	Leu	Ser	Cys	Val	Arg	Pro	Glu	Ser	Trp	Glu	Pro	Cys	Val	Glu	Val
[1479]						20					25				30	
[1480]	Val	Pro	Asn	Ile	Thr	Tyr	Gln	Cys	Met	Glu	Leu	Asn	Phe	Tyr	Lys	Ile
[1481]								35						40		45

[1482]	Pro	Asp	Asn	Leu	Pro	Phe	Ser	Thr	Lys	Asn	Leu	Asp	Leu	Ser	Phe	Asn
[1483]	50						55					60				
[1484]	Pro	Leu	Arg	His	Leu	Gly	Ser	Tyr	Ser	Phe	Phe	Ser	Phe	Pro	Glu	Leu
[1485]	65					70					75				80	
[1486]	Gln	Val	Leu	Asp	Leu	Ser	Arg	Cys	Glu	Ile	Gln	Thr	Ile	Glu	Asp	Gly
[1487]					85					90					95	
[1488]	Ala	Tyr	Gln	Ser	Leu	Ser	His	Leu	Ser	Thr	Leu	Ile	Leu	Thr	Gly	Asn
[1489]					100					105					110	
[1490]	Pro	Ile	Gln	Ser	Leu	Ala	Leu	Gly	Ala	Phe	Ser	Gly	Leu	Ser	Ser	Leu
[1491]					115					120					125	
[1492]	Gln	Lys	Leu	Val	Ala	Val	Glu	Thr	Asn	Leu	Ala	Ser	Leu	Glu	Asn	Phe
[1493]					130					135					140	
[1494]	Pro	Ile	Gly	His	Leu	Lys	Thr	Leu	Lys	Glu	Leu	Asn	Val	Ala	His	Asn
[1495]	145					150					155				160	
[1496]	Leu	Ile	Gln	Ser	Phe	Lys	Leu	Pro	Glu	Tyr	Phe	Ser	Asn	Leu	Thr	Asn
[1497]					165					170					175	
[1498]	Leu	Glu	His	Leu	Asp	Leu	Ser	Ser	Asn	Lys	Ile	Gln	Ser	Ile	Tyr	Cys
[1499]					180					185					190	
[1500]	Thr	Asp	Leu	Arg	Val	Leu	His	Gln	Met	Pro	Leu	Leu	Asn	Leu	Ser	Leu
[1501]					195					200					205	
[1502]	Asp	Leu	Ser	Leu	Asn	Pro	Met	Asn	Phe	Ile	Gln	Pro	Gly	Ala	Phe	Lys
[1503]					210					215					220	
[1504]	Glu	Ile	Arg	Leu	His	Lys	Leu	Thr	Leu	Arg	Asn	Asn	Phe	Asp	Ser	Leu
[1505]	225					230					235				240	
[1506]	Asn	Val	Met	Lys	Thr	Cys	Ile	Gln	Gly	Leu	Ala	Gly	Leu	Glu	Val	His
[1507]					245					250					255	
[1508]	Arg	Leu	Val	Leu	Gly	Glu	Phe	Arg	Asn	Glu	Gly	Asn	Leu	Glu	Lys	Phe
[1509]					260					265					270	
[1510]	Asp	Lys	Ser	Ala	Leu	Glu	Gly	Leu	Cys	Asn	Leu	Thr	Ile	Glu	Glu	Phe
[1511]					275					280					285	
[1512]	Arg	Leu	Ala	Tyr	Leu	Asp	Tyr	Tyr	Leu	Asp	Asp	Ile	Ile	Asp	Leu	Phe
[1513]					290					295					300	
[1514]	Asn	Cys	Leu	Thr	Asn	Val	Ser	Ser	Phe	Ser	Leu	Val	Ser	Val	Thr	Ile
[1515]	305					310					315				320	
[1516]	Glu	Arg	Val	Lys	Asp	Phe	Ser	Tyr	Asn	Phe	Gly	Trp	Gln	His	Leu	Glu
[1517]					325						330				335	
[1518]	Leu	Val	Asn	Cys	Lys	Phe	Gly	Gln	Phe	Pro	Thr	Leu	Lys	Leu	Lys	Ser
[1519]					340					345					350	
[1520]	Leu	Lys	Arg	Leu	Thr	Phe	Thr	Ser	Asn	Lys	Gly	Gly	Asn	Ala	Phe	Ser

[1521]	355	360	365
[1522]	Glu Val Asp Leu Pro Ser Leu Glu Phe Leu Asp Leu Ser Arg Asn Gly		
[1523]	370	375	380
[1524]	Leu Ser Phe Lys Gly Cys Cys Ser Gln Ser Asp Phe Gly Thr Thr Ser		
[1525]	385	390	395
[1526]	Leu Lys Tyr Leu Asp Leu Ser Phe Asn Gly Val Ile Thr Met Ser Ser		
[1527]	405	410	415
[1528]	Asn Phe Leu Gly Leu Glu Gln Leu Glu His Leu Asp Phe Gln His Ser		
[1529]	420	425	430
[1530]	Asn Leu Lys Gln Met Ser Glu Phe Ser Val Phe Leu Ser Leu Arg Asn		
[1531]	435	440	445
[1532]	Leu Ile Tyr Leu Asp Ile Ser His Thr His Thr Arg Val Ala Phe Asn		
[1533]	450	455	460
[1534]	Gly Ile Phe Asn Gly Leu Ser Ser Leu Glu Val Leu Lys Met Ala Gly		
[1535]	465	470	475
[1536]	Asn Ser Phe Gln Glu Asn Phe Leu Pro Asp Ile Phe Thr Glu Leu Arg		
[1537]	485	490	495
[1538]	Asn Leu Thr Phe Leu Asp Leu Ser Gln Cys Gln Leu Glu Gln Leu Ser		
[1539]	500	505	510
[1540]	Pro Thr Ala Phe Asn Ser Leu Ser Ser Leu Gln Val Leu Asn Met Ser		
[1541]	515	520	525
[1542]	His Asn Asn Phe Phe Ser Leu Asp Thr Phe Pro Tyr Lys Cys Leu Asn		
[1543]	530	535	540
[1544]	Ser Leu Gln Val Leu Asp Tyr Ser Leu Asn His Ile Met Thr Ser Lys		
[1545]	545	550	555
[1546]	Lys Gln Glu Leu Gln His Phe Pro Ser Ser Leu Ala Phe Leu Asn Leu		
[1547]	565	570	575
[1548]	Thr Gln Asn Asp Phe Ala Cys Thr Cys Glu His Gln Ser Phe Leu Gln		
[1549]	580	585	590
[1550]	Trp Ile Lys Asp Gln Arg Gln Leu Leu Val Glu Val Glu Arg Met Glu		
[1551]	595	600	605
[1552]	Cys Ala Thr Pro Ser Asp Lys Gln Gly Met Pro Val Leu Ser Leu Asn		
[1553]	610	615	620
[1554]	Ile Thr Cys Gln Met Asn Lys Thr Ile Ile Gly Val Ser Val Leu Ser		
[1555]	625	630	635
[1556]	Val Leu Val Val Ser Val Val Ala Val Leu Val Tyr Lys Phe Tyr Phe		
[1557]	645	650	655
[1558]	His Leu Met Leu Leu Ala Gly Cys Ile Lys Tyr Gly Arg Gly Glu Asn		
[1559]	660	665	670

[1560]	Ile Tyr Asp Ala Phe Val Ile Tyr Ser Ser Gln Asp Glu Asp Trp Val
[1561]	675 680 685
[1562]	Arg Asn Glu Leu Val Lys Asn Leu Glu Glu Gly Val Pro Pro Phe Gln
[1563]	690 695 700
[1564]	Leu Cys Leu His Tyr Arg Asp Phe Ile Pro Gly Val Ala Ile Ala Ala
[1565]	705 710 715 720
[1566]	Asn Ile Ile His Glu Gly Phe His Lys Ser Arg Lys Val Ile Val Val
[1567]	725 730 735
[1568]	Val Ser Gln His Phe Ile Gln Ser Arg Trp Cys Ile Phe Glu Tyr Glu
[1569]	740 745 750
[1570]	Ile Ala Gln Thr Trp Gln Phe Leu Ser Ser Arg Ala Gly Ile Ile Phe
[1571]	755 760 765
[1572]	Ile Val Leu Gln Lys Val Glu Lys Thr Leu Leu Arg Gln Gln Val Glu
[1573]	770 775 780
[1574]	Leu Tyr Arg Leu Leu Ser Arg Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Glu Asp Ser
[1575]	785 790 795 800
[1576]	Val Leu Gly Arg His Ile Phe Trp Arg Arg Leu Arg Lys Ala Leu Leu
[1577]	805 810 815
[1578]	Asp Gly Lys Ser Trp Asn Pro Glu Gly Thr Val Gly Thr Gly Cys Asn
[1579]	820 825 830
[1580]	Trp Gln Glu Ala Thr Ser Ile
[1581]	835
[1582]	<210> 20
[1583]	<211> 858
[1584]	<212> PRT
[1585]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1586]	<400> 20
[1587]	Met Gly Asp His Leu Asp Leu Leu Leu Gly Val Val Leu Met Ala Gly
[1588]	1 5 10 15
[1589]	Pro Val Phe Gly Ile Pro Ser Cys Ser Phe Asp Gly Arg Ile Ala Phe
[1590]	20 25 30
[1591]	Tyr Arg Phe Cys Asn Leu Thr Gln Val Pro Gln Val Leu Asn Thr Thr
[1592]	35 40 45
[1593]	Glu Arg Leu Leu Leu Ser Phe Asn Tyr Ile Arg Thr Val Thr Ala Ser
[1594]	50 55 60
[1595]	Ser Phe Pro Phe Leu Glu Gln Leu Gln Leu Leu Glu Leu Gly Ser Gln
[1596]	65 70 75 80
[1597]	Tyr Thr Pro Leu Thr Ile Asp Lys Glu Ala Phe Arg Asn Leu Pro Asn
[1598]	85 90 95

[1599]	Leu	Arg	Ile	Leu	Asp	Leu	Gly	Ser	Ser	Lys	Ile	Tyr	Phe	Leu	His	Pro
[1600]				100					105					110		
[1601]	Asp	Ala	Phe	Gln	Gly	Leu	Phe	His	Leu	Phe	Glu	Leu	Arg	Leu	Tyr	Phe
[1602]				115					120					125		
[1603]	Cys	Gly	Leu	Ser	Asp	Ala	Val	Leu	Lys	Asp	Gly	Tyr	Phe	Arg	Asn	Leu
[1604]				130					135					140		
[1605]	Lys	Ala	Leu	Thr	Arg	Leu	Asp	Leu	Ser	Lys	Asn	Gln	Ile	Arg	Ser	Leu
[1606]				145					150					155		160
[1607]	Tyr	Leu	His	Pro	Ser	Phe	Gly	Lys	Leu	Asn	Ser	Leu	Lys	Ser	Ile	Asp
[1608]						165					170					175
[1609]	Phe	Ser	Ser	Asn	Gln	Ile	Phe	Leu	Val	Cys	Glu	His	Glu	Leu	Glu	Pro
[1610]				180						185					190	
[1611]	Leu	Gln	Gly	Lys	Thr	Leu	Ser	Phe	Phe	Ser	Leu	Ala	Ala	Asn	Ser	Leu
[1612]				195						200					205	
[1613]	Tyr	Ser	Arg	Val	Ser	Val	Asp	Trp	Gly	Lys	Cys	Met	Asn	Pro	Phe	Arg
[1614]				210					215					220		
[1615]	Asn	Met	Val	Leu	Glu	Ile	Leu	Asp	Val	Ser	Gly	Asn	Gly	Trp	Thr	Val
[1616]				225					230				235			240
[1617]	Asp	Ile	Thr	Gly	Asn	Phe	Ser	Asn	Ala	Ile	Ser	Lys	Ser	Gln	Ala	Phe
[1618]						245						250				255
[1619]	Ser	Leu	Ile	Leu	Ala	His	His	Ile	Met	Gly	Ala	Gly	Phe	Gly	Phe	His
[1620]				260						265					270	
[1621]	Asn	Ile	Lys	Asp	Pro	Asp	Gln	Asn	Thr	Phe	Ala	Gly	Leu	Ala	Arg	Ser
[1622]				275						280					285	
[1623]	Ser	Val	Arg	His	Leu	Asp	Leu	Ser	His	Gly	Phe	Val	Phe	Ser	Leu	Asn
[1624]				290						295				300		
[1625]	Ser	Arg	Val	Phe	Glu	Thr	Leu	Lys	Asp	Leu	Lys	Val	Leu	Asn	Leu	Ala
[1626]				305						310				315		320
[1627]	Tyr	Asn	Lys	Ile	Asn	Lys	Ile	Ala	Asp	Glu	Ala	Phe	Tyr	Gly	Leu	Asp
[1628]						325					330				335	
[1629]	Asn	Leu	Gln	Val	Leu	Asn	Leu	Ser	Tyr	Asn	Leu	Leu	Gly	Glu	Leu	Tyr
[1630]				340						345					350	
[1631]	Ser	Ser	Asn	Phe	Tyr	Gly	Leu	Pro	Lys	Val	Ala	Tyr	Ile	Asp	Leu	Gln
[1632]				355						360				365		
[1633]	Lys	Asn	His	Ile	Ala	Ile	Ile	Gln	Asp	Gln	Thr	Phe	Lys	Phe	Leu	Glu
[1634]				370						375				380		
[1635]	Lys	Leu	Gln	Thr	Leu	Asp	Leu	Arg	Asp	Asn	Ala	Leu	Thr	Thr	Ile	His
[1636]				385						390				395		400
[1637]	Phe	Ile	Pro	Ser	Ile	Pro	Asp	Ile	Phe	Leu	Ser	Gly	Asn	Lys	Leu	Val

[1638]	405							410							415			
[1639]	Thr	Leu	Pro	Lys	Ile	Asn	Leu	Thr	Ala	Asn	Leu	Ile	His	Leu	Ser	Glu		
[1640]	420							425							430			
[1641]	Asn	Arg	Leu	Glu	Asn	Leu	Asp	Ile	Leu	Tyr	Phe	Leu	Leu	Arg	Val	Pro		
[1642]	435							440							445			
[1643]	His	Leu	Gln	Ile	Leu	Ile	Leu	Asn	Gln	Asn	Arg	Phe	Ser	Ser	Cys	Ser		
[1644]	450							455							460			
[1645]	Gly	Asp	Gln	Thr	Pro	Ser	Glu	Asn	Pro	Ser	Leu	Glu	Gln	Leu	Phe	Leu		
[1646]	465	470							475							480		
[1647]	Gly	Glu	Asn	Met	Leu	Gln	Leu	Ala	Trp	Glu	Thr	Glu	Leu	Cys	Trp	Asp		
[1648]	485							490							495			
[1649]	Val	Phe	Glu	Gly	Leu	Ser	His	Leu	Gln	Val	Leu	Tyr	Leu	Asn	His	Asn		
[1650]	500							505							510			
[1651]	Tyr	Leu	Asn	Ser	Leu	Pro	Pro	Gly	Val	Phe	Ser	His	Leu	Thr	Ala	Leu		
[1652]	515							520							525			
[1653]	Arg	Gly	Leu	Ser	Leu	Asn	Ser	Asn	Arg	Leu	Thr	Val	Leu	Ser	His	Asn		
[1654]	530							535							540			
[1655]	Asp	Leu	Pro	Ala	Asn	Leu	Glu	Ile	Leu	Asp	Ile	Ser	Arg	Asn	Gln	Leu		
[1656]	545	550							555							560		
[1657]	Leu	Ala	Pro	Asn	Pro	Asp	Val	Phe	Val	Ser	Leu	Ser	Val	Leu	Asp	Ile		
[1658]	565							570							575			
[1659]	Thr	His	Asn	Lys	Phe	Ile	Cys	Glu	Cys	Glu	Leu	Ser	Thr	Phe	Ile	Asn		
[1660]	580							585							590			
[1661]	Trp	Leu	Asn	His	Thr	Asn	Val	Thr	Ile	Ala	Gly	Pro	Pro	Ala	Asp	Ile		
[1662]	595							600							605			
[1663]	Tyr	Cys	Val	Tyr	Pro	Asp	Ser	Phe	Ser	Gly	Val	Ser	Leu	Phe	Ser	Leu		
[1664]	610							615							620			
[1665]	Ser	Thr	Glu	Gly	Cys	Asp	Glu	Glu	Glu	Val	Leu	Lys	Ser	Leu	Lys	Phe		
[1666]	625	630							635							640		
[1667]	Ser	Leu	Phe	Ile	Val	Cys	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Leu	Phe	Leu	Met	Thr		
[1668]	645							650							655			
[1669]	Ile	Leu	Thr	Val	Thr	Lys	Phe	Arg	Gly	Phe	Cys	Phe	Ile	Cys	Tyr	Lys		
[1670]	660							665							670			
[1671]	Thr	Ala	Gln	Arg	Leu	Val	Phe	Lys	Asp	His	Pro	Gln	Gly	Thr	Glu	Pro		
[1672]	675							680							685			
[1673]	Asp	Met	Tyr	Lys	Tyr	Asp	Ala	Tyr	Leu	Cys	Phe	Ser	Ser	Lys	Asp	Phe		
[1674]	690							695							700			
[1675]	Thr	Trp	Val	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu	Lys	His	Leu	Asp	Thr	Gln	Tyr	Ser		
[1676]	705	710							715							720		

[1677]	Asp	Gln	Asn	Arg	Phe	Asn	Leu	Cys	Phe	Glu	Glu	Arg	Asp	Phe	Val	Pro
[1678]					725					730					735	
[1679]	Gly	Glu	Asn	Arg	Ile	Ala	Asn	Ile	Gln	Asp	Ala	Ile	Trp	Asn	Ser	Arg
[1680]					740					745					750	
[1681]	Lys	Ile	Val	Cys	Leu	Val	Ser	Arg	His	Phe	Leu	Arg	Asp	Gly	Trp	Cys
[1682]					755					760					765	
[1683]	Leu	Glu	Ala	Phe	Ser	Tyr	Ala	Gln	Gly	Arg	Cys	Leu	Ser	Asp	Leu	Asn
[1684]					770					775					780	
[1685]	Ser	Ala	Leu	Ile	Met	Val	Val	Val	Gly	Ser	Leu	Ser	Gln	Tyr	Gln	Leu
[1686]					785					790					795	
[1687]	Met	Lys	His	Gln	Ser	Ile	Arg	Gly	Phe	Val	Gln	Lys	Gln	Gln	Tyr	Leu
[1688]					805					810					815	
[1689]	Arg	Trp	Pro	Glu	Asp	Phe	Gln	Asp	Val	Gly	Trp	Phe	Leu	His	Lys	Leu
[1690]					820					825					830	
[1691]	Ser	Gln	Gln	Ile	Leu	Lys	Lys	Glu	Lys	Glu	Lys	Lys	Lys	Asp	Asn	Asn
[1692]					835					840					845	
[1693]	Ile	Pro	Leu	Gln	Thr	Val	Ala	Thr	Ile	Ser						
[1694]					850					855						
[1695]	<210>	21														
[1696]	<211>	796														
[1697]	<212>	PRT														
[1698]	<213>	智人(Homo sapiens)														
[1699]	<400>	21														
[1700]	Met	Thr	Lys	Asp	Lys	Glu	Pro	Ile	Val	Lys	Ser	Phe	His	Phe	Val	Cys
[1701]	1				5					10					15	
[1702]	Leu	Met	Ile	Ile	Ile	Val	Gly	Thr	Arg	Ile	Gln	Phe	Ser	Asp	Gly	Asn
[1703]					20					25					30	
[1704]	Glu	Phe	Ala	Val	Asp	Lys	Ser	Lys	Arg	Gly	Leu	Ile	His	Val	Pro	Lys
[1705]					35					40					45	
[1706]	Asp	Leu	Pro	Leu	Lys	Thr	Lys	Val	Leu	Asp	Met	Ser	Gln	Asn	Tyr	Ile
[1707]					50					55					60	
[1708]	Ala	Glu	Leu	Gln	Val	Ser	Asp	Met	Ser	Phe	Leu	Ser	Glu	Leu	Thr	Val
[1709]					65					70					75	
[1710]	Leu	Arg	Leu	Ser	His	Asn	Arg	Ile	Gln	Leu	Leu	Asp	Leu	Ser	Val	Phe
[1711]					85					90					95	
[1712]	Lys	Phe	Asn	Gln	Asp	Leu	Glu	Tyr	Leu	Asp	Leu	Ser	His	Asn	Gln	Leu
[1713]					100					105					110	
[1714]	Gln	Lys	Ile	Ser	Cys	His	Pro	Ile	Val	Ser	Phe	Arg	His	Leu	Asp	Leu
[1715]					115					120					125	

[1716]	Ser	Phe	Asn	Asp	Phe	Lys	Ala	Leu	Pro	Ile	Cys	Lys	Glu	Phe	Gly	Asn
[1717]	130						135					140				
[1718]	Leu	Ser	Gln	Leu	Asn	Phe	Leu	Gly	Leu	Ser	Ala	Met	Lys	Leu	Gln	Lys
[1719]	145					150					155					160
[1720]	Leu	Asp	Leu	Leu	Pro	Ile	Ala	His	Leu	His	Leu	Ser	Tyr	Ile	Leu	Leu
[1721]					165					170					175	
[1722]	Asp	Leu	Arg	Asn	Tyr	Tyr	Ile	Lys	Glu	Asn	Glu	Thr	Glu	Ser	Leu	Gln
[1723]			180						185					190		
[1724]	Ile	Leu	Asn	Ala	Lys	Thr	Leu	His	Leu	Val	Phe	His	Pro	Thr	Ser	Leu
[1725]			195					200					205			
[1726]	Phe	Ala	Ile	Gln	Val	Asn	Ile	Ser	Val	Asn	Thr	Leu	Gly	Cys	Leu	Gln
[1727]		210					215					220				
[1728]	Leu	Thr	Asn	Ile	Lys	Leu	Asn	Asp	Asp	Asn	Cys	Gln	Val	Phe	Ile	Lys
[1729]	225					230					235					240
[1730]	Phe	Leu	Ser	Glu	Leu	Thr	Arg	Gly	Ser	Thr	Leu	Leu	Asn	Phe	Thr	Leu
[1731]					245					250					255	
[1732]	Asn	His	Ile	Glu	Thr	Thr	Trp	Lys	Cys	Leu	Val	Arg	Val	Phe	Gln	Phe
[1733]				260					265					270		
[1734]	Leu	Trp	Pro	Lys	Pro	Val	Glu	Tyr	Leu	Asn	Ile	Tyr	Asn	Leu	Thr	Ile
[1735]			275					280					285			
[1736]	Ile	Glu	Ser	Ile	Arg	Glu	Glu	Asp	Phe	Thr	Tyr	Ser	Lys	Thr	Thr	Leu
[1737]		290					295					300				
[1738]	Lys	Ala	Leu	Thr	Ile	Glu	His	Ile	Thr	Asn	Gln	Val	Phe	Leu	Phe	Ser
[1739]	305					310					315					320
[1740]	Gln	Thr	Ala	Leu	Tyr	Thr	Val	Phe	Ser	Glu	Met	Asn	Ile	Met	Met	Leu
[1741]				325					330					335		
[1742]	Thr	Ile	Ser	Asp	Thr	Pro	Phe	Ile	His	Met	Leu	Cys	Pro	His	Ala	Pro
[1743]				340					345					350		
[1744]	Ser	Thr	Phe	Lys	Phe	Leu	Asn	Phe	Thr	Gln	Asn	Val	Phe	Thr	Asp	Ser
[1745]			355					360					365			
[1746]	Ile	Phe	Glu	Lys	Cys	Ser	Thr	Leu	Val	Lys	Leu	Glu	Thr	Leu	Ile	Leu
[1747]		370						375				380				
[1748]	Gln	Lys	Asn	Gly	Leu	Lys	Asp	Leu	Phe	Lys	Val	Gly	Leu	Met	Thr	Lys
[1749]	385					390					395					400
[1750]	Asp	Met	Pro	Ser	Leu	Glu	Ile	Leu	Asp	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Leu	Glu
[1751]				405					410					415		
[1752]	Ser	Gly	Arg	His	Lys	Glu	Asn	Cys	Thr	Trp	Val	Glu	Ser	Ile	Val	Val
[1753]				420					425				430			
[1754]	Leu	Asn	Leu	Ser	Ser	Asn	Met	Leu	Thr	Asp	Ser	Val	Phe	Arg	Cys	Leu

[1755]	435	440	445
[1756]	Pro Pro Arg Ile Lys Val Leu Asp Leu His Ser Asn Lys Ile Lys Ser		
[1757]	450	455	460
[1758]	Val Pro Lys Gln Val Val Lys Leu Glu Ala Leu Gln Glu Leu Asn Val		
[1759]	465	470	475
[1760]	Ala Phe Asn Ser Leu Thr Asp Leu Pro Gly Cys Gly Ser Phe Ser Ser		
[1761]	485	490	495
[1762]	Leu Ser Val Leu Ile Ile Asp His Asn Ser Val Ser His Pro Ser Ala		
[1763]	500	505	510
[1764]	Asp Phe Phe Gln Ser Cys Gln Lys Met Arg Ser Ile Lys Ala Gly Asp		
[1765]	515	520	525
[1766]	Asn Pro Phe Gln Cys Thr Cys Glu Leu Arg Glu Phe Val Lys Asn Ile		
[1767]	530	535	540
[1768]	Asp Gln Val Ser Ser Glu Val Leu Glu Gly Trp Pro Asp Ser Tyr Lys		
[1769]	545	550	555
[1770]	Cys Asp Tyr Pro Glu Ser Tyr Arg Gly Ser Pro Leu Lys Asp Phe His		
[1771]	565	570	575
[1772]	Met Ser Glu Leu Ser Cys Asn Ile Thr Leu Leu Ile Val Thr Ile Gly		
[1773]	580	585	590
[1774]	Ala Thr Met Leu Val Leu Ala Val Thr Val Thr Ser Leu Cys Ile Tyr		
[1775]	595	600	605
[1776]	Leu Asp Leu Pro Trp Tyr Leu Arg Met Val Cys Gln Trp Thr Gln Thr		
[1777]	610	615	620
[1778]	Arg Arg Arg Ala Arg Asn Ile Pro Leu Glu Glu Leu Gln Arg Asn Leu		
[1779]	625	630	635
[1780]	Gln Phe His Ala Phe Ile Ser Tyr Ser Glu His Asp Ser Ala Trp Val		
[1781]	645	650	655
[1782]	Lys Ser Glu Leu Val Pro Tyr Leu Glu Lys Glu Asp Ile Gln Ile Cys		
[1783]	660	665	670
[1784]	Leu His Glu Arg Asn Phe Val Pro Gly Lys Ser Ile Val Glu Asn Ile		
[1785]	675	680	685
[1786]	Ile Asn Cys Ile Glu Lys Ser Tyr Lys Ser Ile Phe Val Leu Ser Pro		
[1787]	690	695	700
[1788]	Asn Phe Val Gln Ser Glu Trp Cys His Tyr Glu Leu Tyr Phe Ala His		
[1789]	705	710	715
[1790]	His Asn Leu Phe His Glu Gly Ser Asn Asn Leu Ile Leu Ile Leu Leu		
[1791]	725	730	735
[1792]	Glu Pro Ile Pro Gln Asn Ser Ile Pro Asn Lys Tyr His Lys Leu Lys		
[1793]	740	745	750

[1794]	Ala Leu Met Thr Gln Arg Thr Tyr Leu Gln Trp Pro Lys Glu Lys Ser
[1795]	755 760 765
[1796]	Lys Arg Gly Leu Phe Trp Ala Asn Ile Arg Ala Ala Phe Asn Met Lys
[1797]	770 775 780
[1798]	Leu Thr Leu Val Thr Glu Asn Asn Asp Val Lys Ser
[1799]	785 790 795
[1800]	<210> 22
[1801]	<211> 1049
[1802]	<212> PRT
[1803]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1804]	<400> 22
[1805]	Met Val Phe Pro Met Trp Thr Leu Lys Arg Gln Ile Leu Ile Leu Phe
[1806]	1 5 10 15
[1807]	Asn Ile Ile Leu Ile Ser Lys Leu Leu Gly Ala Arg Trp Phe Pro Lys
[1808]	20 25 30
[1809]	Thr Leu Pro Cys Asp Val Thr Leu Asp Val Pro Lys Asn His Val Ile
[1810]	35 40 45
[1811]	Val Asp Cys Thr Asp Lys His Leu Thr Glu Ile Pro Gly Gly Ile Pro
[1812]	50 55 60
[1813]	Thr Asn Thr Thr Asn Leu Thr Leu Thr Ile Asn His Ile Pro Asp Ile
[1814]	65 70 75 80
[1815]	Ser Pro Ala Ser Phe His Arg Leu Asp His Leu Val Glu Ile Asp Phe
[1816]	85 90 95
[1817]	Arg Cys Asn Cys Val Pro Ile Pro Leu Gly Ser Lys Asn Asn Met Cys
[1818]	100 105 110
[1819]	Ile Lys Arg Leu Gln Ile Lys Pro Arg Ser Phe Ser Gly Leu Thr Tyr
[1820]	115 120 125
[1821]	Leu Lys Ser Leu Tyr Leu Asp Gly Asn Gln Leu Leu Glu Ile Pro Gln
[1822]	130 135 140
[1823]	Gly Leu Pro Pro Ser Leu Gln Leu Leu Ser Leu Glu Ala Asn Asn Ile
[1824]	145 150 155 160
[1825]	Phe Ser Ile Arg Lys Glu Asn Leu Thr Glu Leu Ala Asn Ile Glu Ile
[1826]	165 170 175
[1827]	Leu Tyr Leu Gly Gln Asn Cys Tyr Tyr Arg Asn Pro Cys Tyr Val Ser
[1828]	180 185 190
[1829]	Tyr Ser Ile Glu Lys Asp Ala Phe Leu Asn Leu Thr Lys Leu Lys Val
[1830]	195 200 205
[1831]	Leu Ser Leu Lys Asp Asn Asn Val Thr Ala Val Pro Thr Val Leu Pro
[1832]	210 215 220

[1833]	Ser Thr Leu Thr Glu Leu Tyr Leu Tyr Asn Asn Met Ile Ala Lys Ile		
[1834]	225	230	235 240
[1835]	Gln Glu Asp Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gln Leu Gln Ile Leu Asp Leu		
[1836]		245	250 255
[1837]	Ser Gly Asn Cys Pro Arg Cys Tyr Asn Ala Pro Phe Pro Cys Ala Pro		
[1838]		260	265 270
[1839]	Cys Lys Asn Asn Ser Pro Leu Gln Ile Pro Val Asn Ala Phe Asp Ala		
[1840]		275	280 285
[1841]	Leu Thr Glu Leu Lys Val Leu Arg Leu His Ser Asn Ser Leu Gln His		
[1842]		290	295 300
[1843]	Val Pro Pro Arg Trp Phe Lys Asn Ile Asn Lys Leu Gln Glu Leu Asp		
[1844]	305	310	315 320
[1845]	Leu Ser Gln Asn Phe Leu Ala Lys Glu Ile Gly Asp Ala Lys Phe Leu		
[1846]		325	330 335
[1847]	His Phe Leu Pro Ser Leu Ile Gln Leu Asp Leu Ser Phe Asn Phe Glu		
[1848]		340	345 350
[1849]	Leu Gln Val Tyr Arg Ala Ser Met Asn Leu Ser Gln Ala Phe Ser Ser		
[1850]		355	360 365
[1851]	Leu Lys Ser Leu Lys Ile Leu Arg Ile Arg Gly Tyr Val Phe Lys Glu		
[1852]		370	375 380
[1853]	Leu Lys Ser Phe Asn Leu Ser Pro Leu His Asn Leu Gln Asn Leu Glu		
[1854]	385	390	395 400
[1855]	Val Leu Asp Leu Gly Thr Asn Phe Ile Lys Ile Ala Asn Leu Ser Met		
[1856]		405	410 415
[1857]	Phe Lys Gln Phe Lys Arg Leu Lys Val Ile Asp Leu Ser Val Asn Lys		
[1858]		420	425 430
[1859]	Ile Ser Pro Ser Gly Asp Ser Ser Glu Val Gly Phe Cys Ser Asn Ala		
[1860]		435	440 445
[1861]	Arg Thr Ser Val Glu Ser Tyr Glu Pro Gln Val Leu Glu Gln Leu His		
[1862]		450	455 460
[1863]	Tyr Phe Arg Tyr Asp Lys Tyr Ala Arg Ser Cys Arg Phe Lys Asn Lys		
[1864]	465	470	475 480
[1865]	Glu Ala Ser Phe Met Ser Val Asn Glu Ser Cys Tyr Lys Tyr Gly Gln		
[1866]		485	490 495
[1867]	Thr Leu Asp Leu Ser Lys Asn Ser Ile Phe Phe Val Lys Ser Ser Asp		
[1868]		500	505 510
[1869]	Phe Gln His Leu Ser Phe Leu Lys Cys Leu Asn Leu Ser Gly Asn Leu		
[1870]		515	520 525
[1871]	Ile Ser Gln Thr Leu Asn Gly Ser Glu Phe Gln Pro Leu Ala Glu Leu		

[1872]	530	535	540
[1873]	Arg Tyr Leu Asp Phe Ser Asn Asn Arg Leu Asp Leu Leu His Ser Thr		
[1874]	545	550	555 560
[1875]	Ala Phe Glu Glu Leu His Lys Leu Glu Val Leu Asp Ile Ser Ser Asn		
[1876]	565	570	575
[1877]	Ser His Tyr Phe Gln Ser Glu Gly Ile Thr His Met Leu Asn Phe Thr		
[1878]	580	585	590
[1879]	Lys Asn Leu Lys Val Leu Gln Lys Leu Met Met Asn Asp Asn Asp Ile		
[1880]	595	600	605
[1881]	Ser Ser Ser Thr Ser Arg Thr Met Glu Ser Glu Ser Leu Arg Thr Leu		
[1882]	610	615	620
[1883]	Glu Phe Arg Gly Asn His Leu Asp Val Leu Trp Arg Glu Gly Asp Asn		
[1884]	625	630	635 640
[1885]	Arg Tyr Leu Gln Leu Phe Lys Asn Leu Leu Lys Leu Glu Glu Leu Asp		
[1886]	645	650	655
[1887]	Ile Ser Lys Asn Ser Leu Ser Phe Leu Pro Ser Gly Val Phe Asp Gly		
[1888]	660	665	670
[1889]	Met Pro Pro Asn Leu Lys Asn Leu Ser Leu Ala Lys Asn Gly Leu Lys		
[1890]	675	680	685
[1891]	Ser Phe Ser Trp Lys Lys Leu Gln Cys Leu Lys Asn Leu Glu Thr Leu		
[1892]	690	695	700
[1893]	Asp Leu Ser His Asn Gln Leu Thr Thr Val Pro Glu Arg Leu Ser Asn		
[1894]	705	710	715 720
[1895]	Cys Ser Arg Ser Leu Lys Asn Leu Ile Leu Lys Asn Asn Gln Ile Arg		
[1896]	725	730	735
[1897]	Ser Leu Thr Lys Tyr Phe Leu Gln Asp Ala Phe Gln Leu Arg Tyr Leu		
[1898]	740	745	750
[1899]	Asp Leu Ser Ser Asn Lys Ile Gln Met Ile Gln Lys Thr Ser Phe Pro		
[1900]	755	760	765
[1901]	Glu Asn Val Leu Asn Asn Leu Lys Met Leu Leu Leu His His Asn Arg		
[1902]	770	775	780
[1903]	Phe Leu Cys Thr Cys Asp Ala Val Trp Phe Val Trp Trp Val Asn His		
[1904]	785	790	795 800
[1905]	Thr Glu Val Thr Ile Pro Tyr Leu Ala Thr Asp Val Thr Cys Val Gly		
[1906]	805	810	815
[1907]	Pro Gly Ala His Lys Gly Gln Ser Val Ile Ser Leu Asp Leu Tyr Thr		
[1908]	820	825	830
[1909]	Cys Glu Leu Asp Leu Thr Asn Leu Ile Leu Phe Ser Leu Ser Ile Ser		
[1910]	835	840	845

[1911]	Val Ser Leu Phe Leu Met Val Met Met Thr Ala Ser His Leu Tyr Phe
[1912]	850 855 860
[1913]	Trp Asp Val Trp Tyr Ile Tyr His Phe Cys Lys Ala Lys Ile Lys Gly
[1914]	865 870 875 880
[1915]	Tyr Gln Arg Leu Ile Ser Pro Asp Cys Cys Tyr Asp Ala Phe Ile Val
[1916]	885 890 895
[1917]	Tyr Asp Thr Lys Asp Pro Ala Val Thr Glu Trp Val Leu Ala Glu Leu
[1918]	900 905 910
[1919]	Val Ala Lys Leu Glu Asp Pro Arg Glu Lys His Phe Asn Leu Cys Leu
[1920]	915 920 925
[1921]	Glu Glu Arg Asp Trp Leu Pro Gly Gln Pro Val Leu Glu Asn Leu Ser
[1922]	930 935 940
[1923]	Gln Ser Ile Gln Leu Ser Lys Lys Thr Val Phe Val Met Thr Asp Lys
[1924]	945 950 955 960
[1925]	Tyr Ala Lys Thr Glu Asn Phe Lys Ile Ala Phe Tyr Leu Ser His Gln
[1926]	965 970 975
[1927]	Arg Leu Met Asp Glu Lys Val Asp Val Ile Ile Leu Ile Phe Leu Glu
[1928]	980 985 990
[1929]	Lys Pro Phe Gln Lys Ser Lys Phe Leu Gln Leu Arg Lys Arg Leu Cys
[1930]	995 1000 1005
[1931]	Gly Ser Ser Val Leu Glu Trp Pro Thr Asn Pro Gln Ala His Pro Tyr
[1932]	1010 1015 1020
[1933]	Phe Trp Gln Cys Leu Lys Asn Ala Leu Ala Thr Asp Asn His Val Ala
[1934]	1025 1030 1035 1040
[1935]	Tyr Ser Gln Val Phe Lys Glu Thr Val
[1936]	1045
[1937]	<210> 23
[1938]	<211> 1041
[1939]	<212> PRT
[1940]	<213> 智人(Homo sapiens)
[1941]	<400> 23
[1942]	Met Glu Asn Met Phe Leu Gln Ser Ser Met Leu Thr Cys Ile Phe Leu
[1943]	1 5 10 15
[1944]	Leu Ile Ser Gly Ser Cys Glu Leu Cys Ala Glu Glu Asn Phe Ser Arg
[1945]	20 25 30
[1946]	Ser Tyr Pro Cys Asp Glu Lys Lys Gln Asn Asp Ser Val Ile Ala Glu
[1947]	35 40 45
[1948]	Cys Ser Asn Arg Arg Leu Gln Glu Val Pro Gln Thr Val Gly Lys Tyr
[1949]	50 55 60

[1950]	Val Thr Glu Leu Asp Leu Ser Asp Asn Phe Ile Thr His Ile Thr Asn
[1951]	65 70 75 80
[1952]	Glu Ser Phe Gln Gly Leu Gln Asn Leu Thr Lys Ile Asn Leu Asn His
[1953]	85 90 95
[1954]	Asn Pro Asn Val Gln His Gln Asn Gly Asn Pro Gly Ile Gln Ser Asn
[1955]	100 105 110
[1956]	Gly Leu Asn Ile Thr Asp Gly Ala Phe Leu Asn Leu Lys Asn Leu Arg
[1957]	115 120 125
[1958]	Glu Leu Leu Leu Glu Asp Asn Gln Leu Pro Gln Ile Pro Ser Gly Leu
[1959]	130 135 140
[1960]	Pro Glu Ser Leu Thr Glu Leu Ser Leu Ile Gln Asn Asn Ile Tyr Asn
[1961]	145 150 155 160
[1962]	Ile Thr Lys Glu Gly Ile Ser Arg Leu Ile Asn Leu Lys Asn Leu Tyr
[1963]	165 170 175
[1964]	Leu Ala Trp Asn Cys Tyr Phe Asn Lys Val Cys Glu Lys Thr Asn Ile
[1965]	180 185 190
[1966]	Glu Asp Gly Val Phe Glu Thr Leu Thr Asn Leu Glu Leu Leu Ser Leu
[1967]	195 200 205
[1968]	Ser Phe Asn Ser Leu Ser His Val Pro Pro Lys Leu Pro Ser Ser Leu
[1969]	210 215 220
[1970]	Arg Lys Leu Phe Leu Ser Asn Thr Gln Ile Lys Tyr Ile Ser Glu Glu
[1971]	225 230 235 240
[1972]	Asp Phe Lys Gly Leu Ile Asn Leu Thr Leu Leu Asp Leu Ser Gly Asn
[1973]	245 250 255
[1974]	Cys Pro Arg Cys Phe Asn Ala Pro Phe Pro Cys Val Pro Cys Asp Gly
[1975]	260 265 270
[1976]	Gly Ala Ser Ile Asn Ile Asp Arg Phe Ala Phe Gln Asn Leu Thr Gln
[1977]	275 280 285
[1978]	Leu Arg Tyr Leu Asn Leu Ser Ser Thr Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ala
[1979]	290 295 300
[1980]	Ala Trp Phe Lys Asn Met Pro His Leu Lys Val Leu Asp Leu Glu Phe
[1981]	305 310 315 320
[1982]	Asn Tyr Leu Val Gly Glu Ile Ala Ser Gly Ala Phe Leu Thr Met Leu
[1983]	325 330 335
[1984]	Pro Arg Leu Glu Ile Leu Asp Leu Ser Phe Asn Tyr Ile Lys Gly Ser
[1985]	340 345 350
[1986]	Tyr Pro Gln His Ile Asn Ile Ser Arg Asn Phe Ser Lys Leu Leu Ser
[1987]	355 360 365
[1988]	Leu Arg Ala Leu His Leu Arg Gly Tyr Val Phe Gln Glu Leu Arg Glu

[1989]	370	375	380
[1990]	Asp Asp Phe Gln Pro Leu Met Gln Leu Pro Asn Leu Ser Thr Ile Asn		
[1991]	385	390	395 400
[1992]	Leu Gly Ile Asn Phe Ile Lys Gln Ile Asp Phe Lys Leu Phe Gln Asn		
[1993]	405	410	415
[1994]	Phe Ser Asn Leu Glu Ile Ile Tyr Leu Ser Glu Asn Arg Ile Ser Pro		
[1995]	420	425	430
[1996]	Leu Val Lys Asp Thr Arg Gln Ser Tyr Ala Asn Ser Ser Ser Phe Gln		
[1997]	435	440	445
[1998]	Arg His Ile Arg Lys Arg Arg Ser Thr Asp Phe Glu Phe Asp Pro His		
[1999]	450	455	460
[2000]	Ser Asn Phe Tyr His Phe Thr Arg Pro Leu Ile Lys Pro Gln Cys Ala		
[2001]	465	470	475 480
[2002]	Ala Tyr Gly Lys Ala Leu Asp Leu Ser Leu Asn Ser Ile Phe Phe Ile		
[2003]	485	490	495
[2004]	Gly Pro Asn Gln Phe Glu Asn Leu Pro Asp Ile Ala Cys Leu Asn Leu		
[2005]	500	505	510
[2006]	Ser Ala Asn Ser Asn Ala Gln Val Leu Ser Gly Thr Glu Phe Ser Ala		
[2007]	515	520	525
[2008]	Ile Pro His Val Lys Tyr Leu Asp Leu Thr Asn Asn Arg Leu Asp Phe		
[2009]	530	535	540
[2010]	Asp Asn Ala Ser Ala Leu Thr Glu Leu Ser Asp Leu Glu Val Leu Asp		
[2011]	545	550	555 560
[2012]	Leu Ser Tyr Asn Ser His Tyr Phe Arg Ile Ala Gly Val Thr His His		
[2013]	565	570	575
[2014]	Leu Glu Phe Ile Gln Asn Phe Thr Asn Leu Lys Val Leu Asn Leu Ser		
[2015]	580	585	590
[2016]	His Asn Asn Ile Tyr Thr Leu Thr Asp Lys Tyr Asn Leu Glu Ser Lys		
[2017]	595	600	605
[2018]	Ser Leu Val Glu Leu Val Phe Ser Gly Asn Arg Leu Asp Ile Leu Trp		
[2019]	610	615	620
[2020]	Asn Asp Asp Asp Asn Arg Tyr Ile Ser Ile Phe Lys Gly Leu Lys Asn		
[2021]	625	630	635 640
[2022]	Leu Thr Arg Leu Asp Leu Ser Leu Asn Arg Leu Lys His Ile Pro Asn		
[2023]	645	650	655
[2024]	Glu Ala Phe Leu Asn Leu Pro Ala Ser Leu Thr Glu Leu His Ile Asn		
[2025]	660	665	670
[2026]	Asp Asn Met Leu Lys Phe Phe Asn Trp Thr Leu Leu Gln Gln Phe Pro		
[2027]	675	680	685

[2028]	Arg	Leu	Glu	Leu	Leu	Asp	Leu	Arg	Gly	Asn	Lys	Leu	Leu	Phe	Leu	Thr
[2029]	690						695				700					
[2030]	Asp	Ser	Leu	Ser	Asp	Phe	Thr	Ser	Ser	Leu	Arg	Thr	Leu	Leu	Leu	Ser
[2031]	705					710					715					720
[2032]	His	Asn	Arg	Ile	Ser	His	Leu	Pro	Ser	Gly	Phe	Leu	Ser	Glu	Val	Ser
[2033]					725					730					735	
[2034]	Ser	Leu	Lys	His	Leu	Asp	Leu	Ser	Ser	Asn	Leu	Leu	Lys	Thr	Ile	Asn
[2035]				740					745					750		
[2036]	Lys	Ser	Ala	Leu	Glu	Thr	Lys	Thr	Thr	Thr	Lys	Leu	Ser	Met	Leu	Glu
[2037]			755					760					765			
[2038]	Leu	His	Gly	Asn	Pro	Phe	Glu	Cys	Thr	Cys	Asp	Ile	Gly	Asp	Phe	Arg
[2039]	770					775					780					
[2040]	Arg	Trp	Met	Asp	Glu	His	Leu	Asn	Val	Lys	Ile	Pro	Arg	Leu	Val	Asp
[2041]	785					790					795					800
[2042]	Val	Ile	Cys	Ala	Ser	Pro	Gly	Asp	Gln	Arg	Gly	Lys	Ser	Ile	Val	Ser
[2043]					805					810					815	
[2044]	Leu	Glu	Leu	Thr	Thr	Cys	Val	Ser	Asp	Val	Thr	Ala	Val	Ile	Leu	Phe
[2045]				820					825					830		
[2046]	Phe	Phe	Thr	Phe	Phe	Ile	Thr	Thr	Met	Val	Met	Leu	Ala	Ala	Leu	Ala
[2047]			835					840					845			
[2048]	His	His	Leu	Phe	Tyr	Trp	Asp	Val	Trp	Phe	Ile	Tyr	Asn	Val	Cys	Leu
[2049]	850					855					860					
[2050]	Ala	Lys	Val	Lys	Gly	Tyr	Arg	Ser	Leu	Ser	Thr	Ser	Gln	Thr	Phe	Tyr
[2051]	865					870					875					880
[2052]	Asp	Ala	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Asp	Thr	Lys	Asp	Ala	Ser	Val	Thr	Asp	Trp
[2053]					885					890					895	
[2054]	Val	Ile	Asn	Glu	Leu	Arg	Tyr	His	Leu	Glu	Glu	Ser	Arg	Asp	Lys	Asn
[2055]				900					905					910		
[2056]	Val	Leu	Leu	Cys	Leu	Glu	Glu	Arg	Asp	Trp	Asp	Pro	Gly	Leu	Ala	Ile
[2057]			915					920					925			
[2058]	Ile	Asp	Asn	Leu	Met	Gln	Ser	Ile	Asn	Gln	Ser	Lys	Lys	Thr	Val	Phe
[2059]	930					935					940					
[2060]	Val	Leu	Thr	Lys	Lys	Tyr	Ala	Lys	Ser	Trp	Asn	Phe	Lys	Thr	Ala	Phe
[2061]	945					950					955					960
[2062]	Tyr	Leu	Ala	Leu	Gln	Arg	Leu	Met	Asp	Glu	Asn	Met	Asp	Val	Ile	Ile
[2063]					965					970					975	
[2064]	Phe	Ile	Leu	Leu	Glu	Pro	Val	Leu	Gln	His	Ser	Gln	Tyr	Leu	Arg	Leu
[2065]				980					985				990			
[2066]	Arg	Gln	Arg	Ile	Cys	Lys	Ser	Ser	Ile	Leu	Gln	Trp	Pro	Asp	Asn	Pro

[2067]	995	1000	1005
[2068]	Lys Ala Glu Gly Leu Phe Trp Gln Thr Leu Arg Asn Val Val Leu Thr		
[2069]	1010	1015	1020
[2070]	Glu Asn Asp Ser Arg Tyr Asn Asn Met Tyr Val Asp Ser Ile Lys Gln		
[2071]	1025	1030	1035
[2072]	Tyr		
[2073]	<210> 24		
[2074]	<211> 1032		
[2075]	<212> PRT		
[2076]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[2077]	<400> 24		
[2078]	Met Gly Phe Cys Arg Ser Ala Leu His Pro Leu Ser Leu Leu Val Gln		
[2079]	1	5	10
[2080]	Ala Ile Met Leu Ala Met Thr Leu Ala Leu Gly Thr Leu Pro Ala Phe		
[2081]	20	25	30
[2082]	Leu Pro Cys Glu Leu Gln Pro His Gly Leu Val Asn Cys Asn Trp Leu		
[2083]	35	40	45
[2084]	Phe Leu Lys Ser Val Pro His Phe Ser Met Ala Ala Pro Arg Gly Asn		
[2085]	50	55	60
[2086]	Val Thr Ser Leu Ser Leu Ser Ser Asn Arg Ile His His Leu His Asp		
[2087]	65	70	75
[2088]	Ser Asp Phe Ala His Leu Pro Ser Leu Arg His Leu Asn Leu Lys Trp		
[2089]	85	90	95
[2090]	Asn Cys Pro Pro Val Gly Leu Ser Pro Met His Phe Pro Cys His Met		
[2091]	100	105	110
[2092]	Thr Ile Glu Pro Ser Thr Phe Leu Ala Val Pro Thr Leu Glu Glu Leu		
[2093]	115	120	125
[2094]	Asn Leu Ser Tyr Asn Asn Ile Met Thr Val Pro Ala Leu Pro Lys Ser		
[2095]	130	135	140
[2096]	Leu Ile Ser Leu Ser Leu Ser His Thr Asn Ile Leu Met Leu Asp Ser		
[2097]	145	150	155
[2098]	Ala Ser Leu Ala Gly Leu His Ala Leu Arg Phe Leu Phe Met Asp Gly		
[2099]	165	170	175
[2100]	Asn Cys Tyr Tyr Lys Asn Pro Cys Arg Gln Ala Leu Glu Val Ala Pro		
[2101]	180	185	190
[2102]	Gly Ala Leu Leu Gly Leu Gly Asn Leu Thr His Leu Ser Leu Lys Tyr		
[2103]	195	200	205
[2104]	Asn Asn Leu Thr Val Val Pro Arg Asn Leu Pro Ser Ser Leu Glu Tyr		
[2105]	210	215	220

[2106]	Leu	Leu	Leu	Ser	Tyr	Asn	Arg	Ile	Val	Lys	Leu	Ala	Pro	Glu	Asp	Leu
[2107]	225					230				235						240
[2108]	Ala	Asn	Leu	Thr	Ala	Leu	Arg	Val	Leu	Asp	Val	Gly	Gly	Asn	Cys	Arg
[2109]					245					250					255	
[2110]	Arg	Cys	Asp	His	Ala	Pro	Asn	Pro	Cys	Met	Glu	Cys	Pro	Arg	His	Phe
[2111]				260					265					270		
[2112]	Pro	Gln	Leu	His	Pro	Asp	Thr	Phe	Ser	His	Leu	Ser	Arg	Leu	Glu	Gly
[2113]			275					280					285			
[2114]	Leu	Val	Leu	Lys	Asp	Ser	Ser	Leu	Ser	Trp	Leu	Asn	Ala	Ser	Trp	Phe
[2115]	290						295					300				
[2116]	Arg	Gly	Leu	Gly	Asn	Leu	Arg	Val	Leu	Asp	Leu	Ser	Glu	Asn	Phe	Leu
[2117]	305					310					315					320
[2118]	Tyr	Lys	Cys	Ile	Thr	Lys	Thr	Lys	Ala	Phe	Gln	Gly	Leu	Thr	Gln	Leu
[2119]				325						330					335	
[2120]	Arg	Lys	Leu	Asn	Leu	Ser	Phe	Asn	Tyr	Gln	Lys	Arg	Val	Ser	Phe	Ala
[2121]			340						345					350		
[2122]	His	Leu	Ser	Leu	Ala	Pro	Ser	Phe	Gly	Ser	Leu	Val	Ala	Leu	Lys	Glu
[2123]			355					360					365			
[2124]	Leu	Asp	Met	His	Gly	Ile	Phe	Phe	Arg	Ser	Leu	Asp	Glu	Thr	Thr	Leu
[2125]	370						375					380				
[2126]	Arg	Pro	Leu	Ala	Arg	Leu	Pro	Met	Leu	Gln	Thr	Leu	Arg	Leu	Gln	Met
[2127]	385					390					395					400
[2128]	Asn	Phe	Ile	Asn	Gln	Ala	Gln	Leu	Gly	Ile	Phe	Arg	Ala	Phe	Pro	Gly
[2129]				405						410					415	
[2130]	Leu	Arg	Tyr	Val	Asp	Leu	Ser	Asp	Asn	Arg	Ile	Ser	Gly	Ala	Ser	Glu
[2131]			420							425				430		
[2132]	Leu	Thr	Ala	Thr	Met	Gly	Glu	Ala	Asp	Gly	Gly	Glu	Lys	Val	Trp	Leu
[2133]			435					440					445			
[2134]	Gln	Pro	Gly	Asp	Leu	Ala	Pro	Ala	Pro	Val	Asp	Thr	Pro	Ser	Ser	Glu
[2135]	450						455					460				
[2136]	Asp	Phe	Arg	Pro	Asn	Cys	Ser	Thr	Leu	Asn	Phe	Thr	Leu	Asp	Leu	Ser
[2137]	465					470					475					480
[2138]	Arg	Asn	Asn	Leu	Val	Thr	Val	Gln	Pro	Glu	Met	Phe	Ala	Gln	Leu	Ser
[2139]				485						490				495		
[2140]	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Arg	Leu	Ser	His	Asn	Cys	Ile	Ser	Gln	Ala	Val
[2141]				500						505				510		
[2142]	Asn	Gly	Ser	Gln	Phe	Leu	Pro	Leu	Thr	Gly	Leu	Gln	Val	Leu	Asp	Leu
[2143]			515							520				525		
[2144]	Ser	His	Asn	Lys	Leu	Asp	Leu	Tyr	His	Glu	His	Ser	Phe	Thr	Glu	Leu

[2145]	530	535	540
[2146]	Pro Arg Leu Glu Ala Leu Asp Leu Ser Tyr Asn Ser Gln Pro Phe Gly		
[2147]	545	550	555
[2148]	Met Gln Gly Val Gly His Asn Phe Ser Phe Val Ala His Leu Arg Thr		560
[2149]	565	570	575
[2150]	Leu Arg His Leu Ser Leu Ala His Asn Asn Ile His Ser Gln Val Ser		
[2151]	580	585	590
[2152]	Gln Gln Leu Cys Ser Thr Ser Leu Arg Ala Leu Asp Phe Ser Gly Asn		
[2153]	595	600	605
[2154]	Ala Leu Gly His Met Trp Ala Glu Gly Asp Leu Tyr Leu His Phe Phe		
[2155]	610	615	620
[2156]	Gln Gly Leu Ser Gly Leu Ile Trp Leu Asp Leu Ser Gln Asn Arg Leu		
[2157]	625	630	635
[2158]	His Thr Leu Leu Pro Gln Thr Leu Arg Asn Leu Pro Lys Ser Leu Gln		
[2159]	645	650	655
[2160]	Val Leu Arg Leu Arg Asp Asn Tyr Leu Ala Phe Phe Lys Trp Trp Ser		
[2161]	660	665	670
[2162]	Leu His Phe Leu Pro Lys Leu Glu Val Leu Asp Leu Ala Gly Asn Gln		
[2163]	675	680	685
[2164]	Leu Lys Ala Leu Thr Asn Gly Ser Leu Pro Ala Gly Thr Arg Leu Arg		
[2165]	690	695	700
[2166]	Arg Leu Asp Val Ser Cys Asn Ser Ile Ser Phe Val Ala Pro Gly Phe		
[2167]	705	710	715
[2168]	Phe Ser Lys Ala Lys Glu Leu Arg Glu Leu Asn Leu Ser Ala Asn Ala		
[2169]	725	730	735
[2170]	Leu Lys Thr Val Asp His Ser Trp Phe Gly Pro Leu Ala Ser Ala Leu		
[2171]	740	745	750
[2172]	Gln Ile Leu Asp Val Ser Ala Asn Pro Leu His Cys Ala Cys Gly Ala		
[2173]	755	760	765
[2174]	Ala Phe Met Asp Phe Leu Leu Glu Val Gln Ala Ala Val Pro Gly Leu		
[2175]	770	775	780
[2176]	Pro Ser Arg Val Lys Cys Gly Ser Pro Gly Gln Leu Gln Gly Leu Ser		
[2177]	785	790	795
[2178]	Ile Phe Ala Gln Asp Leu Arg Leu Cys Leu Asp Glu Ala Leu Ser Trp		
[2179]	805	810	815
[2180]	Asp Cys Phe Ala Leu Ser Leu Leu Ala Val Ala Leu Gly Leu Gly Val		
[2181]	820	825	830
[2182]	Pro Met Leu His His Leu Cys Gly Trp Asp Leu Trp Tyr Cys Phe His		
[2183]	835	840	845

[2184]	Leu Cys Leu Ala Trp Leu Pro Trp Arg Gly Arg Gln Ser Gly Arg Asp
[2185]	850 855 860
[2186]	Glu Asp Ala Leu Pro Tyr Asp Ala Phe Val Val Phe Asp Lys Thr Gln
[2187]	865 870 875 880
[2188]	Ser Ala Val Ala Asp Trp Val Tyr Asn Glu Leu Arg Gly Gln Leu Glu
[2189]	885 890 895
[2190]	Glu Cys Arg Gly Arg Trp Ala Leu Arg Leu Cys Leu Glu Glu Arg Asp
[2191]	900 905 910
[2192]	Trp Leu Pro Gly Lys Thr Leu Phe Glu Asn Leu Trp Ala Ser Val Tyr
[2193]	915 920 925
[2194]	Gly Ser Arg Lys Thr Leu Phe Val Leu Ala His Thr Asp Arg Val Ser
[2195]	930 935 940
[2196]	Gly Leu Leu Arg Ala Ser Phe Leu Leu Ala Gln Gln Arg Leu Leu Glu
[2197]	945 950 955 960
[2198]	Asp Arg Lys Asp Val Val Val Leu Val Ile Leu Ser Pro Asp Gly Arg
[2199]	965 970 975
[2200]	Arg Ser Arg Tyr Val Arg Leu Arg Gln Arg Leu Cys Arg Gln Ser Val
[2201]	980 985 990
[2202]	Leu Leu Trp Pro His Gln Pro Ser Gly Gln Arg Ser Phe Trp Ala Gln
[2203]	995 1000 1005
[2204]	Leu Gly Met Ala Leu Thr Arg Asp Asn His His Phe Tyr Asn Arg Asn
[2205]	1010 1015 1020
[2206]	Phe Cys Gln Gly Pro Thr Ala Glu
[2207]	1025 1030
[2208]	<210> 25
[2209]	<211> 811
[2210]	<212> PRT
[2211]	<213> 智人(Homo sapiens)
[2212]	<400> 25
[2213]	Met Arg Leu Ile Arg Asn Ile Tyr Ile Phe Cys Ser Ile Val Met Thr
[2214]	1 5 10 15
[2215]	Ala Glu Gly Asp Ala Pro Glu Leu Pro Glu Glu Arg Glu Leu Met Thr
[2216]	20 25 30
[2217]	Asn Cys Ser Asn Met Ser Leu Arg Lys Val Pro Ala Asp Leu Thr Pro
[2218]	35 40 45
[2219]	Ala Thr Thr Thr Leu Asp Leu Ser Tyr Asn Leu Leu Phe Gln Leu Gln
[2220]	50 55 60
[2221]	Ser Ser Asp Phe His Ser Val Ser Lys Leu Arg Val Leu Ile Leu Cys
[2222]	65 70 75 80

[2223]	His	Asn	Arg	Ile	Gln	Gln	Leu	Asp	Leu	Lys	Thr	Phe	Glu	Phe	Asn	Lys
[2224]					85					90					95	
[2225]	Glu	Leu	Arg	Tyr	Leu	Asp	Leu	Ser	Asn	Asn	Arg	Leu	Lys	Ser	Val	Thr
[2226]					100					105					110	
[2227]	Trp	Tyr	Leu	Leu	Ala	Gly	Leu	Arg	Tyr	Leu	Asp	Leu	Ser	Phe	Asn	Asp
[2228]					115					120					125	
[2229]	Phe	Asp	Thr	Met	Pro	Ile	Cys	Glu	Glu	Ala	Gly	Asn	Met	Ser	His	Leu
[2230]					130					135					140	
[2231]	Glu	Ile	Leu	Gly	Leu	Ser	Gly	Ala	Lys	Ile	Gln	Lys	Ser	Asp	Phe	Gln
[2232]	145						150					155				160
[2233]	Lys	Ile	Ala	His	Leu	His	Leu	Asn	Thr	Val	Phe	Leu	Gly	Phe	Arg	Thr
[2234]					165						170					175
[2235]	Leu	Pro	His	Tyr	Glu	Glu	Gly	Ser	Leu	Pro	Ile	Leu	Asn	Thr	Thr	Lys
[2236]					180						185					190
[2237]	Leu	His	Ile	Val	Leu	Pro	Met	Asp	Thr	Asn	Phe	Trp	Val	Leu	Leu	Arg
[2238]					195						200					205
[2239]	Asp	Gly	Ile	Lys	Thr	Ser	Lys	Ile	Leu	Glu	Met	Thr	Asn	Ile	Asp	Gly
[2240]					210						215					220
[2241]	Lys	Ser	Gln	Phe	Val	Ser	Tyr	Glu	Met	Gln	Arg	Asn	Leu	Ser	Leu	Glu
[2242]	225						230					235				240
[2243]	Asn	Ala	Lys	Thr	Ser	Val	Leu	Leu	Leu	Asn	Lys	Val	Asp	Leu	Leu	Trp
[2244]					245						250					255
[2245]	Asp	Asp	Leu	Phe	Leu	Ile	Leu	Gln	Phe	Val	Trp	His	Thr	Ser	Val	Glu
[2246]					260						265					270
[2247]	His	Phe	Gln	Ile	Arg	Asn	Val	Thr	Phe	Gly	Gly	Lys	Ala	Tyr	Leu	Asp
[2248]					275						280					285
[2249]	His	Asn	Ser	Phe	Asp	Tyr	Ser	Asn	Thr	Val	Met	Arg	Thr	Ile	Lys	Leu
[2250]					290						295					300
[2251]	Glu	His	Val	His	Phe	Arg	Val	Phe	Tyr	Ile	Gln	Gln	Asp	Lys	Ile	Tyr
[2252]	305						310					315				320
[2253]	Leu	Leu	Leu	Thr	Lys	Met	Asp	Ile	Glu	Asn	Leu	Thr	Ile	Ser	Asn	Ala
[2254]					325						330					335
[2255]	Gln	Met	Pro	His	Met	Leu	Phe	Pro	Asn	Tyr	Pro	Thr	Lys	Phe	Gln	Tyr
[2256]					340						345					350
[2257]	Leu	Asn	Phe	Ala	Asn	Asn	Ile	Leu	Thr	Asp	Glu	Leu	Phe	Lys	Arg	Thr
[2258]					355						360					365
[2259]	Ile	Gln	Leu	Pro	His	Leu	Lys	Thr	Leu	Ile	Leu	Asn	Gly	Asn	Lys	Leu
[2260]					370							375				380
[2261]	Glu	Thr	Leu	Ser	Leu	Val	Ser	Cys	Phe	Ala	Asn	Asn	Thr	Pro	Leu	Glu

[2262]	385	390	395	400
[2263]	His Leu Asp Leu Ser Gln Asn Leu Leu Gln His Lys Asn Asp Glu Asn			
[2264]	405	410	415	
[2265]	Cys Ser Trp Pro Glu Thr Val Val Asn Met Asn Leu Ser Tyr Asn Lys			
[2266]	420	425	430	
[2267]	Leu Ser Asp Ser Val Phe Arg Cys Leu Pro Lys Ser Ile Gln Ile Leu			
[2268]	435	440	445	
[2269]	Asp Leu Asn Asn Asn Gln Ile Gln Thr Val Pro Lys Glu Thr Ile His			
[2270]	450	455	460	
[2271]	Leu Met Ala Leu Arg Glu Leu Asn Ile Ala Phe Asn Phe Leu Thr Asp			
[2272]	465	470	475	480
[2273]	Leu Pro Gly Cys Ser His Phe Ser Arg Leu Ser Val Leu Asn Ile Glu			
[2274]	485	490	495	
[2275]	Met Asn Phe Ile Leu Ser Pro Ser Leu Asp Phe Val Gln Ser Cys Gln			
[2276]	500	505	510	
[2277]	Glu Val Lys Thr Leu Asn Ala Gly Arg Asn Pro Phe Arg Cys Thr Cys			
[2278]	515	520	525	
[2279]	Glu Leu Lys Asn Phe Ile Gln Leu Glu Thr Tyr Ser Glu Val Met Met			
[2280]	530	535	540	
[2281]	Val Gly Trp Ser Asp Ser Tyr Thr Cys Glu Tyr Pro Leu Asn Leu Arg			
[2282]	545	550	555	560
[2283]	Gly Thr Arg Leu Lys Asp Val His Leu His Glu Leu Ser Cys Asn Thr			
[2284]	565	570	575	
[2285]	Ala Leu Leu Ile Val Thr Ile Val Val Ile Met Leu Val Leu Gly Leu			
[2286]	580	585	590	
[2287]	Ala Val Ala Phe Cys Cys Leu His Phe Asp Leu Pro Trp Tyr Leu Arg			
[2288]	595	600	605	
[2289]	Met Leu Gly Gln Cys Thr Gln Thr Trp His Arg Val Arg Lys Thr Thr			
[2290]	610	615	620	
[2291]	Gln Glu Gln Leu Lys Arg Asn Val Arg Phe His Ala Phe Ile Ser Tyr			
[2292]	625	630	635	640
[2293]	Ser Glu His Asp Ser Leu Trp Val Lys Asn Glu Leu Ile Pro Asn Leu			
[2294]	645	650	655	
[2295]	Glu Lys Glu Asp Gly Ser Ile Leu Ile Cys Leu Tyr Glu Ser Tyr Phe			
[2296]	660	665	670	
[2297]	Asp Pro Gly Lys Ser Ile Ser Glu Asn Ile Val Ser Phe Ile Glu Lys			
[2298]	675	680	685	
[2299]	Ser Tyr Lys Ser Ile Phe Val Leu Ser Pro Asn Phe Val Gln Asn Glu			
[2300]	690	695	700	

[2301]	Trp Cys His Tyr Glu Phe Tyr Phe Ala His His Asn Leu Phe His Glu
[2302]	705 710 715 720
[2303]	Asn Ser Asp His Ile Ile Leu Ile Leu Leu Glu Pro Ile Pro Phe Tyr
[2304]	725 730 735
[2305]	Cys Ile Pro Thr Arg Tyr His Lys Leu Lys Ala Leu Leu Glu Lys Lys
[2306]	740 745 750
[2307]	Ala Tyr Leu Glu Trp Pro Lys Asp Arg Arg Lys Cys Gly Leu Phe Trp
[2308]	755 760 765
[2309]	Ala Asn Leu Arg Ala Ala Ile Asn Val Asn Val Leu Ala Thr Arg Glu
[2310]	770 775 780
[2311]	Met Tyr Glu Leu Gln Thr Phe Thr Glu Leu Asn Glu Glu Ser Arg Gly
[2312]	785 790 795 800
[2313]	Ser Thr Ile Ser Leu Met Arg Thr Asp Cys Leu
[2314]	805 810
[2315]	<210> 26
[2316]	<211> 243
[2317]	<212> PRT
[2318]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2319]	<220>
[2320]	<221> PEPTIDE
[2321]	<222> ()..()
[2322]	<223> 在实验室中制成—合成的融合蛋白
[2323]	<400> 26
[2324]	Met Glu Ala Ala Val Ala Ala Pro Arg Pro Arg Leu Leu Leu Leu Val
[2325]	1 5 10 15
[2326]	Leu Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Leu Leu Pro Gly Ala Thr
[2327]	20 25 30
[2328]	Ala Leu Gln Cys Phe Cys His Leu Cys Thr Lys Asp Asn Phe Thr Cys
[2329]	35 40 45
[2330]	Val Thr Asp Gly Leu Cys Phe Val Ser Val Thr Glu Thr Thr Asp Lys
[2331]	50 55 60
[2332]	Val Ile His Asn Ser Met Cys Ile Ala Glu Ile Asp Leu Ile Pro Arg
[2333]	65 70 75 80
[2334]	Asp Arg Pro Phe Val Cys Ala Pro Ser Ser Lys Thr Gly Ser Val Thr
[2335]	85 90 95
[2336]	Thr Thr Tyr Cys Cys Asn Gln Asp His Cys Asn Lys Ile Glu Leu Pro
[2337]	100 105 110
[2338]	Thr Thr Val Lys Ser Ser Pro Gly Leu Gly Pro Val Glu Leu Trp Leu
[2339]	115 120 125

[2340]	Ile Phe Phe Ala Ser Leu Gly Ser Phe Leu Ser Ile Leu Leu Val Gly
[2341]	130 135 140
[2342]	Val Leu Gly Tyr Leu Gly Leu Asn Arg Ala Ala Arg His Leu Cys Pro
[2343]	145 150 155 160
[2344]	Pro Leu Pro Thr Pro Cys Ala Ser Ser Ala Ile Glu Phe Pro Gly Gly
[2345]	165 170 175
[2346]	Lys Glu Thr Trp Gln Trp Ile Asn Pro Val Asp Phe Gln Glu Glu Ala
[2347]	180 185 190
[2348]	Ser Leu Gln Glu Ala Leu Val Val Glu Met Ser Trp Asp Lys Gly Glu
[2349]	195 200 205
[2350]	Arg Thr Glu Pro Leu Glu Lys Thr Glu Leu Pro Glu Gly Ala Pro Glu
[2351]	210 215 220
[2352]	Leu Ala Leu Asp Thr Glu Leu Ser Leu Glu Asp Gly Asp Arg Cys Lys
[2353]	225 230 235 240
[2354]	Ala Lys Met
[2355]	<210> 27
[2356]	<211> 406
[2357]	<212> PRT
[2358]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2359]	<220>
[2360]	<221> PEPTIDE
[2361]	<222> ()..()
[2362]	<223> 在实验室中制成—合成的融合蛋白
[2363]	<400> 27
[2364]	Met Gly Arg Gly Leu Leu Arg Gly Leu Trp Pro Leu His Ile Val Leu
[2365]	1 5 10 15
[2366]	Trp Thr Arg Ile Ala Ser Thr Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Val
[2367]	20 25 30
[2368]	Asn Asn Asp Met Ile Val Thr Asp Asn Asn Gly Ala Val Lys Phe Pro
[2369]	35 40 45
[2370]	Gln Leu Cys Lys Phe Cys Asp Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln
[2371]	50 55 60
[2372]	Lys Ser Cys Met Ser Asn Cys Ser Ile Thr Ser Ile Cys Glu Lys Pro
[2373]	65 70 75 80
[2374]	Gln Glu Val Cys Val Ala Val Trp Arg Lys Asn Asp Glu Asn Ile Thr
[2375]	85 90 95
[2376]	Leu Glu Thr Val Cys His Asp Pro Lys Leu Pro Tyr His Asp Phe Ile
[2377]	100 105 110
[2378]	Leu Glu Asp Ala Ala Ser Pro Lys Cys Ile Met Lys Glu Lys Lys Lys

[2379]	115	120	125
[2380]	Pro Gly Glu Thr Phe Phe Met Cys Ser Cys Ser Ser Asp Glu Cys Asn		
[2381]	130	135	140
[2382]	Asp Asn Ile Ile Phe Ser Glu Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp Leu		
[2383]	145	150	155
[2384]	Leu Leu Val Ile Phe Gln Trp Met Ala Phe Val Ala Pro Ser Ile Cys		
[2385]	165	170	175
[2386]	Ile Ala Ile Ile Met Val Gly Ile Phe Ser Thr His Tyr Phe Gln Gln		
[2387]	180	185	190
[2388]	Lys Val Phe Val Leu Leu Ala Ala Leu Arg Pro Gln Trp Cys Ser Arg		
[2389]	195	200	205
[2390]	Glu Ile Pro Asp Pro Ala Asn Ser Thr Cys Ala Lys Lys Tyr Pro Ile		
[2391]	210	215	220
[2392]	Ala Glu Glu Lys Thr Gln Leu Pro Leu Asp Arg Leu Leu Ile Asp Trp		
[2393]	225	230	235
[2394]	Pro Thr Pro Glu Asp Pro Glu Pro Leu Val Ile Ser Glu Val Leu His		
[2395]	245	250	255
[2396]	Gln Val Thr Pro Val Phe Arg His Pro Pro Cys Ser Asn Trp Pro Gln		
[2397]	260	265	270
[2398]	Arg Glu Lys Gly Ile Gln Gly His Gln Ala Ser Glu Lys Asp Met Met		
[2399]	275	280	285
[2400]	His Ser Ala Ser Ser Pro Pro Pro Pro Arg Ala Leu Gln Ala Glu Ser		
[2401]	290	295	300
[2402]	Arg Gln Leu Val Asp Leu Tyr Lys Val Leu Glu Ser Arg Gly Ser Asp		
[2403]	305	310	315
[2404]	Pro Lys Pro Glu Asn Pro Ala Cys Pro Trp Thr Val Leu Pro Ala Gly		
[2405]	325	330	335
[2406]	Asp Leu Pro Thr His Asp Gly Tyr Leu Pro Ser Asn Ile Asp Asp Leu		
[2407]	340	345	350
[2408]	Pro Ser His Glu Ala Pro Leu Ala Asp Ser Leu Glu Glu Leu Glu Pro		
[2409]	355	360	365
[2410]	Gln His Ile Ser Leu Ser Val Phe Pro Ser Ser Ser Leu His Pro Leu		
[2411]	370	375	380
[2412]	Thr Phe Ser Cys Gly Asp Lys Leu Thr Leu Asp Gln Leu Lys Met Arg		
[2413]	385	390	395
[2414]	Cys Asp Ser Leu Met Leu		400
[2415]	405		
[2416]	<210> 28		
[2417]	<211> 671		

[2418]	<212>	PRT
[2419]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[2420]	<220>	
[2421]	<221>	PEPTIDE
[2422]	<222>	()..()
[2423]	<223>	在实验室中制成—合成的融合蛋白
[2424]	<400>	28
[2425]	Met Gly Arg Gly Leu Leu Arg Gly Leu Trp Pro Leu His Ile Val Leu	
[2426]	1	5 10 15
[2427]	Trp Thr Arg Ile Ala Ser Thr Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Val	
[2428]	20	25 30
[2429]	Asn Asn Asp Met Ile Val Thr Asp Asn Asn Gly Ala Val Lys Phe Pro	
[2430]	35	40 45
[2431]	Gln Leu Cys Lys Phe Cys Asp Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln	
[2432]	50	55 60
[2433]	Lys Ser Cys Met Ser Asn Cys Ser Ile Thr Ser Ile Cys Glu Lys Pro	
[2434]	65	70 75 80
[2435]	Gln Glu Val Cys Val Ala Val Trp Arg Lys Asn Asp Glu Asn Ile Thr	
[2436]	85	90 95
[2437]	Leu Glu Thr Val Cys His Asp Pro Lys Leu Pro Tyr His Asp Phe Ile	
[2438]	100	105 110
[2439]	Leu Glu Asp Ala Ala Ser Pro Lys Cys Ile Met Lys Glu Lys Lys Lys	
[2440]	115	120 125
[2441]	Pro Gly Glu Thr Phe Phe Met Cys Ser Cys Ser Ser Asp Glu Cys Asn	
[2442]	130	135 140
[2443]	Asp Asn Ile Ile Phe Ser Glu Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp Leu	
[2444]	145	150 155 160
[2445]	Leu Leu Val Ile Phe Gln Trp Met Ala Phe Val Ala Pro Ser Ile Cys	
[2446]	165	170 175
[2447]	Ile Ala Ile Ile Met Val Gly Ile Phe Ser Thr His Tyr Phe Gln Gln	
[2448]	180	185 190
[2449]	Lys Val Phe Val Leu Leu Ala Ala Leu Arg Pro Gln Trp Cys Ser Arg	
[2450]	195	200 205
[2451]	Glu Ile Pro Asp Pro Ala Asn Ser Thr Cys Ala Lys Lys Tyr Pro Ile	
[2452]	210	215 220
[2453]	Ala Glu Glu Lys Thr Gln Leu Pro Leu Asp Arg Leu Leu Ile Asp Trp	
[2454]	225	230 235 240
[2455]	Pro Thr Pro Glu Asp Pro Glu Pro Leu Val Ile Ser Glu Val Leu His	
[2456]	245	250 255

[2457]	Gln Val Thr Pro Val Phe Arg His Pro Pro Cys Ser Asn Trp Pro Gln		
[2458]		260	265
[2459]	Arg Glu Lys Gly Ile Gln Gly His Gln Ala Ser Glu Lys Asp Met Met		270
[2460]		275	280
[2461]	His Ser Ala Ser Ser Pro Pro Pro Pro Arg Ala Leu Gln Ala Glu Ser		285
[2462]		290	295
[2463]	Arg Gln Leu Val Asp Leu Tyr Lys Val Leu Glu Ser Arg Gly Ser Asp		300
[2464]	305	310	315
[2465]	Pro Lys Pro Glu Asn Pro Ala Cys Pro Trp Thr Val Leu Pro Ala Gly		320
[2466]		325	330
[2467]	Asp Leu Pro Thr His Asp Gly Tyr Leu Pro Ser Asn Ile Asp Asp Leu		335
[2468]		340	345
[2469]	Pro Ser His Glu Ala Pro Leu Ala Asp Ser Leu Glu Glu Leu Glu Pro		350
[2470]		355	360
[2471]	Gln His Ile Ser Leu Ser Val Phe Pro Ser Ser Ser Leu His Pro Leu		365
[2472]		370	375
[2473]	Thr Phe Ser Cys Gly Asp Lys Leu Thr Leu Asp Gln Leu Lys Met Arg		380
[2474]	385	390	395
[2475]	Cys Asp Ser Leu Met Leu Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu		400
[2476]		405	410
[2477]	Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Glu Ala Ala		415
[2478]		420	425
[2479]	Val Ala Ala Pro Arg Pro Arg Leu Leu Leu Leu Val Leu Ala Ala Ala		430
[2480]		435	440
[2481]	Ala Ala Ala Ala Ala Ala Leu Leu Pro Gly Ala Thr Ala Leu Gln Cys		445
[2482]		450	455
[2483]	Phe Cys His Leu Cys Thr Lys Asp Asn Phe Thr Cys Val Thr Asp Gly		460
[2484]	465	470	475
[2485]	Leu Cys Phe Val Ser Val Thr Glu Thr Thr Asp Lys Val Ile His Asn		480
[2486]		485	490
[2487]	Ser Met Cys Ile Ala Glu Ile Asp Leu Ile Pro Arg Asp Arg Pro Phe		495
[2488]		500	505
[2489]	Val Cys Ala Pro Ser Ser Lys Thr Gly Ser Val Thr Thr Thr Tyr Cys		510
[2490]		515	520
[2491]	Cys Asn Gln Asp His Cys Asn Lys Ile Glu Leu Pro Thr Thr Val Lys		525
[2492]		530	535
[2493]	Ser Ser Pro Gly Leu Gly Pro Val Glu Leu Trp Leu Ile Phe Phe Ala		540
[2494]	545	550	555
[2495]	Ser Leu Gly Ser Phe Leu Ser Ile Leu Leu Val Gly Val Leu Gly Tyr		560

[2496]		565		570		575
[2497]	Leu Gly Leu Asn Arg Ala Ala Arg His Leu Cys Pro Pro Leu Pro Thr					
[2498]		580		585		590
[2499]	Pro Cys Ala Ser Ser Ala Ile Glu Phe Pro Gly Gly Lys Glu Thr Trp					
[2500]		595		600		605
[2501]	Gln Trp Ile Asn Pro Val Asp Phe Gln Glu Glu Ala Ser Leu Gln Glu					
[2502]		610		615		620
[2503]	Ala Leu Val Val Glu Met Ser Trp Asp Lys Gly Glu Arg Thr Glu Pro					
[2504]	625		630		635	640
[2505]	Leu Glu Lys Thr Glu Leu Pro Glu Gly Ala Pro Glu Leu Ala Leu Asp					
[2506]		645		650		655
[2507]	Thr Glu Leu Ser Leu Glu Asp Gly Asp Arg Cys Lys Ala Lys Met					
[2508]		660		665		670
[2509]	<210>	29				
[2510]	<211>	1183				
[2511]	<212>	PRT				
[2512]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)				
[2513]	<220>					
[2514]	<221>	PEPTIDE				
[2515]	<222>	()..()				
[2516]	<223>	在实验室中制成—合成的融合蛋白				
[2517]	<400>	29				
[2518]	Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu					
[2519]	1	5		10		15
[2520]	His Ala Ala Arg Pro Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser					
[2521]		20		25		30
[2522]	Gly Thr Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser					
[2523]		35		40		45
[2524]	Asn Ile Gly Ser Asn Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr					
[2525]		50		55		60
[2526]	Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val					
[2527]	65		70		75	80
[2528]	Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala					
[2529]		85		90		95
[2530]	Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala					
[2531]		100		105		110
[2532]	Trp Asp Asp Ser Leu Ser Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val					
[2533]		115		120		125
[2534]	Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly					

[2535]	130	135	140
[2536]	Gly Gly Ser Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys		
[2537]	145	150	155
[2538]	Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe		
[2539]	165	170	175
[2540]	Ser Arg Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu		
[2541]	180	185	190
[2542]	Glu Trp Met Gly Leu Ile Asn Pro Gly Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala		
[2543]	195	200	205
[2544]	Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Asn		
[2545]	210	215	220
[2546]	Thr Val Tyr Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val		
[2547]	225	230	235
[2548]	Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Gly Thr Ile Asp Ala Arg Arg Phe Asp		
[2549]	245	250	255
[2550]	Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Thr Thr Pro		
[2551]	260	265	270
[2552]	Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu		
[2553]	275	280	285
[2554]	Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His		
[2555]	290	295	300
[2556]	Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu		
[2557]	305	310	315
[2558]	Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr		
[2559]	325	330	335
[2560]	Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe		
[2561]	340	345	350
[2562]	Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg		
[2563]	355	360	365
[2564]	Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser		
[2565]	370	375	380
[2566]	Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr		
[2567]	385	390	395
[2568]	Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys		
[2569]	405	410	415
[2570]	Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn		
[2571]	420	425	430
[2572]	Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu		
[2573]	435	440	445

[2574]	Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly
[2575]	450 455 460
[2576]	His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr
[2577]	465 470 475 480
[2578]	Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Gly Ser Gly Glu Gly
[2579]	485 490 495
[2580]	Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
[2581]	500 505 510
[2582]	Met Gly Arg Gly Leu Leu Arg Gly Leu Trp Pro Leu His Ile Val Leu
[2583]	515 520 525
[2584]	Trp Thr Arg Ile Ala Ser Thr Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Val
[2585]	530 535 540
[2586]	Asn Asn Asp Met Ile Val Thr Asp Asn Asn Gly Ala Val Lys Phe Pro
[2587]	545 550 555 560
[2588]	Gln Leu Cys Lys Phe Cys Asp Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln
[2589]	565 570 575
[2590]	Lys Ser Cys Met Ser Asn Cys Ser Ile Thr Ser Ile Cys Glu Lys Pro
[2591]	580 585 590
[2592]	Gln Glu Val Cys Val Ala Val Trp Arg Lys Asn Asp Glu Asn Ile Thr
[2593]	595 600 605
[2594]	Leu Glu Thr Val Cys His Asp Pro Lys Leu Pro Tyr His Asp Phe Ile
[2595]	610 615 620
[2596]	Leu Glu Asp Ala Ala Ser Pro Lys Cys Ile Met Lys Glu Lys Lys Lys
[2597]	625 630 635 640
[2598]	Pro Gly Glu Thr Phe Phe Met Cys Ser Cys Ser Ser Asp Glu Cys Asn
[2599]	645 650 655
[2600]	Asp Asn Ile Ile Phe Ser Glu Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp Leu
[2601]	660 665 670
[2602]	Leu Leu Val Ile Phe Gln Trp Met Ala Phe Val Ala Pro Ser Ile Cys
[2603]	675 680 685
[2604]	Ile Ala Ile Ile Met Val Gly Ile Phe Ser Thr His Tyr Phe Gln Gln
[2605]	690 695 700
[2606]	Lys Val Phe Val Leu Leu Ala Ala Leu Arg Pro Gln Trp Cys Ser Arg
[2607]	705 710 715 720
[2608]	Glu Ile Pro Asp Pro Ala Asn Ser Thr Cys Ala Lys Lys Tyr Pro Ile
[2609]	725 730 735
[2610]	Ala Glu Glu Lys Thr Gln Leu Pro Leu Asp Arg Leu Leu Ile Asp Trp
[2611]	740 745 750
[2612]	Pro Thr Pro Glu Asp Pro Glu Pro Leu Val Ile Ser Glu Val Leu His

[2613]	755	760	765
[2614]	Gln Val Thr Pro Val Phe Arg His Pro Pro Cys Ser Asn Trp Pro Gln		
[2615]	770	775	780
[2616]	Arg Glu Lys Gly Ile Gln Gly His Gln Ala Ser Glu Lys Asp Met Met		
[2617]	785	790	795
[2618]	His Ser Ala Ser Ser Pro Pro Pro Pro Arg Ala Leu Gln Ala Glu Ser		
[2619]	805	810	815
[2620]	Arg Gln Leu Val Asp Leu Tyr Lys Val Leu Glu Ser Arg Gly Ser Asp		
[2621]	820	825	830
[2622]	Pro Lys Pro Glu Asn Pro Ala Cys Pro Trp Thr Val Leu Pro Ala Gly		
[2623]	835	840	845
[2624]	Asp Leu Pro Thr His Asp Gly Tyr Leu Pro Ser Asn Ile Asp Asp Leu		
[2625]	850	855	860
[2626]	Pro Ser His Glu Ala Pro Leu Ala Asp Ser Leu Glu Glu Leu Glu Pro		
[2627]	865	870	875
[2628]	Gln His Ile Ser Leu Ser Val Phe Pro Ser Ser Ser Leu His Pro Leu		
[2629]	885	890	895
[2630]	Thr Phe Ser Cys Gly Asp Lys Leu Thr Leu Asp Gln Leu Lys Met Arg		
[2631]	900	905	910
[2632]	Cys Asp Ser Leu Met Leu Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu		
[2633]	915	920	925
[2634]	Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Glu Ala Ala		
[2635]	930	935	940
[2636]	Val Ala Ala Pro Arg Pro Arg Leu Leu Leu Leu Val Leu Ala Ala Ala		
[2637]	945	950	955
[2638]	Ala Ala Ala Ala Ala Ala Leu Leu Pro Gly Ala Thr Ala Leu Gln Cys		
[2639]	965	970	975
[2640]	Phe Cys His Leu Cys Thr Lys Asp Asn Phe Thr Cys Val Thr Asp Gly		
[2641]	980	985	990
[2642]	Leu Cys Phe Val Ser Val Thr Glu Thr Thr Asp Lys Val Ile His Asn		
[2643]	995	1000	1005
[2644]	Ser Met Cys Ile Ala Glu Ile Asp Leu Ile Pro Arg Asp Arg Pro Phe		
[2645]	1010	1015	1020
[2646]	Val Cys Ala Pro Ser Ser Lys Thr Gly Ser Val Thr Thr Thr Tyr Cys		
[2647]	1025	1030	1035
[2648]	Cys Asn Gln Asp His Cys Asn Lys Ile Glu Leu Pro Thr Thr Val Lys		
[2649]	1045	1050	1055
[2650]	Ser Ser Pro Gly Leu Gly Pro Val Glu Leu Trp Leu Ile Phe Phe Ala		
[2651]	1060	1065	1070

[2652]	Ser Leu Gly Ser Phe Leu Ser Ile Leu Leu Val Gly Val Leu Gly Tyr
[2653]	1075 1080 1085
[2654]	Leu Gly Leu Asn Arg Ala Ala Arg His Leu Cys Pro Pro Leu Pro Thr
[2655]	1090 1095 1100
[2656]	Pro Cys Ala Ser Ser Ala Ile Glu Phe Pro Gly Gly Lys Glu Thr Trp
[2657]	1105 1110 1115 1120
[2658]	Gln Trp Ile Asn Pro Val Asp Phe Gln Glu Glu Ala Ser Leu Gln Glu
[2659]	1125 1130 1135
[2660]	Ala Leu Val Val Glu Met Ser Trp Asp Lys Gly Glu Arg Thr Glu Pro
[2661]	1140 1145 1150
[2662]	Leu Glu Lys Thr Glu Leu Pro Glu Gly Ala Pro Glu Leu Ala Leu Asp
[2663]	1155 1160 1165
[2664]	Thr Glu Leu Ser Leu Glu Asp Gly Asp Arg Cys Lys Ala Lys Met
[2665]	1170 1175 1180
[2666]	<210> 30
[2667]	<211> 937
[2668]	<212> PRT
[2669]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[2670]	<220>
[2671]	<221> PEPTIDE
[2672]	<222> ()..()
[2673]	<223> 在实验室中制成—合成的融合蛋白
[2674]	<220>
[2675]	<221> SITE
[2676]	<222> (22)..(22)
[2677]	<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
[2678]	<400> 30
[2679]	Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
[2680]	1 5 10 15
[2681]	His Ala Ala Arg Pro Xaa Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
[2682]	20 25 30
[2683]	Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
[2684]	35 40 45
[2685]	Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
[2686]	50 55 60
[2687]	Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val
[2688]	65 70 75 80
[2689]	Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys
[2690]	85 90 95

[2691]	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg	Pro	Val	Gln	Thr
[2692]				100					105					110		
[2693]	Thr	Gln	Glu	Glu	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys	Arg	Phe	Pro	Glu	Glu	Glu	Glu
[2694]			115						120					125		
[2695]	Gly	Gly	Cys	Glu	Leu	Arg	Val	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro
[2696]		130						135					140			
[2697]	Ala	Tyr	Gln	Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	Leu	Gly
[2698]	145					150					155					160
[2699]	Arg	Arg	Glu	Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp	Lys	Arg	Arg	Gly	Arg	Asp	Pro
[2700]					165					170					175	
[2701]	Glu	Met	Gly	Gly	Lys	Pro	Arg	Arg	Lys	Asn	Pro	Gln	Glu	Gly	Leu	Tyr
[2702]				180					185					190		
[2703]	Asn	Glu	Leu	Gln	Lys	Asp	Lys	Met	Ala	Glu	Ala	Tyr	Ser	Glu	Ile	Gly
[2704]			195					200					205			
[2705]	Met	Lys	Gly	Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	Lys	Gly	His	Asp	Gly	Leu	Tyr	Gln
[2706]		210					215					220				
[2707]	Gly	Leu	Ser	Thr	Ala	Thr	Lys	Asp	Thr	Tyr	Asp	Ala	Leu	His	Met	Gln
[2708]	225					230					235					240
[2709]	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg	Gly	Ser	Gly	Glu	Gly	Arg	Gly	Ser	Leu	Leu	Thr
[2710]					245					250					255	
[2711]	Cys	Gly	Asp	Val	Glu	Glu	Asn	Pro	Gly	Pro	Met	Gly	Arg	Gly	Leu	Leu
[2712]			260						265					270		
[2713]	Arg	Gly	Leu	Trp	Pro	Leu	His	Ile	Val	Leu	Trp	Thr	Arg	Ile	Ala	Ser
[2714]			275					280					285			
[2715]	Thr	Ile	Pro	Pro	His	Val	Gln	Lys	Ser	Val	Asn	Asn	Asp	Met	Ile	Val
[2716]		290					295					300				
[2717]	Thr	Asp	Asn	Asn	Gly	Ala	Val	Lys	Phe	Pro	Gln	Leu	Cys	Lys	Phe	Cys
[2718]	305					310					315					320
[2719]	Asp	Val	Arg	Phe	Ser	Thr	Cys	Asp	Asn	Gln	Lys	Ser	Cys	Met	Ser	Asn
[2720]				325						330				335		
[2721]	Cys	Ser	Ile	Thr	Ser	Ile	Cys	Glu	Lys	Pro	Gln	Glu	Val	Cys	Val	Ala
[2722]			340						345					350		
[2723]	Val	Trp	Arg	Lys	Asn	Asp	Glu	Asn	Ile	Thr	Leu	Glu	Thr	Val	Cys	His
[2724]			355					360					365			
[2725]	Asp	Pro	Lys	Leu	Pro	Tyr	His	Asp	Phe	Ile	Leu	Glu	Asp	Ala	Ala	Ser
[2726]		370					375					380				
[2727]	Pro	Lys	Cys	Ile	Met	Lys	Glu	Lys	Lys	Lys	Pro	Gly	Glu	Thr	Phe	Phe
[2728]	385					390					395					400
[2729]	Met	Cys	Ser	Cys	Ser	Ser	Asp	Glu	Cys	Asn	Asp	Asn	Ile	Ile	Phe	Ser

[2730]	405							410							415			
[2731]	Glu	Glu	Tyr	Asn	Thr	Ser	Asn	Pro	Asp	Leu	Leu	Leu	Val	Ile	Phe	Gln		
[2732]	420							425							430			
[2733]	Trp	Met	Ala	Phe	Val	Ala	Pro	Ser	Ile	Cys	Ile	Ala	Ile	Ile	Met	Val		
[2734]	435							440							445			
[2735]	Gly	Ile	Phe	Ser	Thr	His	Tyr	Phe	Gln	Gln	Lys	Val	Phe	Val	Leu	Leu		
[2736]	450							455							460			
[2737]	Ala	Ala	Leu	Arg	Pro	Gln	Trp	Cys	Ser	Arg	Glu	Ile	Pro	Asp	Pro	Ala		
[2738]	465	470							475							480		
[2739]	Asn	Ser	Thr	Cys	Ala	Lys	Lys	Tyr	Pro	Ile	Ala	Glu	Glu	Lys	Thr	Gln		
[2740]	485							490							495			
[2741]	Leu	Pro	Leu	Asp	Arg	Leu	Leu	Ile	Asp	Trp	Pro	Thr	Pro	Glu	Asp	Pro		
[2742]	500							505							510			
[2743]	Glu	Pro	Leu	Val	Ile	Ser	Glu	Val	Leu	His	Gln	Val	Thr	Pro	Val	Phe		
[2744]	515							520							525			
[2745]	Arg	His	Pro	Pro	Cys	Ser	Asn	Trp	Pro	Gln	Arg	Glu	Lys	Gly	Ile	Gln		
[2746]	530	535							540									
[2747]	Gly	His	Gln	Ala	Ser	Glu	Lys	Asp	Met	Met	His	Ser	Ala	Ser	Ser	Pro		
[2748]	545	550							555							560		
[2749]	Pro	Pro	Pro	Arg	Ala	Leu	Gln	Ala	Glu	Ser	Arg	Gln	Leu	Val	Asp	Leu		
[2750]	565							570							575			
[2751]	Tyr	Lys	Val	Leu	Glu	Ser	Arg	Gly	Ser	Asp	Pro	Lys	Pro	Glu	Asn	Pro		
[2752]	580							585							590			
[2753]	Ala	Cys	Pro	Trp	Thr	Val	Leu	Pro	Ala	Gly	Asp	Leu	Pro	Thr	His	Asp		
[2754]	595							600							605			
[2755]	Gly	Tyr	Leu	Pro	Ser	Asn	Ile	Asp	Asp	Leu	Pro	Ser	His	Glu	Ala	Pro		
[2756]	610							615							620			
[2757]	Leu	Ala	Asp	Ser	Leu	Glu	Glu	Leu	Glu	Pro	Gln	His	Ile	Ser	Leu	Ser		
[2758]	625	630							635							640		
[2759]	Val	Phe	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	His	Pro	Leu	Thr	Phe	Ser	Cys	Gly	Asp		
[2760]	645							650							655			
[2761]	Lys	Leu	Thr	Leu	Asp	Gln	Leu	Lys	Met	Arg	Cys	Asp	Ser	Leu	Met	Leu		
[2762]	660							665							670			
[2763]	Gly	Ser	Gly	Ala	Thr	Asn	Phe	Ser	Leu	Leu	Lys	Gln	Ala	Gly	Asp	Val		
[2764]	675							680							685			
[2765]	Glu	Glu	Asn	Pro	Gly	Pro	Met	Glu	Ala	Ala	Val	Ala	Ala	Pro	Arg	Pro		
[2766]	690							695							700			
[2767]	Arg	Leu	Leu	Leu	Leu	Val	Leu	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala		
[2768]	705	710							715							720		

[2769]	Leu	Leu	Pro	Gly	Ala	Thr	Ala	Leu	Gln	Cys	Phe	Cys	His	Leu	Cys	Thr
[2770]					725					730					735	
[2771]	Lys	Asp	Asn	Phe	Thr	Cys	Val	Thr	Asp	Gly	Leu	Cys	Phe	Val	Ser	Val
[2772]					740					745					750	
[2773]	Thr	Glu	Thr	Thr	Asp	Lys	Val	Ile	His	Asn	Ser	Met	Cys	Ile	Ala	Glu
[2774]					755					760					765	
[2775]	Ile	Asp	Leu	Ile	Pro	Arg	Asp	Arg	Pro	Phe	Val	Cys	Ala	Pro	Ser	Ser
[2776]			770						775				780			
[2777]	Lys	Thr	Gly	Ser	Val	Thr	Thr	Thr	Tyr	Cys	Cys	Asn	Gln	Asp	His	Cys
[2778]	785						790					795				800
[2779]	Asn	Lys	Ile	Glu	Leu	Pro	Thr	Thr	Val	Lys	Ser	Ser	Pro	Gly	Leu	Gly
[2780]					805					810						815
[2781]	Pro	Val	Glu	Leu	Trp	Leu	Ile	Phe	Phe	Ala	Ser	Leu	Gly	Ser	Phe	Leu
[2782]					820					825					830	
[2783]	Ser	Ile	Leu	Leu	Val	Gly	Val	Leu	Gly	Tyr	Leu	Gly	Leu	Asn	Arg	Ala
[2784]					835					840					845	
[2785]	Ala	Arg	His	Leu	Cys	Pro	Pro	Leu	Pro	Thr	Pro	Cys	Ala	Ser	Ser	Ala
[2786]					850					855					860	
[2787]	Ile	Glu	Phe	Pro	Gly	Gly	Lys	Glu	Thr	Trp	Gln	Trp	Ile	Asn	Pro	Val
[2788]	865						870					875				880
[2789]	Asp	Phe	Gln	Glu	Glu	Ala	Ser	Leu	Gln	Glu	Ala	Leu	Val	Val	Glu	Met
[2790]					885					890						895
[2791]	Ser	Trp	Asp	Lys	Gly	Glu	Arg	Thr	Glu	Pro	Leu	Glu	Lys	Thr	Glu	Leu
[2792]					900					905					910	
[2793]	Pro	Glu	Gly	Ala	Pro	Glu	Leu	Ala	Leu	Asp	Thr	Glu	Leu	Ser	Leu	Glu
[2794]					915					920					925	
[2795]	Asp	Gly	Asp	Arg	Cys	Lys	Ala	Lys	Met							
[2796]			930							935						
[2797]	<210>	31														
[2798]	<211>	233														
[2799]	<212>	PRT														
[2800]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)														
[2801]	<220>															
[2802]	<221>	PEPTIDE														
[2803]	<222>	() .. ()														
[2804]	<223>	在实验室中制成—合成的融合蛋白														
[2805]	<400>	31														
[2806]	Met	Glu	Ala	Ala	Val	Ala	Ala	Pro	Arg	Pro	Arg	Leu	Leu	Leu	Leu	Val
[2807]	1				5					10					15	

[2808]	Leu	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Leu	Leu	Pro	Gly	Ala	Thr
[2809]				20					25						30	
[2810]	Ala	Leu	Gln	Cys	Phe	Cys	His	Leu	Cys	Thr	Lys	Asp	Asn	Phe	Thr	Cys
[2811]			35					40						45		
[2812]	Val	Thr	Asp	Gly	Leu	Cys	Phe	Val	Ser	Val	Thr	Glu	Thr	Thr	Asp	Lys
[2813]		50					55					60				
[2814]	Val	Ile	His	Asn	Ser	Met	Cys	Ile	Ala	Glu	Ile	Asp	Leu	Ile	Pro	Arg
[2815]	65					70					75				80	
[2816]	Asp	Arg	Pro	Phe	Val	Cys	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Thr	Gly	Ser	Val	Thr
[2817]				85						90					95	
[2818]	Thr	Thr	Tyr	Cys	Cys	Asn	Gln	Asp	His	Cys	Asn	Lys	Ile	Glu	Leu	Pro
[2819]				100						105					110	
[2820]	Thr	Thr	Val	Lys	Ser	Ser	Pro	Gly	Leu	Gly	Pro	Val	Glu	Leu	Val	Val
[2821]			115					120					125			
[2822]	Ile	Ser	Val	Gly	Ser	Met	Gly	Leu	Ile	Ile	Ser	Leu	Leu	Cys	Val	Tyr
[2823]		130					135						140			
[2824]	Phe	Trp	Leu	Glu	Arg	Thr	Met	Pro	Arg	Ile	Pro	Thr	Leu	Lys	Asn	Leu
[2825]	145					150					155				160	
[2826]	Glu	Asp	Leu	Val	Thr	Glu	Tyr	His	Gly	Asn	Phe	Ser	Ala	Trp	Ser	Gly
[2827]				165						170					175	
[2828]	Val	Ser	Lys	Gly	Leu	Ala	Glu	Ser	Leu	Gln	Pro	Asp	Tyr	Ser	Glu	Arg
[2829]			180							185					190	
[2830]	Leu	Cys	Leu	Val	Ser	Glu	Ile	Pro	Pro	Lys	Gly	Gly	Ala	Leu	Gly	Glu
[2831]			195							200					205	
[2832]	Gly	Pro	Gly	Ala	Ser	Pro	Cys	Asn	Gln	His	Ser	Pro	Tyr	Trp	Ala	Pro
[2833]		210						215					220			
[2834]	Pro	Cys	Tyr	Thr	Leu	Lys	Pro	Glu	Thr							
[2835]	225						230									
[2836]	<210>	32														
[2837]	<211>	386														
[2838]	<212>	PRT														
[2839]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)														
[2840]	<220>															
[2841]	<221>	PEPTIDE														
[2842]	<222>	() .. ()														
[2843]	<223>	在实验室中制成—合成的融合蛋白														
[2844]	<400>	32														
[2845]	Met	Gly	Arg	Gly	Leu	Leu	Arg	Gly	Leu	Trp	Pro	Leu	His	Ile	Val	Leu
[2846]	1				5					10					15	

[2847]	Trp	Thr	Arg	Ile	Ala	Ser	Thr	Ile	Pro	Pro	His	Val	Gln	Lys	Ser	Val
[2848]				20					25					30		
[2849]	Asn	Asn	Asp	Met	Ile	Val	Thr	Asp	Asn	Asn	Gly	Ala	Val	Lys	Phe	Pro
[2850]				35					40					45		
[2851]	Gln	Leu	Cys	Lys	Phe	Cys	Asp	Val	Arg	Phe	Ser	Thr	Cys	Asp	Asn	Gln
[2852]		50							55				60			
[2853]	Lys	Ser	Cys	Met	Ser	Asn	Cys	Ser	Ile	Thr	Ser	Ile	Cys	Glu	Lys	Pro
[2854]	65					70					75				80	
[2855]	Gln	Glu	Val	Cys	Val	Ala	Val	Trp	Arg	Lys	Asn	Asp	Glu	Asn	Ile	Thr
[2856]					85					90					95	
[2857]	Leu	Glu	Thr	Val	Cys	His	Asp	Pro	Lys	Leu	Pro	Tyr	His	Asp	Phe	Ile
[2858]				100						105				110		
[2859]	Leu	Glu	Asp	Ala	Ala	Ser	Pro	Lys	Cys	Ile	Met	Lys	Glu	Lys	Lys	Lys
[2860]				115						120				125		
[2861]	Pro	Gly	Glu	Thr	Phe	Phe	Met	Cys	Ser	Cys	Ser	Ser	Asp	Glu	Cys	Asn
[2862]		130						135					140			
[2863]	Asp	Asn	Ile	Ile	Phe	Ser	Glu	Glu	Tyr	Asn	Thr	Ser	Asn	Pro	Asp	Leu
[2864]	145					150					155				160	
[2865]	Leu	Leu	Val	Ile	Phe	Gln	Pro	Ile	Leu	Leu	Thr	Ile	Ser	Ile	Leu	Ser
[2866]					165					170					175	
[2867]	Phe	Phe	Ser	Val	Ala	Leu	Leu	Val	Ile	Leu	Ala	Cys	Val	Leu	Trp	Lys
[2868]				180						185				190		
[2869]	Lys	Arg	Ile	Lys	Pro	Ile	Val	Trp	Pro	Ser	Leu	Pro	Asp	His	Lys	Lys
[2870]			195						200				205			
[2871]	Thr	Leu	Glu	His	Leu	Cys	Lys	Lys	Pro	Arg	Lys	Asn	Leu	Asn	Val	Ser
[2872]		210							215				220			
[2873]	Phe	Asn	Pro	Glu	Ser	Phe	Leu	Asp	Cys	Gln	Ile	His	Arg	Val	Asp	Asp
[2874]	225					230					235				240	
[2875]	Ile	Gln	Ala	Arg	Asp	Glu	Val	Glu	Gly	Phe	Leu	Gln	Asp	Thr	Phe	Pro
[2876]					245					250					255	
[2877]	Gln	Gln	Leu	Glu	Glu	Ser	Glu	Lys	Gln	Arg	Leu	Gly	Gly	Asp	Val	Gln
[2878]				260						265				270		
[2879]	Ser	Pro	Asn	Cys	Pro	Ser	Glu	Asp	Val	Val	Ile	Thr	Pro	Glu	Ser	Phe
[2880]			275						280				285			
[2881]	Gly	Arg	Asp	Ser	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Ala	Gly	Asn	Val	Ser	Ala	Cys
[2882]		290							295				300			
[2883]	Asp	Ala	Pro	Ile	Leu	Ser	Ser	Ser	Arg	Ser	Leu	Asp	Cys	Arg	Glu	Ser
[2884]	305					310					315				320	
[2885]	Gly	Lys	Asn	Gly	Pro	His	Val	Tyr	Gln	Asp	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Gly

[2886]					325					330					335	
[2887]	Thr	Thr	Asn	Ser	Thr	Leu	Pro	Pro	Pro	Phe	Ser	Leu	Gln	Ser	Gly	Ile
[2888]					340					345					350	
[2889]	Leu	Thr	Leu	Asn	Pro	Val	Ala	Gln	Gly	Gln	Pro	Ile	Leu	Thr	Ser	Leu
[2890]					355					360					365	
[2891]	Gly	Ser	Asn	Gln	Glu	Glu	Ala	Tyr	Val	Thr	Met	Ser	Ser	Phe	Tyr	Gln
[2892]					370					375					380	
[2893]	Asn	Gln														
[2894]	385															
[2895]	<210>	33														
[2896]	<211>	641														
[2897]	<212>	PRT														
[2898]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)														
[2899]	<220>															
[2900]	<221>	PEPTIDE														
[2901]	<222>	()..()														
[2902]	<223>	在实验室中制成—合成的融合蛋白														
[2903]	<400>	33														
[2904]	Met	Gly	Arg	Gly	Leu	Leu	Arg	Gly	Leu	Trp	Pro	Leu	His	Ile	Val	Leu
[2905]	1				5					10					15	
[2906]	Trp	Thr	Arg	Ile	Ala	Ser	Thr	Ile	Pro	Pro	His	Val	Gln	Lys	Ser	Val
[2907]					20					25					30	
[2908]	Asn	Asn	Asp	Met	Ile	Val	Thr	Asp	Asn	Asn	Gly	Ala	Val	Lys	Phe	Pro
[2909]					35					40					45	
[2910]	Gln	Leu	Cys	Lys	Phe	Cys	Asp	Val	Arg	Phe	Ser	Thr	Cys	Asp	Asn	Gln
[2911]					50					55					60	
[2912]	Lys	Ser	Cys	Met	Ser	Asn	Cys	Ser	Ile	Thr	Ser	Ile	Cys	Glu	Lys	Pro
[2913]	65									70					75	
[2914]	Gln	Glu	Val	Cys	Val	Ala	Val	Trp	Arg	Lys	Asn	Asp	Glu	Asn	Ile	Thr
[2915]					85					90					95	
[2916]	Leu	Glu	Thr	Val	Cys	His	Asp	Pro	Lys	Leu	Pro	Tyr	His	Asp	Phe	Ile
[2917]					100					105					110	
[2918]	Leu	Glu	Asp	Ala	Ala	Ser	Pro	Lys	Cys	Ile	Met	Lys	Glu	Lys	Lys	Lys
[2919]					115					120					125	
[2920]	Pro	Gly	Glu	Thr	Phe	Phe	Met	Cys	Ser	Cys	Ser	Ser	Asp	Glu	Cys	Asn
[2921]					130					135					140	
[2922]	Asp	Asn	Ile	Ile	Phe	Ser	Glu	Glu	Tyr	Asn	Thr	Ser	Asn	Pro	Asp	Leu
[2923]	145									150					155	
[2924]	Leu	Leu	Val	Ile	Phe	Gln	Pro	Ile	Leu	Leu	Thr	Ile	Ser	Ile	Leu	Ser

[2925]					165					170						175
[2926]	Phe	Phe	Ser	Val	Ala	Leu	Leu	Val	Ile	Leu	Ala	Cys	Val	Leu	Trp	Lys
[2927]					180					185						190
[2928]	Lys	Arg	Ile	Lys	Pro	Ile	Val	Trp	Pro	Ser	Leu	Pro	Asp	His	Lys	Lys
[2929]					195					200						205
[2930]	Thr	Leu	Glu	His	Leu	Cys	Lys	Lys	Pro	Arg	Lys	Asn	Leu	Asn	Val	Ser
[2931]					210					215						220
[2932]	Phe	Asn	Pro	Glu	Ser	Phe	Leu	Asp	Cys	Gln	Ile	His	Arg	Val	Asp	Asp
[2933]					225					230						240
[2934]	Ile	Gln	Ala	Arg	Asp	Glu	Val	Glu	Gly	Phe	Leu	Gln	Asp	Thr	Phe	Pro
[2935]					245					250						255
[2936]	Gln	Gln	Leu	Glu	Glu	Ser	Glu	Lys	Gln	Arg	Leu	Gly	Gly	Asp	Val	Gln
[2937]					260					265						270
[2938]	Ser	Pro	Asn	Cys	Pro	Ser	Glu	Asp	Val	Val	Ile	Thr	Pro	Glu	Ser	Phe
[2939]					275					280						285
[2940]	Gly	Arg	Asp	Ser	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Ala	Gly	Asn	Val	Ser	Ala	Cys
[2941]					290					295						300
[2942]	Asp	Ala	Pro	Ile	Leu	Ser	Ser	Ser	Arg	Ser	Leu	Asp	Cys	Arg	Glu	Ser
[2943]					305					310						320
[2944]	Gly	Lys	Asn	Gly	Pro	His	Val	Tyr	Gln	Asp	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Gly
[2945]					325					330						335
[2946]	Thr	Thr	Asn	Ser	Thr	Leu	Pro	Pro	Pro	Phe	Ser	Leu	Gln	Ser	Gly	Ile
[2947]					340					345						350
[2948]	Leu	Thr	Leu	Asn	Pro	Val	Ala	Gln	Gly	Gln	Pro	Ile	Leu	Thr	Ser	Leu
[2949]					355					360						365
[2950]	Gly	Ser	Asn	Gln	Glu	Glu	Ala	Tyr	Val	Thr	Met	Ser	Ser	Phe	Tyr	Gln
[2951]					370					375						380
[2952]	Asn	Gln	Gly	Ser	Gly	Ala	Thr	Asn	Phe	Ser	Leu	Leu	Lys	Gln	Ala	Gly
[2953]					385					390						400
[2954]	Asp	Val	Glu	Glu	Asn	Pro	Gly	Pro	Met	Glu	Ala	Ala	Val	Ala	Ala	Pro
[2955]					405					410						415
[2956]	Arg	Pro	Arg	Leu	Leu	Leu	Leu	Val	Leu	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala
[2957]					420					425						430
[2958]	Ala	Ala	Leu	Leu	Pro	Gly	Ala	Thr	Ala	Leu	Gln	Cys	Phe	Cys	His	Leu
[2959]					435					440						445
[2960]	Cys	Thr	Lys	Asp	Asn	Phe	Thr	Cys	Val	Thr	Asp	Gly	Leu	Cys	Phe	Val
[2961]					450					455						460
[2962]	Ser	Val	Thr	Glu	Thr	Thr	Asp	Lys	Val	Ile	His	Asn	Ser	Met	Cys	Ile
[2963]					465					470						480

[2964]	Ala Glu Ile Asp Leu Ile Pro Arg Asp Arg Pro Phe Val Cys Ala Pro		
[2965]		485	490
[2966]	Ser Ser Lys Thr Gly Ser Val Thr Thr Thr Tyr Cys Cys Asn Gln Asp		
[2967]		500	505
[2968]	His Cys Asn Lys Ile Glu Leu Pro Thr Thr Val Lys Ser Ser Pro Gly		
[2969]		515	520
[2970]	Leu Gly Pro Val Glu Leu Val Val Ile Ser Val Gly Ser Met Gly Leu		
[2971]		530	535
[2972]	Ile Ile Ser Leu Leu Cys Val Tyr Phe Trp Leu Glu Arg Thr Met Pro		
[2973]	545	550	555
[2974]	Arg Ile Pro Thr Leu Lys Asn Leu Glu Asp Leu Val Thr Glu Tyr His		
[2975]		565	570
[2976]	Gly Asn Phe Ser Ala Trp Ser Gly Val Ser Lys Gly Leu Ala Glu Ser		
[2977]		580	585
[2978]	Leu Gln Pro Asp Tyr Ser Glu Arg Leu Cys Leu Val Ser Glu Ile Pro		
[2979]		595	600
[2980]	Pro Lys Gly Gly Ala Leu Gly Glu Gly Pro Gly Ala Ser Pro Cys Asn		
[2981]		610	615
[2982]	Gln His Ser Pro Tyr Trp Ala Pro Pro Cys Tyr Thr Leu Lys Pro Glu		
[2983]	625	630	635
[2984]	Thr		
[2985]	<210>	34	
[2986]	<211>	1153	
[2987]	<212>	PRT	
[2988]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[2989]	<220>		
[2990]	<221>	PEPTIDE	
[2991]	<222>	()..()	
[2992]	<223>	在实验室中制成—合成的融合蛋白	
[2993]	<400>	34	
[2994]	Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu		
[2995]	1	5	10
[2996]	His Ala Ala Arg Pro Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser		
[2997]		20	25
[2998]	Gly Thr Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser		
[2999]		35	40
[3000]	Asn Ile Gly Ser Asn Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr		
[3001]		50	55
[3002]	Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val		

[3003]	65					70						75				80
[3004]	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Thr	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala
[3005]						85						90				95
[3006]	Ile	Ser	Gly	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala
[3007]						100						105				110
[3008]	Trp	Asp	Asp	Ser	Leu	Ser	Gly	Tyr	Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Val
[3009]						115						120				125
[3010]	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly
[3011]						130						135				140
[3012]	Gly	Gly	Ser	Gln	Met	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys
[3013]	145					150						155				160
[3014]	Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe
[3015]						165						170				175
[3016]	Ser	Arg	Tyr	Tyr	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu
[3017]						180						185				190
[3018]	Glu	Trp	Met	Gly	Leu	Ile	Asn	Pro	Gly	Gly	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Ala
[3019]						195						200				205
[3020]	Gln	Lys	Phe	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Asn
[3021]						210						215				220
[3022]	Thr	Val	Tyr	Leu	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val
[3023]	225					230						235				240
[3024]	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Asp	Tyr	Gly	Thr	Ile	Asp	Ala	Arg	Arg	Phe	Asp
[3025]						245						250				255
[3026]	Phe	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Thr	Thr	Thr	Pro
[3027]						260						265				270
[3028]	Ala	Pro	Arg	Pro	Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro	Leu
[3029]						275						280				285
[3030]	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Val	His
[3031]						290						295				300
[3032]	Thr	Arg	Gly	Leu	Asp	Phe	Ala	Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro	Leu
[3033]	305					310						315				320
[3034]	Ala	Gly	Thr	Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu	Tyr
[3035]						325						330				335
[3036]	Cys	Lys	Arg	Gly	Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe
[3037]						340						345				350
[3038]	Met	Arg	Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys	Arg
[3039]						355						360				365
[3040]	Phe	Pro	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	Glu	Leu	Arg	Val	Lys	Phe	Ser
[3041]						370						375				380

[3042]	Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr		
[3043]	385	390	395 400
[3044]	Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys		
[3045]		405	410 415
[3046]	Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn		
[3047]		420	425 430
[3048]	Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu		
[3049]		435	440 445
[3050]	Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly		
[3051]		450	455 460
[3052]	His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr		
[3053]	465	470	475 480
[3054]	Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Gly Ser Gly Glu Gly		
[3055]		485	490 495
[3056]	Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro		
[3057]		500	505 510
[3058]	Met Gly Arg Gly Leu Leu Arg Gly Leu Trp Pro Leu His Ile Val Leu		
[3059]		515	520 525
[3060]	Trp Thr Arg Ile Ala Ser Thr Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Val		
[3061]		530	535 540
[3062]	Asn Asn Asp Met Ile Val Thr Asp Asn Asn Gly Ala Val Lys Phe Pro		
[3063]	545	550	555 560
[3064]	Gln Leu Cys Lys Phe Cys Asp Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln		
[3065]		565	570 575
[3066]	Lys Ser Cys Met Ser Asn Cys Ser Ile Thr Ser Ile Cys Glu Lys Pro		
[3067]		580	585 590
[3068]	Gln Glu Val Cys Val Ala Val Trp Arg Lys Asn Asp Glu Asn Ile Thr		
[3069]		595	600 605
[3070]	Leu Glu Thr Val Cys His Asp Pro Lys Leu Pro Tyr His Asp Phe Ile		
[3071]		610	615 620
[3072]	Leu Glu Asp Ala Ala Ser Pro Lys Cys Ile Met Lys Glu Lys Lys Lys		
[3073]	625	630	635 640
[3074]	Pro Gly Glu Thr Phe Phe Met Cys Ser Cys Ser Ser Asp Glu Cys Asn		
[3075]		645	650 655
[3076]	Asp Asn Ile Ile Phe Ser Glu Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp Leu		
[3077]		660	665 670
[3078]	Leu Leu Val Ile Phe Gln Pro Ile Leu Leu Thr Ile Ser Ile Leu Ser		
[3079]		675	680 685
[3080]	Phe Phe Ser Val Ala Leu Leu Val Ile Leu Ala Cys Val Leu Trp Lys		

[3081]	690	695	700
[3082]	Lys Arg Ile Lys Pro Ile Val Trp Pro Ser Leu Pro Asp His Lys Lys		
[3083]	705	710	715
[3084]	Thr Leu Glu His Leu Cys Lys Lys Pro Arg Lys Asn Leu Asn Val Ser		
[3085]	725	730	735
[3086]	Phe Asn Pro Glu Ser Phe Leu Asp Cys Gln Ile His Arg Val Asp Asp		
[3087]	740	745	750
[3088]	Ile Gln Ala Arg Asp Glu Val Glu Gly Phe Leu Gln Asp Thr Phe Pro		
[3089]	755	760	765
[3090]	Gln Gln Leu Glu Glu Ser Glu Lys Gln Arg Leu Gly Gly Asp Val Gln		
[3091]	770	775	780
[3092]	Ser Pro Asn Cys Pro Ser Glu Asp Val Val Ile Thr Pro Glu Ser Phe		
[3093]	785	790	795
[3094]	Gly Arg Asp Ser Ser Leu Thr Cys Leu Ala Gly Asn Val Ser Ala Cys		
[3095]	805	810	815
[3096]	Asp Ala Pro Ile Leu Ser Ser Ser Arg Ser Leu Asp Cys Arg Glu Ser		
[3097]	820	825	830
[3098]	Gly Lys Asn Gly Pro His Val Tyr Gln Asp Leu Leu Leu Ser Leu Gly		
[3099]	835	840	845
[3100]	Thr Thr Asn Ser Thr Leu Pro Pro Pro Phe Ser Leu Gln Ser Gly Ile		
[3101]	850	855	860
[3102]	Leu Thr Leu Asn Pro Val Ala Gln Gly Gln Pro Ile Leu Thr Ser Leu		
[3103]	865	870	875
[3104]	Gly Ser Asn Gln Glu Glu Ala Tyr Val Thr Met Ser Ser Phe Tyr Gln		
[3105]	885	890	895
[3106]	Asn Gln Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly		
[3107]	900	905	910
[3108]	Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Glu Ala Ala Val Ala Ala Pro		
[3109]	915	920	925
[3110]	Arg Pro Arg Leu Leu Leu Leu Val Leu Ala Ala Ala Ala Ala Ala		
[3111]	930	935	940
[3112]	Ala Ala Leu Leu Pro Gly Ala Thr Ala Leu Gln Cys Phe Cys His Leu		
[3113]	945	950	955
[3114]	Cys Thr Lys Asp Asn Phe Thr Cys Val Thr Asp Gly Leu Cys Phe Val		
[3115]	965	970	975
[3116]	Ser Val Thr Glu Thr Thr Asp Lys Val Ile His Asn Ser Met Cys Ile		
[3117]	980	985	990
[3118]	Ala Glu Ile Asp Leu Ile Pro Arg Asp Arg Pro Phe Val Cys Ala Pro		
[3119]	995	1000	1005

[3120]	Ser Ser Lys Thr Gly Ser Val Thr Thr Thr Tyr Cys Cys Asn Gln Asp
[3121]	1010 1015 1020
[3122]	His Cys Asn Lys Ile Glu Leu Pro Thr Thr Val Lys Ser Ser Pro Gly
[3123]	1025 1030 1035 1040
[3124]	Leu Gly Pro Val Glu Leu Val Val Ile Ser Val Gly Ser Met Gly Leu
[3125]	1045 1050 1055
[3126]	Ile Ile Ser Leu Leu Cys Val Tyr Phe Trp Leu Glu Arg Thr Met Pro
[3127]	1060 1065 1070
[3128]	Arg Ile Pro Thr Leu Lys Asn Leu Glu Asp Leu Val Thr Glu Tyr His
[3129]	1075 1080 1085
[3130]	Gly Asn Phe Ser Ala Trp Ser Gly Val Ser Lys Gly Leu Ala Glu Ser
[3131]	1090 1095 1100
[3132]	Leu Gln Pro Asp Tyr Ser Glu Arg Leu Cys Leu Val Ser Glu Ile Pro
[3133]	1105 1110 1115 1120
[3134]	Pro Lys Gly Gly Ala Leu Gly Glu Gly Pro Gly Ala Ser Pro Cys Asn
[3135]	1125 1130 1135
[3136]	Gln His Ser Pro Tyr Trp Ala Pro Pro Cys Tyr Thr Leu Lys Pro Glu
[3137]	1140 1145 1150
[3138]	Thr
[3139]	<210> 35
[3140]	<211> 907
[3141]	<212> PRT
[3142]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3143]	<220>
[3144]	<221> SITE
[3145]	<222> () .. ()
[3146]	<223> 在实验室中制成—合成的融合蛋白
[3147]	<220>
[3148]	<221> SITE
[3149]	<222> (22) .. (22)
[3150]	<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
[3151]	<400> 35
[3152]	Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
[3153]	1 5 10 15
[3154]	His Ala Ala Arg Pro Xaa Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
[3155]	20 25 30
[3156]	Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
[3157]	35 40 45
[3158]	Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe

[3159]	50	55	60
[3160]	Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val		
[3161]	65	70	75
[3162]	Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys		
[3163]	85	90	95
[3164]	Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr		
[3165]	100	105	110
[3166]	Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu		
[3167]	115	120	125
[3168]	Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro		
[3169]	130	135	140
[3170]	Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly		
[3171]	145	150	155
[3172]	Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro		
[3173]	165	170	175
[3174]	Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr		
[3175]	180	185	190
[3176]	Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly		
[3177]	195	200	205
[3178]	Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln		
[3179]	210	215	220
[3180]	Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln		
[3181]	225	230	235
[3182]	Ala Leu Pro Pro Arg Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr		
[3183]	245	250	255
[3184]	Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Gly Arg Gly Leu Leu		
[3185]	260	265	270
[3186]	Arg Gly Leu Trp Pro Leu His Ile Val Leu Trp Thr Arg Ile Ala Ser		
[3187]	275	280	285
[3188]	Thr Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Val Asn Asn Asp Met Ile Val		
[3189]	290	295	300
[3190]	Thr Asp Asn Asn Gly Ala Val Lys Phe Pro Gln Leu Cys Lys Phe Cys		
[3191]	305	310	315
[3192]	Asp Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln Lys Ser Cys Met Ser Asn		
[3193]	325	330	335
[3194]	Cys Ser Ile Thr Ser Ile Cys Glu Lys Pro Gln Glu Val Cys Val Ala		
[3195]	340	345	350
[3196]	Val Trp Arg Lys Asn Asp Glu Asn Ile Thr Leu Glu Thr Val Cys His		
[3197]	355	360	365

[3198]	Asp	Pro	Lys	Leu	Pro	Tyr	His	Asp	Phe	Ile	Leu	Glu	Asp	Ala	Ala	Ser
[3199]	370						375					380				
[3200]	Pro	Lys	Cys	Ile	Met	Lys	Glu	Lys	Lys	Lys	Pro	Gly	Glu	Thr	Phe	Phe
[3201]	385					390					395					400
[3202]	Met	Cys	Ser	Cys	Ser	Ser	Asp	Glu	Cys	Asn	Asp	Asn	Ile	Ile	Phe	Ser
[3203]					405					410					415	
[3204]	Glu	Glu	Tyr	Asn	Thr	Ser	Asn	Pro	Asp	Leu	Leu	Leu	Val	Ile	Phe	Gln
[3205]				420					425					430		
[3206]	Pro	Ile	Leu	Leu	Thr	Ile	Ser	Ile	Leu	Ser	Phe	Phe	Ser	Val	Ala	Leu
[3207]		435					440						445			
[3208]	Leu	Val	Ile	Leu	Ala	Cys	Val	Leu	Trp	Lys	Lys	Arg	Ile	Lys	Pro	Ile
[3209]	450						455					460				
[3210]	Val	Trp	Pro	Ser	Leu	Pro	Asp	His	Lys	Lys	Thr	Leu	Glu	His	Leu	Cys
[3211]	465					470					475					480
[3212]	Lys	Lys	Pro	Arg	Lys	Asn	Leu	Asn	Val	Ser	Phe	Asn	Pro	Glu	Ser	Phe
[3213]				485						490					495	
[3214]	Leu	Asp	Cys	Gln	Ile	His	Arg	Val	Asp	Asp	Ile	Gln	Ala	Arg	Asp	Glu
[3215]				500						505				510		
[3216]	Val	Glu	Gly	Phe	Leu	Gln	Asp	Thr	Phe	Pro	Gln	Gln	Leu	Glu	Glu	Ser
[3217]			515					520					525			
[3218]	Glu	Lys	Gln	Arg	Leu	Gly	Gly	Asp	Val	Gln	Ser	Pro	Asn	Cys	Pro	Ser
[3219]	530						535					540				
[3220]	Glu	Asp	Val	Val	Ile	Thr	Pro	Glu	Ser	Phe	Gly	Arg	Asp	Ser	Ser	Leu
[3221]	545					550					555					560
[3222]	Thr	Cys	Leu	Ala	Gly	Asn	Val	Ser	Ala	Cys	Asp	Ala	Pro	Ile	Leu	Ser
[3223]				565						570					575	
[3224]	Ser	Ser	Arg	Ser	Leu	Asp	Cys	Arg	Glu	Ser	Gly	Lys	Asn	Gly	Pro	His
[3225]				580						585					590	
[3226]	Val	Tyr	Gln	Asp	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Gly	Thr	Thr	Asn	Ser	Thr	Leu
[3227]			595					600					605			
[3228]	Pro	Pro	Pro	Phe	Ser	Leu	Gln	Ser	Gly	Ile	Leu	Thr	Leu	Asn	Pro	Val
[3229]	610						615					620				
[3230]	Ala	Gln	Gly	Gln	Pro	Ile	Leu	Thr	Ser	Leu	Gly	Ser	Asn	Gln	Glu	Glu
[3231]	625					630					635					640
[3232]	Ala	Tyr	Val	Thr	Met	Ser	Ser	Phe	Tyr	Gln	Asn	Gln	Gly	Ser	Gly	Ala
[3233]				645						650					655	
[3234]	Thr	Asn	Phe	Ser	Leu	Leu	Lys	Gln	Ala	Gly	Asp	Val	Glu	Glu	Asn	Pro
[3235]				660						665				670		
[3236]	Gly	Pro	Met	Glu	Ala	Ala	Val	Ala	Ala	Pro	Arg	Pro	Arg	Leu	Leu	Leu

[3237]	675	680	685
[3238]	Leu Val Leu Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Leu Leu Pro Gly		
[3239]	690	695	700
[3240]	Ala Thr Ala Leu Gln Cys Phe Cys His Leu Cys Thr Lys Asp Asn Phe		
[3241]	705	710	715
[3242]	Thr Cys Val Thr Asp Gly Leu Cys Phe Val Ser Val Thr Glu Thr Thr		
[3243]	725	730	735
[3244]	Asp Lys Val Ile His Asn Ser Met Cys Ile Ala Glu Ile Asp Leu Ile		
[3245]	740	745	750
[3246]	Pro Arg Asp Arg Pro Phe Val Cys Ala Pro Ser Ser Lys Thr Gly Ser		
[3247]	755	760	765
[3248]	Val Thr Thr Thr Tyr Cys Cys Asn Gln Asp His Cys Asn Lys Ile Glu		
[3249]	770	775	780
[3250]	Leu Pro Thr Thr Val Lys Ser Ser Pro Gly Leu Gly Pro Val Glu Leu		
[3251]	785	790	795
[3252]	Val Val Ile Ser Val Gly Ser Met Gly Leu Ile Ile Ser Leu Leu Cys		
[3253]	805	810	815
[3254]	Val Tyr Phe Trp Leu Glu Arg Thr Met Pro Arg Ile Pro Thr Leu Lys		
[3255]	820	825	830
[3256]	Asn Leu Glu Asp Leu Val Thr Glu Tyr His Gly Asn Phe Ser Ala Trp		
[3257]	835	840	845
[3258]	Ser Gly Val Ser Lys Gly Leu Ala Glu Ser Leu Gln Pro Asp Tyr Ser		
[3259]	850	855	860
[3260]	Glu Arg Leu Cys Leu Val Ser Glu Ile Pro Pro Lys Gly Gly Ala Leu		
[3261]	865	870	875
[3262]	Gly Glu Gly Pro Gly Ala Ser Pro Cys Asn Gln His Ser Pro Tyr Trp		
[3263]	885	890	895
[3264]	Ala Pro Pro Cys Tyr Thr Leu Lys Pro Glu Thr		
[3265]	900	905	
[3266]	<210> 36		
[3267]	<211> 3		
[3268]	<212> PRT		
[3269]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
[3270]	<220>		
[3271]	<221> SITE		
[3272]	<222> () .. ()		
[3273]	<223> 示例性连接子序列		
[3274]	<400> 36		
[3275]	Gly Gly Gly		

[3276]	1
[3277]	<210> 37
[3278]	<211> 5
[3279]	<212> PRT
[3280]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3281]	<220>
[3282]	<221> SITE
[3283]	<222> ()..()
[3284]	<223> 示例性连接子序列
[3285]	<400> 37
[3286]	Asp Gly Gly Gly Ser
[3287]	1 5
[3288]	<210> 38
[3289]	<211> 5
[3290]	<212> PRT
[3291]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3292]	<220>
[3293]	<221> SITE
[3294]	<222> ()..()
[3295]	<223> 示例性连接子序列
[3296]	<400> 38
[3297]	Thr Gly Glu Lys Pro
[3298]	1 5
[3299]	<210> 39
[3300]	<211> 4
[3301]	<212> PRT
[3302]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3303]	<220>
[3304]	<221> SITE
[3305]	<222> ()..()
[3306]	<223> 示例性连接子序列
[3307]	<400> 39
[3308]	Gly Gly Arg Arg
[3309]	1
[3310]	<210> 40
[3311]	<211> 5
[3312]	<212> PRT
[3313]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3314]	<220>

[3315]	<221>	SITE
[3316]	<222>	()..()
[3317]	<223>	示例性连接子序列
[3318]	<400>	40
[3319]	Gly Gly Gly Gly Ser	
[3320]	1	5
[3321]	<210>	41
[3322]	<211>	14
[3323]	<212>	PRT
[3324]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[3325]	<220>	
[3326]	<221>	SITE
[3327]	<222>	()..()
[3328]	<223>	示例性连接子序列
[3329]	<400>	41
[3330]	Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Val Asp	
[3331]	1	5 10
[3332]	<210>	42
[3333]	<211>	18
[3334]	<212>	PRT
[3335]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[3336]	<220>	
[3337]	<221>	SITE
[3338]	<222>	()..()
[3339]	<223>	示例性连接子序列
[3340]	<400>	42
[3341]	Lys Glu Ser Gly Ser Val Ser Ser Glu Gln Leu Ala Gln Phe Arg Ser	
[3342]	1	5 10 15
[3343]	Leu Asp	
[3344]	<210>	43
[3345]	<211>	8
[3346]	<212>	PRT
[3347]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[3348]	<220>	
[3349]	<221>	SITE
[3350]	<222>	()..()
[3351]	<223>	示例性连接子序列
[3352]	<400>	43
[3353]	Gly Gly Arg Arg Gly Gly Gly Ser	

[3354]	1	5	
[3355]	<210>	44	
[3356]	<211>	9	
[3357]	<212>	PRT	
[3358]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[3359]	<220>		
[3360]	<221>	SITE	
[3361]	<222>	()..()	
[3362]	<223>	示例性连接子序列	
[3363]	<400>	44	
[3364]	Leu Arg Gln Arg Asp Gly Glu Arg Pro		
[3365]	1	5	
[3366]	<210>	45	
[3367]	<211>	12	
[3368]	<212>	PRT	
[3369]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[3370]	<220>		
[3371]	<221>	SITE	
[3372]	<222>	()..()	
[3373]	<223>	示例性连接子序列	
[3374]	<400>	45	
[3375]	Leu Arg Gln Lys Asp Gly Gly Gly Ser Glu Arg Pro		
[3376]	1	5	10
[3377]	<210>	46	
[3378]	<211>	16	
[3379]	<212>	PRT	
[3380]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[3381]	<220>		
[3382]	<221>	SITE	
[3383]	<222>	()..()	
[3384]	<223>	示例性连接子序列	
[3385]	<400>	46	
[3386]	Leu Arg Gln Lys Asp Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Arg Pro		
[3387]	1	5	10 15
[3388]	<210>	47	
[3389]	<211>	7	
[3390]	<212>	PRT	
[3391]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
[3392]	<220>		

[3393]	<221>	SITE
[3394]	<222>	() .. ()
[3395]	<223>	TEV蛋白酶切割序列
[3396]	<220>	
[3397]	<221>	SITE
[3398]	<222>	(2) .. (3)
[3399]	<223>	Xaa是任何氨基酸
[3400]	<220>	
[3401]	<221>	SITE
[3402]	<222>	(5) .. (5)
[3403]	<223>	Xaa是任何氨基酸
[3404]	<220>	
[3405]	<221>	SITE
[3406]	<222>	(7) .. (7)
[3407]	<223>	Xaa = Gly或Ser
[3408]	<400>	47
[3409]		Glu Xaa Xaa Tyr Xaa Gln Xaa
[3410]	1	5
[3411]	<210>	48
[3412]	<211>	7
[3413]	<212>	PRT
[3414]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[3415]	<220>	
[3416]	<221>	SITE
[3417]	<222>	() .. ()
[3418]	<223>	TEV蛋白酶切割序列
[3419]	<400>	48
[3420]		Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Gly
[3421]	1	5
[3422]	<210>	49
[3423]	<211>	7
[3424]	<212>	PRT
[3425]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[3426]	<220>	
[3427]	<221>	SITE
[3428]	<222>	() .. ()
[3429]	<223>	TEV蛋白酶切割序列
[3430]	<400>	49
[3431]		Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Ser

[3432]	1	5		
[3433]	<210>	50		
[3434]	<211>	22		
[3435]	<212>	PRT		
[3436]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)		
[3437]	<220>			
[3438]	<221>	SITE		
[3439]	<222>	()..()		
[3440]	<223>	包括2A位点的自切割多肽		
[3441]	<400>	50		
[3442]	Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val			
[3443]	1	5	10	15
[3444]	Glu Glu Asn Pro Gly Pro			
[3445]		20		
[3446]	<210>	51		
[3447]	<211>	19		
[3448]	<212>	PRT		
[3449]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)		
[3450]	<220>			
[3451]	<221>	SITE		
[3452]	<222>	()..()		
[3453]	<223>	包括2A位点的自切割多肽		
[3454]	<400>	51		
[3455]	Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn			
[3456]	1	5	10	15
[3457]	Pro Gly Pro			
[3458]	<210>	52		
[3459]	<211>	14		
[3460]	<212>	PRT		
[3461]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)		
[3462]	<220>			
[3463]	<221>	SITE		
[3464]	<222>	()..()		
[3465]	<223>	包括2A位点的自切割多肽		
[3466]	<400>	52		
[3467]	Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro			
[3468]	1	5	10	
[3469]	<210>	53		
[3470]	<211>	21		

[3471]	<212>	PRT
[3472]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[3473]	<220>	
[3474]	<221>	SITE
[3475]	<222>	()..()
[3476]	<223>	包括2A位点的自切割多肽
[3477]	<400>	53
[3478]		Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu
[3479]	1	5 10 15
[3480]		Glu Asn Pro Gly Pro
[3481]		20
[3482]	<210>	54
[3483]	<211>	18
[3484]	<212>	PRT
[3485]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[3486]	<220>	
[3487]	<221>	SITE
[3488]	<222>	()..()
[3489]	<223>	包括2A位点的自切割多肽
[3490]	<400>	54
[3491]		Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro
[3492]	1	5 10 15
[3493]		Gly Pro
[3494]	<210>	55
[3495]	<211>	13
[3496]	<212>	PRT
[3497]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[3498]	<220>	
[3499]	<221>	SITE
[3500]	<222>	()..()
[3501]	<223>	包括2A位点的自切割多肽
[3502]	<400>	55
[3503]		Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
[3504]	1	5 10
[3505]	<210>	56
[3506]	<211>	23
[3507]	<212>	PRT
[3508]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[3509]	<220>	

[3510]	<221>	SITE
[3511]	<222>	()..()
[3512]	<223>	包括2A位点的自切割多肽
[3513]	<400>	56
[3514]	Gly Ser Gly Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp	
[3515]	1	5 10 15
[3516]	Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro	
[3517]	20	
[3518]	<210>	57
[3519]	<211>	20
[3520]	<212>	PRT
[3521]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[3522]	<220>	
[3523]	<221>	SITE
[3524]	<222>	()..()
[3525]	<223>	包括2A位点的自切割多肽
[3526]	<400>	57
[3527]	Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser	
[3528]	1	5 10 15
[3529]	Asn Pro Gly Pro	
[3530]	20	
[3531]	<210>	58
[3532]	<211>	14
[3533]	<212>	PRT
[3534]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[3535]	<220>	
[3536]	<221>	SITE
[3537]	<222>	()..()
[3538]	<223>	包括2A位点的自切割多肽
[3539]	<400>	58
[3540]	Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro	
[3541]	1	5 10
[3542]	<210>	59
[3543]	<211>	25
[3544]	<212>	PRT
[3545]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[3546]	<220>	
[3547]	<221>	SITE
[3548]	<222>	()..()

[3549]	<223>	包括2A位点的自切割多肽
[3550]	<400>	59
[3551]	Gly Ser Gly Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala	
[3552]	1	5 10 15
[3553]	Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro	
[3554]		20 25
[3555]	<210>	60
[3556]	<211>	22
[3557]	<212>	PRT
[3558]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[3559]	<220>	
[3560]	<221>	SITE
[3561]	<222>	()..()
[3562]	<223>	包括2A位点的自切割多肽
[3563]	<400>	60
[3564]	Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val	
[3565]	1	5 10 15
[3566]	Glu Ser Asn Pro Gly Pro	
[3567]		20
[3568]	<210>	61
[3569]	<211>	14
[3570]	<212>	PRT
[3571]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[3572]	<220>	
[3573]	<221>	SITE
[3574]	<222>	()..()
[3575]	<223>	包括2A位点的自切割多肽
[3576]	<400>	61
[3577]	Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro	
[3578]	1	5 10
[3579]	<210>	62
[3580]	<211>	19
[3581]	<212>	PRT
[3582]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[3583]	<220>	
[3584]	<221>	SITE
[3585]	<222>	()..()
[3586]	<223>	包括2A位点的自切割多肽
[3587]	<400>	62

[3588]	Leu Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn
[3589]	1 5 10 15
[3590]	Pro Gly Pro
[3591]	<210> 63
[3592]	<211> 19
[3593]	<212> PRT
[3594]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3595]	<220>
[3596]	<221> SITE
[3597]	<222> ()..()
[3598]	<223> 包括2A位点的自切割多肽
[3599]	<400> 63
[3600]	Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn
[3601]	1 5 10 15
[3602]	Pro Gly Pro
[3603]	<210> 64
[3604]	<211> 14
[3605]	<212> PRT
[3606]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3607]	<220>
[3608]	<221> SITE
[3609]	<222> ()..()
[3610]	<223> 包括2A位点的自切割多肽
[3611]	<400> 64
[3612]	Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
[3613]	1 5 10
[3614]	<210> 65
[3615]	<211> 17
[3616]	<212> PRT
[3617]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3618]	<220>
[3619]	<221> SITE
[3620]	<222> ()..()
[3621]	<223> 包括2A位点的自切割多肽
[3622]	<400> 65
[3623]	Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly
[3624]	1 5 10 15
[3625]	Pro
[3626]	<210> 66

[3627]	<211>	20
[3628]	<212>	PRT
[3629]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[3630]	<220>	
[3631]	<221>	SITE
[3632]	<222>	()..()
[3633]	<223>	包括2A位点的自切割多肽
[3634]	<400>	66
[3635]	Gln Leu Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser	
[3636]	1 5 10 15	
[3637]	Asn Pro Gly Pro	
[3638]	20	
[3639]	<210>	67
[3640]	<211>	24
[3641]	<212>	PRT
[3642]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[3643]	<220>	
[3644]	<221>	SITE
[3645]	<222>	()..()
[3646]	<223>	包括2A位点的自切割多肽
[3647]	<400>	67
[3648]	Ala Pro Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly	
[3649]	1 5 10 15	
[3650]	Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro	
[3651]	20	
[3652]	<210>	68
[3653]	<211>	40
[3654]	<212>	PRT
[3655]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[3656]	<220>	
[3657]	<221>	SITE
[3658]	<222>	()..()
[3659]	<223>	包括2A位点的自切割多肽
[3660]	<400>	68
[3661]	Val Thr Glu Leu Leu Tyr Arg Met Lys Arg Ala Glu Thr Tyr Cys Pro	
[3662]	1 5 10 15	
[3663]	Arg Pro Leu Leu Ala Ile His Pro Thr Glu Ala Arg His Lys Gln Lys	
[3664]	20 25 30	
[3665]	Ile Val Ala Pro Val Lys Gln Thr	

[3666]	35	40
[3667]	<210> 69	
[3668]	<211> 18	
[3669]	<212> PRT	
[3670]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
[3671]	<220>	
[3672]	<221> SITE	
[3673]	<222> ()..()	
[3674]	<223> 包括2A位点的自切割多肽	
[3675]	<400> 69	
[3676]	Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro	
[3677]	1 5 10 15	
[3678]	Gly Pro	
[3679]	<210> 70	
[3680]	<211> 40	
[3681]	<212> PRT	
[3682]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
[3683]	<220>	
[3684]	<221> SITE	
[3685]	<222> ()..()	
[3686]	<223> 包括2A位点的自切割多肽	
[3687]	<400> 70	
[3688]	Leu Leu Ala Ile His Pro Thr Glu Ala Arg His Lys Gln Lys Ile Val	
[3689]	1 5 10 15	
[3690]	Ala Pro Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly	
[3691]	20 25 30	
[3692]	Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro	
[3693]	35 40	
[3694]	<210> 71	
[3695]	<211> 33	
[3696]	<212> PRT	
[3697]	<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
[3698]	<220>	
[3699]	<221> SITE	
[3700]	<222> ()..()	
[3701]	<223> 包括2A位点的自切割多肽	
[3702]	<400> 71	
[3703]	Glu Ala Arg His Lys Gln Lys Ile Val Ala Pro Val Lys Gln Thr Leu	
[3704]	1 5 10 15	

[3705]	Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly	
[3706]	20	25
[3707]	Pro	30
[3708]	<210>	72
[3709]	<211>	10
[3710]	<212>	DNA
[3711]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[3712]	<220>	
[3713]	<221>	gene
[3714]	<222>	() .. ()
[3715]	<223>	共有Kozak序列
[3716]	<400>	72
[3717]	gccrccatgg	10
[3718]	<210>	73
[3719]	<211>	4
[3720]	<212>	PRT
[3721]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[3722]	<220>	
[3723]	<221>	SITE
[3724]	<222>	() .. ()
[3725]	<223>	用于确定轻链CDR-L3基序的示例性规则
[3726]	<220>	
[3727]	<221>	SITE
[3728]	<222>	(3) .. (3)
[3729]	<223>	Xaa是任何氨基酸
[3730]	<400>	73
[3731]	Phe Gly Xaa Gly	
[3732]	1	
[3733]	<210>	74
[3734]	<211>	4
[3735]	<212>	PRT
[3736]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[3737]	<220>	
[3738]	<221>	SITE
[3739]	<222>	() .. ()
[3740]	<223>	用于确定重链CDR-H1基序的示例性规则
[3741]	<220>	
[3742]	<221>	SITE
[3743]	<222>	(2) .. (4)

- [3744] <223> Xaa是任何氨基酸
[3745] <400> 74
[3746] Cys Xaa Xaa Xaa
[3747] 1
[3748] <210> 75
[3749] <211> 5
[3750] <212> PRT
[3751] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3752] <220>
[3753] <221> SITE
[3754] <222> ()..()
[3755] <223> 用于确定重链CDR-H2基序的示例性规则
[3756] <400> 75
[3757] Leu Glu Trp Ile Gly
[3758] 1 5
[3759] <210> 76
[3760] <211> 4
[3761] <212> PRT
[3762] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[3763] <220>
[3764] <221> SITE
[3765] <222> ()..()
[3766] <223> 用于确定重链CDR-H3基序的示例性规则
[3767] <220>
[3768] <221> SITE
[3769] <222> (3)..(3)
[3770] <223> Xaa是任何氨基酸
[3771] <400> 76
[3772] Trp Gly Xaa Gly
[3773] 1

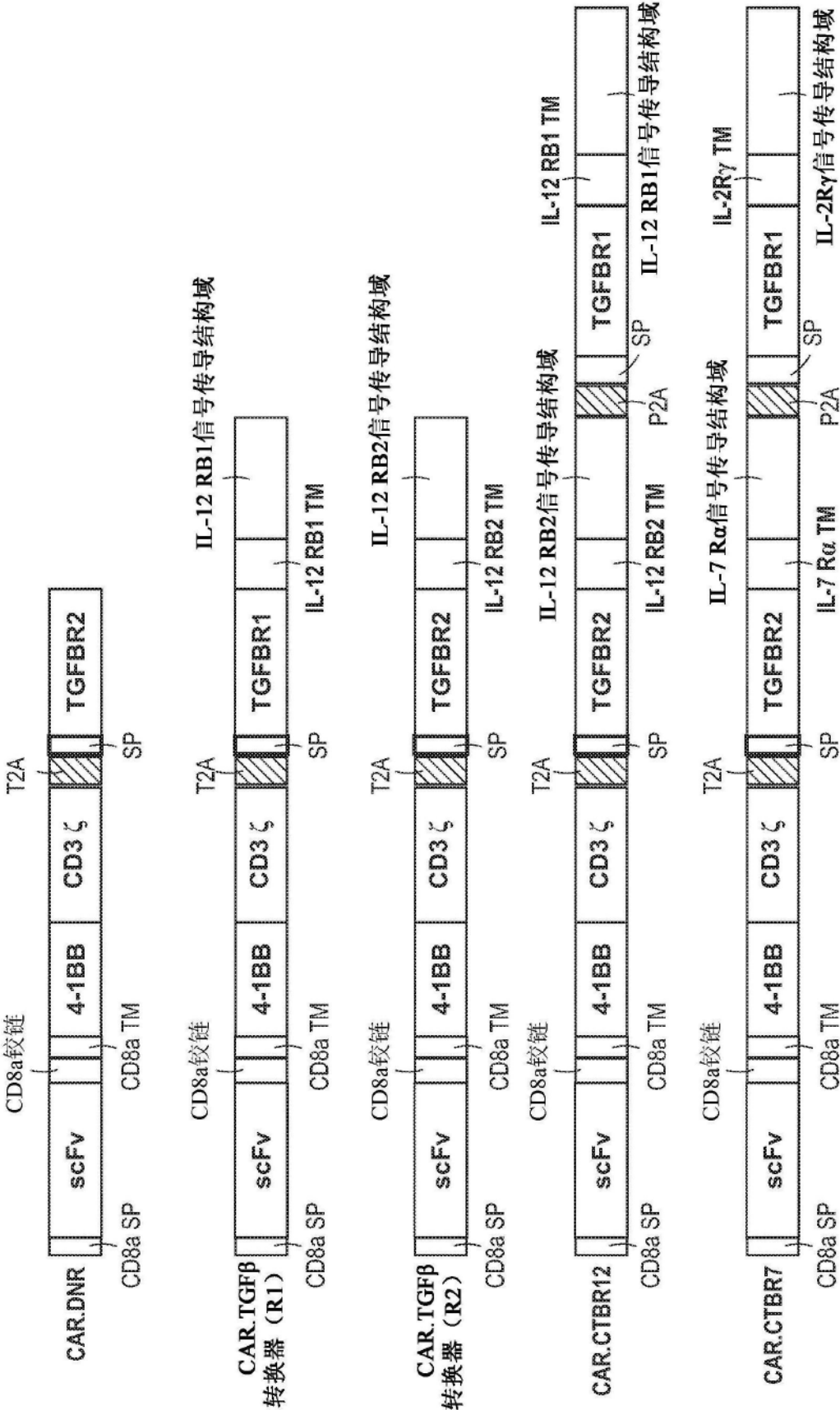


图1

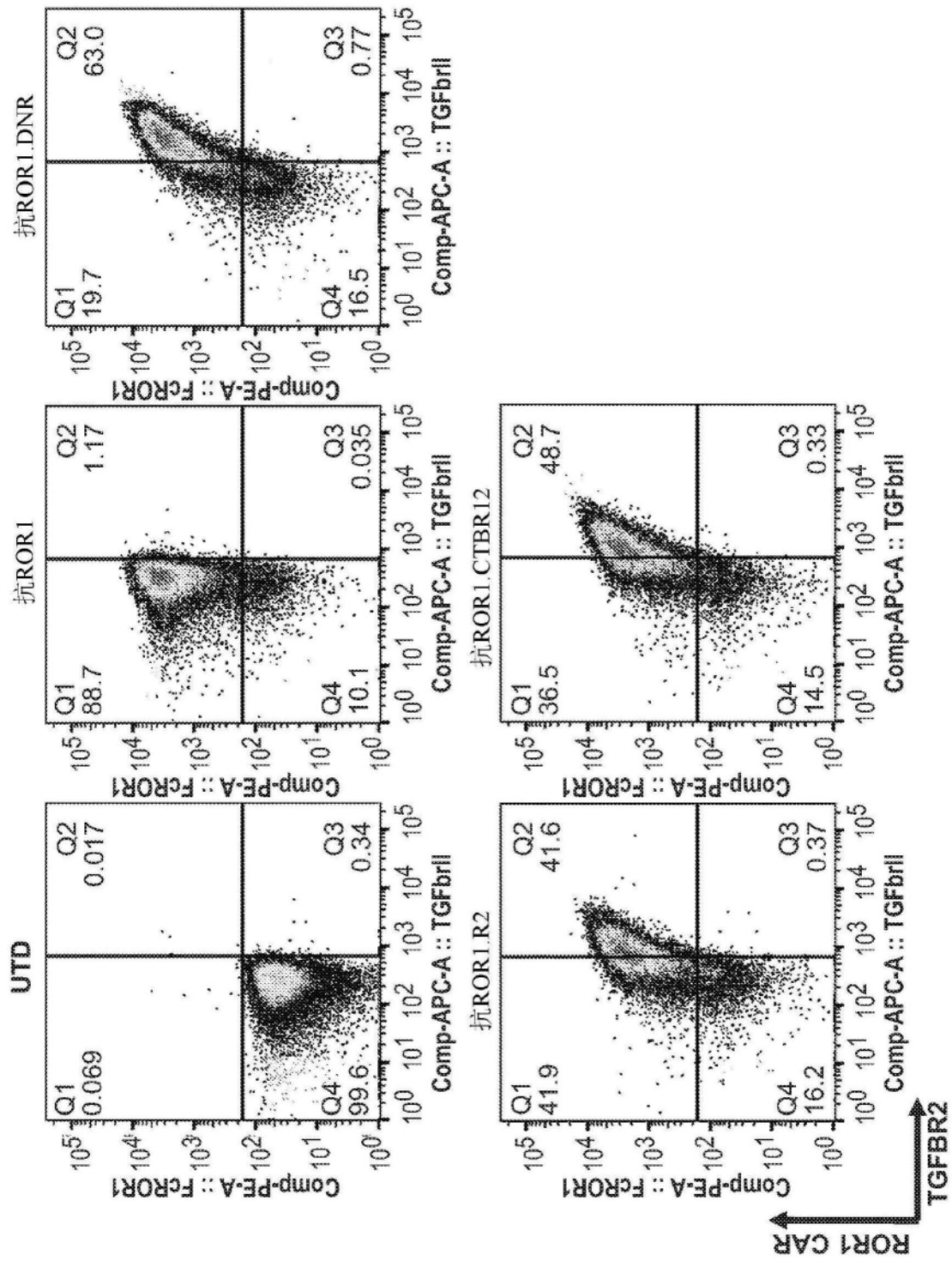


图2

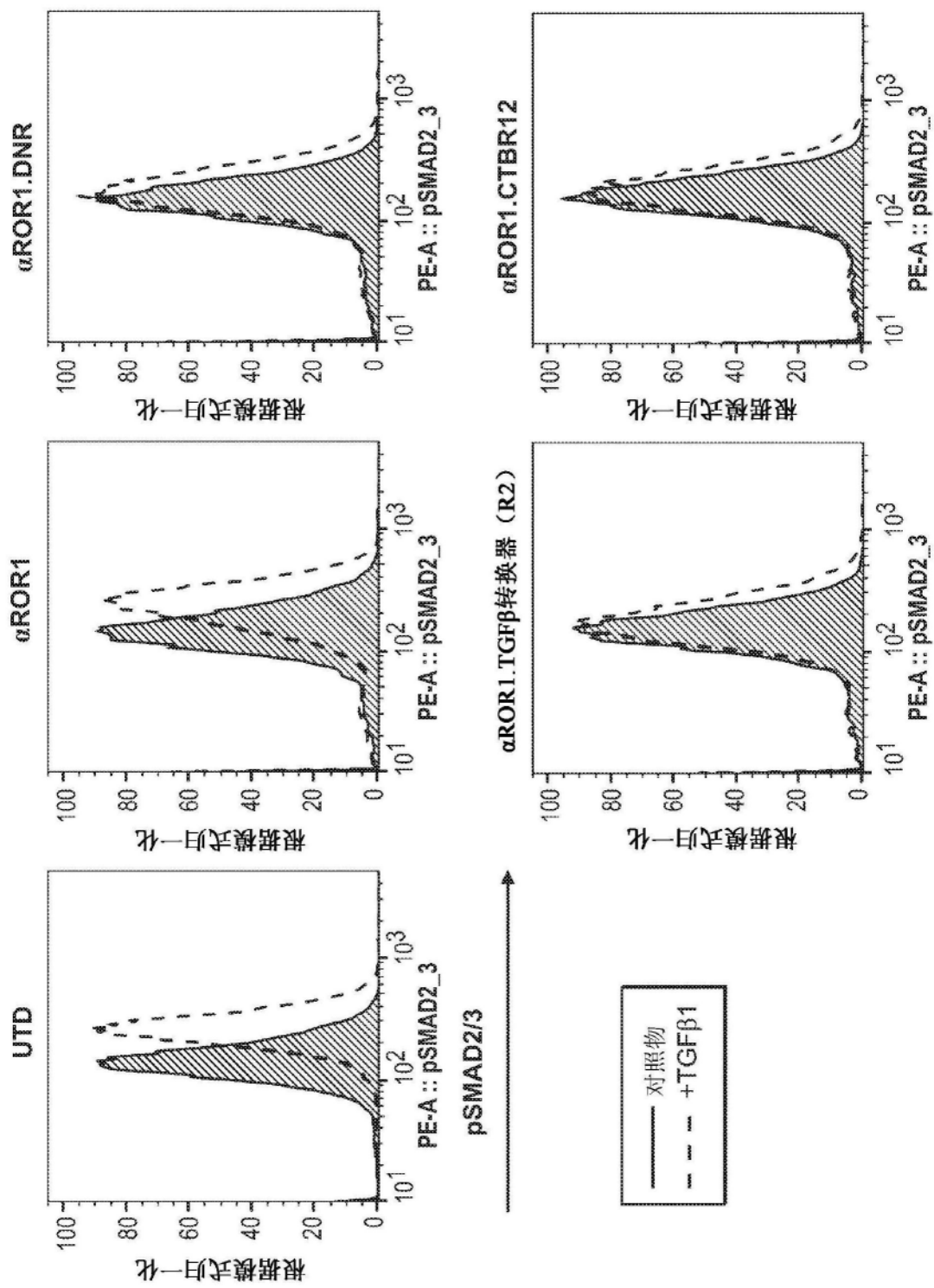


图3

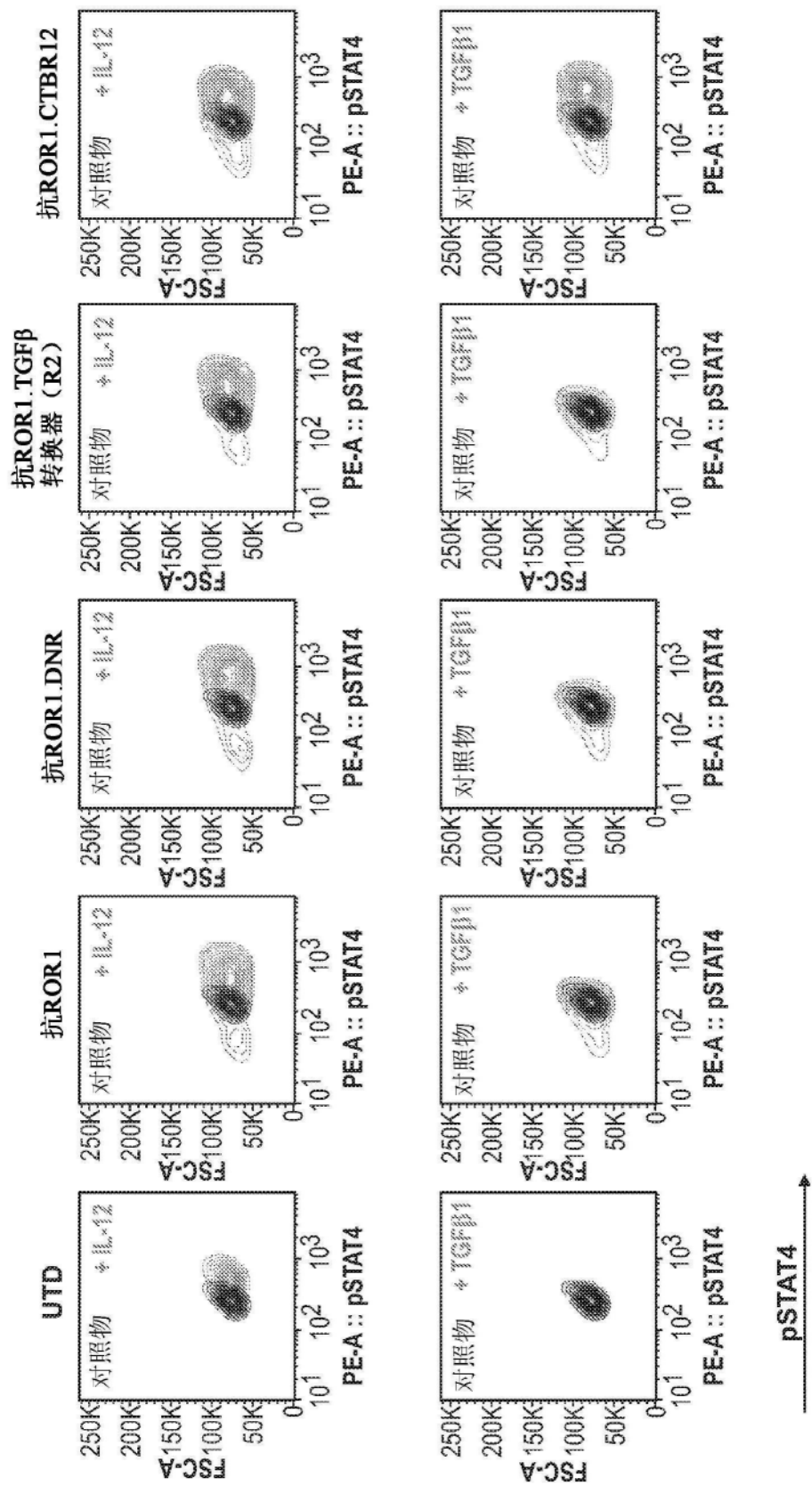


图4

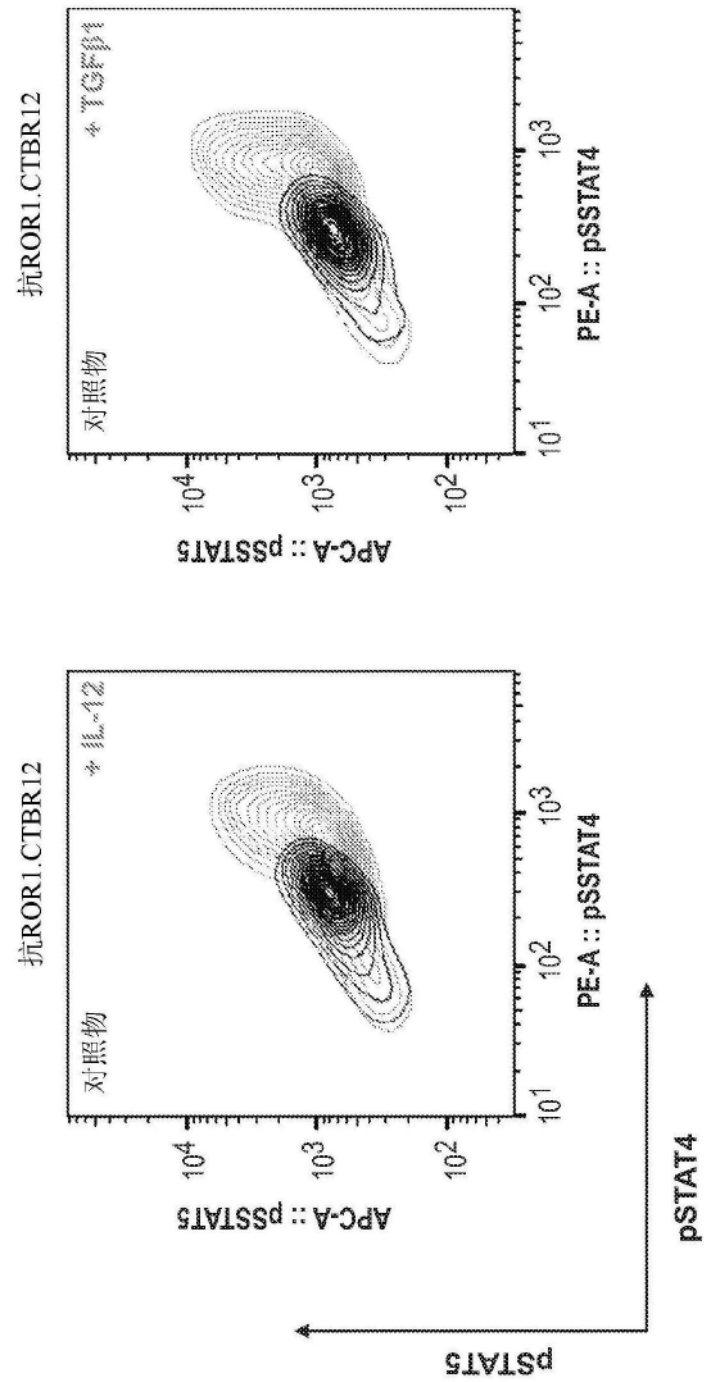


图5

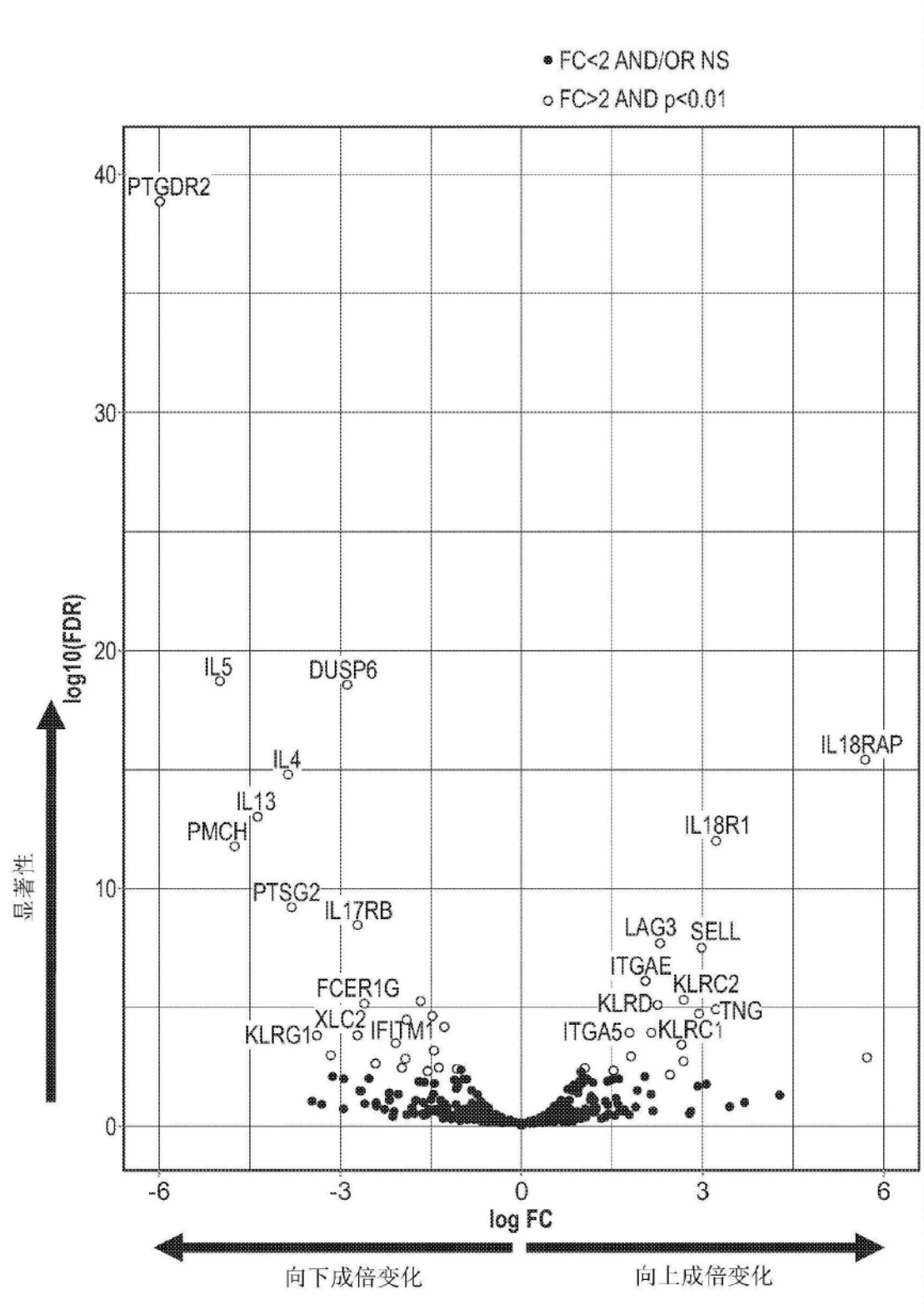


图6

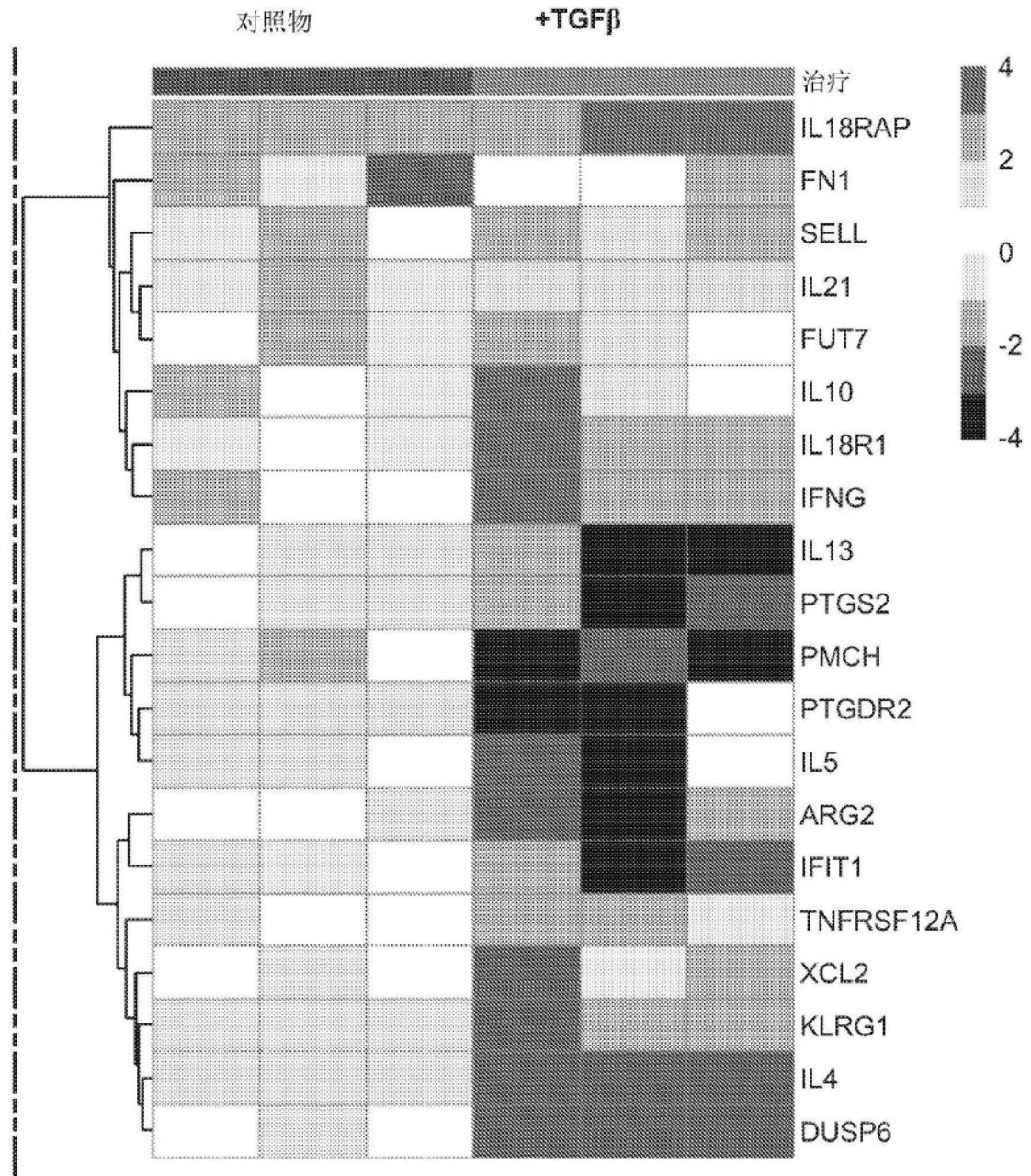
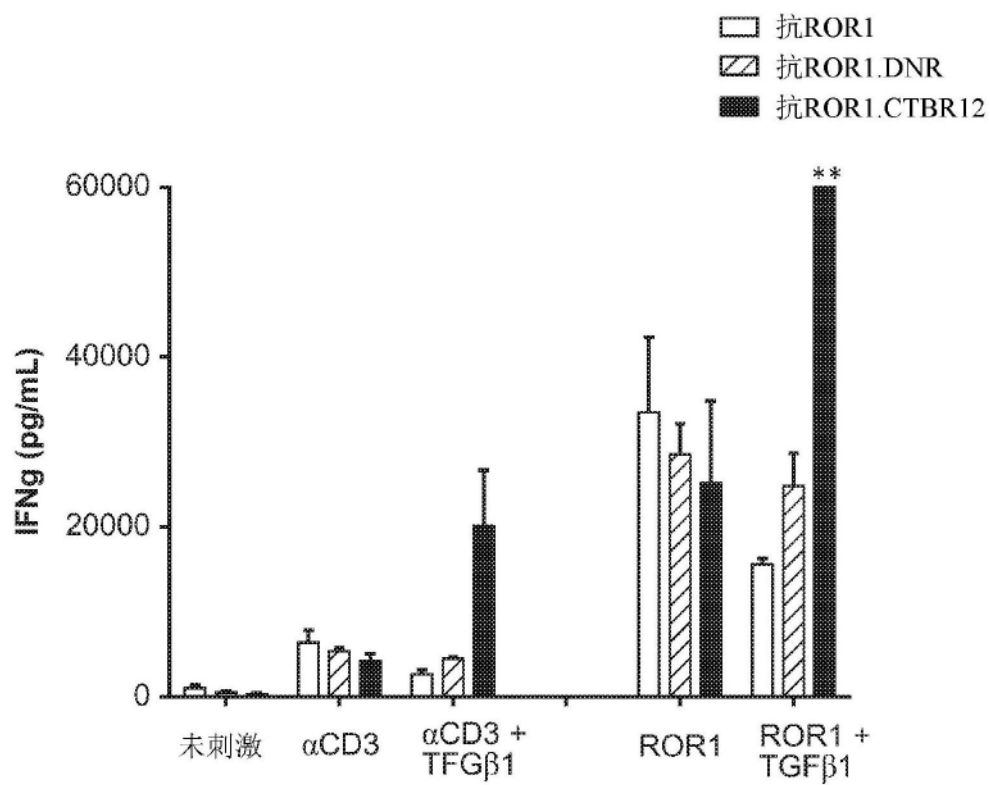


图6(续)



* 来自3个供体的汇编数据

** 偏离线性测定范围的值

图7

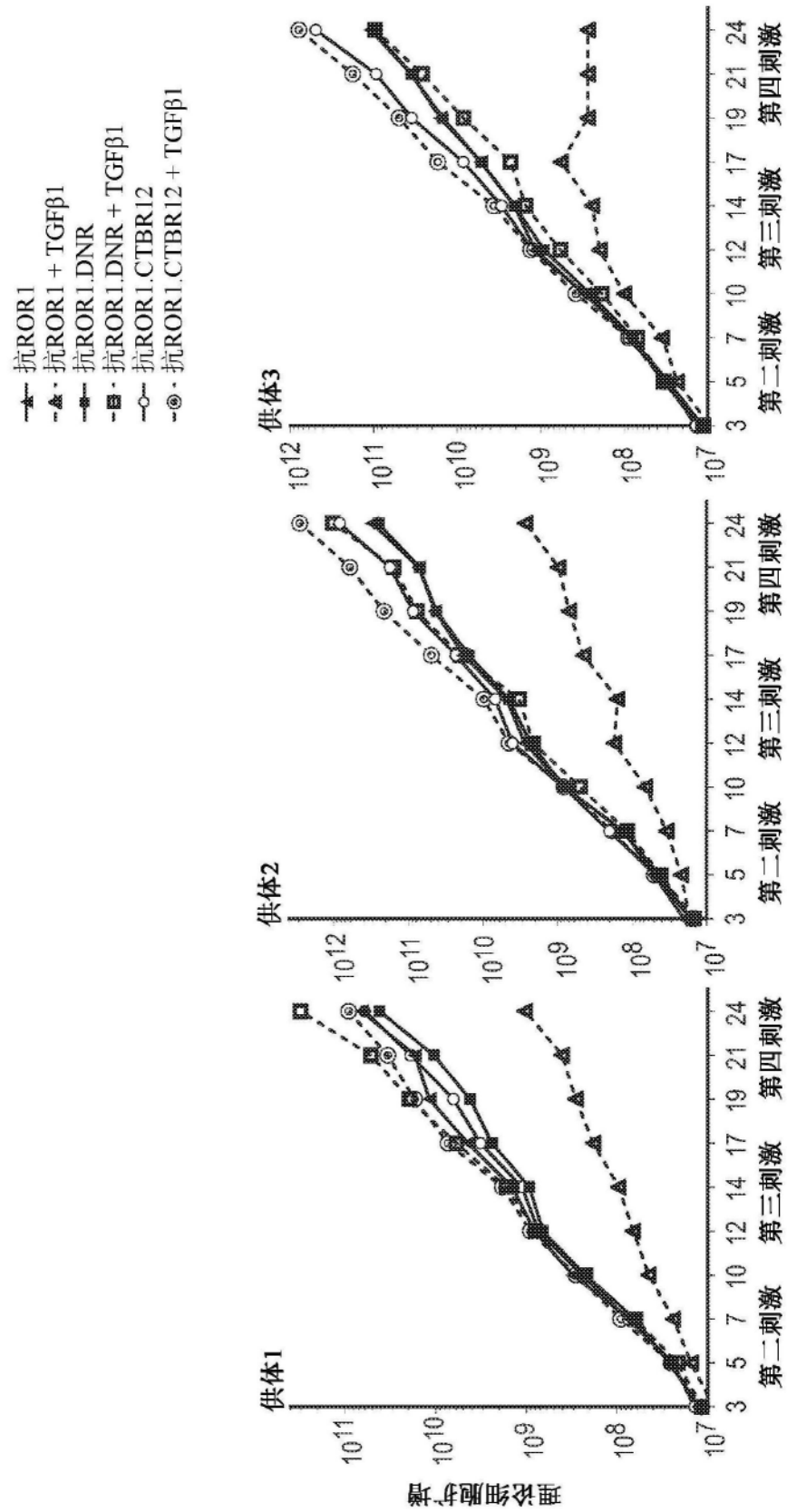


图8

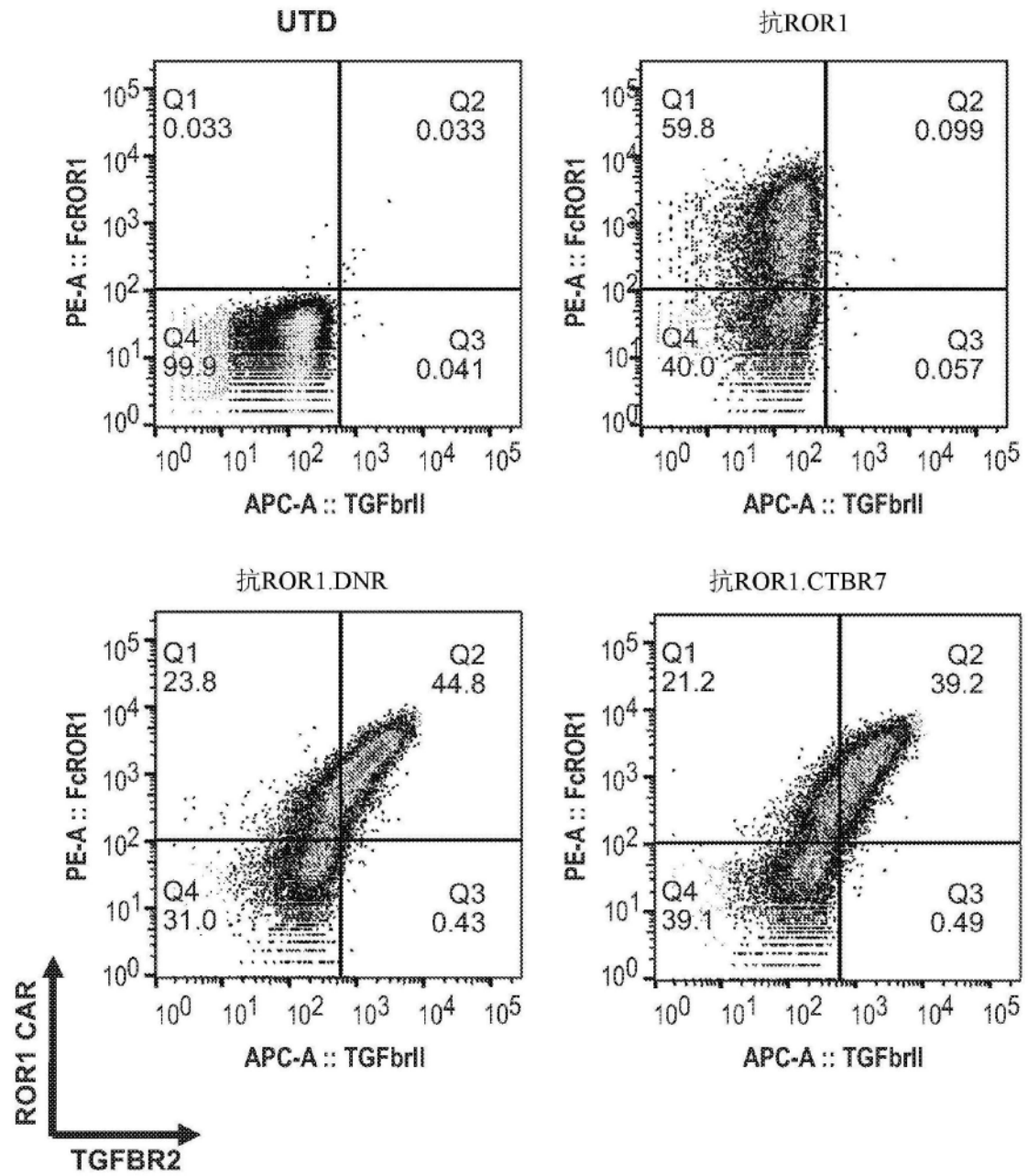


图9

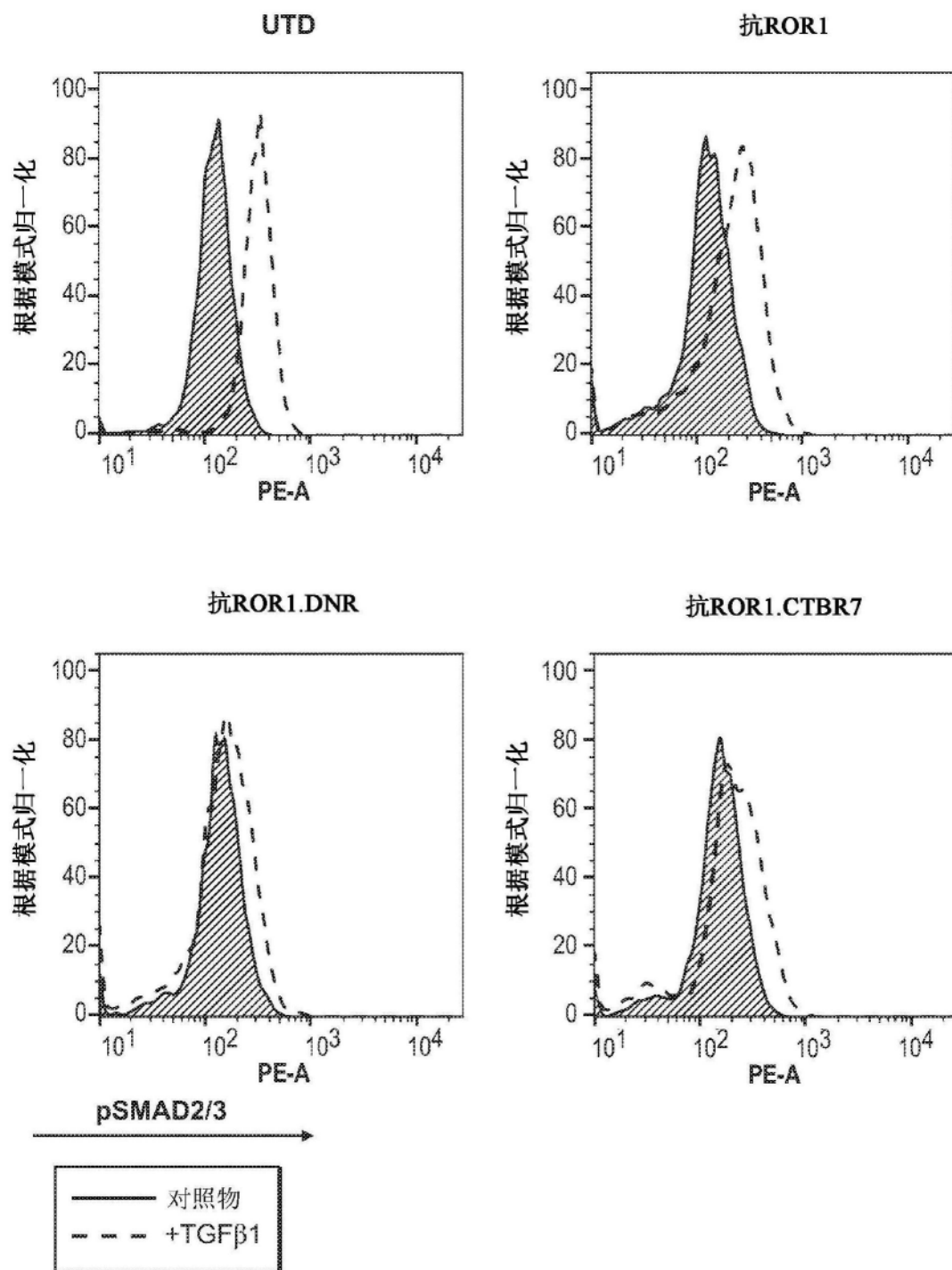


图10

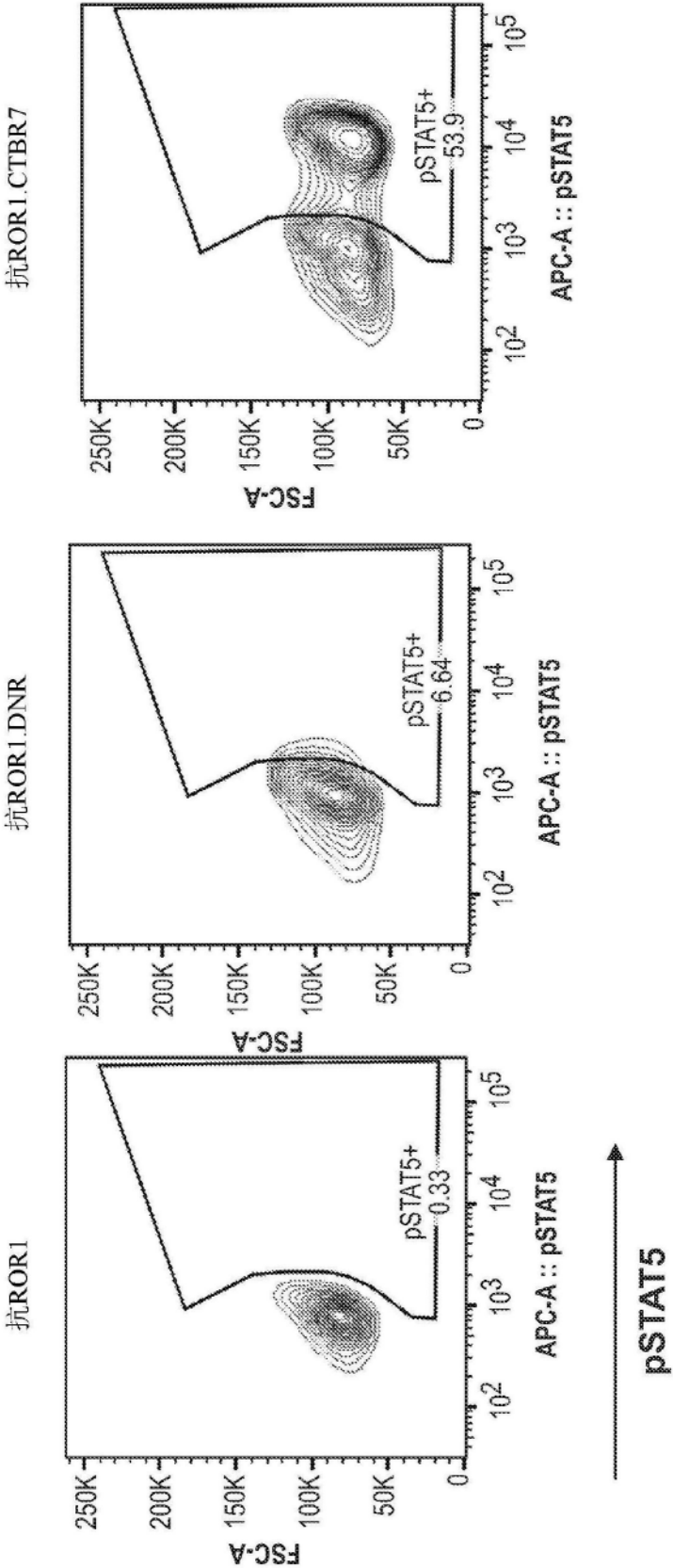


图11

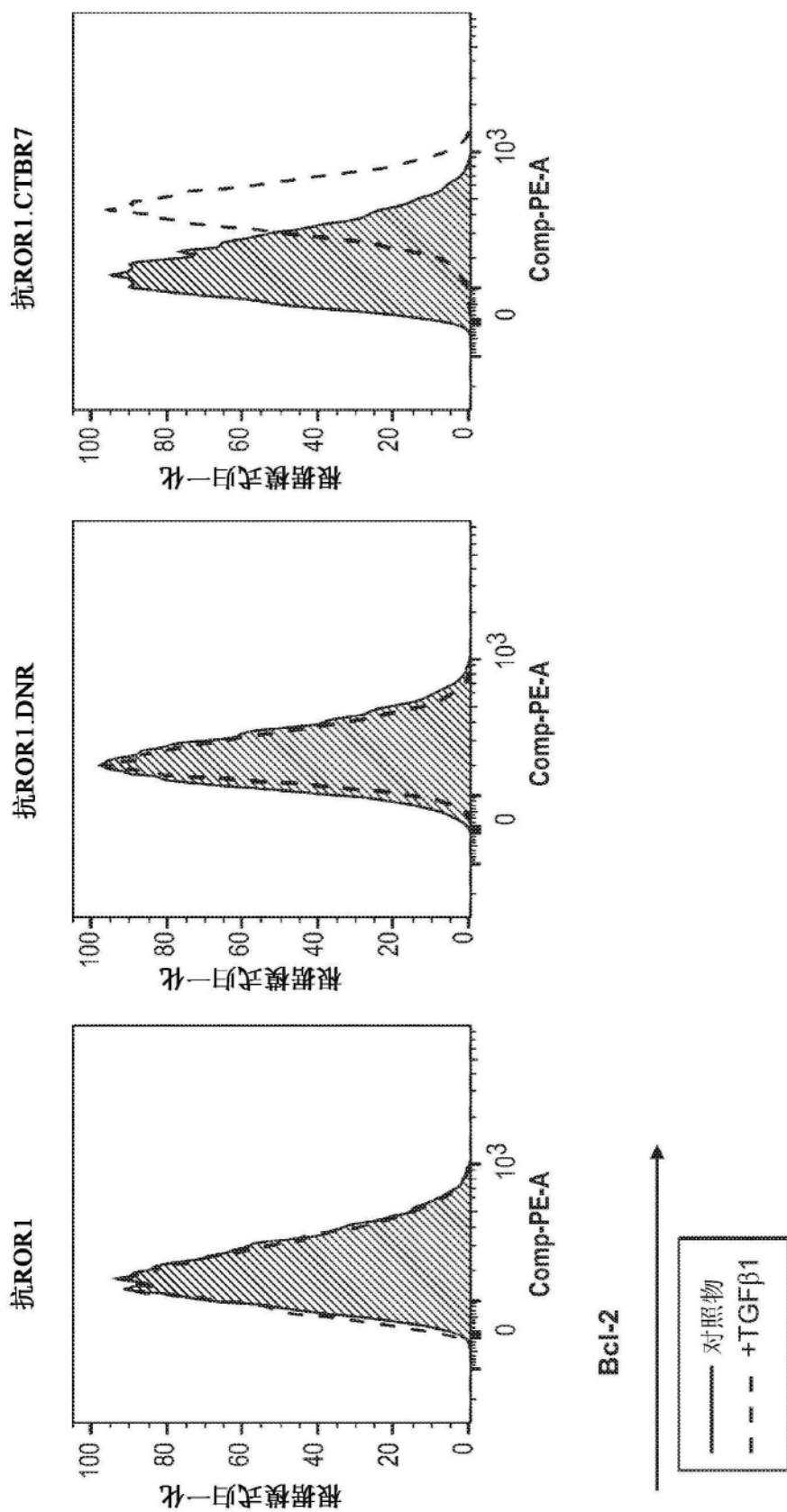


图12

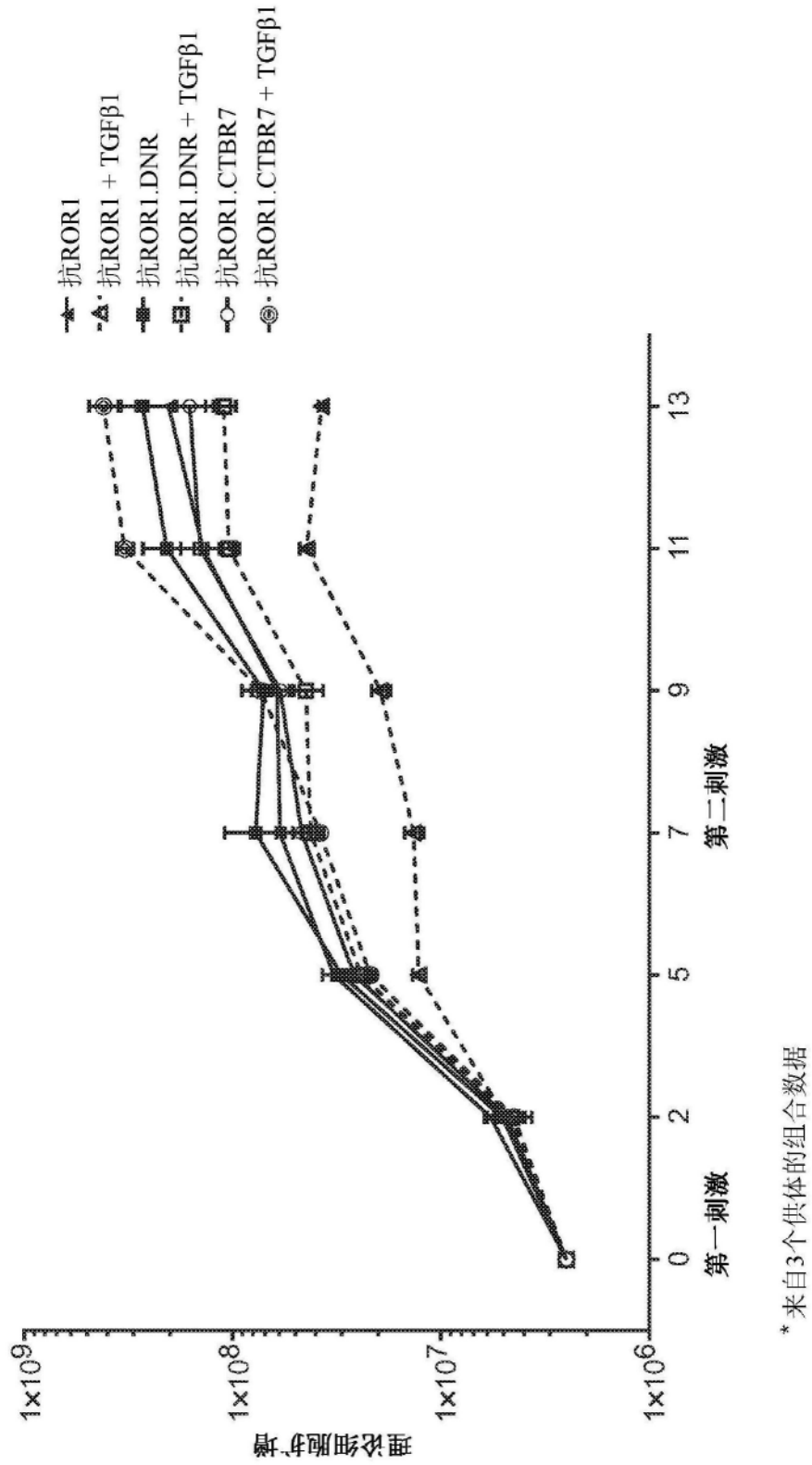


图13

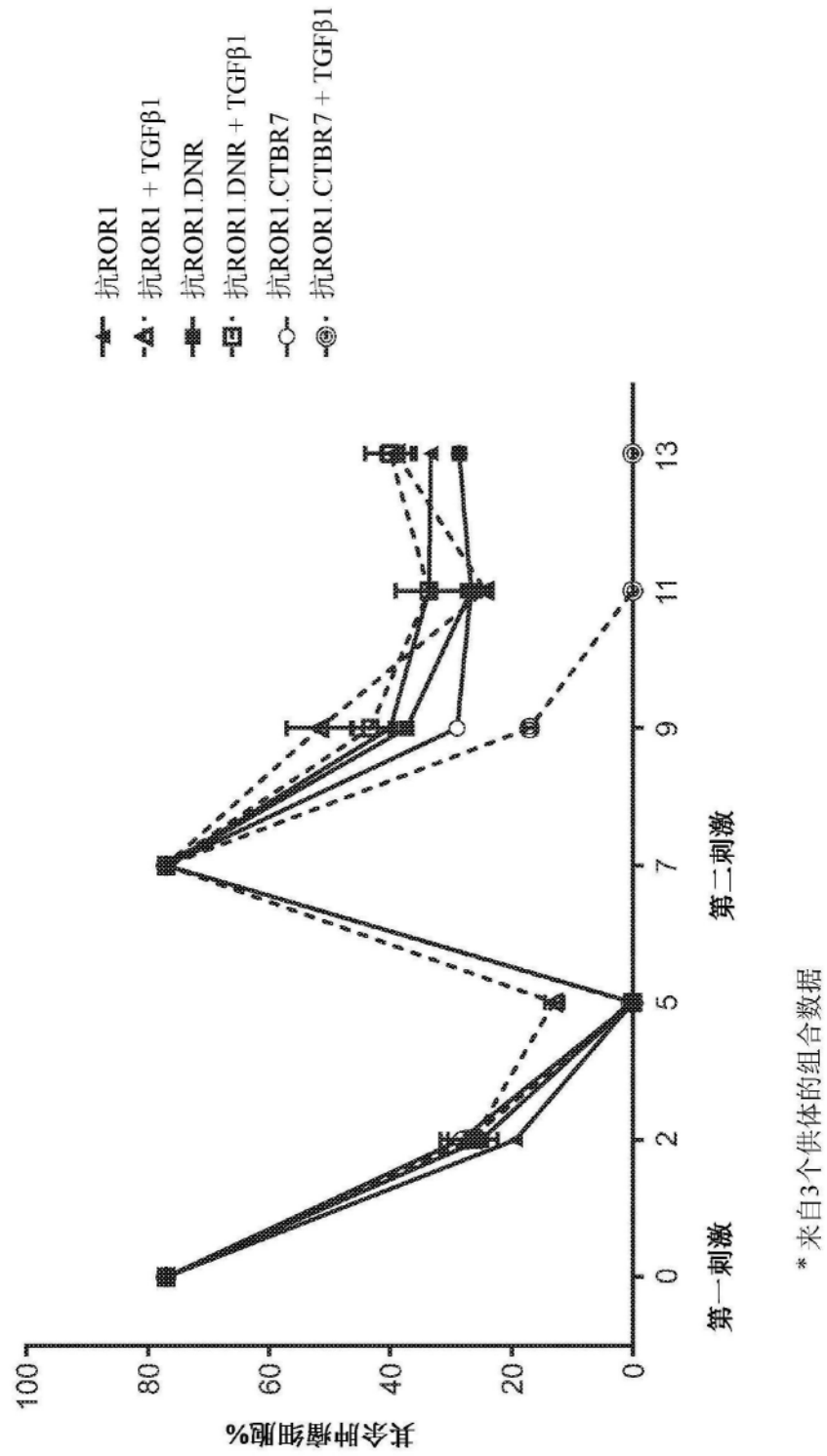


图14

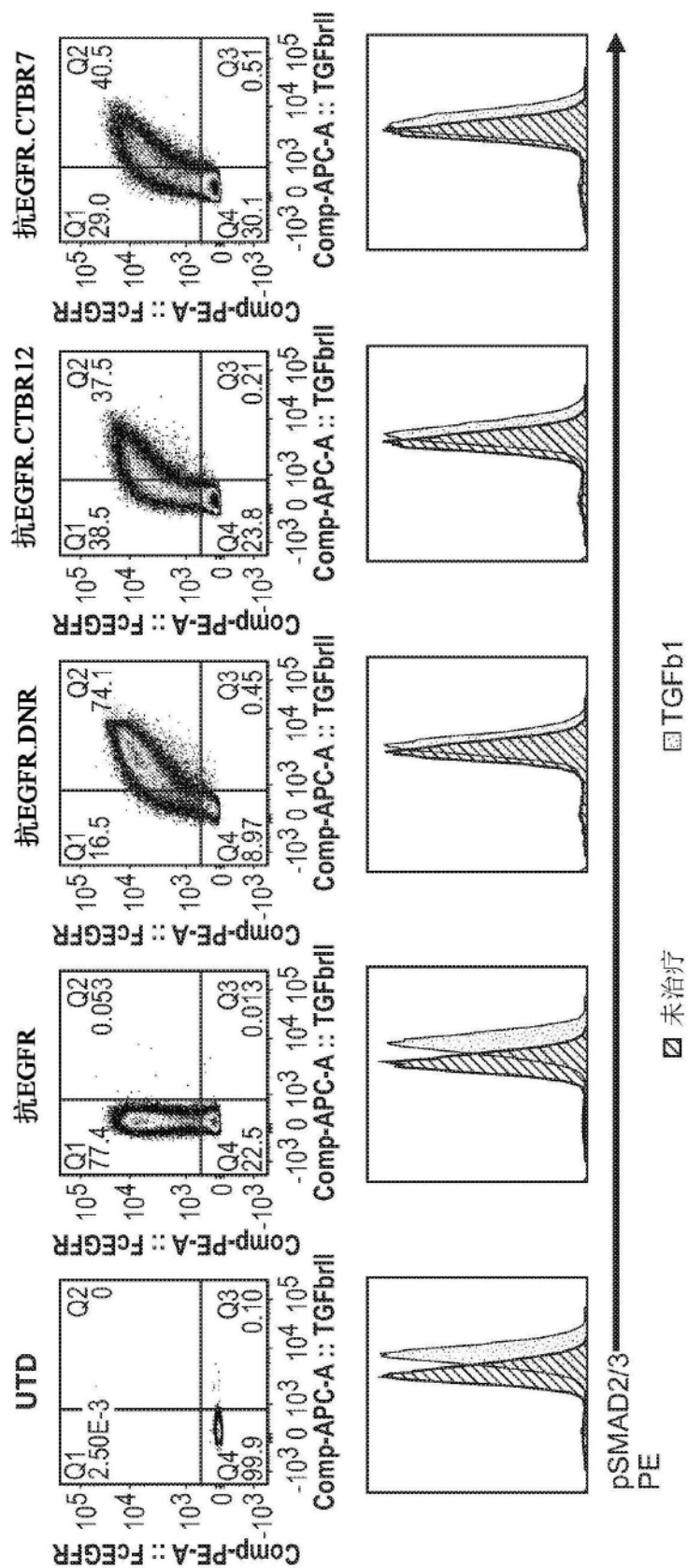


图15

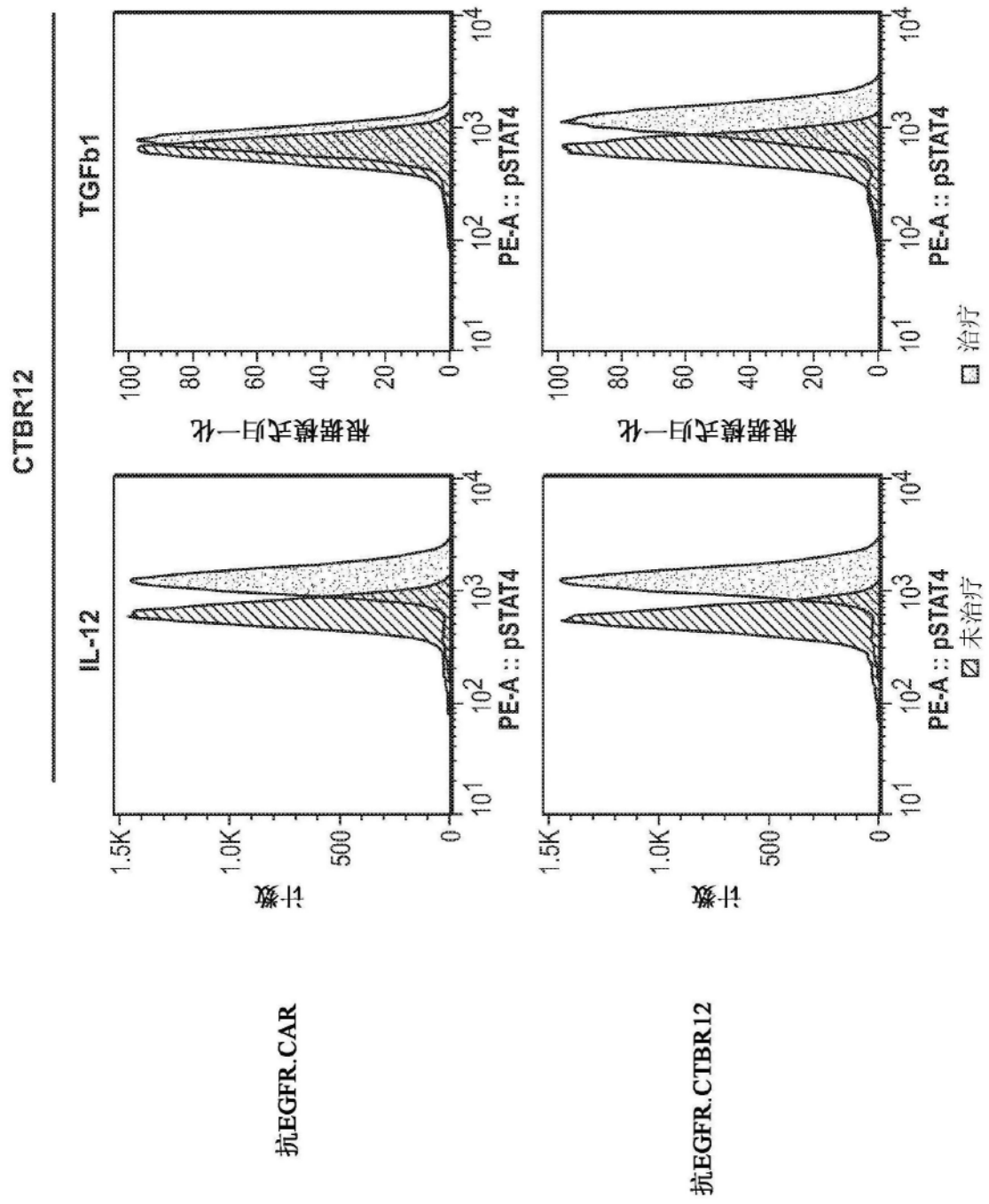


图16

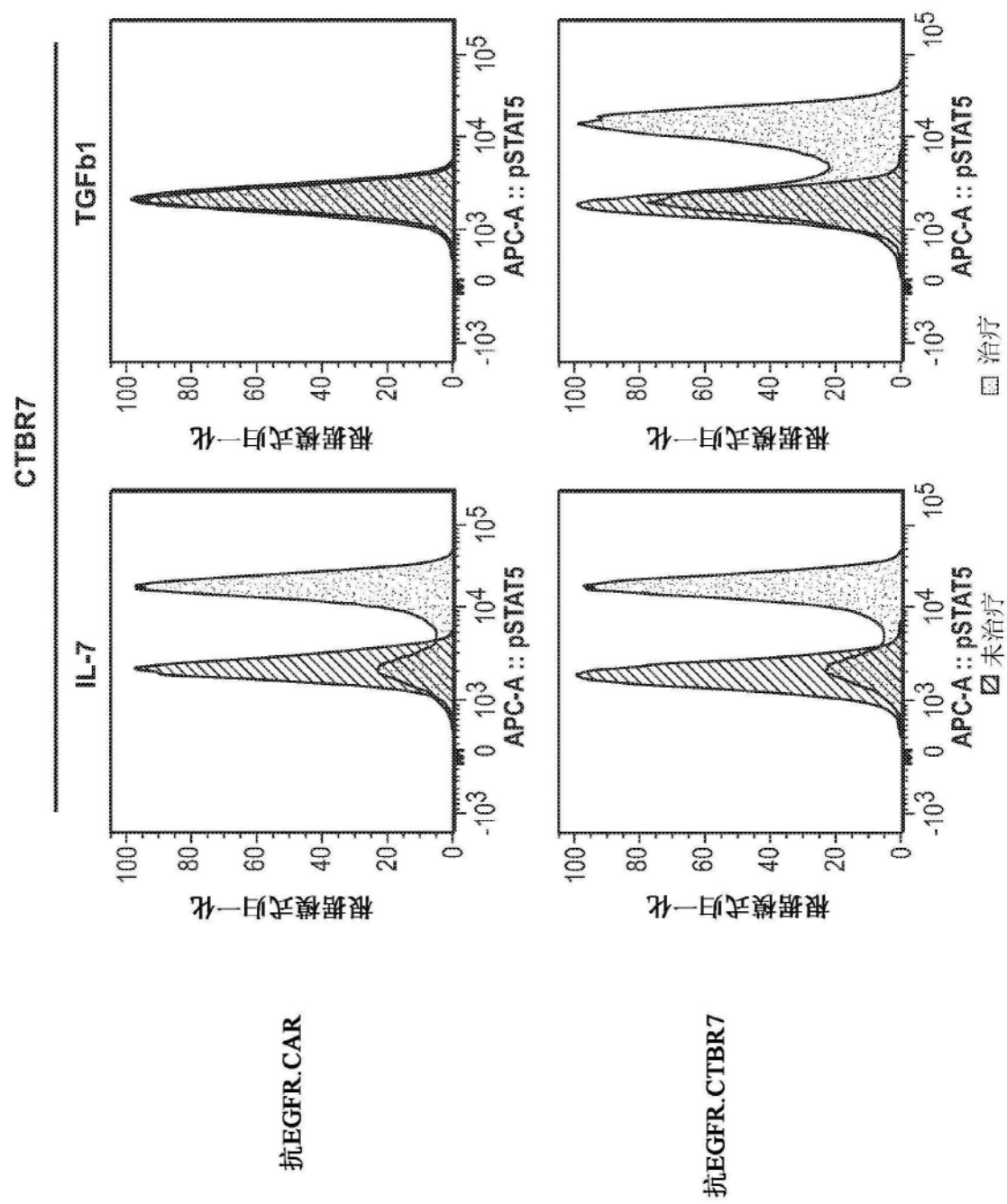


图17

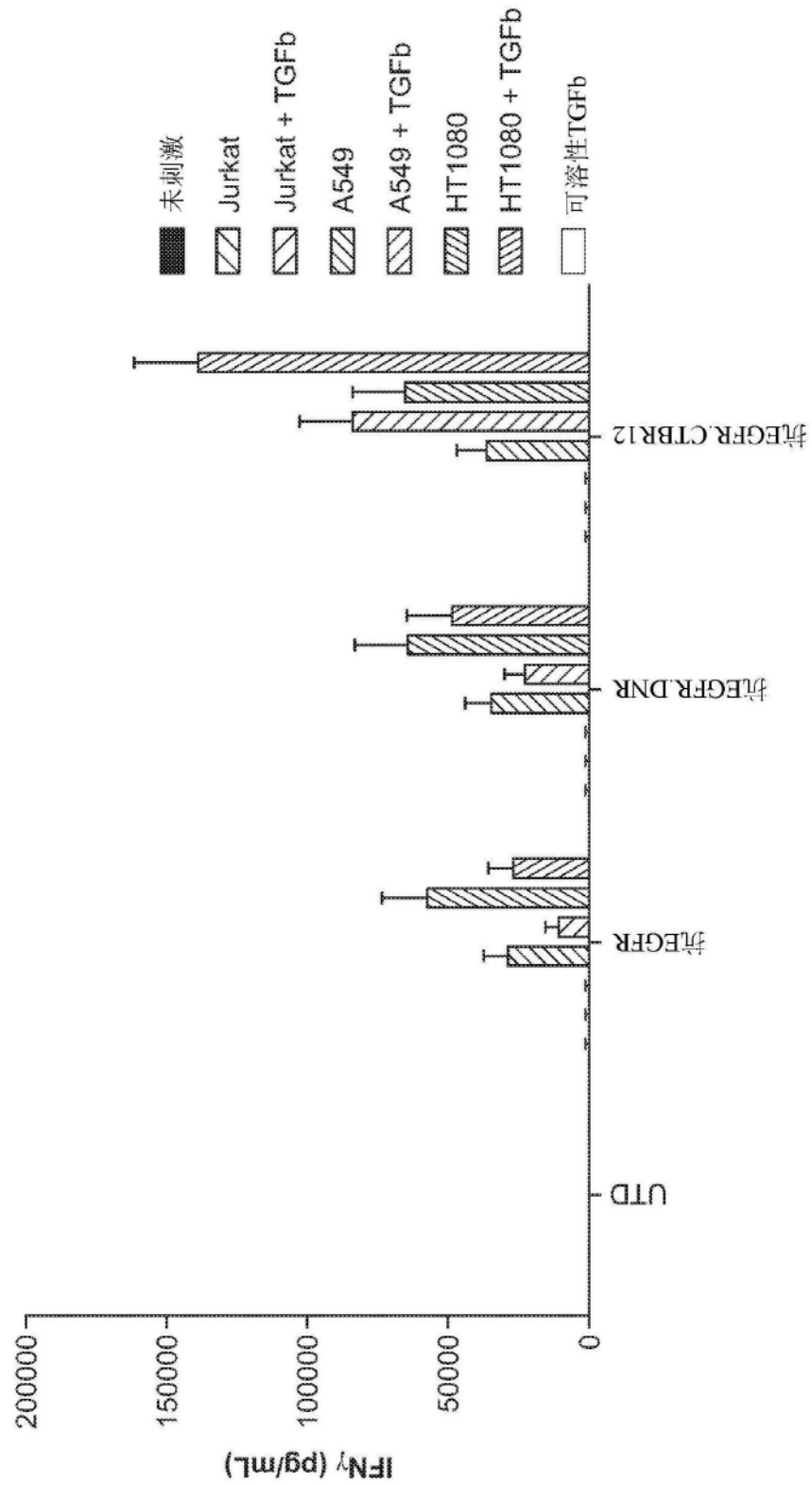


图18

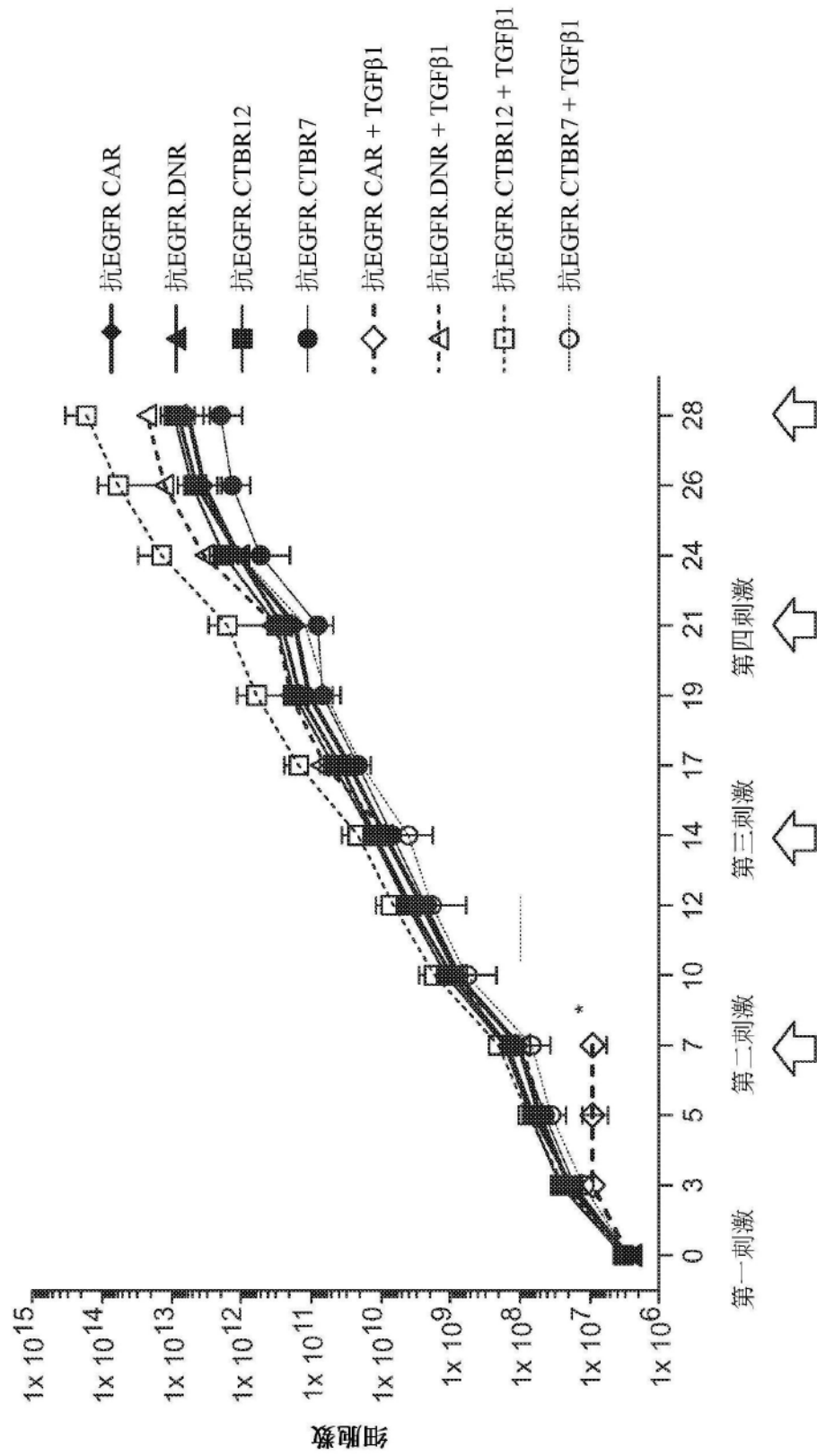


图19

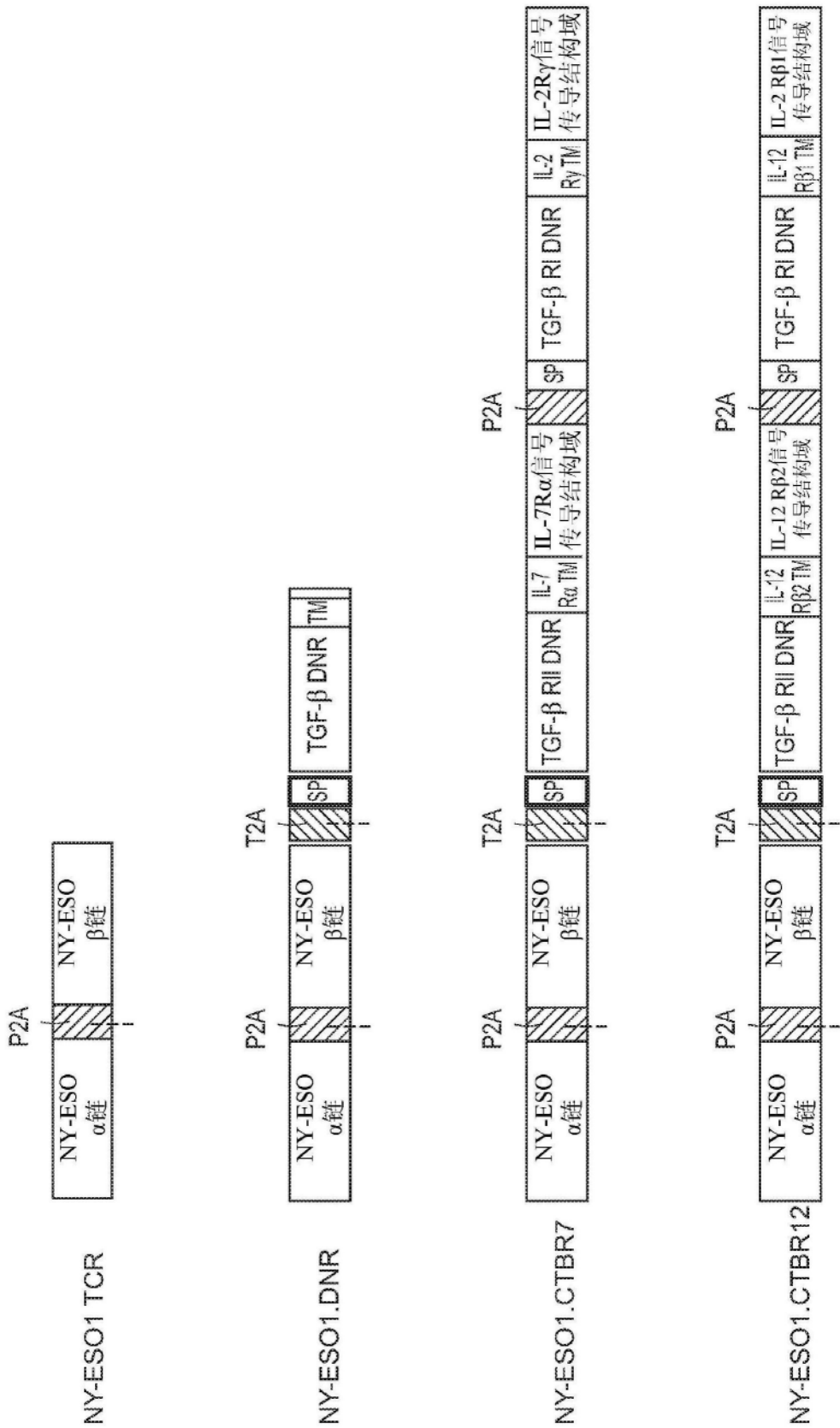


图20

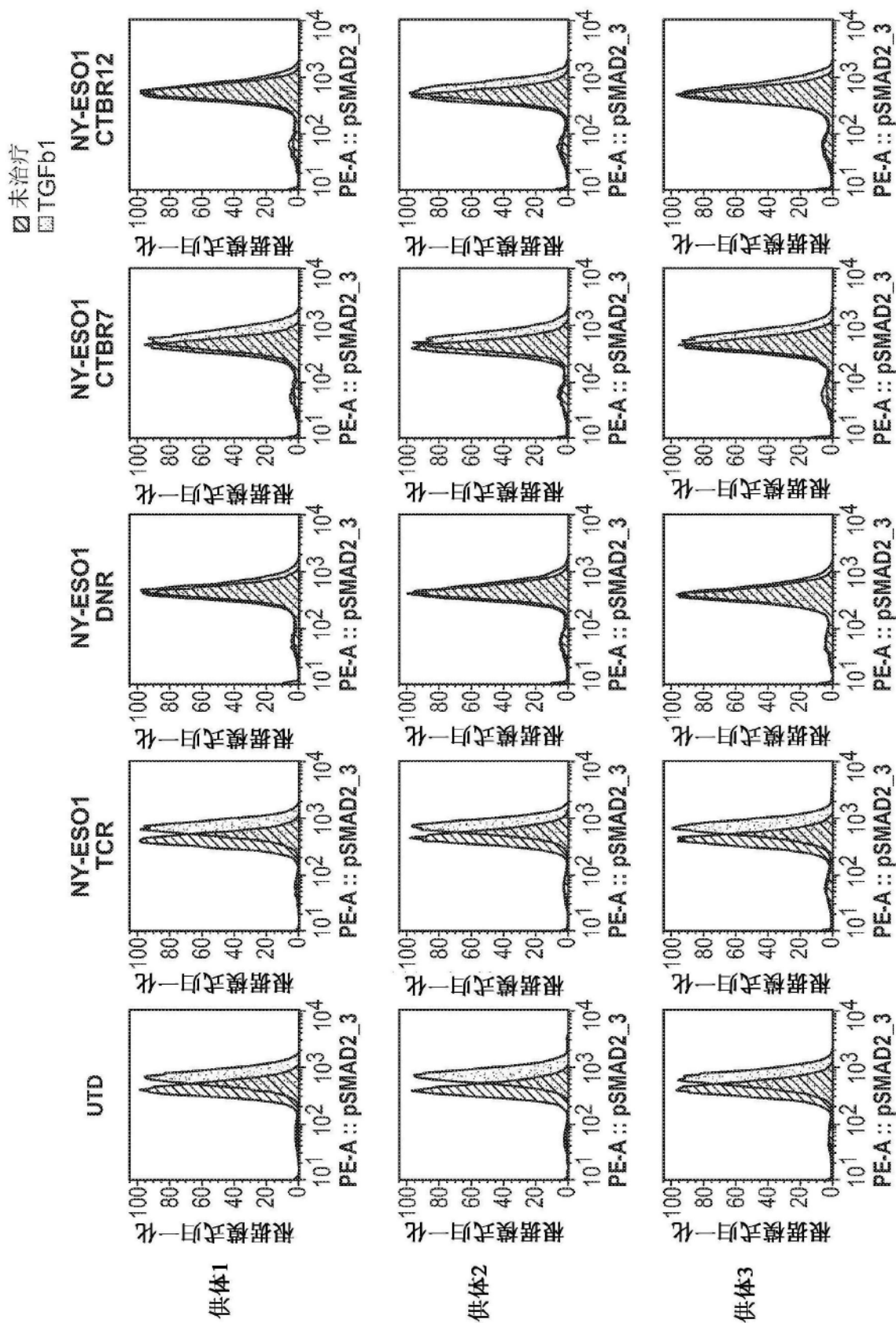


图21

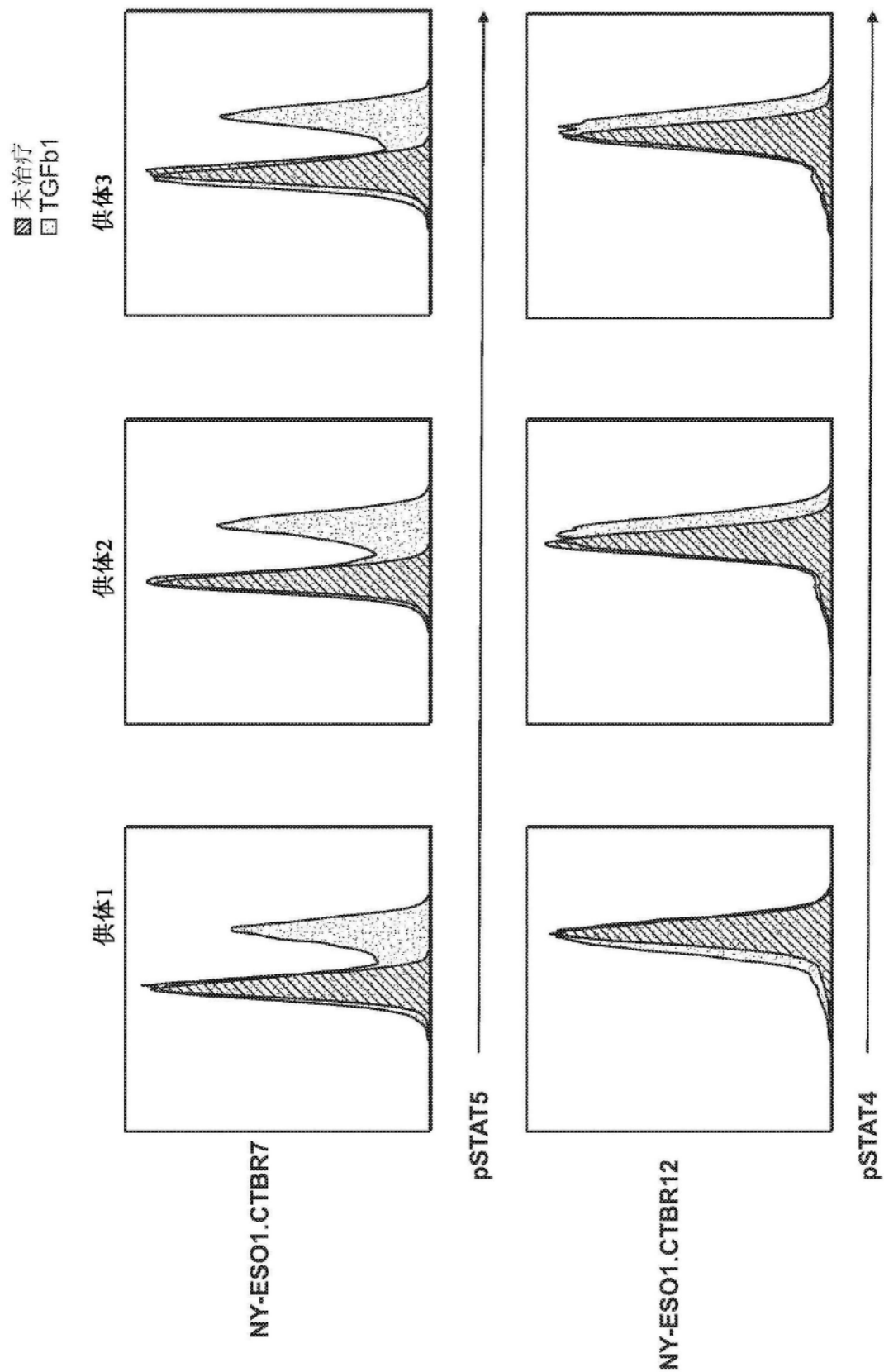


图22

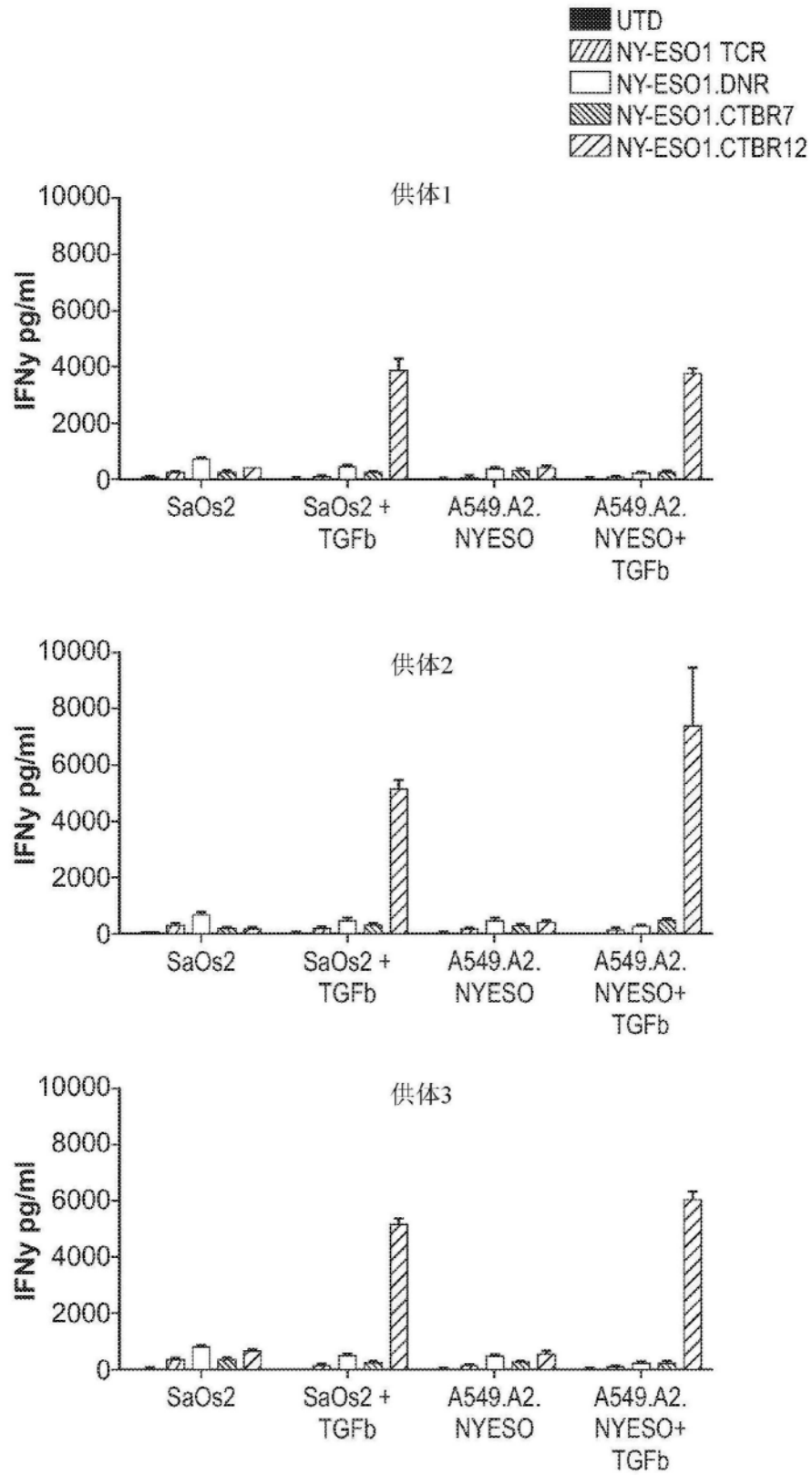


图23