(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 115335396 A
(43)申请公布日 2022.11.11

(21)申请号 202180025378.5
(22)申请日 2021.03.31
(30)优先权数据
63/003,213 2020.03.31 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.09.28
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2021/025248 2021.03.31
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/202793 EN 2021.10.07
(71)申请人 弗莱德哈钦森癌症中心
地址 美国华盛顿州
(72)发明人 C·J·图尔特勒 R·B·沃尔特 G·S·拉斯洛 S·弗洛伦扎
(74)专利代理机构 北京律盟知识产权代理有限责任公司 11287
专利代理师 林彦
(51)Int.Cl.
C07K 14/705(2006.01)
C07K 16/28(2006.01)

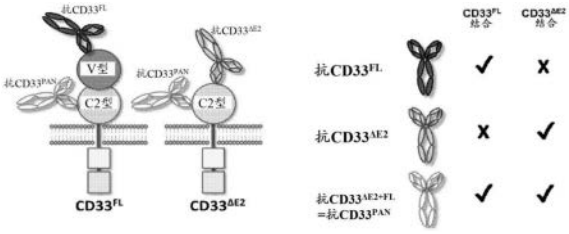
权利要求书4页 说明书60页
序列表156页 附图98页

(54)发明名称

靶向CD33的嵌合抗原受体

(57)摘要

描述了嵌合抗原受体(CAR),所述CAR具有来源于一套新颖CD33结合抗体的结合结构域。所述CAR包括优化的短间隔子区和中等间隔子区。本公开还提供了利用IL-2、IL-7、IL-15和/或IL-21进行细胞扩增/活化过程的方法,所述方法将改善所描述的CAR的细胞增殖和细胞溶解。



CN 115335396 A

1.一种嵌合抗原受体(CAR),所述CAR包含

细胞外组分,根据North、IMGT、Kabat或Chothia,所述细胞外组分包含具有抗体9G2、1H7、6H9、2D5、5D12、3a5v1、3A5v2、7D5v1、7D5v2、8F5、12B12、11D11、7E7、11D5或13E11的互补决定区(CDR)集合的结合结构域;

细胞内组分,所述细胞内组分包含效应结构域;和

跨膜结构域,所述跨膜结构域将所述细胞外组分连接至所述细胞内组分。

2.如权利要求1所述的CAR,其中所述结合结构域包含单链可变片段(scFv)。

3.如权利要求2所述的CAR,其中所述scFv由以下编码:

如SEQ ID NO:3中所示的9G2 VHVL scFv编码序列;

如SEQ ID NO:131中所示的9G2 VLVH scFv编码序列;

如SEQ ID NO:1中所示的1H7 VHVL scFv编码序列;

如SEQ ID NO:126中所示的1H7 VLVH scFv编码序列;

如SEQ ID NO:2中所示的6H9 VHVL scFv编码序列;

如SEQ ID NO:4中所示的2D5 VHVL scFv编码序列;

如SEQ ID NO:5中所示的5D12 VHVL scFv编码序列;

如SEQ ID NO:127中所示的3A5变体1VHVL scFv编码序列;

如SEQ ID NO:128中所示的3A5变体1VLVH scFv编码序列;

如SEQ ID NO:129中所示的3A5变体2VHVL scFv编码序列;

如SEQ ID NO:130中所示的3A5变体2VLVH scFv编码序列;

如SEQ ID NO:132中所示的7D5变体1VHVL scFv编码序列;或

如SEQ ID NO:133中所示的7D5变体2VHVL scFv编码序列。

4.如权利要求2所述的CAR,其中所述scFv具有如SEQ ID NO:334、SEQ ID NO:335、SEQ ID NO:332、SEQ ID NO:333、SEQ ID NO:336、SEQ ID NO:337、SEQ ID NO:338、SEQ ID NO:339、SEQ ID NO:340或SEQ ID NO:341中所示的序列。

5.如权利要求1所述的CAR,其中所述细胞外组分还包含间隔子区。

6.如权利要求5所述的CAR,其中所述间隔子区是135个氨基酸或更少或者16个氨基酸或更少。

7.如权利要求5所述的CAR,其中所述间隔子区是131个氨基酸或更少并且由IgG4的铰链区和CH3结构域组成。

8.如权利要求5所述的CAR,其中所述间隔子区是12个氨基酸或更少并且由IgG4的铰链区组成。

9.如权利要求7或8所述的CAR,其中所述IgG4是人IgG4。

10.如权利要求5所述的CAR,其中所述间隔子区由SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:8中所示的序列编码。

11.如权利要求1所述的CAR,其中所述效应结构域包含CD3ζ的信号传导结构域的全部或一部分;4-1BB的信号传导结构域的全部或一部分;CD28的信号传导结构域的全部或一部分;CD3ζ和4-1BB的信号传导结构域的全部或一部分;CD3ζ和CD28的信号传导结构域的全部或一部分;或CD3ζ、4-1BB和CD28的信号传导结构域的全部或一部分。

12.如权利要求11所述的CAR,其中所述效应结构域包含CD3ζ和4-1BB的信号结构域的

全部或一部分。

13.如权利要求11所述的CAR,其中所述CD3ζ信号传导结构域由如SEQ ID NO:10中所示的CD3ζ编码序列编码。

14.如权利要求11所述的CAR,其中所述CD3ζ信号结构域包含如SEQ ID NO:11或12中所示的序列。

15.如权利要求12所述的CAR,其中所述4-1BB信号结构域由4-1BB SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:14编码。

16.如权利要求12所述的CAR,其中所述4-1BB信号结构域包含如SEQ ID NO:15或SEQ ID NO:16中所示的序列。

17.如权利要求1所述的CAR,其中所述跨膜结构域包含CD28跨膜结构域。

18.如权利要求17所述的CAR,其中所述CD28跨膜结构域由SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:19编码。

19.如权利要求17所述的CAR,其中所述CD28跨膜结构域包含SEQ ID NO:20或SEQ ID NO:21。

20.如权利要求1所述的CAR,所述CAR还包含选自标签盒、转导标记物和/或自杀开关的控制特征。

21.一种基因构建体,所述基因构建体编码权利要求1所述的CAR。

22.如权利要求21所述的基因构建体,其中所述基因构建体包含

如SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:331、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:325、SEQ ID NO:326、SEQ ID NO:327、SEQ ID NO:328、SEQ ID NO:329或SEQ ID NO:330中所示的序列。

23.一种纳米粒子,所述纳米粒子包封权利要求21所述的基因构建体。

24.一种细胞,所述细胞被基因修饰成表达权利要求1至20中任一项所述的CAR。

25.如权利要求24所述的细胞,其中所述细胞相对于受试者是自体细胞或同种异体细胞。

26.如权利要求24所述的细胞,其中所述细胞是在体内或离体的。

27.如权利要求24所述的细胞,其中所述细胞是T细胞、B细胞、自然杀伤(NK)细胞、NK-T细胞、单核细胞/巨噬细胞、造血干细胞(HSC)或造血祖细胞(HPC)。

28.如权利要求24所述的细胞,其中所述细胞是选自以下的T细胞:CD3+T细胞、CD4+T细胞、CD8+T细胞、中央记忆T细胞、效应记忆T细胞和/或初始T细胞。

29.如权利要求24所述的细胞,其中所述细胞是CD8+T细胞。

30.如权利要求24所述的细胞,其中所述细胞已经在包含IL-2、IL-7、IL-15和/或IL-21的细胞培养基中培育。

31.如权利要求30所述的细胞,其中所述细胞已经在包含IL-2的细胞培养基中培育。

32.如权利要求31所述的细胞,其中所述细胞培养基包含10-100ng/mL IL-2。

33.如权利要求32所述的细胞,其中所述细胞培养基包含50ng/mL IL-2。

34.如权利要求30所述的细胞,其中所述细胞已经在包含IL-7和IL-15的细胞培养基中培育。

35.如权利要求34所述的细胞,其中所述细胞培养基包含5-15ng/mL IL-7和5-15ng/mL

IL-15。

36.如权利要求35所述的细胞，其中所述细胞培养基包含10ng/mL IL-7和10ng/mL IL-15。

37.如权利要求30所述的细胞，其中所述细胞培养基包含IL-7、IL-15和IL-21。

38.如权利要求37所述的细胞，其中所述细胞培养基包含5-15ng/mL IL-7、5-15ng/mL IL-15和5-15ng/mL IL-21。

39.如权利要求38所述的细胞，其中所述细胞培养基包含10ng/mL IL-7、10ng/mL IL-15和10ng/mL IL-21。

40.一种权利要求24至39中任一项所述的细胞的群体，所述群体被配制用于施用给受试者。

41.一种治疗患有CD33相关病症的受试者的方法，所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的权利要求23所述的纳米粒子或权利要求40所述的细胞群体，由此治疗所述患有CD33相关病症的受试者。

42.如权利要求41所述的方法，其中所述细胞群体包含自体细胞或同种异体细胞。

43.如权利要求41所述的方法，其中所述CD33相关病症包含急性淋巴母细胞性白血病(ALL)、慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性髓单核细胞性白血病(CML)、肥大细胞白血病、骨髓增生异常综合征(MDS)、B细胞急性淋巴母细胞性白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴母细胞性白血病(T-ALL)或巨核细胞白血病。

44.如权利要求41所述的方法，所述方法还包括确定所述受试者是表达还是缺乏CD33的V型结构域，并且

如果所述受试者表达所述CD33的V型结构域，则选择包含以下的组合疗法：

组合物，所述组合物编码6H9、9G2、3A5、7D5、1H7和2D5中的一者或多者的结合结构域，以及

5D12和8F5中的一者或多者中的一者或多者的结合结构域。

45.如权利要求41所述的方法，所述方法还包括确定所述受试者是表达还是缺乏所述CD33的V型结构域，并且

如果所述受试者不表达所述CD33的V型结构域，则选择包含以下的组合疗法：

组合物，所述组合物编码6H9、9G2、3A5、7D5、1H7和2D5中的一者或多者的结合结构域，以及

12B12、11D5、13E11、11D11和7E7中的一者或多者中的一者或多者的结合结构域。

46.一种活化有需要受试者的针对CD33表达细胞的免疫反应的方法，所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的权利要求23所述的纳米粒子或权利要求40所述的细胞群体，由此活化所述有需要受试者的针对CD33表达细胞的免疫反应。

47.如权利要求46所述的方法，其中所述细胞群体包含自体细胞或同种异体细胞。

48.如权利要求46所述的方法，其中所述CD33表达细胞包含急性骨髓性白血病(AML)细胞。

49.如权利要求46所述的方法，其中所述CD33表达细胞包含急性淋巴母细胞性白血病(ALL)、慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性髓单核细胞性白血病(CML)、肥大细胞白血病、骨髓增生异常综合征(MDS)、B细胞急性淋巴母细胞性白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴母细胞性

白血病(T-ALL)或巨核细胞白血病细胞。

50.如权利要求46所述的方法,所述方法还包括确定所述受试者是表达还是缺乏CD33的V型结构域,并且

如果所述受试者表达所述CD33的V型结构域,则选择包含以下的组合疗法:

组合物,所述组合物编码6H9、9G2、3A5、7D5、1H7和2D5中的一者或多者的结合结构域,以及

5D12和8F5中的一者或多者中的一者或多者的结合结构域。

51.如权利要求46所述的方法,所述方法还包括确定所述受试者是表达还是缺乏所述CD33的V型结构域,并且

如果所述受试者不表达所述CD33的V型结构域,则选择包含以下的组合疗法:

组合物,所述组合物编码6H9、9G2、3A5、7D5、1H7和2D5中的一者或多者的结合结构域,以及

12B12、11D5、13E11、11D11和7E7中的一者或多者中的一者或多者的结合结构域。

52.一种试剂盒,所述试剂盒包含:编码CAR的核苷酸序列,所述CAR包含6H9、9G2、3A5、7D5、1H7和2D5中的一者或多者的结合结构域;以及编码5D12和8F5中的一者或多者中的一者或多者的结合结构域的核苷酸序列。

53.一种试剂盒,所述试剂盒包含:编码CAR的核苷酸序列,所述CAR包含6H9、9G2、3A5、7D5、1H7和2D5中的一者或多者的结合结构域;以及编码12B12、11D5、13E11、11D11和7E7中的一者或多者中的一者或多者的结合结构域的核苷酸序列。

靶向CD33的嵌合抗原受体

[0001] 相关申请的交叉参考

[0002] 本申请要求2020年3月31日提交的美国临时专利申请号63/003,213的优先权,该案以引用的方式整体并入本文,就如同在本文中完整阐述一般。

[0003] 关于联邦政府资助的研究或开发的声明

[0004] 本发明是根据美国国家卫生研究院(National Institutes of Health)授予的CA234203和CA245594,在政府资助下作出。政府拥有本发明的某些权利。

[0005] 关于序列表的引用

[0006] 与本申请相关的序列表是以文本格式代替纸质副本提供,并且特此以引用的方式并入本说明书中。含有序列表的文本文件的名称是2GU3967_ST25.txt。文本文件是267KB,于2021年3月31日创建,并且通过EFS-Web以电子方式提交。

技术领域

[0007] 本公开提供了具有来源于一套新颖CD33结合抗体的结合结构域的嵌合抗原受体(CAR),该CAR包括优化的短间隔子区和中等间隔子区。本公开还提供了利用IL-2、IL-7、IL-15和/或IL-21进行细胞扩增/活化过程的方法,所述方法改善所描述的CAR的细胞增殖和细胞溶解。

背景技术

[0008] 根据世界卫生组织的数据,癌症是全球第二大死亡原因,并且在2018年估计有960万人因此而死亡。急性骨髓性白血病(AML)是由克隆性增殖性成髓细胞的恶变引起的一类癌症。美国每年有20,000例新增AML病例,并且每年有11,000例AML死亡病例(Siegel等人,2021,CA Cancer J Clin.71(1):7-33)。尽管在年轻AML患者中利用常规化学疗法可以达到60%至80%的较高完全缓解率(Döhner等人,2017.Blood.129(4):424-447),但对于65岁或以上的老年患者的治疗结果仍然不令人满意,多达70%的患者在确诊后一年内死于其疾病(Meyers等人,Appl Health Econ Health Policy,11:275-286,2013)。不幸的是,由于白血病干细胞的化疗难治性,常规疗法后复发很常见(Eppert等人,2011.Nat.Med.17(9):1086-1093),而且当前的复发/难治性(R/R)AML的治疗选择并不乐观,导致12个月的总生存率低于30%。

[0009] 多年来,选择的癌症治疗方法一直是手术、化学疗法和/或放射疗法。近年来,出现了较多的靶向疗法,这些疗法通过鉴别和利用主要在癌细胞中发现的特定分子和/或免疫表型变化来特异性靶向癌细胞。例如,许多癌细胞优先在它们的细胞表面上表达特定的标记物,并且这些标记物为基于抗体的治疗剂提供了靶标。

[0010] CD33是唾液酸结合免疫球蛋白样凝集素(sialic acid binding,immunoglobulin-like lectin,SIGLEC)蛋白质家族的成员。它是一种67-kDa的糖基化跨膜蛋白。CD33(又称为SIGLEC-3)是一种髓系分化抗原,至少见于几乎所有AML患者的某些白血病细胞,而且在一些情况下,也可能见于AML干细胞。基于这种广泛的表达模式,CD33已被广

泛用作AML的治疗靶标。近期由若干随机化研究得到的数据表明,CD33抗体-药物缀合物吉妥珠单抗奥唑米星(gemtuzumab ozogamicin,GO)当添加至确定的新诊断患有AML的患者的亚群的化学疗法中时可提高生存率。这一数据证实CD33是AML免疫疗法的第一个(也是迄今为止唯一的)靶标。在开发新的、更有效的CD33定向治疗剂(例如抗体-药物缀合物、放射免疫缀合物、双特异性抗体、嵌合抗原受体[CAR]修饰的细胞)以克服所观察到的GO的缺点的同时,人们对于CD33作为其他恶性和非恶性病症的药物靶标的兴趣日益浓厚。这些努力包括靶向GO不识别的CD33剪接变体以及靶向其他血液系统恶性病中的CD33+肿瘤细胞、多种疾病中的CD33+骨髓源性抑制细胞(MDSC)以及阿尔茨海默氏病中的正常CD33+小胶质细胞(Walter,Expert Opin Biol Ther.2020,20(9):955-958)。

[0011] 全长CD33蛋白质($CD33^{FL}$)的特征在于在其细胞外部分中具有氨基末端、膜远端V型免疫球蛋白(Ig)样结构域和膜近端C2型Ig样结构域(图2)。存在CD33的较短同种型。CD33的较短同种型包括一个缺少外显子2的变体,该变体编码V型结构域($CD33^{\Delta E2}$)。至少在mRNA水平上,$CD33^{\Delta E2}$在AML患者的骨髓和外周血中的骨髓细胞中广泛表达。然而,目前几乎所有商业和临床上可用的CD33抗体都识别免疫显性V型Ig样结构域。这意味着这些抗体将不识别没有V型结构域的较短形式的CD33,例如$CD33^{\Delta E2}$。这可以解释在一项儿科AML临床试验中得到的观察结果,即,在CD33基因中具有单核苷酸多态性导致$CD33^{\Delta E2}$优先转录和$CD33^{FL}$翻译减少的患者不会受益于强化化学疗法中吉妥珠单抗奥唑米星(该药剂也结合至CD33的V型结构域)的添加。

[0012] 除基于抗体的治疗剂外,在基因工程改造免疫系统的T细胞以使其靶向和杀死不想要的细胞类型如癌细胞方面已经取得了显著的进展。这些T细胞中有许多已经被基因工程改造成表达嵌合抗原受体(CAR)。CAR是包括若干不同子组分的蛋白质,所述若干不同子组分允许经过基因修饰的T细胞能够识别并杀死癌细胞。所述子组分至少包括细胞外组分和细胞内组分。细胞外组分包括与优先存在于不想要细胞表面上的标记物(例如CD33)特异性结合的结合结构域。当结合结构域结合此类标记物时,细胞内组分传导信号给T细胞以破坏所结合的细胞。CAR还包括跨膜结构域,该跨膜结构域可以将细胞外组分连接至细胞内组分。

[0013] 也可以使用能够增加CAR的功能的其他子组分。例如,间隔子区可以为CAR提供额外的构象灵活性,通常会增加结合结构域结合靶标细胞标记物的能力。特定CAR内间隔子区的适当长度可取决于多种因素,包括靶标标记物与不想要细胞的膜表面的距离有多近或多远。

[0014] 在离体执行时,对T细胞进行基因修饰可涉及许多细胞操作步骤,并且据观察,不同的操作条件会影响细胞的癌细胞杀伤特性。因此,在设计CAR和对细胞进行基因修饰以表达CAR时,必须考虑许多因素,包括:靶标细胞标记物;间隔子的存在和/或长度;以及离体操作程序。

发明内容

[0015] 本公开提供了用于治疗CD33相关病症的嵌合抗原受体(CAR)。CAR包括来源于一套新颖抗CD33抗体的结合结构域。在特定实施方案中,CAR包括无论患者表达哪种CD33变体($CD33^{FL}$或$CD33^{\Delta E2}$)均结合CD33的结合结构域。这些CD33结合结构域被称为“泛”结合剂。在

特定实施方案中,泛结合剂结合CD33的膜近端C2型Ig样结构域(参见图2)。在特定实施方案中,这些泛结合剂来源于以下抗体:9G2、6H9、3A5变体1(3A5v1)、3A5变体2(3A5v2)、7D5变体1(7D5v1)、7D5变体2(7D5v2)、1H7和2D5,并且可以包括这些抗体结合结构域的单链可变片段(scFv)。本文所公开的结合CD33的V型结构域的额外CD33靶向抗体包括5D12和8F5。这些抗体为表达$CD33^{FL}$的患者提供了额外的基于CAR的治疗选择。本文所公开的仅在不存在V型结构域情况下才结合CD33的C2型结构域的CD33靶向抗体包括12B12、11D11、7E7、11D5和13E11。

[0016] 可以基于受试者是表达还是缺乏CD33的V型结构域来选择基于抗体的结合结构域的组合用于CAR中。例如,如果受试者表达V型结构域,则可以选择包括6H9、9G2、3A5、7D5、1H7和2D5中一者或多者的结合结构域以及5D12和8F5中的一者或多者的组合疗法。如果受试者不表达V型结构域,则可以选择包括6H9、9G2、3A5、7D5、1H7和2D5中的一个或多个结合结构域以及12B12、11D5、13E11、11D11和7E7中的一者或多者的组合疗法。

[0017] 在特定实施方案中,本公开提供了具有短或中等间隔子区的CAR。在特定实施方案中,短间隔子区包括IgG4的铰链区(12个氨基酸)。在特定实施方案中,中等间隔子区包括IgG4的铰链区和CH3结构域(总计为131个氨基酸)。

[0018] 在特定实施方案中,本公开提供了利用细胞因子IL-7、IL-15和IL-21的组合来扩增和活化T细胞,所述T细胞被基因修饰成表达本文所公开的CAR。在特定实施方案中,本公开提供了利用包括IL-2在内的细胞因子的组合来扩增和活化T细胞,所述T细胞被基因修饰成表达本文所公开的CAR。

[0019] 本文所公开的CAR可用于治疗急性骨髓性白血病(AML)和其他CD33+病症。

附图说明

[0020] 图1.CD33急性骨髓性白血病(AML)和正常造血细胞的表达情况,表明与造血干细胞相比,CD33在AML中过表达。从bloodspot.eu整理的相对表达量数据。HSPC,造血干细胞/祖细胞;MPP,专能祖细胞。****$p<0.0001$,ns是指通过多重T检验,使用Benjamini、Krieger和Yekutieli的两阶段线性逐步增加程序确定不显著,其中Q=1%。

[0021] 图2.全长CD33($CD33^{FL}$)和缺失外显子2使得V型结构域缺失的CD33($CD33^{\Delta E2}$)的图解。描绘了仅结合$CD33^{FL}$(抗$CD33^{FL}$)、仅结合$CD33^{\Delta E2}$(抗$CD33^{\Delta E2}$)或结合$CD33^{FL}$和$CD33^{\Delta E2}$(抗$CD33^{FL+\Delta E2}$或抗$CD33^{PAN}$)的抗体。

[0022] 图3.$CD33^{FL}$以及人工CD33分子的示意图,所述人工分子缺失外显子3和4使得V型结构域在膜近端重定位($CD33^{\Delta E3-4}$)或者插入CD22的2个C2型结构域("$CD33^{FL}$+CD22 2D")或CD22的4个C2型结构域("$CD33^{FL}$+CD22 4D")。$CD33^{\Delta E3-4}$使用定点诱变进行工程改造以剪接掉人$CD33^{FL}$细胞外结构域(ECD)的CD33氨基酸(aa)140-232。$CD33^{FL}$+CD22 4D是使用内源性CD33信号肽(aa 1-17)、6-组氨酸标签、3x甘氨酸连接子、人CD33 ECD(aa 18-259)、包括C2型结构域3-6在内的人CD22 ECD的一部分(aa 331-683)、CD33跨膜结构域和CD33细胞内结构域(aa 260-364)产生的。从$CD33^{FL}$+CD22 24中去除CD22 aa 331-504(C2型结构域3和4),产生$CD33^{FL}$+CD22 2D。

[0023] 图4.用于产生CD33 CAR表达构建体的克隆策略。(i)针对泛CD33结合活性筛选来自分泌抗体的小鼠杂交瘤细胞的上清液,然后针对缺乏与CD33无效细胞系的结合进行筛

选,并选出最佳的个别杂交瘤,执行抗体同型分析,提取RNA并用于cDNA末端快速扩增(RACE)进行的扩增(Takara)以及随后基于同型特异性聚合酶链反应(PCR)进行的扩增。(ii)利用pRACE(Takara)或TOPO(Invitrogen)标准克隆载体执行抗体可变区序列的克隆。(iii)从个别细菌菌落中纯化出质粒DNA,并执行Sanger DNA测序以获得至少3个与抗体重链和轻链的每个抗体可变区对应的各个相同的cDNA序列。(iv)使用ExPASy.org翻译工具将抗体可变区cDNA序列翻译成氨基酸序列。(v)将每一单个抗体可变区的氨基酸序列提交至Integrated DNA Technologies(IDT,Coralville,IA)网站进行人密码子优化。(vi)然后,将经过密码子优化的单链可变区(scFv)核酸序列与CAR主链慢病毒主链-41BB-3z-T-CD19t中包含的核酸序列组合,具体点说,将EF1启动子内侧接粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子受体(GM-CSFR)信号肽(包括GM-CSFR信号肽)的5'端的序列添加至抗体HC可变区的5'端,随后是柔性Gly-Ser连接子序列,然后是抗体LC可变区,再然后是来自CAR主链慢病毒主链-41BB-3z-T-CD19t的连接子序列。(vii)然后将完整的核苷酸序列提交给IDT以合成gBlock。(viii)gBlock在TOPO中进行克隆,并通过Sanger DNA测序确认核酸序列。(ix)产生所有gBlock以包括通用引发序列,即CAR_通用_正向引物和CAR_通用_反向引物。(x)接下来,使用适当TOPO载体作为模板,校对DNA聚合酶,并使用CAR_通用_正向引物和选自3个选择,即选自CAR_universal_rev_sh、CAR_universal_rev_int或CAR_universal_rev_long的反向引物,执行PCR扩增。在这些引物中,rev表示反向,sh表示短连接子,int表示中等长度连接子,并且long指示CAR构建体中的长连接子。(xi)用RsrII/NheI消化接受体质粒(利用sh、int或long连接子的慢病毒主链-41BB-3z-T-CD19t),并切割质粒,并且对PCR产物进行凝胶纯化。(xii)使用RsrII/NheI消化的接受体质粒(利用sh、int或long连接子的慢病毒主链-41BB-3z-T-CD19t)和适当PCR扩增子执行Gibson组装(NEB)。(xiii)使用Sanger DNA测序验证来确认每个质粒中包含的scFv和连接子。(vii)随后进行Maxi prep和慢病毒包装。

[0024] 图5A-5C.减小与细胞膜的结合距离将增强CD33/CD3 BsAb针对人骨髓性白血病细胞的抗肿瘤功效。通过慢病毒基因转移将经历CRISPR/Cas9介导的内源性CD33基因座缺失的人CD33+骨髓性白血病细胞系((5A)ML-1、(5B)HL-60、(5C)K562)工程改造成过表达$CD33^{FL}$或$CD33^{\Delta E3-4}$。通过流式细胞术,利用V型结构域CD33抗体P67.6对靶标蛋白的相对表达量进行评估,并且代表性直方图示于右下图中。然后,将细胞用浓度为1000pg/mL的靶向V型结构域的CD33/CD3 BsAb和所示效应物:靶标细胞(E:T)比率的健康供体T细胞处理(顶图),所述供体T细胞是从健康成年志愿者收集的未刺激的外周血单核细胞富集。骨髓细胞也用所示浓度的吉妥珠单抗奥唑米星(GO)处理(左下图)。2天(对于BsAb)或3天(对于GO)后,通过流式细胞术,以利用4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)染色所测量的死亡细胞百分比的变化对细胞毒性进行定量。抗V型结构域定向的CD33/CD3BsAb是使用在本文中称为RC1或A3的构建体以scFv-scFv形式构建,该构建体利用如SEQ ID NO:377中所示并且描述于美国专利申请公布US 2016/0317657 A1中所描述的序列。*$p<0.05$;**$p<0.01$;***$p<0.001$。

[0025] 图6.减小与细胞膜的结合距离将增强CD33/CD3 BsAb针对工程改造成表达CD33蛋白质的人急性淋巴母细胞性白血病细胞的抗肿瘤功效。通过慢病毒基因转移将人$CD33^{neg}$急性淋巴母细胞性白血病(ALL)细胞系RS4;11工程改造成过表达$CD33^{FL}$或$CD33^{\Delta E3-4}$。通过流式细胞术,利用V型结构域CD33抗体P67.6对靶标蛋白的相对表达量进行评估,并且代表性直方图示于下图中。然后,将细胞用浓度为1000pg/mL的靶向V型结构域的CD33/CD3 BsAb和所

示效应物:靶标细胞(E:T)比率的健康供体T细胞处理(顶图),所述供体T细胞是从健康成年志愿者收集的未刺激的外周血单核细胞富集。2天后,通过流式细胞术,以利用4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)染色所测量的死亡细胞百分比的变化对细胞毒性进行定量。抗V型结构域定向的CD33/CD3 BsAb是使用在本文中称为RC1或A3的构建体以scFv-scFv形式构建,该构建体利用如SEQ ID NO:377中所示并且描述于美国专利申请公布US 2016/0317657 A1中所描述的序列。*p<0.05;**p<0.01;***p<0.001。

[0026] 图7.增加与细胞膜的结合距离会降低CD33/CD3 BsAb的抗肿瘤功效。通过慢病毒基因转移将经历CRISPR/Cas9介导的内源性CD33基因座缺失的人骨髓性白血病细胞系(ML-1[上图]、K562[下图])工程改造成过表达$CD33^{FL}$、$CD33^{FL}$+CD22 2D或$CD33^{FL}$+CD224D。通过流式细胞术,使用V型结构域CD33抗体P67.6对CD33构建体的相对表达量进行评估(右图)。然后,将细胞用所示浓度(以pg/mL表示)的靶向V型结构域的CD33/CD33 BsAb和1:1的E:T细胞比率的健康供体T细胞处理,所述供体T细胞是从未刺激的外周健康供体血液单核细胞中富集。2天后,通过流式细胞术,以利用4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)染色所测量的死亡细胞百分比的变化对细胞毒性进行定量。抗V型结构域定向的CD33/CD3 BsAb是使用在本文中称为RC1或A3的构建体以scFv-scFv形式构建,该构建体利用如SEQ ID NO:377中所示并且描述于美国专利申请公布US 2016/0317657 A1中所描述的序列。*p<0.05;**p<0.01;***p<0.001。

[0027] 图8A-8C.如所示,通过流式细胞术,针对CD33+亲本ML-1细胞、经历CRISPR/Cas9介导的CD33缺失的ML-1细胞("CD33 KO")和经历CRISPR/Cas9介导的CD33基因座敲除并表达非人灵长类动物CD33的ML-1细胞("NHP CD33")以及工程改造成表达$CD33^{FL}$或$CD33^{\Delta E2}$的$CD33^{neg}$REH亚系来测试(8A)鼠$CD33^{PAN}$抗体(克隆1H7、9G2、6H9、3A5、7D5、2D5)、(8B)鼠$CD33^{V型}$抗体(克隆8F5、5D12)和(8C)鼠$CD33^{C2型}$特异性抗体(克隆11D5、13E11、11D11、7E7)。显示仅二次抗体的阴性对照。

[0028] 图9.减少与细胞膜的结合距离将增强CD33嵌合抗原受体(CAR)T细胞的抗肿瘤功效。通过慢病毒基因转移将经历CRISPR/Cas9介导的内源性CD33基因座缺失的人骨髓性白血病细胞系K562工程改造成过表达$CD33^{FL}$或$CD33^{\Delta E3-4}$。通过流式细胞术,利用V型结构域CD33抗体P67.6对靶标蛋白的相对表达量进行评估,并且代表性直方图示于下图中。以铬^{51}释放量评估V型结构域定向的CAR T细胞的功效。为产生CAR T细胞,用epHIV7慢病毒转导健康供体负选择的人CD8+T细胞,所述慢病毒编码来自图3、5和6中所描述的$CD33^{V型}$/CD3 BsAb的scFv,该scFv连接至IgG_4 CH3结构域间隔子、CD28跨膜结构域、CD3ζ和4-1BB细胞内信号传导结构域以及截短的CD19(tCD19)转导标记物。将tCD19 CD8+CAR-T细胞在IL-7和IL-15(10ng/mL;Peprotech,Rocky Hill,NJ,USA)存在下进行分选和扩增,各持续14天,其中每隔一天更换培养基和细胞因子。在与铬^{51}标记的靶标一起培育4小时后,评估CAR-T细胞的细胞毒性。

[0029] 图10.AML细胞系显示出不同的CD33表面表达情况。通过Quantibrite-PE测量的CD33表达情况是通过用PE缀合的p67.6抗体对人AML细胞系染色来测量的。

[0030] 图11A-11C.将C2型定向的scFv(1H7)克隆至具有短间隔子(11A)、中等间隔子(11B)和长间隔子(11C)的嵌合抗原受体(CAR)构建体中。列出克隆的序列图谱。

[0031] 图12.1H7 CAR-T细胞在体外响应于细胞因子而扩增。用epHIV7慢病毒转导健康供

体负选择的人CD8+T细胞，所述慢病毒编码CD33^{V型}结合的的scFv 1H7，该scFv 1H7连接至具有中等长度的IgG_4CH3结构域间隔子、CD28跨膜结构域、CD3ζ和4-1BB细胞内信号传导结构域以及截短的CD19(tCD19)转导标记物(根据图11)。将tCD19 CD8+CAR-T细胞在IL-7和IL-15(10ng/mL;Peprotech,Rocky Hill,NJ,USA)存在下进行分选和扩增，各持续12天，其中每隔一天更换培养基和细胞因子。根据制造商的说明书(Nexcelcom,Lawrence,Massachusetts)，每隔一天通过Cellometer，利用碘化丙啶和吖啶橙来评估扩增、细胞直径和细胞死亡情况。

[0032] 图13.具有长间隔子的1H7 CAR-T细胞在细胞因子扩增后显示出幼稚T细胞百分比略有增加。根据图12，在IL-7和IL-15细胞因子扩增后，用针对CD45RA和CCR7的荧光缀合的抗体对细胞进行染色，以评估幼稚细胞(CCR7+CD45RA+)、中央记忆细胞(CCR7+CD45RA-)、效应记忆细胞(CCR7-CD45RA-)或效应记忆RA细胞(CCR7-CD45RA+)的百分比。然后，在四天后通过多参数流式细胞术(MFC)测量表达情况。对另一名健康供体重复实验以确认结果。

[0033] 图14A、14B.具有短、中等和长间隔子的1H7 CAR-T细胞在细胞因子扩增后显示出相当的活化、增殖(14A)和免疫检查点标记物(14B)表达。根据图12，在IL-7和IL-15细胞因子扩增后，将细胞用针对表面和细胞内活化标记物(CD69)、增殖标记物(Ki-67)和免疫检查点标记物(PD-1、TIM3、LAG-3、TIGIT、KLRG1、2B4)的荧光缀合的抗体染色。然后，在四天后通过MFC测量表达情况。对另一名健康供体重复实验以确认结果。

[0034] 图15.具有中等间隔子和短间隔子的1H7 CAR-T细胞显示出对多种AML细胞系以抗原特异性方式增强的细胞毒性。根据图12，在IL-7和IL-15细胞因子扩增后，将靶标细胞用铬^{51}(Cr^{51})标记两小时，然后使其暴露于具有短间隔子、中等(int)间隔子或长间隔子的1H7CAR-T细胞四小时。然后，收集上清液并通过闪烁计数器(TopCount,Perkin Elmer,Waltham,MA)分析Cr^{51}。细胞毒性百分比通过(样本溶解-背景)/(最大溶解-背景溶解)×100计算，其中背景溶解是Cr^{51}在四小时内的自发释放量，并且最大溶解是暴露于Triton-X100和水的细胞的Cr^{51}释放量。所有孔均以技术性重复三次操作，并利用另一名供体重复操作。

[0035] 图16.具有中等间隔子和短间隔子的1H7 CAR-T细胞显示出对多种AML细胞系以抗原特异性方式增强的增殖。根据图12，在IL-7和IL-15细胞因子扩增后，将不同间隔子长度的1H7 CAR-T细胞用羧基荧光素琥珀酰亚胺酯(CFSE)标记，并与单独的培养基或所示靶标细胞共培养。然后，在四天后通过MFC测量CFSE稀释度。对另一名健康供体重复实验以确认结果。

[0036] 图17.具有短长间隔子、中等长间隔子和长间隔子的1H7 CAR-T细胞在长时间暴露于抗原后显示出相当的免疫检查点标记物获取。根据图12，在IL-7和IL-15细胞因子扩增后，将不同间隔子长度的1H7CAR-T细胞用CFSE标记，并与单独的培养基或所示靶标细胞共培养四天。将细胞用针对PD-1、LAG-3和TIM-3的荧光缀合的抗体染色，并通过MFC评估表达全部三种(三重阳性)、两种(双阳性)、一种(单阳性)或无(三重阴性)的免疫检查点的细胞的相对比例。表达蛋白质的正荧光是相对于荧光减一(fluorescence minus one,FMO)。对另一名健康供体重复实验以确认结果。

[0037] 图18.具有短间隔子和中等间隔子的1H7 CAR-T细胞响应于抗原而显示出最高的效应细胞因子阳性细胞百分比。根据图12，在IL-7和IL-15细胞因子扩增后，将不同间隔子长度的1H7 CAR-T细胞与所示靶标细胞共培养过夜。然后，用莫能菌素(monensin)阻断蛋白

质分泌，保持四小时，然后用针对肿瘤坏死因子-α、白细胞介素-2、干扰素-γ和颗粒酶B的荧光缀合的抗体进行细胞内染色，并通过MFC评估全部四种(四重阳性)、三种(三重阳性)、两种(双阳性)、一种(单阳性)或无(三重阴性)效应分子的相对比例。表达蛋白质的阳性荧光是相对于FMO。对另一名健康供体重复实验以确认结果。

[0038] 图19.具有短间隔子和中等间隔子的CD4+1H7 CAR-T细胞响应于抗原而显示出增强的效应细胞因子产生。根据图12，在IL-7和IL-15细胞因子扩增后，将不同间隔子长度的CD4+1H7 CAR-T细胞与所示靶标细胞共培养过夜。然后，根据制造商的说明书，利用LegendPlex(Biolegend,San Diego,CA)测量上清液中分泌的细胞因子的水平。

[0039] 图20.具有短间隔子和中等间隔子的CD8+1H7 CAR-T细胞响应于抗原而显示出增强的效应细胞因子产生。根据图12，在IL-7和IL-15细胞因子扩增后，将不同间隔子长度的CD8+1H7 CAR-T细胞与所示靶标细胞共培养过夜。然后，根据制造商的说明书，利用LegendPlex(Biolegend,San Diego,CA)测量上清液中分泌的细胞因子的水平。

[0040] 图21A、21B.与具有多个供体样本的V型定向的CAR-T细胞相比，具有短间隔子(21A)和中等间隔子(21B)的1H7 CAR-T细胞显示出增强的细胞毒性。根据图12，在IL-7和IL-15细胞因子扩增后，将ML1或K562靶标细胞用Cr^{51}标记两小时，然后使其暴露于具有短间隔子(21A)或中等间隔子(21B)的C2型-(1H7)或V型(My96或RC1CD33结合区段)定向的CAR-T细胞，保持四小时。My96的氨基酸和核酸序列可见于美国专利号9,777,061，而RC1 CD33 scFv以SEQ ID NO:366提供且在美国专利申请公布US 2016/0317657 A1有描述。然后，收集上清液并通过闪烁计数器(TopCount,Perkin Elmer,Waltham,MA)分析Cr^{51}。细胞毒性百分比通过(样本溶解-背景)/(最大溶解-背景溶解)×100计算，其中背景溶解是Cr^{51}在四小时内的自发释放量，并且最大溶解是暴露于Triton-X100和水的细胞的Cr^{51}释放量。所有孔都以技术性三次重复实验操作。****$p<0.0001$，ns是指通过多重T检验，使用Benjamini、Krieger和Yekutieli的两阶段线性逐步增加程序确定不显著，其中Q＝1％。

[0041] 图22.具有中等间隔子的1H7 CAR-T细胞显示出增强的促存活紧张性和抗原诱导的AP-1信号传导分子的表达。将表达绿色荧光蛋白(GFP)、青色荧光蛋白(CFP)以及活化T细胞核因子(NFAT)、核因子κB(NFκB)和活化蛋白-1(AP-1)启动子的mCherry的Jurkat(J76)报告细胞系分别用带有1H7短、中等或长CAR的慢病毒转导。然后，将CAR-J76细胞与靶标细胞共培养24小时，然后测量GFP、CFP和mCherry的几何平均荧光强度(geoMFI)。

[0042] 图23.在免疫缺陷小鼠体内进行的体内CAR-T细胞试验的实验设置。将表达GFP、表达萤火虫荧光素酶(FFluc)的人AML细胞系静脉内(IV)注射至免疫缺陷NOD.scid.IL2rg$^{-/-}$(NSG)小鼠体内。在2周内发生确定的疾病。在小鼠接受CAR-T细胞的所有情况下，小鼠都接受1:1比率的$CD4^{+}$和CD8+CAR-T细胞的I.V.注射。在没有可用的不相关CAR-T细胞的情况下，使用磷酸盐缓冲盐水(PBS)作为对照。在腹膜内注射荧光素后，每周对小鼠抽血以评估循环肿瘤和CAR-T细胞，并每周一次进行生物发光成像(BLI)以评估疾病负荷。然后，监测小鼠的存活情况。

[0043] 图24A、24B.1H7短和中等CAR-T细胞以抗原特异性方式增强HL-60细胞系源性异种移植模型的存活率。根据图23，将小鼠用2×10^{6}HL-60AML细胞和2×10^{6}针对未在HL-60细胞上表达的抗原(CD19)的1H7短或中等CAR-T细胞或FMC63 CAR-T细胞进行治疗。每周评估肿瘤生物发光成像(24A)并监测小鼠的存活情况(24B)。线条代表单个小鼠，n＝5只/组，*p<

0.05,**p<0.01,通过对数秩检验确定。

[0044] 图25.在HL-60细胞系源性异种移植模型中,1H7中等CAR-T细胞显示出相对于短间隔子CAR-T细胞增强的体内扩增。根据图23,将小鼠用2×10^6个HL-60AML细胞或2×10^6个1H7短或中等CAR-T细胞治疗。每周通过MFC评估循环CAR-T细胞数量。点代表单只小鼠的绝对CAR-T细胞数,单线代表平均绝对循环CAR-T细胞数。

[0045] 图26A、26B.1H7中等CAR-T细胞以剂量依赖性方式增强HL-60细胞系源性异种移植模型的存活率。根据图23,将小鼠用2×10^6个HL-60AML细胞和2×10^6或1×10^7个1H7中等CAR-T细胞治疗。每周评估肿瘤生物发光成像(26A)并监测小鼠的存活情况(26B)。线条代表单个小鼠,n=5只/组,*p<0.05,**p<0.01,通过对数秩检验确定。

[0046] 图27A、27B.1H7中等CAR-T细胞在KG1α细胞系源性异种移植模型中提高存活率。根据图23,将小鼠用2×10^6个KG1αAML细胞和$2\times10^6$1H7中等CAR-T细胞治疗。每周评估肿瘤生物发光成像(27A)并监测小鼠的存活情况(27B)。线条代表单个小鼠,n=5只/组,**p<0.01,通过对数秩检验确定。

[0047] 图28A、28B.在用1H7中等CAR-T细胞治疗的KG1α细胞系源性异种移植模型中观察到抗原阴性复发。根据图23,将小鼠用2×10^6个KG1αAML细胞和$2\times10^6$1H7中等CAR-T细胞治疗。每周进行外周血测试,通过MFC评估循环肿瘤细胞上CD33的表达情况(28A)。在实验结束时,收集组织并通过MFC评估CD33的肿瘤表达情况(28B)。线代表每只小鼠的平均CD33-pos和CD33-neg细胞,对于PBS组,n=3,对于CAR-T细胞组,n=5。

[0048] 图29A、29B.在MOLM-14细胞系源性异种移植模型中,在IL-21存在下1H7 CAR-T细胞的细胞因子扩增可提高存活率。根据图23,将小鼠用在IL-7和IL-15(1H7.int CAR-T)或IL-7、IL-15和IL-21(1H7.int CAR-T+IL-21)存在下扩增的5×10^5个MOLM-14 AML细胞和5×10^5个1H7中等CAR-T细胞治疗。每周评估肿瘤生物发光成像(29A)并监测小鼠的存活情况(29B)。线条代表单个小鼠,n=5只/组,**p<0.01,通过对数秩检验确定。

[0049] 图30A-30C.CD33定向的9G2和6H9短CAR-T细胞显示出相当的细胞毒性(30A)、增殖(30B)和效应分子表达(30C)。将两种针对CD33的C2型结构域的scFv克隆至短CAR主链中。然后,在IL-7和IL-15存在下扩增被修饰成表达6H9短或9G2短CAR的T细胞。然后,如先前在图15、16和18中所描述,分别评估这些细胞响应于靶标细胞的细胞毒性(30A)、增殖(30B)和效应细胞因子产生情况(30C,TNFα、IL-2、IFNγ和GzB)。

[0050] 图31.具有中等间隔子的1H7 CD33定向的CAR-T细胞在体外显示出针对多种AML细胞系的抗原特异性溶解。使表达内源性CD33(Par)或经历CRISPR-Cas9基因缺失而缺乏CD33(KO)的Cr^{51}标记的KG1a和ML-1细胞暴露于在IL-2(50ng/mL)、IL-7和IL-15(各10ng/mL),或IL-7、IL-15和IL-21(各10ng/mL)存在下扩增的各种效应物:靶标比率的CD33定向的CD8+CAR-T细胞,保持四小时。收集上清液并通过闪烁法分析Cr^{51}浓度。

[0051] 图32A-32D.靶向9G2和1H7膜近端结构域(C2型)的CAR-T细胞显示出相对于靶向膜远端(V型)的CAR-T细胞改善的体外抗原特异性细胞毒性。根据图12,在IL-7和IL-15存在下扩增靶向V型的CD33定向的CAR-T细胞(My96,32A)或靶向C2型的CD33定向的CAR-T细胞(1H7,32B;9G2,32C)。将靶标细胞用Cr^{51}标记两小时,然后使其暴露于具有短间隔子的CAR-T细胞四小时。然后,收集上清液并通过闪烁计数器(TopCount,Perkin Elmer,Waltham,MA)分析Cr^{51}。细胞毒性百分比通过(样本溶解-背景)/(最大溶解-背景溶解)×100计算,其中背

景溶解是Cr^{51}在四小时内的自发释放量，并且最大溶解是暴露于Triton-X100和水的细胞的Cr^{51}释放量。所有孔都以技术性三次重复实验操作。比较了全部三种CAR-T细胞构建体针对表达高水平(ML1)或低水平(K562)CD33的AML靶标的特异性细胞毒性(31D)。对于9G2对比My96，****p<0.0001，***p<0.001；并且对于1H7对比My96，##p<0.01，ns无显著性，通过双因素ANOVA和事后Tukey比较确定。

[0052] 图33A-33C.靶向9G2和1H7膜近端结构域(C2型)的CAR-T细胞显示出相对于靶向膜远端(V型)的CAR-T细胞改善的体外增殖。根据图12，在IL-7和IL-15存在下扩增靶向V型的CD33定向的CAR-T细胞(My96)或靶向C2型的CD33定向的CAR-T细胞(1H7和9G2)。然后，将CAR-T细胞用CFSE标记，并与单独的培养基或所示靶标细胞共培养。然后，在四天后通过MFC测量CFSE稀释度(图33A)。然后，通过在仅培养基条件下的第一个峰确定分裂与未分裂的细胞并进行定量(33B)。比较全部三种CAR-T细胞构建体针对表达高水平(ML1)或低水平(K562)CD33的AML靶标的特异性分裂(33C)。

[0053] 图34A、34B.与靶向膜远端(V型)的CAR-T细胞相比，靶向9G2和1H7膜近端结构域(C2型)的CAR-T细胞在静止时显示出相当的免疫检查点表达量。根据图12，在IL-7和IL-15细胞因子扩增后，将靶向膜远端V型结构域(My96)或膜近端C2型结构域(1H7和9G2)的CAR-T细胞与靶标细胞或培养基共培养。然后，将细胞用针对PD-1、LAG-3和TIM-3的荧光缀合的抗体染色，并通过MFC评估表达全部三种(三重阳性)、两种(双阳性)、一种(单阳性)或无(三重阴性)的免疫检查点的细胞的相对比例(图34A)。表达蛋白质的阳性荧光是相对于FMO。在无抗原刺激情况下CAR-T细胞中的特异性免疫检查点表达(34B)。

[0054] 图35A、35B.靶向9G2和1H7膜近端结构域(C2型)的CAR-T细胞显示出相对于靶向膜远端(V型)的CAR-T细胞改善的体外多功能细胞因子产生。根据图12，在IL-7和IL-15细胞因子扩增后，将靶向膜远端V型结构域(My96)或膜近端C2型结构域(1H7和9G2)的CAR-T细胞与所示靶标细胞共培养过夜。然后，用莫能菌素阻断蛋白质分泌，保持四小时，然后用针对肿瘤坏死因子-α、白细胞介素-2、干扰素-γ和颗粒酶B的荧光缀合的抗体进行细胞内染色，并通过MFC评估全部四种(四重阳性)、三种(三重阳性)、两种(双阳性)、一种(单阳性)或无(三重阴性)效应分子的相对比例(35A)。表达蛋白质的阳性荧光是相对于FMO。比较全部三种CAR-T细胞构建体针对表达高水平(ML1)或低水平(K562)CD33的AML靶标的特异性细胞内细胞因子产生情况(35B)。

[0055] 图36.证实本公开的序列：CD33/CD3双特异性分子(SEQ ID NO:220)；1H7 scFv编码序列(SEQ ID NO:1)；6H9 scFv编码序列，经过密码子优化(SEQ ID NO:2)；9G2 scFv编码序列，经过密码子优化(SEQ ID NO:3)；2D5 scFv编码序列(SEQ ID NO:4)；5D12scFv编码序列(SEQ ID NO:5)；IgG4铰链编码序列-A(SEQ ID NO:6)；IgG4铰链编码序列-B(SEQ ID NO:7)；IgG4-int(DS)编码序列(SEQ ID NO:8)；IgG4-长间隔子编码序列(SEQ ID NO:9)；CD3ζ编码序列(SEQ ID NO:10)；CD3ζ蛋白质-A (SEQ ID NO:11)；CD3ζ蛋白质-B(SEQ ID NO:12)；4-1BB信号传导编码序列-A(SEQ ID NO:13)；4-1BB信号传导编码序列-B(SEQ ID NO:14)；4-1BB蛋白质-A(SEQ ID NO:15)；4-1BB蛋白质-B(SEQ ID NO:16)；CD28TM编码序列-A(SEQ ID NO:17)；CD28TM编码序列-B(SEQ ID NO:18)；CD28TM编码序列-C(SEQ ID NO:19)；CD28TM蛋白质-A(SEQ ID NO:20)；CD28TM蛋白质-B(SEQ ID NO:21)；tCD19编码序列(SEQ ID NO:22)；T2A编码序列(SEQ ID NO:23)；明脉扁刺蛾病毒(Thoseaasigna Virus)2A(T2A)

肽(SEQ ID NO:24);猪捷申病毒(Porcine Teschovirus-1)2A(P2A)肽(SEQ ID NO:25);马A型鼻炎病毒(Equine Rhinitis A Virus)(ERAV)2A(E2A)肽(S EQ ID NO:26);口蹄疫病毒(Foot-And-Mouth Disease Virus)2A(F2A)肽(SEQ ID NO:27);EF1启动子-A(SEQ ID NO:28);EF1启动子-B(SEQ ID NO:29);Psi(SEQ ID NO:30);RRE(SEQ ID NO:31);Flap(SEQ ID NO:32);GM-CSFR编码序列(SEQ ID NO:33);WPRE(SEQ ID NO:34);delU3(SEQ ID NO:35);R(SEQ ID NO:36);U5(SEQ ID NO:37);AmpR(SEQ ID NO:38CoE1起点(SEQ ID NO:39);SV40(SEQ ID NO:40);CMV(SEQ ID NO:41);糖基化位点;1H7-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链(SEQ ID NO:42);1H7-长-41bb-3z-T-CD19t正链(SEQ ID NO:43);1H7-sh-41bb-3z-T-CD19t正链(SEQ ID NO:44);6H9-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链(SEQ ID NO:45);9G2-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链(SEQ ID NO:46);5D12-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链(SEQ ID NO:47);CD33:CD22 4D蛋白质(SEQ ID NO:105);CD33:CD22 4D核苷酸(SEQ ID NO:106);CD33:CD22 2D蛋白质(SEQ ID NO:107);CD33:CD22 2D核苷酸(SEQ ID NO:108);CD33 V型构建体(缺失外显子3和4)蛋白质(SEQ ID NO:109);CD33 V型构建体(缺失外显子3和4)核苷酸(SEQ ID NO:110);CD33信号肽(SEQ ID NO:111);CD33信号肽编码序列(SEQ ID NO:112);6-组氨酸标签编码序列(SEQ ID NO:113);3x甘氨酸连接子;3x甘氨酸连接子编码序列;CD33ECD(SEQ ID NO:114);CD33 ECD编码序列(SEQ ID NO:115);缺少CD33氨基酸140-232的CD33 ECD(SEQ ID NO:116);缺少CD33氨基酸140-232的CD33 ECD的编码序列(SEQ ID NO:117);CD33跨膜结构域(SEQ ID NO:118);CD33跨膜结构域编码序列(SEQ ID NO:119);CD33细胞内结构域(SEQ ID NO:120);CD33细胞内结构域编码序列(SEQ ID NO:121);CD22 ECD中定义为Ig样C2型3、Ig样C2型4、Ig样C2型5、Ig样C2型6的CD22结构域的部分(SEQ ID NO:122);CD22 ECD中定义为Ig样C2型3、Ig样C2型4、Ig样C2型5、Ig样C2型6的CD22结构域的部分的编码序列(SEQ ID NO:123);CD22 ECD中定义为Ig样C2型5、Ig样C2型6的CD22结构域的部分(SEQ ID NO:124);CD22ECD中定义为Ig样C2型5、Ig样C2型6的CD22结构域的部分的编码序列(SEQ ID NO:125);1H7 VLVH scFv编码序列(SEQ ID NO:126);3A5变体1 VHVL scFv编码序列(SEQ ID NO:127);3A5变体1 VLVH scFv编码序列(SEQ ID NO:128);3A5变体2 VH VL scFv编码序列(SEQ ID NO:129);3A5变体2 VLVH scFv编码序列(SEQ ID NO:130);9G2 VLVH scFv编码序列(SEQ ID NO:131);7D5变体1 VHVL scFv编码序列(SEQ ID NO:132);7D5变体2 VHVL scFv编码序列(SEQ ID NO:133);信号肽编码序列(SEQ ID NO:134);G4Sx3连接子编码序列(SEQ ID NO:135);1H7可变轻链编码序列(SEQ ID NO:136);1H7可变重链编码序列(SEQ ID NO:137);3A5变体1和变体2可变轻链编码序列(SEQ ID NO:138);3A5变体1可变重链编码序列(SEQ ID NO:139);3A5变体2可变重链编码序列(SEQ ID NO:140);9G2可变轻链编码序列(SEQ ID NO:141);9G2可变重链编码序列(SEQ ID NO:142);7D5变体1和变体2可变轻链编码序列(SEQ ID NO:143);7D5变体1可变重链编码序列(SEQ ID NO:144);7D5变体2可变重链编码序列(SEQ ID NO:145);5D12-LvHv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链(SEQ ID NO:325);3A5v1-HvLv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链(SEQ ID NO:326);3A5v2-HvLv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链(SEQ ID NO:327);3A5v1-LvHv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链(SEQ ID NO:328);3A5v2-LvHv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链(SEQ ID NO:329);1H7-LvHv-int DS-41bb-3z-T-CD19t正链(SEQ ID NO:330);9G2-LvHv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链(SEQ ID NO:331);1H7 scFv VH-VL取向(SEQ ID NO:332);1H7 scFv VL-VH取向(SEQ ID NO:333);

9G2 scFv VH-VL取向(SEQ ID NO:334);9G2 scFv VL-VH取向(SEQ ID NO:335);5D12 scFv VH-VL取向(SEQ ID NO:336);5D12 scFv VL-VH取向(SEQ ID NO:337);3A5变体1 scFv VH-VL取向(SEQ ID NO:338);3A5变体1 scFv VL-VH取向(SEQ ID NO:339);3A5变体2 scFv VH-VL取向(SEQ ID NO:340);3A5变体2 scFv VL-VH取向(SEQ ID NO:341);人CD33全长DNA编码序列(SEQ ID NO:342);人CD33全长蛋白质(SEQ ID NO:343);9G2和/或6H9的轻链信号肽(SEQ ID NO:344);3A5v1、3A5v2,和/或2D5的轻链信号肽(SEQ ID NO:345);7D5v1和/或7D5v2的轻链信号肽(SEQ ID NO:346);11D5的轻链信号肽(SEQ ID NO:347);6H9的重链信号肽(SEQ ID NO:348);3A5v1和/或3A5v2的重链信号肽(SEQ ID NO:349);7D5v1和/或7D5v2的重链信号肽(SEQ ID NO:350);2D5的重链信号肽(SEQ ID NO:351);11D5的重链信号肽(SEQ ID NO:352);13E11的的重链信号肽(SEQ ID NO:353);My96编码序列(SEQ ID NO:354);My96_int_41BB_3z_TCD19编码序列(SEQ ID NO:355);V型定向的CD33/CD3 BsAb(RC1)(SEQ ID NO:377);V型定向的CD33/CD3 BsAb(RC1)(SEQ ID NO:378);以及V型定向的scFv蛋白质序列(SEQ ID NO:366)和编码序列(SEQ ID NO:370)。

具体实施方式

[0056] 根据世界卫生组织的数据,癌症是全球第二大死亡原因,并且在2018年估计有960万人因此而死亡。急性骨髓性白血病(AML)是由克隆性增殖性成髓细胞的恶变引起的一类癌症。AML又称为急性髓细胞白血病、急性髓细胞性白血病、急性粒细胞性白血病和急性非淋巴细胞性白血病。

[0057] 美国每年有20,000例新增AML病例(Kouchkovsky和Abdul-Hay,Blood Cancer J.6(7):e441,2016),并且每年有11,000人死于AML(American Cancer Society,2018年8月)。尽管在年轻AML患者中利用常规化学疗法可以达到60%至80%的较高完全缓解率(Döhner等人,2017.Blood.129(4):424-447),但对于65岁或以上的老年患者的治疗结果仍然不令人满意,多达70%的患者在确诊后一年内死于其疾病(Meyers等人,Appl Health Econ Health Policy,11:275-286,2013)。不幸的是,由于白血病干细胞的化疗难治性,常规疗法后复发很常见(Eppert等人,2011.Nat.Med.17(9):1086-1093),而且当前的复发/难治性(R/R)AML的治疗选择并不乐观,导致12个月的总生存率低于30%。

[0058] 多年来,选择的癌症治疗方法一直是手术、化学疗法和/或放射疗法。近年来,出现了较多的靶向疗法,这些疗法通过鉴别和利用主要在癌细胞中发现的特定分子变化来特异性靶向癌细胞。例如,许多癌细胞优先在它们的细胞表面上表达特定的标记物,并且这些标记物为基于抗体的治疗剂提供了靶标。

[0059] 靶向疗法成功的一个关键是靶标癌细胞标记物的选择。理想的靶标标记物具有免疫原性,在增殖和分化中起关键作用,仅在所有恶性细胞和恶性干细胞的表面表达,并且大部分患者应对该标记物测试呈阳性(Cheever等人,2009.Clin.Cancer Res.15(17):5323-8337)。

[0060] $CD33^{FL}$主要展示于正在成熟和成熟的髓系细胞上,并且最初在专能骨髓前体上表达。它不存在于造血系统之外,并且被认为不在多能造血干细胞上表达。与$CD33^{FL}$作为骨髓分化抗原的作用一致,它在骨髓赘瘤患者的恶性细胞上广泛表达;例如,在AML中,它可见于几乎所有病例中的至少一部分AML母细胞,并且在一些病例中可见于白血病干细胞。由于存

在这种表达模式，$CD33^{FL}$已被广泛用作AML靶向疗法的抗原。(Walter等人,Blood 119(26):6198-6208,2012;Cowan等人,Front.Biosci.(Landmark Ed)18:1311-1334,2013;Laszlo等人,Blood Ref.28(4):143-153,2014;及Walter,Expert Opin Investig Drugs 27(4):339-348,2018)虽然未缀合的单克隆CD33抗体在临床上被证实无效，但最近的几项利用CD33抗体-药物缀合物(ADC)吉妥珠单抗奥唑米星(GO)进行的随机化试验表明，AML患者亚群的生存率有所提高，由此确定了抗体在这种疾病中的价值并验证了$CD33^{FL}$是AML免疫疗法的第一个并且也是迄今为止的唯一治疗靶标(Laszlo等人,Blood Rev.28(4):143-153,2014;Godwin等人,Leukemia 31(9)31(9):1855-1868,2017)。这一数据证实CD33是AML免疫疗法的第一个(也是迄今为止唯一的)靶标。在开发新的、更有效的CD33定向治疗剂(例如抗体-药物缀合物、放射免疫缀合物、双特异性抗体、嵌合抗原受体[CAR]修饰的细胞)以克服所观察到的GO的缺点的同时，人们对于CD33作为其他恶性和非恶性病症的药物靶标的兴趣日益浓厚。这些努力包括靶向GO不识别的CD33剪接变体以及靶向其他血液系统恶性病中的CD33+肿瘤细胞、多种疾病中的CD33+骨髓源性抑制细胞(MDSC)以及阿尔茨海默氏病中的正常CD33+小胶质细胞(Walter,Expert Opin Biol Ther.2020,20(9):955-958)。

[0061] 然而，一些患者表达CD33的截短的剪接变体形式，该变体缺少外显子2并且被称为$CD33^{\Delta E2}$。在mRNA水平上，在正常造血细胞和白血病细胞中已鉴别出$CD33^{\Delta E2}$。关于白血病细胞，在29份测试的AML患者试样中全部鉴别出$CD33^{\Delta E2}$ mRNA，表明它在人AML中普遍表达。$CD33^{\Delta E2}$含有C2型Ig样结构域，但不包含CD33的V型Ig样结构域(图2)。在mRNA水平上鉴别的其他剪接变体包括$CD33^{E7a}$和$CD33^{\Delta E2/E7a}$。$CD33^{E7a}$使用了替代外显子7(E7a)，导致CD33的细胞内结构域截短。$CD33^{\Delta E2/E7a}$缺乏外显子2，并且也存在CD33细胞内结构域的截短。

[0062] 然而，目前几乎所有的商业诊断性CD33抗体和目前临床上可用的基于CD33抗体的治疗剂都识别由外显子2编码的免疫显性V型Ig样结构域(图2)。也就是说，$CD33^{\Delta E2}$和其他缺乏V型Ig样结构域的CD33蛋白质几乎都不被任何商业上和临床上可用的CD33抗体识别。这意味着，这些抗体将无法识别缺乏V型结构域的CD33的较短形式，如$CD33^{\Delta E2}$。这可以解释在一项儿科AML临床试验中得到的观察结果，即，在CD33基因中具有单核苷酸多态性导致$CD33^{\Delta E2}$优先转录和CD33FL翻译减少的患者不会受益于强化化学疗法中吉妥珠单抗奥唑米星(该药剂也结合至CD33的V型结构域)的添加。

[0063] 无论存在/不存在V型Ig样结构域都识别和结合CD33蛋白质的C2型Ig样结构域的抗体(例如结合$CD33^{\Delta E2}$和$CD33^{FL}$同种型的抗体，称为$CD33^{PAN}$抗体)将在靶向所有CD33同种型方面取得巨大进步，从而提供更广泛的治疗功效。这些泛结合抗体也将提供优势，因为它们更近地结合细胞膜(图2)。对于若干治疗靶标，经显示，靶标表位的特性对基于抗体的疗法至关重要，其中膜近端表位引起的抗肿瘤作用要比膜远端表位强效，如关于CD20、CD22、CD25和EpCAM所示。参见例如Cleary等人,J Immunol.2017;198(10):3999-4011;Lin,Pharmgenomics Pers Med.2010;3:51-59;Haso等人,Blood.2013;121(7):1165-1174;以及Bluemel等人,Cancer Immunol Immunother.2010;59(8):1197-1209。

[0064] 除基于抗体的治疗剂外，在基因工程改造免疫系统的T细胞以使其靶向和杀死不想要的细胞类型如癌细胞方面已经取得了显著的进展。这些T细胞中有许多已经被基因工程改造成表达嵌合抗原受体(CAR)。CAR是包括若干不同子组分的蛋白质，所述若干不同子组分使经过基因修饰的T细胞能够识别并杀死癌细胞。所述子组分至少包括细胞外组分和

细胞内组分。细胞外组分包括与优先存在于不想要细胞的表面上的标记物(例如CD33)特异性结合的结合结构域。结合结构域典型地是来源于单克隆抗体(mAb)的单链可变片段(scFv),但它还可以基于包括抗体样抗原结合位点的其他形式。

[0065] 当结合结构域结合此类标记物时,细胞内组分传导信号给T细胞以破坏所结合的细胞。细胞内组分基于包括效应结构域而提供此类活化信号。第一代CAR利用CD3ζ的胞质结构域作为效应结构域。第二代CAR利用CD3ζ的胞质结构域与分化簇28(CD28)或4-1BB(CD137)胞质结构域的组合作为效应结构域,而第三代CAR利用CD3ζ胞质结构域与CD28和4-1BB胞质结构域的组合作为效应结构域。

[0066] CAR还包括跨膜结构域,该跨膜结构域可以将细胞外组分连接至细胞内组分。

[0067] 也可以使用能够增加CAR的功能的其他子组分。例如,间隔子区可以为CAR提供额外的构象灵活性,通常会增加结合结构域结合靶标细胞标记物的能力。特定CAR内间隔子区的适当长度可取决于许多因素,包括靶标标记物与不想要细胞的膜表面的距离有多近或多远。

[0068] 在离体执行时,对T细胞进行基因修饰可涉及多个细胞操作步骤,并且据观察,不同的操作条件会影响细胞的癌细胞杀伤特性。因此,在设计CAR和对细胞进行基因修饰以表达CAR时,必须考虑许多因素,包括:靶标细胞标记物;间隔子的存在和/或长度;以及离体操作程序。

[0069] 本公开提供了用于治疗如AML之类CD33相关病症的嵌合抗原受体(CAR)。在特定实施方案中,CAR包括无论患者表达哪种CD33变体(例如$CD33^{FL}$或$CD33^{\Delta E2}$)都将结合CD33的结合结构域。这些CD33结合结构域被称为"泛"结合剂。在特定实施方案中,泛结合剂结合CD33的膜近端C2型Ig样结构域。在特定实施方案中,这些泛结合剂来源于以下抗体:9G2、6H9、3A5变体1(3A5v1)、3A5变体2(3A5v2)、7D5变体1(7D5v1)和7D5变体2(7D5v2)、1H7和2D5,并且可以包括这些抗体结合结构域的单链可变片段(scFv)。如本文所描述,更靠近膜近端的结合增强了CAR用于治疗AML和其他CD33+病症的免疫效应功能。本文所公开的额外CD33靶向抗体结合CD33的V型结构域并包括5D12和8F5,这为表达$CD33^{FL}$的患者提供了额外的基于CAR的治疗选择。本文所公开的额外的CD33靶向抗体仅在不存在V型结构域情况下才结合CD33的C2型结构域。这些抗体包括12B12、11D11、7E7、11D5和13E11。

[0070] 用于治疗内的抗体结合结构域可以基于结合结构域的组合,这取决于受试者是表达还是缺乏CD33的V型结构域。例如,如果受试者表达V型结构域,则可以选择包括6H9、9G2、3A5、7D5、1H7和2D5中的一个或多个结构域以及5D12和8F5中的一者或多者的组合疗法。如果受试者不表达V型结构域,则可以选择包括6H9、9G2、3A5、7D5、1H7和2D5中的一个或多个结合结构域以及12B12、11D5、13E11、11D11和7E7中的一者或多者的组合疗法。

[0071] 在特定实施方案中,本公开提供了具有短或中等间隔子区的CAR。在特定实施方案中,短间隔子区包括IgG4的铰链区(12个氨基酸)。在特定实施方案中,中等间隔子区包括IgG4的铰链区和CH3结构域(总计为131个氨基酸)。用作间隔子区的IgG4结构域可以包括防止与人Fc受体结合的突变。在特定实施方案中,这些突变包括用IgG2的前五个氨基酸(APPVA,SEQ ID NO:49)替代IgG4中CH2结构域的前六个氨基酸(APEFLG,SEQ ID NO:48)。

[0072] 在特定实施方案中,本公开提供了扩增和活化T细胞,该T细胞被基因修饰成利用细胞因子IL-7、IL-15和IL-21的组合表达本文所公开的CAR。在特定实施方案中,本公开提

供了扩增和活化T细胞，该T细胞被基因修饰成利用包括IL-2在内的细胞因子的组合表达本文所公开的CAR。利用这一细胞因子组合进行的扩增/活化引起增殖增加和抗原特异性细胞溶解。

[0073] 本公开的各个方面现更详细地描述如下：(i)免疫细胞；(ii)细胞样本收集和细胞富集；(iii)对细胞群进行基因修饰以使其表达嵌合抗原受体(CAR)；(iii-a)基因工程改造技术；(iii-b)CAR子组分；(iii-b-i)结合结构域；(iii-b-ii)间隔子区；(iii-b-iii)跨膜结构域；(iii-b-iv)细胞内效应结构域；(iii-b-v)连接子；(iii-b-vi)包括标签盒、转导标记物和/或自杀开关的控制特征；(iv)细胞活化培养条件；(v)离体制造的细胞配制物；(vi)使用方法；(vii)来源于对照群体的参考水平；(viii)示例性实施方案；(ix)实验实施例；以及(x)结束段落。这些标题仅用于组织目的，并不限制本公开的范围或解释。

[0074] (i)免疫细胞.本公开描述了被基因修饰成表达CAR的细胞。经过基因修饰的细胞可包括T细胞、B细胞、自然杀伤(NK)细胞、NK-T细胞、单核细胞/巨噬细胞、淋巴细胞、造血干细胞(HSC)、造血祖细胞(HPC)和/或HSC与HPC的混合物(即HSPC)。在特定实施方案中，经过基因修饰的细胞包括T细胞。

[0075] 已经发现了若干不同的T细胞亚群，各亚群都有不同的功能。例如，大多数的T细胞都具有以若干蛋白质的复合物形式存在的T细胞受体(TCR)。实际的T细胞受体由两条独立的肽链构成，它们是由独立的T细胞受体α和β(TCRα和TCRβ)基因产生，并且被称为α-TCR和β-TCR链。

[0076] γδT细胞代表一小部分T细胞，在它们的表面上具有独特的T细胞受体(TCR)。在γδT细胞中，TCR由一条γ链和一条δ链构成。这一组T细胞远不如αβT细胞常见(占总T细胞的2％)。

[0077] CD3在所有成熟T细胞上表达。活化的T细胞表达4-1BB(CD137)、CD69和CD25。CD5和转铁蛋白受体也在T细胞上表达。

[0078] T细胞可进一步分类为辅助细胞(CD4+T细胞)和细胞毒性T细胞(CTL，CD8+T细胞)，所述细胞毒性T细胞包括细胞溶解T细胞。T辅助细胞在免疫过程中协助其他白细胞，包括使B细胞成熟为浆细胞和活化细胞毒性T细胞和巨噬细胞等功能。这些细胞也被称为CD4+T细胞，因为它们在其表面上表达CD4。辅助T细胞当呈递肽抗原时被抗原呈递细胞(APC)表面表达的II类MHC分子活化。一旦被活化，它们会迅速分裂并分泌称为细胞因子的小蛋白质，这些蛋白质调控或帮助主动免疫反应。

[0079] 细胞毒性T细胞会破坏感染病毒的细胞和肿瘤细胞，并且还涉及移植排斥。这些细胞又被称为CD8+T细胞，因为它们在其表面上表达CD8糖蛋白。这些细胞通过结合至与I类MHC缔合的抗原来识别它们的靶标，而I类MHC几乎存在于身体每个细胞的表面。

[0080] 如本文所使用，“中央记忆”T细胞(或“TCM”)是指经历过抗原的CTL，它在其表面上表达CD62L或CCR7和CD45RO，并且相较于幼稚细胞，不表达或具有减少的CD45RA表达。在特定实施方案中，相较于幼稚细胞，中央记忆细胞对CD62L、CCR7、CD25、CD127、CD45RO和CD95的表达呈阳性，并且具有减少的CD45RA表达。

[0081] 如本文所使用，“效应记忆”T细胞(或“TEM”)是指经历过抗原的T细胞，相较于中央记忆细胞，该细胞在其表面上不表达或具有减少的CD62L表达，并且相较于幼稚细胞，该细胞不表达或具有减少的CD45RA表达。在特定实施方案中，相较于幼稚细胞或中央记忆细胞，

效应记忆细胞对CD62L和CCR7的表达呈阴性，并且具有可变的CD28和CD45RA表达。相较于记忆或幼稚T细胞，效应T细胞对颗粒酶B和穿孔素呈阳性。

[0082] 如本文所使用，“幼稚”T细胞是指未经历过抗原的T细胞，相较于中央或效应记忆细胞，该细胞表达CD62L和CD45RA，但不表达CD45RO。在特定实施方案中，幼稚CD8+T淋巴细胞的特征在于表达幼稚T细胞的表型标记物，包括CD62L、CCR7、CD28、CD127和CD45RA。

[0083] 自然杀伤细胞(又称为NK细胞、K细胞和杀伤细胞)响应于干扰素或巨噬细胞源性细胞因子而活化。它们用于控制病毒感染，而适应性免疫反应产生可以清除感染的抗原特异性细胞毒性T细胞。NK细胞表达CD8、CD16和CD56，但不表达CD3。

[0084] NK细胞包括NK-T细胞。NK-T细胞是一种特殊的T细胞群体，它们表达半不变T细胞受体(TCR ab)和典型地与自然杀伤细胞相关联的表面抗原。NK-T细胞促成抗细菌和抗病毒免疫反应，并促进肿瘤相关免疫监督或免疫抑制。与自然杀伤细胞一样，NK-T细胞也可以诱导穿孔素相关、Fas相关和TNF相关的细胞毒性。活化的NK-T细胞能够产生IFN-γ和IL-4。在特定实施方案中，NK-T细胞是CD3+/CD56+的。

[0085] 巨噬细胞(及其前体，单核细胞)驻留于身体的每个组织中(在某些情况下为小胶质细胞、库普弗细胞(Kupffer cell)和破骨细胞形式)，在那里，它们吞噬凋亡的细胞、病原体和其他非自身组分。单核细胞/巨噬细胞表达CD11b;F4/80;CD68;CD11c;IL-4Rα;和/或CD163。

[0086] 未成熟的树突状细胞(即，预活化)吞噬周边的抗原和其他非自身组分，随后以活化的形式迁移至淋巴组织的T细胞区域，在那里，它们将抗原呈递给T细胞。树突状细胞表达CD1a、CD1b、CD1c、CD1d、CD21、CD35、CD39、CD40、CD86、CD101、CD148、CD209和DEC-205。

[0087] 造血干细胞/祖细胞或HSPC是指造血干细胞和造血祖细胞的组合。

[0088] 造血干细胞是指未分化的造血细胞，它们能够在体内自我更新，在体外基本上无限制的增殖，并且能够分化成所有其他造血细胞类型。

[0089] 造血祖细胞是来源于造血干细胞或胎儿组织的能够进一步分化为成熟细胞类型的细胞。在某些实施方案中，造血祖细胞是$CD24^{lo}Lin^{-}CD117^{+}$造血祖细胞。HPC可以分化成(i)骨髓祖细胞，该细胞最终产生单核细胞和巨噬细胞、中性粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、红细胞、巨核细胞/血小板，或树突状细胞;或(ii)淋巴祖细胞，该细胞最终产生T细胞、B细胞和NK细胞。

[0090] 相对于其他类型的造血细胞，HSPC可以对在HSPC上以较高水平表达的特定标记物呈阳性。例如，此类标记物包括CD34、CD43、CD45RO、CD45RA、CD59、CD90、CD109、CD117、CD133、CD166、HLA DR或其组合。此外，相对于其他类型的造血细胞，HSPC还可对表达的标记物呈阴性。例如，此类标记物包括Lin、CD38或其组合。优选地，HSPC是$CD34^{+}$细胞。

[0091] 细胞或细胞群体对特定标记物呈“阳性”或表达特定标记物的表述是指特定标记物在细胞上或细胞中可检测地存在。当提到表面标记物时，该术语可以指通过流式细胞术，例如通过用特异性结合至该标记物的抗体染色并检测所述抗体所检测的表面表达的存在，其中染色可通过流式细胞术检测，其染色水平基本上高于在其他方面相同的条件下使用同型匹配的对照进行相同程序所检测到的染色，和/或其染色水平基本上类似于已知对该标记物呈阳性的细胞的水平，和/或其染色水平基本上高于已知对该标记物呈阴性的细胞的水平。

[0092] 细胞或细胞群体对特定标记物呈“阴性”或缺乏标记物的表达的表述是指特定标记物在细胞上或细胞中基本上无法检测的存在。当提到表面标记物时，该术语可以指通过流式细胞术，例如通过用特异性结合至该标记物的抗体染色并检测所述抗体所检测的表面表达不存在，其中染色通过流式细胞术没有检测到，其染色水平基本上高于在其他方面相同的条件下使用同型匹配的对照进行相同程序所检测到的染色，和/或其染色水平基本上低于已知对该标记物呈阳性的细胞的水平，和/或其染色水平基本上类似于已知对该标记物呈阴性的细胞的水平。

[0093] 根据本公开的教导进行基因修饰的细胞可以是患者来源的细胞(自体细胞)，或者在适当时可以是同种异体细胞，并且还可以是在体内或离体的。

[0094] (ii)细胞样本收集和细胞富集.样本收集和富集方法是本领域技术人员已知的。在一些实施方案中，细胞来源于细胞系。在一些实施方案中，细胞是获自异种来源，例如获自小鼠、大鼠、非人灵长类动物或猪。在特定实施方案中，细胞来源于人。

[0095] 在一些实施方案中，T细胞来源于或分离自样本，例如全血、外周血单核细胞(PBMC)、白细胞、骨髓、胸腺、组织活检、肿瘤、白血病、淋巴瘤、淋巴结、肠相关淋巴组织、粘膜相关淋巴组织、脾脏、其他淋巴组织、肝、肺、胃、肠、结肠、肾、胰腺、乳房、骨、前列腺、子宫颈、睾丸、卵巢、扁桃体或其他器官和/或由此得到的细胞。在特定实施方案中，来自受试者的循环血液的细胞是例如通过单采血液成分法或白细胞去除术获得。在特定实施方案中，样本含有淋巴细胞，包括T细胞、单核细胞、粒细胞、B细胞、其他有核白细胞、HSC、HPC、HSPC、红细胞和/或血小板，并且在某些方面，含有除红细胞和血小板以外的细胞，并需要进一步处理。

[0096] 在一些实施方案中，对从受试者收集的血细胞进行洗涤，例如以去除血浆部分并将细胞置于适当的缓冲液或培养基中用于后续处理步骤。在特定实施方案中，将细胞用磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤。在一些实施方案中，洗涤溶液不含钙和/或镁和/或许多或所有二价阳离子。根据制造商的说明，可以使用半自动“流通”离心机(例如Cobe2991细胞处理器，Baxter)完成洗涤。也可以执行切向流过滤(TFF)。在特定实施方案中，细胞可以在洗涤后再悬浮于多种生物相容性缓冲液中，例如不含Ca++/Mg++的PBS。

[0097] 分离可以包括各种细胞制备和分离步骤中的一者或多者，包括基于一种或多种特性，如大小、密度、敏感性或对特定试剂的抗性和/或对抗体或其他结合搭配物的亲和力，例如免疫亲和力进行的分离。在特定实施方案中，分离是使用相同的装置或设备在单一工艺流中依序和/或同时进行。在特定实施方案中，不同群体的分离、培养和/或工程改造是由相同的起始组合物或材料，例如由相同的样本进行的。

[0098] 在特定实施方案中，可以通过使用基于密度的细胞分离方法和相关方法来富集样本中的T细胞。例如，通过溶解红细胞并用Percoll或Ficoll梯度离心样本，可以将白细胞与外周血中的其他细胞类型分离。

[0099] 在特定实施方案中，可以使用未富集特定T细胞类型的整体T细胞群体。在特定实施方案中，选定的T细胞类型可以根据基于细胞标记物进行的正选择和/或负选择进行富集和/或分离。在正选择中，结合有细胞标记物的细胞被保留下来以供进一步使用。在负选择中，未被捕获剂结合的细胞，例如针对细胞标记物的抗体被保留下来以供进一步使用。在一些实例中，两个部分可以被保留下来以供进一步使用。

[0100] 分离不需要引起特定细胞群体或表达特定标记物的细胞的100％富集或去除。例如,特定类型细胞的正选择或富集是指增加此类细胞的数量或百分比,但不需要完全不存在不表达标记物的细胞。同样,特定类型细胞的负选择、去除或耗尽是指减少此类细胞的数量或百分比,但不需要所有此类细胞的完全去除。

[0101] 在一些实例中,进行多轮分离步骤,其中来自一个步骤的经历正选择或负选择的部分经历另一个分离步骤,例如随后的正选择或负选择。

[0102] 在一些实施方案中,针对细胞标记物的抗体或结合结构域与固体支撑物或基质如磁珠或顺磁珠结合,以允许分离细胞用于正选择和/或负选择。例如,在一些实施方案中,使用免疫磁性(或亲和磁性)分离技术分开或分离细胞和细胞群体(评述于Methods in Molecular Medicine,第58卷:Metastasis Research Protocols,第2卷:Cell Behavior In Vitro and In Vivo,第17-25页,编辑:S.A.Brooks和U.Schumacher©Humana Press Inc.,Totowa,NJ中);另参见US4,452,773、US 4,795,698、US 5,200,084和EP 452342。

[0103] 在一些实施方案中,基于亲和力的选择是通过磁活化细胞分选(MACS)进行(Miltenyi Biotec,Auburn,CA)。MACS系统能够高纯度选择附着有磁化粒子的细胞。在某些实施方案中,MACS以在施加外部磁场后依序洗脱非靶标物质和靶标物质的模式操作。也就是说,附着于磁化粒子上的细胞保持在适当的位置,而未附着的物质被洗脱。然后,在完成此第一洗脱步骤后,被截留在磁场中并被阻止洗脱的物质以某种方式释放,由此使它们可以被洗脱和回收。在某些实施方案中,非靶标细胞被标记并从异质细胞群体中耗尽。

[0104] 在一些实施方案中,本文所描述的细胞群体是通过流式细胞术进行收集和富集(或耗尽),其中针对多种细胞表面标记物染色的细胞被携带于流体流中。在一些实施方案中,本文所描述的细胞群体是通过制备规模的(FACS)分选进行收集和富集(或耗尽)。在某些实施方案中,本文所描述的细胞群体是通过使用微机电系统(MEMS)芯片与基于FACS的检测系统进行收集和富集(或耗尽)(参见例如WO 2010/033140;Cho等人(2010)Lab Chip 10,1567-1573;和Godin等人(2008)J Biophoton.1(5):355-376)。在这两种情况下,细胞可以用多种标记物进行标记,由此允许以高纯度分离充分确定的细胞亚群。

[0105] 以上描述了用于不同T细胞亚群的细胞标记物。在特定实施方案中,T细胞的特定亚群,例如对一种或多种表面标记物呈阳性或高水平表达一种或多种表面标记物的细胞是通过正选择或负选择技术分离,所述表面标记物例如为CCR7、CD45RO、CD8、CD27、CD28、CD62L、CD127、CD4和/或CD45RA T细胞。

[0106] CD3+,CD28+T细胞可以通过抗CD3/抗CD28缀合的磁珠(例如DYNABEADS®M-450CD3/CD28 T细胞扩增剂)进行正选择和扩增。

[0107] 在特定实施方案中,使用了CD8+或CD4+选择步骤来分离CD4+辅助细胞和CD8+细胞毒性T细胞。此类CD8+和CD4+群体可通过对在一种或多种幼稚、记忆和/或效应T细胞亚群上表达或以相对较高的程度表达的标记物进行正选择或负选择而进一步分选成亚群。

[0108] 在一些实施方案中,进行中央记忆T(TCM)细胞的富集。在特定实施方案中,记忆T细胞存在于CD8+外周血淋巴细胞的两个CD62L亚群中。PBMC可以例如通过使用抗CD8和抗CD62L抗体富集或耗尽CD62L、CD8和/或CD62L+CD8+部分。

[0109] 在一些实施方案中,中央记忆T(TCM)细胞的富集是基于CCR7、CD45RO、CD27、CD62L、CD28、CD3和/或CD127的阳性或高表面表达量;在某些方面,它是基于对表达或高水

平表达CD45RA和/或颗粒酶B的细胞的负选择。在一些方面，富集TCM细胞的CD8+群体的分离是通过耗尽表达CD4、CD14、CD45RA的细胞以及对表达CCR7、CD45RO和/或CD62L的细胞进行正选择或富集来进行。在一方面，中央记忆T(TCM)细胞的富集是以基于CD4表达选择的阴性细胞部分开始进行，所述细胞经历基于CD14和CD45RA表达进行的负选择和基于CD62L进行的正选择。这种选择在一些方面是同时进行的，而在其他方面是按任一次序依序进行的。在一些方面，用于制备CD8+细胞群体或亚群的相同的基于CD4表达的选择步骤也被用于产生CD4+细胞群体或亚群，由此使得由基于CD4的分离得到阳性和阴性部分两者任选地在一个或多个另外的正选择或负选择步骤之后被保留下来。

[0110] 在一个特定实例中，PBMC样本或其他白细胞样本经历CD4+细胞的选择，其中阴性和阳性部分都被保留。然后，基于CD14和CD45RA或ROR1的表达对阴性部分进行负选择，并根据中央记忆T细胞的标记物特征，如CCR7、CD45RO和/或CD62L进行正选择，其中正选择和负选择以任一次序进行。

[0111] 在特定实施方案中，细胞富集得到大量经历CD8+FAC分选的细胞群体。

[0112] 其他细胞类型可以基于已知的标记物谱和技术进行富集。例如，CD34+HSC、HSP和HSPC可以使用与磁性粒子直接或间接缀合的抗CD34抗体以及磁性细胞分离器，例如CliniMACS®细胞分离系统(Miltenyi Biotec,Bergisch Gladbach,Germany)进行富集。

[0113] (iii)对细胞群体进行基因修饰以使其表达嵌合抗原受体(CAR).细胞群体被基因修饰成表达本文所描述的嵌合抗原受体(CAR)。

[0114] (iii-a)基因工程改造技术.可通过本领域已知的任何方法将编码本文所公开的CAR的所希望基因引入细胞中，所述方法包括转染、电穿孔、显微注射、脂转染、磷酸钙介导的转染、用包括该基因序列的病毒或噬菌体载体感染、细胞融合、染色体介导的基因转移、微细胞介导的基因转移、原生质球融合、体内纳米粒子介导的递送等。本领域已知许多用于将外来基因引入细胞中的技术(参见例如Loeffler和Behr,1993,Meth.Enzymol.217:599-618;Cohen等人,1993,Meth.Enzymol.217:618-644;Cline,1985,Pharmac.Ther.29:69-92)并且这些技术都可以使用，条件是受体细胞的必要发育和生理功能没有被过度破坏。所述技术可以将基因稳定地转移至细胞中，由此使基因可以被细胞表达，并且在某些情况下，优选地可以被其细胞后代遗传和表达。

[0115] 术语“基因”是指编码本文所公开的包括CD33结合结构域的CAR的核酸序列(可与多核苷酸或核苷酸序列互换使用)。这一定义包括各种序列多态性、突变和/或序列变体，其中此类改变基本上不会影响所编码的CAR的功能。术语“基因”不仅可以包括编码序列，而且还可以包括调控区，如启动子、增强子和终止区。所述术语还可包括从mRNA转录物剪接的所有内含子和其他DNA序列，以及由替代性剪接位点产生的变体。编码分子的基因序列可以是指导嵌合分子表达的DNA或RNA。这些核酸序列可以是转录成RNA的DNA链序列或翻译成蛋白质的RNA序列。核苷酸序列包括全长核苷酸序列以及来源于全长蛋白质的非全长序列两者。所述序列还可包括天然序列的简并密码子或可被引入以在特定免疫细胞中提供密码子偏好的序列。正如本领域普通技术人员所理解的，本公开通篇参考了完整基因序列的部分。

[0116] 本文提供了编码CAR的基因序列，并且还可以通过合成或重组方法，由相关氨基酸序列和本文所提供的其他描述容易地制备。在实施方案中，编码这些序列中任一者的基因序列也可以在编码序列的5’和/或3’端具有一个或多个限制酶位点，以便能将编码该序列

的基因序列容易地切除以及用编码不同序列的另一个基因序列置换。在实施方案中，可以对编码序列的基因序列进行密码子优化以使其在哺乳动物细胞中表达。

[0117] “编码”是指基因中的特定核苷酸序列(如cDNA或mRNA)用作合成其他大分子(如确定的氨基酸序列)的模板的特性。因此，如果转录和翻译对应于某一基因的mRNA在细胞或其他生物系统中产生蛋白质，则该基因编码该蛋白质。“编码蛋白质的基因序列”包括彼此互为简并形式并且编码相同的氨基酸序列或具有基本上类似的形式和功能的氨基酸序列的所有核苷酸序列。

[0118] 编码所表达的CAR的多个部分的多核苷酸基因序列可以彼此以及与相关调控序列可操作地连接。例如，调控序列和外源核酸序列之间可存在功能连接(functional linkage)，由此引起外源核酸序列的表达。对于另一个实例，当第一核酸序列被置于与第二核酸序列的功能关系中时，第一核酸序列可以与第二核酸序列可操作地连接。例如，如果启动子影响编码序列的转录或表达，则该启动子可操作地连接至该编码序列。一般来说，可操作地连接的DNA序列是连续的，并且在必要或有帮助的情况下，将编码区接合至同一阅读框中。

[0119] 在本文所描述的任何实施方案中，多核苷酸可以包括编码自裂解多肽的多核苷酸，其中编码自裂解多肽的多核苷酸位于编码CAR构建体的多核苷酸与编码转导标记物(例如tEGFR)的多核苷酸之间。示例性的自裂解多肽包括来自猪捷申病毒-1(P2A)、明脉扁刺蛾病毒(T2A)、马A型鼻炎病毒(E2A)、口蹄疫病毒(F2A)的2A肽或其变体(参见图19)。2A肽的其他示例性核酸和氨基酸序列阐述于例如Kim等人(PLOS One 6:e18556(2011)中。

[0120] “载体”是能够转运另一个核酸的核酸分子。载体可以是例如质粒、粘粒、病毒或噬菌体。“表达载体”是当存在于适当环境中时能够指导由该载体所携带的一个或多个基因编码的蛋白质的表达的载体。

[0121] “慢病毒”是指能够感染分裂细胞和非分裂细胞的逆转录病毒属。慢病毒的几个实例包括HIV(人免疫缺陷病毒:包括HIV 1型和HIV 2型)；马感染性贫血病毒；猫免疫缺陷病毒(FIV)；牛免疫缺陷病毒(BIV)；和猿猴免疫缺陷病毒(SIV)。

[0122] “逆转录病毒”是具有RNA基因组的病毒。“γ逆转录病毒”是指逆转录病毒科的一个属。示例性γ逆转录病毒包括小鼠干细胞病毒、鼠白血病病毒、猫白血病病毒、猫肉瘤病毒和禽网状内皮组织增生病毒。

[0123] 可使用逆转录病毒载体(参见Miller等人,1993,Meth.Enzymol.217:581-599)。在此类实施方案中，将待表达的基因克隆至逆转录病毒载体中以将其递送至细胞中。在特定实施方案中，逆转录病毒载体包括病毒基因组包装和整合所必需的所有顺式作用序列，即，(a)在载体两端的长末端重复序列(LTR)或其部分；(b)用于负链和正链DNA合成的引物结合位点；以及(c)将基因组RNA并入病毒粒子所必需的包装信号。关于逆转录病毒载体的更多细节可见于Boesen等人,1994,Biotherapy 6:291-302;Clowes等人,1994,J.Clin.Invest.93:644-651;Kiem等人,1994,Blood 83:1467-1473;Salmons和Gunzberg,1993,Human Gene Therapy 4:129-141;以及Grossman和Wilson,1993,Curr.Opin.in Genetics and Devel.3:110-114。腺病毒、腺相关病毒(AAV)和甲病毒也可以使用。参见Kozarsky和Wilson,1993,Current Opinion in Genetics and Development 3:499-503;Rosenfeld等人,1991,Science 252:431-434;Rosenfeld等人,1992,Cell 68:143-155;

Mastrangeli等人,1993,J.Clin.Invest.91:225-234;Walsh等人,1993,Proc.Soc.Exp.Bioi.Med.204:289-300;和Lundstrom,1999,J.Recept.Signal Transduct。Res.19:673-686。其他基因递送方法包括使用哺乳动物人工染色体(Vos,1998,Curr.Op.Genet.Dev.8:351-359);脂质体(Tarahovsky和Ivanitsky,1998,Biochemistry(Mosc)63:607-618);核酶(Branch and Klotman,1998,Exp.Nephrol.6:78-83);和三联体DNA(Chan和Glazer,1997,J.Mol.Med.75:267-282)。

[0124] 有大量可用的病毒载体适合本公开,包括那些被鉴别用于人基因疗法应用的病毒载体(参见Pfeifer和Verma,2001,Ann.Rev.Genomics Hum.Genet.2:177)。使用逆转录病毒和慢病毒病毒载体的方法以及用包括CAR转基因的病毒粒子转导哺乳动物宿主细胞的包装细胞描述于例如US 8,119,772;Walchli等人,2011,PLoS One 6:327930;Zhao等人,2005,J.Immunol.174:4415;Engels等人,2003,Hum.Gene Ther.14:1155;Frecha等人,2010,Mol.Ther.18:1748;和Verhoeyen等人,2009,Methods Mol.Biol.506:97中。逆转录病毒和慢病毒载体构建体和表达系统也为可商购的。

[0125] 也可以使用靶向基因工程改造方法。CRISPR(规律成簇间隔短回文重复序列)/Cas(CRISPR相关蛋白)核酸酶系统是一种用于基因工程改造的经过工程改造的核酸酶系统,该系统是基于细菌系统。关于CRISPR-Cas系统及其组分的信息描述于例如US8697359、US8771945、US8795965、US8865406、US8871445、US8889356、US8889418、US8895308、US8906616、US8932814、US8945839、US8993233和US8999641以及其相关申请;以及WO2014/018423、WO2014/093595、WO2014/093622、WO2014/093635、WO2014/093655、WO2014/093661、WO2014/093694、WO2014/093701、WO2014/093709、WO2014/093712、WO2014/093718、WO2014/145599、WO2014/204723、WO2014/204724、WO2014/204725、WO2014/204726、WO2014/204727、WO2014/204728、WO2014/204729、WO2015/065964、WO2015/089351、WO2015/089354、WO2015/089364、WO2015/089419、WO2015/089427、WO2015/089462、WO2015/089465、WO2015/089473和WO2015/089486、WO2016205711、WO2017/106657、WO2017/127807以及其相关申请。

[0126] 特定实施方案利用锌指核酸酶(ZFN)作为基因编辑剂。ZFN是一类被工程改造成在特定位置处结合并裂解DNA的位点特异性核酸酶。ZFN被用于在DNA序列的特定位点处引入双链断裂(DSB),由此使得ZFN能够靶向多种不同细胞中的基因组内的独特序列。有关ZFN和在本公开的教导内有用的ZFN的附加信息,参见例如US 6,534,261;US 6,607,882;US 6,746,838;US 6,794,136;US 6,824,978;6,866,997;US 6,933,113;6,979,539;US 7,013,219;US 7,030,215;US 7,220,719;US 7,241,573;US 7,241,574;US 7,585,849;US 7,595,376;US 6,903,185;US 6,479,626;US 2003/0232410和US 2009/0203140,以及Gaj等人,Nat Methods,2012,9(8):805-7;Ramirez等人,Nucl Acids Res,2012,40(12):5560-8;Kim等人,Genome Res,2012,22(7):1327-33;Urnov等人,Nature Reviews Genetics,2010,11:636-646;Miller等人,Nature biotechnology 25,778-785(2007);Bibikova等人,Science 300,764(2003);Bibikova等人,Genetics 161,1169-1175(2002);Wolfe等人,Annual review of biophysics and biomolecular structure 29,183-212(2000);Kim等人,Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 93,1156-1160(1996);和Miller等人,The EMBO journal 4,1609-1614(1985)。

[0127] 特定实施方案可使用转录活化因子样效应物核酸酶(TALEN)作为基因编辑剂。

TALEN是指包括转录活化因子样效应物(TALE)DNA结合蛋白和DNA裂解结构域的融合蛋白。TALEN被用于通过在DNA中诱导双重DSB,由此诱导细胞中的修复机制来编辑基因和基因组。一般来说,两个TALEN必须结合并侧接在DNA裂解结构域的靶标DNA位点的两侧以进行二聚化并诱导DSB。有关TALEN的更多信息,参见US 8,440,431;US 8,440,432;US 8,450,471;US 8,586,363;和US 8,697,853;以及Joung和Sander,Nat Rev Mol Cell Biol,2013,14(l):49-55;Beurdeley等人,Nat Commun,2013,4:1762;Scharenberg等人,Curr Gene Ther,2013,13(4):291-303;Gaj等人,Nat Methods,2012,9(8):805-7;Miller等人,Nature biotechnology 29,143-148(2011);Christian等人,Genetics 186,757-761(2010);Boch等人,Science 326,1509-1512(2009);以及Moscou和Bogdanove,Science 326,1501(2009)。

[0128] 特定实施方案可利用MegaTAL作为基因编辑剂。MegaTAL具有单链稀有裂解核酸酶结构,其中TALE与大范围核酸酶的DNA裂解结构域融合。大范围核酸酶,又称为归巢核酸内切酶,是在同一结构域中同时具有DNA识别和核酸酶功能的单肽链。与TALEN相比,megaTAL只需要递送单一肽链来获得功能活性。

[0129] 已经描述了对靶标细胞类型进行选择性体内基因修饰的纳米粒子并且这些纳米粒子可以在本公开的教导中使用。在特定实施方案中,纳米粒子可以是在WO2014153114、WO2017181110和WO201822672中描述的那些。

[0130] (iii-b)CAR子组分.如先前所描述,CAR分子包括若干不同的子组分,它们允许经过基因修饰的细胞识别和杀死不想要的细胞,例如癌细胞。所述子组分至少包括细胞外组分和细胞内组分。细胞外组分包括与优先存在于不想要细胞的表面上的标志物特异性结合的结合结构域。当结合结构域结合此类标记物时,细胞内组分活化细胞以破坏所结合的细胞。CAR还包括跨膜结构域,该结构域将细胞外组分与细胞内组分以及可以增加CAR功能的其他子组分连接起来。例如,包括间隔子区和/或一个或多个连接子序列可以使CAR具有额外的构象灵活性,通常增加结合结构域结合靶标细胞标记物的能力。

[0131] (iii-b-i)结合结构域.本公开基于结合CD33的抗体提供了新开发的用于CAR中的结合结构域。抗体由两个基因产生,即,重链基因和轻链基因。一般来说,抗体包括两个相同的重链拷贝和两个相同轻链拷贝。在可变重链和可变轻链中,称为互补决定区(CDR)的区段决定表位结合。每条重链具有三个CDR(即,CDRH1、CDRH2和CDRH3),每条轻链具有三个CDR(即,CDRL1、CDRL2和CDRL3)。CDR区侧接有框架残基(FR)。给定CDR或FR的精确氨基酸序列边界可使用许多众所周知的方案中的任一者容易地确定,包括以下描述的那些:Kabat等人(1991)"Sequences of Proteins of Immunological Interest,"第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,Md.(Kabat编号方案);Al-Lazikani等人(1997)J Mol Biol 273:927-948(Chothia编号方案);Maccallum等人(1996)J Mol Biol 262:732-745(Contact编号方案);Martin等人(1989)Proc.Natl.Acad.Sci.,86:9268-9272(AbM编号方案);North等人(2011)J Mol Biol406(2):228-56(North编号方案);Lefranc M P等人(2003)Dev Comp Immunol 27(1):55-77(IMGT编号方案);以及Honegger和Pluckthun(2001)J Mol Biol 309(3):657-670("Aho"编号方案)。给定CDR或FR的边界可取决于用于鉴别的方案而变化。例如,Kabat方案是基于结构比对,而Chothia方案是基于结构信息。Kabat和Chothia方案两者的编号都是基于最常见的抗体区域序列长度,并且在一

些抗体中可见利用插入字母提供的插入(例如“30a”)以及缺失。这两种方案将某些插入和缺失(“插入缺失(indel)”)放置在不同的位置,由此产生不同的编号。Contact方案是基于复杂晶体结构的分析,并且在许多方面与Chothia编号方案类似。在特定实施方案中,本文所公开的抗体CDR序列是根据Kabat编号。North编号在CDR环构象的结构分析中使用较长的序列。可以使用ABodyBuilder等软件程序识别CDR残基。

[0132] 用于CAR中的CD33结合结构域来源于抗体1H7、6H9、9G2、2D5、5D12、3a5v1、3A5v2、7D5v1、7D5v2、8F5、12B12、11D11、7E7、11D5和13E11。如别处所示,抗体的选择是基于结合CD33的V型结构域;无论存在或不存在V型结构域都结合C2型结构域(泛结合剂);或仅在不存在V型结构域情况下结合C2型结构域。

[0133] 本文所提供的抗体的CDR集合提供于下。CD33 CDR集合是指3个轻链CDR和3个重链CDR,它们一起引起与CD33的结合。

[0134] 表1:使用North的抗体CDR序列.

[0135]

抗体	CDR	序列	SEQ ID NO:
1H7	CDRL1	RASQDINYYLN	50
	CDRL2	YYSSRLHS	51
	CDRL3	QQDDALPYT	52
	CDRH1	KASGYAFSNYWMN	53
	CDRH2	QINPGDGDTN	54
	CDRH3	AREDRDYFDY	55
6H9	CDRL1	RASQDINIYLN	56
	CDRL2	YYTSRLHS	57
	CDRL3	QQGDTLPWT	58
	CDRH1	AASGFTFSSYTMS	59
	CDRH2	TISGDGGNTY	60
	CDRH3	ARQGTGTDYFDY	61

[0136]

抗体	CDR	序列	SEQ ID NO:
9G2	CDRL1	KTSQDIYNYLN	62
	CDRL2	YYTSRLHS	57
	CDRL3	QQGDTLPWT	58
	CDRH1	TASGFTFSDYYMS	63
	CDRH2	SINYDGGSTY	64
	CDRH3	ARDRGDGDYFDY	65
2D5	CDRL1	KASQNVGTNVV	66
	CDRL2	YSASDRYS	67
	CDRL3	QQYNIYPYT	68
	CDRH1	KASGYTFTDYDMH	69
	CDRH2	AIDPETGGTA	70
	CDRH3	TSDYDYFGV	71
5D12	CDRL1	KASQDIKSYLS	72
	CDRL2	YYATTLAD	180
	CDRL3	LHHGESPWT	74
	CDRH1	RASGYAFSNYWMN	181
	CDRH2	QIYPGNFNTD	182
	CDRH3	ARFFDFGAYFTLDY	183
3A5v1	CDRL1	KASQSVGSDVA	184
	CDRL2	YLASNRHT	185
	CDRL3	QQYNIYPYT	68
	CDRH1	KASGYTFTDYEMH	186
	CDRH2	SIDPETGVTA	187
	CDRH3	TSDYGYFDV	188
3A5v2	CDRL1	KASQSVGSDVA	184
	CDRL2	YLASNRHT	185
	CDRL3	QQYNIYPYT	68
	CDRH1	KASGYTFTDYEMH	186
	CDRH2	SIDPETGVTA	187
	CDRH3	TSDYGYFNV	189
7D5v1	CDRL1	RASQDIFNYLN	190
	CDRL2	YYASRLHS	191
	CDRL3	QQGDTLPYT	192
	CDRH1	TVSGFSLTSYNIN	193
	CDRH2	VIWTGGDTN	194
	CDRH3	VRDGTGTGDYFDY	195
7D5v2	CDRL1	RASQDIFNYLN	190
	CDRL2	YYASRLHS	191
	CDRL3	QQGDTLPYT	192
	CDRH1	TVSGFSLTSYNIN	193

[0137]

抗体	CDR	序列	SEQ ID NO:
	CDRH2	VIWTGGDTN	194
	CDRH3	VRDGTGTGDHFDY	196
8F5	CDRL1	KSSQSLLYSRNQYNFLA	146
	CDRL2	YWASTRES	197
	CDRL3	QQYYSYPYT	148
	CDRH1	AASGFTFSDFYMY	198
	CDRH2	FISNAGVTTY	199
	CDRH3	TKSDYDGAWFPY	200
12B12	CDRL1	RSSQSLLHSNGITYLY	152
	CDRL2	YQMSNLAS	201
	CDRL3	AQNLELPPT	154
	CDRH1	KASGYTFTTYWMH	202
	CDRH2	AIYPGNSDTS	203
	CDRH3	EIYDGYHFIY	204
11D11	CDRL1	RASQDISNYLN	158
	CDRL2	YYTSRLHS	57
	CDRL3	QQGSTLPPT	160
	CDRH1	ATSGFTFSDFYME	205
	CDRH2	ASRNKANDYTTE	206
	CDRH3	TRDTGPMDY	207
7E7	CDRL1	KSSQSLLDSDGKTYLS	164
	CDRL2	HLVSKLDS	208
	CDRL3	WQGTHFPLT	166
	CDRH1	SFSGFSLNSYGMGIG	209
	CDRH2	HIVWWDDNKY	210
	CDRH3	ARDGGYSLFAY	211
11D5	CDRL1	RSNKSLLHSNGITYLY	170
	CDRL2	YQMSNLAS	201
	CDRL3	AQNLELPPT	154
	CDRH1	KASGYTFTSYWMH	212
	CDRH2	AIYCGNSDTS	213
	CDRH3	KIYDGYHFDY	214
13E11	CDRL1	KASHGVEYAGAHYMN	174
	CDRL2	YAASNLGS	215
	CDRL3	QQSNEDPRT	176
	CDRH1	KASGYTFTDYTLH	216
	CDRH2	WFYPTSGSIN	217
	CDRH3	ARHKFGFDY	218

[0138] 表2:使用IMGT的抗体CDR序列

[0139]

抗体	CDR	序列	SEQ ID NO:
1H7	CDRL1	QDINYY	219
	CDRL2	YSS	N/A
	CDRL3	QQDDALPYT	52
	CDRH1	GYAFSNYW	221
	CDRH2	INPGDGDT	222
	CDRH3	AREDRDYFDY	55
6H9	CDRL1	QDINIY	223
	CDRL2	YTS	N/A
	CDRL3	QQGDTLPWT	58
	CDRH1	GFTFSSYT	225
	CDRH2	ISGDGGNT	226
	CDRH3	ARQGTGTDYFDY	61
9G2	CDRL1	QDIYNY	227
	CDRL2	YTS	N/A
	CDRL3	QQGDTLPWT	58
	CDRH1	GFTFSDYY	228
	CDRH2	INYDGGST	229
	CDRH3	ARDRGDGDYFDY	65
2D5	CDRL1	QNVGTN	230
	CDRL2	SAS	N/A
	CDRL3	QQYNIYPYT	68
	CDRH1	GYTFTDYD	232
	CDRH2	IDPETGGT	233
	CDRH3	TSDYDYFGV	71
5D12	CDRL1	QDIKSY	234
	CDRL2	YAT	N/A
	CDRL3	LHHGESPWT	74
	CDRH1	GYAFSNYW	221
	CDRH2	IYPGNFNT	236
	CDRH3	ARFFDFGAYFTLDY	183
3A5v1	CDRL1	QSVGSD	237
	CDRL2	LAS	N/A
	CDRL3	QQYNIYPYT	68
	CDRH1	GYTFTDYE	239
	CDRH2	IDPETGVT	240
	CDRH3	TSDYGYFDV	188
3A5v2	CDRL1	QSVGSD	237
	CDRL2	LAS	N/A
	CDRL3	QQYNIYPYT	68
	CDRH1	GYTFTDYE	239

[0140]

抗体	CDR	序列	SEQ ID NO:
	CDRH2	IDPETGVT	240
	CDRH3	TSDYGYFNV	189
7D5v1	CDRL1	QDIFNY	241
	CDRL2	YAS	N/A
	CDRL3	QQGDTLPYT	192
	CDRH1	GFSLTSYN	243
	CDRH2	IWTGGDT	244
	CDRH3	VRDGTGTGDYFDY	195
7D5v2	CDRL1	QDIFNY	241
	CDRL2	YAS	N/A
	CDRL3	QQGDTLPYT	192
	CDRH1	GFSLTSYN	243
	CDRH2	IWTGGDT	244
	CDRH3	VRDGTGTGDHFDY	196
8F5	CDRL1	QSLLYSRNQYNF	245
	CDRL2	WAS	N/A
	CDRL3	QQYYSYPYT	148
	CDRH1	GFTFSDFY	247
	CDRH2	ISNAGVTT	248
	CDRH3	TKSDYDGAWFPY	200
12B12	CDRL1	QSLLHSNGITY	249
	CDRL2	QMS	N/A
	CDRL3	AQNLELPPT	154
	CDRH1	GYTFTTYW	251
	CDRH2	IYPGNSDT	252
	CDRH3	EIYDGYHFIY	204
11D11	CDRL1	QDISNY	253
	CDRL2	YTS	N/A
	CDRL3	QQGSTLPPT	160
	CDRH1	GFTFSDFY	247
	CDRH2	SRNKANDYTT	254
	CDRH3	TRDTGPMDY	207
7E7	CDRL1	QSLLDSDGKTY	255
	CDRL2	LVS	N/A
	CDRL3	WQGTHFPLT	166
	CDRH1	GFSLNSYGMG	257
	CDRH2	IVWWDDNK	258
	CDRH3	ARDGGYSLFAY	211
11D5	CDRL1	KSLLHSNGITY	259
	CDRL2	QMS	N/A

抗体	CDR	序列	SEQ ID NO:
	CDRL3	AQNLELPPT	154
	CDRH1	GYTFTSYW	260
	CDRH2	IYCGNSDT	261
	CDRH3	KIYDGYHFDY	214
13E11	CDRL1	HGVEYAGAHY	262
	CDRL2	AAS	N/A
	CDRL3	QQSNEDPRT	176
	CDRH1	GYTFTDYT	264
	CDRH2	FYPTSGSI	265
	CDRH3	ARHKFGFDY	218

[0141]

[0142] 表3:使用Kabat的抗体CDR序列.

抗体	CDR	序列	SEQ ID NO:
1H7	CDRL1	RASQDINYYLN	50
	CDRL2	YSSRLHS	266
	CDRL3	QQDDALPYT	52
	CDRH1	NYWMN	267
	CDRH2	QINPGDGDTNYNGKFKG	268
	CDRH3	EDRDYFDY	269
6H9	CDRL1	RASQDINIYLN	56
	CDRL2	YTSRLHS	159
	CDRL3	QQGDTLPWT	58
	CDRH1	SYTMS	270
	CDRH2	TISGDGGNTYYSDSVKG	271
	CDRH3	QGTGTDYFDY	272
9G2	CDRL1	KTSQDIYNYLN	62
	CDRL2	YTSRLHS	159
	CDRL3	QQGDTLPWT	58
	CDRH1	DYYMS	273
	CDRH2	SINYDGGSTYYLDSLKS	274
	CDRH3	DRGDGDYFDY	275
2D5	CDRL1	KASQNVGTNVV	66
	CDRL2	SASDRYS	276
	CDRL3	QQYNIYPYT	68
	CDRH1	DYDMH	277
	CDRH2	AIDPETGGTAYNQNFKG	278
	CDRH3	DYDYFGV	279
5D12	CDRL1	KASQDIKSYLS	72
	CDRL2	YATTLAD	73

[0143]

[0144]

抗体	CDR	序列	SEQ ID NO:
	CDRL3	LHHGESPWT	74
	CDRH1	NYWMN	267
	CDRH2	QIYPGNFNTDYNGQFKG	76
	CDRH3	FFDFGAYFTLDY	77
3A5v1	CDRL1	KASQSVGSDVA	184
	CDRL2	LASNRHT	280
	CDRL3	QQYNIYPYT	68
	CDRH1	DYEMH	281
	CDRH2	SIDPETGVTAYNQKFTG	282
	CDRH3	DYGYFDV	283
3A5v2	CDRL1	KASQSVGSDVA	184
	CDRL2	LASNRHT	280
	CDRL3	QQYNIYPYT	68
	CDRH1	DYEMH	281
	CDRH2	SIDPETGVTAYNQKFTG	282
	CDRH3	DYGYFNV	284
7D5v1	CDRL1	RASQDIFNYLN	190
	CDRL2	YASRLHS	285
	CDRL3	QQGDTLPYT	192
	CDRH1	SYNIN	286
	CDRH2	VIWTGGDTNYNSAFMS	287
	CDRH3	DGTGTGDYFDY	288
7D5v2	CDRL1	RASQDIFNYLN	190
	CDRL2	YASRLHS	285
	CDRL3	QQGDTLPYT	192
	CDRH1	SYNIN	286
	CDRH2	VIWTGGDTNYNSAFMS	293
	CDRH3	DGTGTGDHFDY	289
8F5	CDRL1	KSSQSLLYSRNQYNFLA	146
	CDRL2	WASTRES	147
	CDRL3	QQYYSYPYT	148
	CDRH1	DFYMY	290
	CDRH2	FISNAGVTTYYPDTVEG	150
	CDRH3	SDYDGAWFPY	151
12B12	CDRL1	RSSQSLLHSNGITYLY	152
	CDRL2	QMSNLAS	153
	CDRL3	AQNLELPPT	154
	CDRH1	TYWMH	291
	CDRH2	AIYPGNSDTSYNQKFKG	292
	CDRH3	YDGYHFIY	293

[0145]

抗体	CDR	序列	SEQ ID NO:
11D11	CDRL1	RASQDISNYLN	158
	CDRL2	YTSRLHS	159
	CDRL3	QQGSTLPPT	160
	CDRH1	DFYME	294
	CDRH2	ASRNKANDYTTEYKASVKG	295
	CDRH3	DTGPMDY	163
7E7	CDRL1	KSSQSLLDSDGKTYLS	164
	CDRL2	LVSKLDS	296
	CDRL3	WQGTHFPLT	166
	CDRH1	SYGMGIG	297
	CDRH2	HIVWWDDNKYYKPDLKS	298
	CDRH3	DGGYSLFAY	169
11D5	CDRL1	RSNKSLLHSNGITYLY	170
	CDRL2	QMSNLAS	153
	CDRL3	AQNLELPPT	154
	CDRH1	SYWMH	299
	CDRH2	AIYCGNSDTSYNQKFKG	300
	CDRH3	YDGYHFDY	173
13E11	CDRL1	KASHGVEYAGAHYMN	174
	CDRL2	AASNLGS	175
	CDRL3	QQSNEDPRT	176
	CDRH1	DYTLH	301
	CDRH2	WFYPTSGSINYNERFKD	302
	CDRH3	HKFGFDY	179

[0146] 表4:使用Chothia的抗体CDR序列.

[0147]

抗体	CDR	序列	SEQ ID NO:
1H7	CDRL1	RASQDINYYLN	50
	CDRL2	YSSRLHS	266
	CDRL3	QQDDALPYT	52
	CDRH1	GYAFSNY	303
	CDRH2	NPGDGD	304
	CDRH3	EDRDYFDY	269
6H9	CDRL1	RASQDINIYLN	56
	CDRL2	YTSRLHS	159
	CDRL3	QQGDTLPWT	58
	CDRH1	GFTFSSY	305
	CDRH2	SGDGGN	306
	CDRH3	QGTGTDYFDY	272

[0148]

抗体	CDR	序列	SEQ ID NO:
9G2	CDRL1	KTSQDIYNYLN	62
	CDRL2	YTSRLHS	159
	CDRL3	QQGDTLPWT	58
	CDRH1	GFTFSDY	307
	CDRH2	NYDGGS	308
	CDRH3	DRGDGDYFDY	275
2D5	CDRL1	KASQNVGTNVV	66
	CDRL2	SASDRYS	276
	CDRL3	QQYNIYPYT	68
	CDRH1	GYTFTDY	309
	CDRH2	DPETGG	310
	CDRH3	DYDYFGV	279
5D12	CDRL1	KASQDIKSYLS	72
	CDRL2	YATTLAD	73
	CDRL3	LHHGESPWT	74
	CDRH1	GYAFSNY	303
	CDRH2	YPGNFN	311
	CDRH3	FFDFGAYFTLDY	77
3A5v1	CDRL1	KASQSVGSDVA	184
	CDRL2	LASNRHT	280
	CDRL3	QQYNIYPYT	68
	CDRH1	GYTFTDY	309
	CDRH2	DPETGV	312
	CDRH3	DYGYFDV	283
3A5v2	CDRL1	KASQSVGSDVA	184
	CDRL2	LASNRHT	280
	CDRL3	QQYNIYPYT	68
	CDRH1	GYTFTDY	309
	CDRH2	DPETGV	312
	CDRH3	DYGYFNV	284
7D5v1	CDRL1	RASQDIFNYLN	190
	CDRL2	YASRLHS	285
	CDRL3	QQGDTLPYT	192
	CDRH1	GFSLTSY	313
	CDRH2	WTGGD	314
	CDRH3	DGTGTGDYFDY	288
7D5v2	CDRL1	RASQDIFNYLN	190
	CDRL2	YASRLHS	285
	CDRL3	QQGDTLPYT	192
	CDRH1	GFSLTSY	313

[0149]

抗体	CDR	序列	SEQ ID NO:
	CDRH2	WTGGD	314
	CDRH3	DGTGTGDHFDY	289
8F5	CDRL1	KSSQSLLYSRNQYNFLA	146
	CDRL2	WASTRES	147
	CDRL3	QQYYSYPYT	148
	CDRH1	GFTFSDF	315
	CDRH2	SNAGVT	316
	CDRH3	SDYDGAWFPY	151
12B12	CDRL1	RSSQSLLHSNGITYLY	152
	CDRL2	QMSNLAS	153
	CDRL3	AQNLELPPT	154
	CDRH1	GYTFTTY	317
	CDRH2	YPGNSD	318
	CDRH3	YDGYHFIY	293
11D11	CDRL1	RASQDISNYLN	158
	CDRL2	YTSRLHS	159
	CDRL3	QQGSTLPPT	160
	CDRH1	GFTFSDF	315
	CDRH2	RNKANDYT	319
	CDRH3	DTGPMDY	163
7E7	CDRL1	KSSQSLLDSDGKTYLS	164
	CDRL2	LVSKLDS	296
	CDRL3	WQGTHFPLT	166
	CDRH1	GFSLNSYGM	320
	CDRH2	VWWDDN	321
	CDRH3	DGGYSLFAY	169
11D5	CDRL1	RSNKSLLHSNGITYLY	170
	CDRL2	QMSNLAS	153
	CDRL3	AQNLELPPT	154
	CDRH1	GYTFTSY	322
	CDRH2	YCGNSD	323
	CDRH3	YDGYHFDY	173
13E11	CDRL1	KASHGVEYAGAHYMN	174
	CDRL2	AASNLGS	175
	CDRL3	QQSNEDPRT	176
	CDRH1	GYTFTDY	309
	CDRH2	YPTSGS	324
	CDRH3	HKFGFDY	179

[0150] 表5:抗体CDR序列-Set 5.

[0151]

抗体	CDR	序列	SEQ ID NO:
1H7	CDRL1	RASQDINYYLN	50
	CDRL2	YYSSRLHS	51
	CDRL3	QQDDALPYT	52
	CDRH1	KASGYAFSNYWMN	53
	CDRH2	QINPGDGDTN	54
	CDRH3	AREDRDYFDY	55
6H9	CDRL1	RASQDINIYLN	56
	CDRL2	YYTSRLHS	57
	CDRL3	QQGDTLPWT	58
	CDRH1	AASGFTFSSYTMS	59
	CDRH2	TISGDGGNTY	60
	CDRH3	ARQGTGTDYFDY	61
9G2	CDRL1	KTSQDIYNYLN	62
	CDRL2	YYTSRLHS	57
	CDRL3	QQGDTLPWT	58
	CDRH1	TASGFTFSDYYMS	63
	CDRH2	SINYDGGSTY	64
	CDRH3	ARDRGDGDYFDY	65
2D5	CDRL1	KASQNVGTNVV	66
	CDRL2	YSASDRYS	67
	CDRL3	QQYNIYPYT	68
	CDRH1	KASGYTFTDYDMH	69
	CDRH2	AIDPETGGTA	70
	CDRH3	TSDYDYFGV	71
5D12	CDRL1	KASQDIKSYLS	72
	CDRL2	YATTLAD	73
	CDRL3	LHHGESPWT	74
	CDRH1	GYAFSNYWMN	75
	CDRH2	QIYPGNFNTDYNGQFKG	76
	CDRH3	FFDFGAYFTLDY	77
8F5	CDRL1	KSSQSLLYSRNQYNFLA	146
	CDRL2	WASTRES	147
	CDRL3	QQYYSYPYT	148
	CDRH1	SGFTFSDFYMY	149
	CDRH2	FISNAGVTTYYPDTVEG	150
	CDRH3	SDYDGAWFPY	151
12B12	CDRL1	RSSQSLLHSNGITYLY	152
	CDRL2	QMSNLAS	153
	CDRL3	AQNLELPPT	154
	CDRH1	GYTFTTYWMH	155

[0152]

抗体	CDR	序列	SEQ ID NO:
	CDRH2	AIYPGNSDTSYNQ	156
	CDRH3	YDGYHFI	157
11D11	CDRL1	RASQDISNYLN	158
	CDRL2	YTSRLHS	159
	CDRL3	QQGSTLPPT	160
	CDRH1	SGFTFSDFYME	161
	CDRH2	ASRNKANDYTTEY	162
	CDRH3	DTGPMDY	163
7E7	CDRL1	KSSQSLLDSDGKTYLS	164
	CDRL2	VSKLDSG	165
	CDRL3	WQGTHFPLT	166
	CDRH1	GFSLNSYGMGIG	167
	CDRH2	HIWWDDNKYYKPDLKS	168
	CDRH3	DGGYSLFAY	169
11D5	CDRL1	RSNKSLLHSNGITYLY	170
	CDRL2	QMSNLAS	153
	CDRL3	AQNLELPPT	154
	CDRH1	GYTFTSYWMH	171
	CDRH2	AIYCGNSDTSYNQ	172
	CDRH3	YDGYHFDY	173
13E11	CDRL1	KASHGVEYAGAHYMN	174
	CDRL2	AASNLGS	175
	CDRL3	QQSNEDPRT	176
	CDRH1	GYTFTDYTLH	177
	CDRH2	WFYPTSGSINYNE	178
	CDRH3	HKFGFDY	179

[0153] 具体实施方案包括来源于用于CAR的1H7、6H9、9G2、2D5、5D12、3a5v1、3A5v2、7D5v1、7D5v2、8F5、12B12、11D11、7E7、11D5或13E11的CDR集合、VL或VH。此类scFv的实例提供于图36中。scFv可以呈VH-VL取向或VL-VH取向形成。用于CAR的scFv也可以由这些抗体的可变链配制而成。

[0154] 在特定实施方案中,1H7抗体包括:可变轻链,该可变轻链包括序列:DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDINYYLNWYQQKPDGTVKLLIYYSSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFSLTISNLEQEDIATYFCQQDDALPYTFGGGTKLEIK(SEQ ID NO:356);和可变重链,该可变重链包括序列:

[0155] QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYAFSNYWMNWVKQRPGKGLEWIGQINPGDGDTNYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDRDYFDYWGQGTTLTVSS(SEQ ID NO:357)。

[0156] 在特定实施方案中,6H9抗体包括:可变轻链,该可变轻链包括序列:DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDINIYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGDTLPWTFGGGTKLEIK(SEQ ID NO:358);和可变重链,该可变重链包括序列:

[0157] EVMLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYTMSWVRQTPEKRLEWVATISGDGGNTYYSDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLRSEDTALYYCARQGTGTDYFDYWGQGTTLTVS(SEQ ID NO:359)。

[0158] 在特定实施方案中,9G2抗体包括:可变轻链,该可变轻链包括序列:DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCKTSQDIYNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGGGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGDTLPWTFGGGTKLEIK(SEQ ID NO:360);和可变重链,该可变重链包括序列:

[0159] EVKLVESEGGLVQPGSSMKLSCTASGFTFSDYYMSWVRQVPEKGLEWVASINYDGGSTYYLDSLKSRFIISRDNTKNILYLQMSSLKSEDTATYYCARDRGDGDYFDYWGQGTTLTVSS(SEQ ID NO:361)。

[0160] 在特定实施方案中,2D5抗体包括:可变轻链,该可变轻链包括序列:DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVVWYHKKPGQSPKGLIYSASDRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLTINNVQSEDLAEYFCQQYNIYPYTFGGGTKLEIK(SEQ ID NO:362);和可变重链,该可变重链包括序列:

[0161] QVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYTFTDYDMHWVKQTPVHGLEWIGAIDPETGGTAYNQNFKGKAILTVDKSSRIAYMELRSLTSEDSAVFYCTSDYDYFGVWGTGTTVTVSS(SEQ ID NO:363)。

[0162] 在特定实施方案中,3A5变体1抗体包括:可变轻链,该可变轻链包括序列:

[0163] DVVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQSVGSDVAWYQQRPGRCPKALIYLASNRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNIYPYTFGGGTKLEIK(SEQ ID NO:364);

[0164] 和可变重链,该可变重链包括序列:

[0165] QVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYTFTDYEMHWIKQTPVHGLEWIGSIDPETGVTAYNQKFTGKAIVTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCTSDYGYFDVWGTGTTVTVSS(SEQ ID NO:365)。

[0166] 在特定实施方案中,3A5变体2抗体包括:可变轻链,该可变轻链包括序列:

[0167] DVVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQSVGSDVAWYQQRPGRCPKALIYLASNRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNIYPYTFGGGTKLEIK(SEQ ID NO:364);

[0168] 和可变重链,该可变重链包括序列:

[0169] QVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYTFTDYEMHWIKQTPVHGLEWIGSIDPETGVTAYNQKFTGKAIVTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCTSDYGYFNVWGTGTTVTVSS(SEQ ID NO:367)。

[0170] 在特定实施方案中,7D5变体1抗体包括:可变轻链,该可变轻链包括序列:

[0171] DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDIFNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYASRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTIHNLEQEDIATYFCQQGDTLPYTFGGGTKLEIK(SEQ ID NO:368);

[0172] 和可变重链,该可变重链包括序列:

[0173] QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYNINWIRQPPGKGLEWLGVIWTGGDTNYNSAFMSRLSISKDNSKSQLFLKMNSLQTDDTAIYYCVRDGTGTGDYFDYWGQGTTLTVSS(SEQ ID NO:369)。

[0174] 在特定实施方案中,7D5变体2抗体包括:可变轻链,该可变轻链包括序列:

[0175] DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDIFNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYASRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTIHNLEQEDIATYFCQQGDTLPYTFGGGTKLEIK(SEQ ID NO:368);

[0176] 和可变重链,该可变重链包括序列:

[0177] QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYNINWIRQPPGKGLEWLGVIWTGGDTNYNSAFMSRLSISKDNSKSQLFLKMNSLQTDDTAIYYCVRDGTGTGDHFDYWGQGTTLTVSS(SEQ ID NO:371)。

[0178] 在特定实施方案中,CD33^{V型}抗体包括5D12。在特定实施方案中,5D12抗体包括:可变轻链,该可变轻链包括序列:DIKMTQSPSSIYASLGERVTINCKASQDIKSYLSWYQQKPWKSPKTLIYYATTLADGVPSRFSGSGSGQDYSLTISSLESDDTATYYCLHHGESPWTFGEGTKLEIK(SEQ ID NO:372);和可变重链,该可变重链包括序列:

[0179] QVQLQQSGAEVVKPGASVKISCRASGYAFSNYWMNWVKQRPGKGLEWIGQIYPGNFNTDYNGQFKGKA

TLTVDKSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARFFDFGAYFTLDYWGQGTSVTVSS(SEQ ID NO:373)。

[0180] 在特定实施方案中,CD33^{V型}抗体包括8F5。在特定实施方案中,8F5抗体包括:可变轻链,该可变轻链包括序列:DIVMSQSPSSLPVSVGEKVTLSCKSSQSLLYSRNQYNFLAWYQQRPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVKAEDLAVYYCQQYYSYPYTFGGGTKLEIK(SEQ ID NO:374);和可变重链,该可变重链包括序列:

[0181] EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSDFYMYWVRQTPEKRLEWVAFISNAGVTTYYPDTVEGRFTISRDNAKNTLYLQMSRLMSEDTAMYYCTKSDYDGAWFPYWGQGTLVTVS(SEQ ID NO:375)。

[0182] 在特定实施方案中,CD33^{C2型}抗体包括12B12。在特定实施方案中,12B12抗体包括:可变轻链,该可变轻链包括序列:

[0183] DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSQSLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCAQNLELPPTFGGGTKLEIK(SEQ ID NO:376);和可变重链,该可变重链包括以下序列:

[0184] EVQLQQSGTVLARPGASVKMSCKASGYTFTTYWMHWIKQSPGQGLEWIGAIYPGNSDTSYNQKFKGKAKLTAVTSASTAYMELSSLTNEDSAVYYCEIYDGYHFIYWGQGTTLTVSS(SEQ ID NO:224)。

[0185] 在特定实施方案中,CD33^{C2型}抗体包括11D11。在特定实施方案中,11D11抗体包括:可变轻链,该可变轻链包括序列:DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGSTLPPTFGGGTKLEIK(SEQ ID NO:231);和可变重链,该可变重链包括序列:

[0186] EVNLVESGGGLVQSGRSLRLSCATSGFTFSDFYMEWVRQAPGKGLEWIAASRNKANDYTTEYKASVKGRFIVSRDTSQSILYLQMNALRAEDTAIYYCTRDTGPMDYWGQGTSVTVSS(SEQ ID NO:235)。

[0187] 在特定实施方案中,CD33^{C2型}抗体包括7E7。在特定实施方案中,7E7抗体包括可变轻链,该可变轻链包括序列:DVVMTQTPLILSVTIGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLSWLLQRPGQSPKRLIHLVSKLDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWQGTHFPLTFGAGTKLELK(SEQ ID NO:238);和可变重链,该可变重链包括序列:

[0188] QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLNSYGMGIGWIRQPSGKGLEWLAHIVWWDDNKYYKPDLKSRLTVSKDTSKNQVFLKIANVDTTDTATYFCARDGGYSLFAYWGQGTLVTVSV(SEQ ID NO:242)。

[0189] 在特定实施方案中,CD33^{C2型}抗体包括11D5。在特定实施方案中,11D5抗体包括:可变轻链,该可变轻链包括序列:DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSNKSLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCAQNLELPPTFGGGTKLEIK(SEQ ID NO:246);和可变重链,该可变重链包括序列:

[0190] EVQFQQSETVLARPGTSVKLSCKASGYTFTSYWMHWLKQRPGQGLEWIGAIYCGNSDTSYNQKFKGKAKLTAVTSATTAYMELSSLTNEDSAVYYCKIYDGYHFDYWGQGTTLTVSS(SEQ ID NO:250)。

[0191] 在特定实施方案中,CD33^{C2型}抗体包括13E11。在特定实施方案中,13E11抗体包括:可变轻链,该可变轻链包括序列:DIVLTQSPVSLAVSLGQRATISCKASHGVEYAGAHYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASNLGSGIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDSATYYCQQSNEDPRTFGGGTKLEIK(SEQ ID NO:256);和可变重链,该可变重链包括序列:

[0192] KVQLQQSGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTDYTLHWLKQRSGQGLEWIGWFYPTSGSINYNERFKDKATLTADKSSSTVYMELSRLTSVDSAVYFCARHKFGFDYWGQGTTLTVSS(SEQ ID NO:263)。

[0193] 在一些情形中,可以根据本领域已知的方法,基于本文所描述的结合结构域制备

额外的scFv并用于CAR中(参见例如Bird等人,(1988)Science 242:423-426;及Huston等人,(1988)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883)。ScFv分子可以通过使用柔性多肽连接子将抗体的VH区和VL区连接在一起而产生。如果使用短多肽连接子(例如在5-10个氨基酸之间),则链内折叠被阻止。还需要链间折叠以使两个可变区一起形成功能性表位结合位点。关于连接子取向和大小的实例,参见例如Hollinger等人,1993 Proc Natl Acad.Sci.U.S.A.90:6444-6448;US 2005/0100543;US 2005/0175606;US 2007/0014794;以及WO2006/020258;和WO2007/024715。更具体点说,用于联接scFv的VL和VH的连接子序列一般是五至35个氨基酸长。在特定实施方案中,VL-VH连接子包括五至35个、十至30个氨基酸或15至25个氨基酸。连接子长度的变化可以保持或增强活性,由此在活性研究中产生卓越的功效。scFv常用作CAR的结合结构域。

[0194] 其他结合片段,例如Fv、Fab、Fab'、F(ab')2,也可用于本文所公开的CAR内。用于CAR中的基于抗体的结合结构域形式的额外实例包括基于scFv的grababody和可溶性VH结构域抗体。这些抗体仅使用重链可变区形成结合区。参见例如Jespers等人,Nat.Biotechnol.22:1161,2004;Cortez-Retamozo等人,Cancer Res.64:2853,2004;Baral等人,Nature Med.12:580,2006;和Barthelemy等人,J.Biol.Chem.283:3639,2008。

[0195] 在特定的实施方案中,结合结构域包含人源化抗体或其工程化片段。在特定的实施方案中,非人抗体是人源化的,其中抗体的一个或多个氨基酸残基被修饰以增加与在人中天然产生的抗体或其片段的相似性。这些非人氨基酸残基通常被称为"输入(import)"残基,所述残基通常取自"输入"可变结构域。如本文所提供的,人源化抗体或抗体片段包含来自非人免疫球蛋白分子的一个或多个CDR和框架区,其中包括框架的氨基酸残基完全或大部分来源于人种系。人源化抗体可以使用本领域已知的多种技术产生,所述技术包括CDR移植(参见例如欧洲专利号EP 239,400;WO 91/09967;以及US 5,225,539、US 5,530,101和US 5,585,089)、镶饰或表面重塑(参见例如EP 592,106和EP 519,596;Padlan,1991,Molecular Immunology,28(4/5):489-498;Studnicka等人,1994,Protein Engineering,7(6):805-814;以及Roguska等人,PNAS,91:969-973,1994);链改组(参见例如US.5,565,332)),以及在例如US 2005/0042664、US 2005/0048617、US 6,407,213、US 5,766,886、WO 9317105,Tan等人,J.Immunol.,169:1119-25,2002,Caldas等人,Protein Eng.,13(5):353-60,2000,Morea等人,Methods,20(3):267-79,2000,Baca等人,J.Biol.Chem.,272(16):10678-84,1997,Roguska等人,Protein Eng.,9(10):895-904,1996,Couto等人,Cancer Res.,55(增刊23):5973s-5977s,1995,Couto等人,Cancer Res.,55(8):1717-22,1995,Sandhu,Gene,150(2):409-10,1994,以及Pedersen等人,J.Mol.Biol.,235(3):959-73,1994中所公开的技术。通常,框架区中的框架残基将被来自CDR供体抗体的对应残基取代,以改变,例如改善CD33结合。这些框架取代是通过本领域众所周知的方法鉴别,例如通过模拟CDR和框架残基的相互作用来鉴别对于CD33结合很重要的框架残基以及通过序列比较来鉴别在特定位置处不常见的框架残基。(参见例如US 5,585,089;以及Riechmann等人,1988,Nature,332:323)。

[0196] 功能变体包括一个或多个不显著影响蛋白质的生理作用的残基添加或取代。功能片段包括一个或多个不显著影响蛋白质的生理作用的缺失或截短。可以通过在活化研究或结合研究中观察实验可比较的结果来确认显著影响的缺乏。细胞内结构域(例如细胞内信

号传导结构域)的功能变体和功能片段当处于本公开的活化状态时,将传输与野生型参考相当的活化或抑制信号。结合结构域的功能变体和功能片段以与野生型参考相当的水平结合它们的同源抗原或配体。

[0197] 在特定实施方案中,当与本文所公开的抗体的VL相比较时,本公开的结合结构域中的VL区来源于或基于本文所公开的抗体的VL并且含有一个或多个(例如2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个)插入、一个或多个(例如2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个)缺失、一个或多个(例如2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个)氨基酸取代(例如保守氨基酸取代)或上述变化的组合。插入、缺失或取代可以是在VL区中的任何地方,包括在这一区的氨基末端或羧基末端或两端,条件是每个CDR包括零变化或至多一个、两个或三个变化,并且含有经过修饰的VL区的结合结构域仍然可以按类似于野生型结合结构域的亲和力特异性结合其靶标。

[0198] 在特定实施方案中,当与本文所公开的抗体的VH相比较时,本公开的结合结构域中的VH区来源于或基于本文所公开的抗体的VH并且含有一个或多个(例如2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个)插入、一个或多个(例如2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个)缺失、一个或多个(例如2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个)氨基酸取代(例如保守氨基酸取代或非保守氨基酸取代)或上述变化的组合。插入、缺失或取代可以是在VH区中的任何地方,包括在这一区的氨基末端或羧基末端或两端,条件是每个CDR包括零变化或至多一个、两个或三个变化,并且含有经过修饰的VH区的结合结构域仍然可以按类似于野生型结合结构域的亲和力特异性结合其靶标。

[0199] 在特定实施方案中,结合结构域包括或是与轻链可变区(VL)或重链可变区(VH)或两者的氨基酸序列具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、至少99.5%或100%同一性的序列,其中每个CDR相对于特异性结合CD33的本文所公开的抗体或其片段或衍生物包括零变化或至多一个、两个或三个变化。

[0200] (iii-b-ii)间隔子区被用于产生与其他CAR子组分的适当距离和/或柔性。如所示,在特定实施方案中,间隔子区的长度是针对结合表达CD33的细胞并介导破坏而定制的。在特定实施方案中,间隔子区长度可以基于细胞标记物表位的位置、结合结构域对表位的亲和力和/或CD33靶向剂在CD33结合后介导细胞破坏的能力来选择。

[0201] 间隔子区典型地包括具有10至250个氨基酸、10至200个氨基酸、10至150个氨基酸、10至100个氨基酸、10至50个氨基酸或10至25个氨基酸的那些间隔子区。

[0202] 在特定实施方案中,间隔子区是5个氨基酸、8个氨基酸、10个氨基酸、12个氨基酸、14个氨基酸、20个氨基酸、21个氨基酸、26个氨基酸、27个氨基酸、45个氨基酸或50个氨基酸。这些长度评定为短间隔子区。

[0203] 在特定实施方案中,间隔子区是100个氨基酸、110个氨基酸、120个氨基酸、125个氨基酸、128个氨基酸、131个氨基酸、135个氨基酸、140个氨基酸、150个氨基酸、160个氨基酸或170个氨基酸。这些长度评定为中等间隔子区。

[0204] 示例性间隔子区包括全部或部分免疫球蛋白铰链区。免疫球蛋白铰链区可以是野生型免疫球蛋白铰链区或改变的野生型免疫球蛋白铰链区。在某些实施方案中,免疫球蛋白铰链区是人免疫球蛋白铰链区。如本文所使用,“野生型免疫球蛋白铰链区”是指介于抗

体重链中所发现的CH1结构域与CH2结构域(对于IgG、IgA和IgD)之间并连接该两个结构域或介于CH1结构域和CH3结构域(对于IgE和IgM)之间并连接该两个结构域的天然存在的上部和中部铰链氨基酸序列。

[0205] 免疫球蛋白铰链区可以是IgG、IgA、IgD、IgE或IgM铰链区。IgG铰链区可以是IgG1、IgG2、IgG3或IgG4铰链区。来自IgG1、IgG2、lgG3、lgG4或IgD的序列可单独使用或与以下组合使用:CH2区的全部或一部分;CH3区的全部或一部分;或CH2区的全部或一部分和CH3区的全部或一部分。

[0206] 在特定实施方案中,间隔子是包括IgG4铰链区的短间隔子。在特定实施方案中,短间隔子是由SEQ ID NO:6或7编码的。在特定实施方案中,间隔子是包括IgG4铰链区和IgG4铰链CH3区的中等间隔子。在特定实施方案中,中等间隔子是由SEQ ID NO:8编码的。在特定实施方案中,间隔子是包括IgG4铰链区、IgG4 CH3区和IgG4CH2区的长间隔子。在特定实施方案中,长间隔子是由SEQ ID NO:9编码的。

[0207] 可用于本文所描述的CAR的铰链区的其他实例包括存在于如CD8α、CD4、CD28和CD7之类1型膜蛋白的细胞外区中的铰链区,该铰链区可以是野生型的或是它们的变体。

[0208] 在特定实施方案中,间隔子区包括铰链区,该铰链区包括II型C凝集素结构域间(茎)区或分化簇(CD)分子茎区。II型C凝集素或CD分子的“茎区”是指位于C型凝集素样结构域(CTLD;例如类似于自然杀伤细胞受体的CTLD)与疏水性部分(跨膜结构域)之间的II型C凝集素或CD分子细胞外结构域(ECD)的部分。例如,人CD94的ECD(GenBank登录号AAC50291.1)对应于氨基酸残基34-179,但CTLD对应于氨基酸残基61-176,因此人CD94分子的茎区包括氨基酸残基34-60,所述氨基酸残基位于疏水性部分(跨膜结构域)与CTLD之间(参见Boyington等人,Immunity 10:15,1999;关于其他茎区的描述,还参见Beavil等人,Proc.Nat'l.Acad.Sci.USA 89:153,1992;以及Figdor等人,Nat.Rev.Immunol.2:11,2002)。这些II型C凝集素或CD分子还可以在茎区与跨膜区或CTLD之间具有接头氨基酸(如下所述)。在另一个实例中,233个氨基酸的人NKG2A蛋白(GenBank登录号P26715.1)具有在氨基酸71-93范围内的疏水性部分(跨膜结构域)和在氨基酸94-233范围内的ECD。CTLD包括氨基酸119-231,并且茎区包括氨基酸99-116,所述氨基酸可以侧接另外的接头氨基酸。其他II型C凝集素或CD分子以及它们的细胞外配体结合结构域、茎区和CTLD是本领域已知的(关于人CD23、CD69、CD72、NKG2A和NKG2D的序列及它们的描述,分别参见例如GenBank登录号NP001993.2;AAH07037.1;NP 001773.1;AAL65234.1;CAA04925.1)。

[0209] (iii-b-iii)跨膜结构域.如所示,在CAR内的跨膜结构域用于跨细胞膜连接细胞外组分和细胞内组分。跨膜结构域可以将所表达的分子锚定于经过修饰的细胞的膜中。

[0210] 跨膜结构域可以来源于天然来源和/或合成来源。当来源是天然来源时,跨膜结构域可以来源于任何膜结合蛋白或跨膜蛋白。跨膜结构域可以至少包括T细胞受体、CD28、CD27、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22;CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137和CD154的α、β或ζ链的跨膜区。在特定实施方案中,跨膜结构域可以至少包括例如以下各物的跨膜区:KIRDS2、OX40、CD2、CD27、LFA-1(CD 11a、CD18)、ICOS(CD278)、4-1BB(CD137)、GITR、CD40、BAFFR、HVEM(LIGHTR)、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD160、CD19、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7R a、ITGA1、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CDl ld、ITGAE、CD103、ITGAL、CDl la、ITGAM、CDl lb、ITGAX、CDl lc、ITGB1、CD29、

ITGB2、CD18、ITGB7、TNFR2、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(触觉的)、CEACAM1、CRT AM、Ly9(CD229)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、PAG/Cbp、NKG2D或NKG2C。在特定实施方案中,也可以使用多种人铰链,包括人Ig(免疫球蛋白)铰链(例如IgG4铰链、IgD铰链)、GS连接子(例如本文所描述的GS连接子)、KIR2DS2铰链或CD8a铰链。

[0211] 在特定实施方案中,跨膜结构域具有在细胞膜中热力学稳定的三维结构,并且一般具有在15至30个氨基酸范围内的长度。跨膜结构域的结构可以包括α螺旋、β折叠桶(β barrel)、β折叠片(βsheet)、β螺旋或其任何组合。

[0212] 跨膜结构域可以包括与跨膜区相邻的一个或多个另外的氨基酸,例如在CAR的细胞外区内的一个或多个氨基酸(例如细胞外区的至多15个氨基酸)和/或在CAR的细胞内区内的一个或多个另外的氨基酸(例如细胞内组分的至多15个氨基酸)。在一方面,跨膜结构域来自与作为信号传导结构域、共刺激结构域或铰链结构域的来源相同的蛋白质。在另一方面,跨膜结构域不是来源于与作为CAR的任何其他结构域的来源相同的蛋白质。在一些情形中,跨膜结构域可以通过氨基酸取代进行选择或修饰以避免此类结构域与相同或不同表面膜蛋白的跨膜结构域结合,由此最大限度地减少与受体复合物的其他非预期成员的相互作用。在特定实施方案中,跨膜结构域是由编码CD28跨膜结构域的核酸序列(SEQ ID NO:17-19)编码的。在特定实施方案中,跨膜结构域包括CD28跨膜结构域的氨基酸序列(SEQ ID NO:20和21)。

[0213] (iii-b-iv)细胞内效应结构域.CAR的细胞内效应结构域负责活化表达CAR的细胞。因此,术语"效应结构域"意图包括细胞内结构域中足以转导活化信号的任何部分。效应结构域当接收到适当信号时,可以直接或间接地促进细胞中的生物或生理反应。在某些实施方案中,效应结构域是当结合时接收信号的蛋白质或蛋白质复合物的部分,或者它直接结合靶标分子,由此触发来自效应结构域的信号。当效应结构域含有一个或多个信号传导结构域或基序,如免疫受体酪氨酸活化基序(ITAM)时,效应结构域可以直接促进细胞反应。在其他实施方案中,效应结构域将通过与一种或多种直接促进细胞反应的其他蛋白质,如与共刺激结构域缔合而间接促进细胞反应。

[0214] 效应结构域可以在与癌细胞表达的细胞标记物结合时活化经过修饰的细胞的至少一种功能。经过修饰的细胞的活化可以包括分化、增殖和/或活化或者其他效应功能中的一种或多种。在特定实施方案中,效应结构域可以包括含T细胞受体和共刺激结构域的细胞内信号传导组分,该组分可以包括来自辅助受体或共刺激分子的细胞质序列。

[0215] 效应结构域可以包括一个、两个、三个或更多个细胞内信号传导组分(例如受体信号传导结构域、细胞质信号传导序列)、共刺激结构域或其组合。示例性效应结构域包括选自以下的信号传导和刺激结构域:4-1BB(CD137)、CARD11、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD27、CD28、CD79A、CD79B、DAP10、FcRα、FcRβ(FcεR1b)、FcRγ、Fyn、HVEM(LIGHTR)、ICOS、LAG3、LAT、Lck、LRP、NKG2D、NOTCH1、pTα、PTCH2、OX40、ROR2、Ryk、SLAMF1、Slp76、TCRα、TCRβ、TRIM、Wnt、Zap70或其任何组合。在特定实施方案中,示例性效应结构域包括选自以下的信号传导和共刺激结构域:CD86、FcγRIIa、DAP12、CD30、CD40、PD-1、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、与CD83特异性结合的配体、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、CD127、CD160、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、

VLA1、CD49a、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、ITGB7、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(触觉的)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、GADS、PAG/Cbp、NKp44、NKp30或NKp46。

[0216] 以刺激方式起作用的细胞内信号传导组分序列可以包括ITAM。包括初级细胞质信号传导序列的ITAM的实例包括来源于CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD3ζ、CD5、CD22、CD66d、CD79a、CD79b、以及常见的FcRγ(FCER1G)、FcγRlla、FcRβ(FcεRib)、DAP10和DAP12的那些。在特定实施方案中,CD3ζ的变体保留了至少一个、两个、三个或全部ITAM区。

[0217] 在特定实施方案中,效应结构域包括与细胞质信号传导蛋白缔合的细胞质部分,其中细胞质信号传导蛋白是淋巴细胞受体或其信号传导结构域、包括多个ITAM的蛋白质、共刺激结构域或其任何组合。

[0218] 细胞内信号传导组分的另外的实例包括CD3ζ链的细胞质序列,和/或在结合结构域接合后共同起作用以起始信号转导的辅助受体。

[0219] 共刺激结构域是其活化可能是针对细胞标记物结合进行高效淋巴细胞反应所必需的结构域。一些分子可互换作为细胞内信号传导组分或共刺激结构域。共刺激结构域的实例包括CD27、CD28、4-1BB(CD 137)、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、淋巴细胞功能相关抗原1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3和与CD83特异性结合的配体。例如,经证明,CD27共刺激可在体外增强人CART细胞的扩增、效应功能和存活,并且在体内增加人T细胞存留和抗癌活性(Song等人,Blood.2012;119(3):696-706)。此类共刺激结构域分子的另外的实例包括CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、HVEM(LIGHTR)、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD160、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CDlld、ITGAE、CD103、ITGAL、CDlla、ITGAM、CDl lb、ITGAX、CDllc、ITGBl、CD29、ITGB2、CD18、ITGB7、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(触觉的)、NKG2D、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Lyl08)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp和CD19a。

[0220] 在特定实施方案中,编码细胞内信号传导组分的核酸序列包括CD3z编码序列(SEQ ID NO:10)和4-1BB信号传导编码序列的变体(SEQ ID NO:13和14)。在特定实施方案中,细胞内信号传导组分的氨基酸序列包括CD3ζ(SEQ ID NO:11和12)的变体和4-1BB(SEQ ID NO:15和16)细胞内信号传导组分的一部分。

[0221] 在特定实施方案中,细胞内信号传导组分包括(i)CD3ζ的信号传导结构域的全部或一部分;(ii)4-1BB的信号传导结构域的全部或一部分;或(iii)CD3ζ和4-1BB的信号传导结构域的全部或一部分。在特定实施方案中,细胞内信号传导组分包括(i)CD3ζ的信号传导结构域的全部或一部分;(ii)4-1BB的信号传导结构域的全部或一部分;(iii)CD28的信号传导结构域的全部或一部分;(iv)或CD3ζ、4-1BB和CD28的信号传导结构域的全部或一部分。

[0222] 细胞内组分还可以包括Wnt信号传导途径的蛋白质(例如LRP、Ryk或ROR2)、NOTCH信号传导途径(例如NOTCH1、NOTCH2、NOTCH3或NOTCH4)、刺猬(Hedgehog)信号传导途径(例

如PTCH或SMO)、受体酪氨酸激酶(RTK)(例如表皮生长因子(EGF)受体家族、成纤维细胞生长因子(FGF)受体家族、肝细胞生长因子(HGF)受体家族、胰岛素受体(IR)家族、血小板源性生长因子(PDGF)受体家族、血管内皮生长因子(VEGF)受体家族、原肌球蛋白受体激酶(tropomycin receptor kinase,Trk)受体家族、肝配蛋白(Eph)受体家族、AXL受体家族、白细胞酪氨酸激酶(LTK)受体家族、具有免疫球蛋白样和EGF样结构域1的酪氨酸激酶(TIE)受体家族、受体酪氨酸激酶样孤儿(ROR)受体家族、盘状结构域(discoidin domain,DDR)受体家族、转染期间重排(RET)受体家族、酪氨酸蛋白激酶样(PTK7)受体家族、受体相关酪氨酸激酶(RYK)受体家族或肌肉特异性激酶(MuSK)受体家族);G蛋白偶联受体,GPCR(卷曲(Frizzled)或平滑(Smoothened));丝氨酸/苏氨酸激酶受体(BMPR或TGFR);或细胞因子受体(IL1R、IL2R、IL7R或IL15R)中的一种或多种。

[0223] (iii-b-v)连接子.如本文所使用,连接子可包括CAR分子中用于联接该分子的两个其他子组分的任何部分。一些连接子不用于除连接各组分之外的目的,而许多连接子用于另外的目的。例如,连接子可以连接scFv的抗体源性结合结构域的VL和VH,并充当CAR的子组分部分之间的接头氨基酸。

[0224] 取决于所希望的连接子功能,连接子可以是柔性的、刚性的或半刚性的。连接子可以包括接头氨基酸。例如,在特定实施方案中,连接子为CAR不同组分之间的构象移动提供柔性和空间。常用的柔性连接子包括Gly-Ser连接子。在特定实施方案中,连接子序列包括甘氨酸和丝氨酸重复序列的集合,例如$(Gly_xSer_y)_n$的一个至十个重复序列,其中x和y独立地是从0至10的整数,条件是x和y不同时为0,并且其中n是整数1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。具体实例包括(Gly4Ser)n(SEQ ID NO:78)、(Gly3Ser)n(Gly4Ser)n(SEQ ID NO:79)、(Gly3Ser)n(Gly2Ser)n(SEQ ID NO:80)或(Gly3Ser)n(Gly4Ser)1(SEQ ID NO:81)。在特定实施方案中,连接子是(Gly4Ser)4(SEQ ID NO:82)、(Gly4Ser)3(SEQ ID NO:83)、(Gly4Ser)2(SEQ ID NO:84)、(Gly4Ser)1(SEQ ID NO:85)、(Gly3Ser)2(SEQ ID NO:86)、(Gly3Ser)1(SEQ ID NO:87)、(Gly2Ser)2(SEQ ID NO:88)或(Gly2Ser)1、GGSGGGSGGSG(SEQ ID NO:89)、GGSGGGSGSG(SEQ ID NO:90)或GGSGGGSG(SEQ ID NO:91)。

[0225] 在特定实施方案中,连接子区是(GGGGS)n(SEQ ID NO:78),其中n是整数,包括1、2、3、4、5、6、7、8、9或更多。在特定实施方案中,间隔子区是(EAAAK)n(SEQ ID NO:92),其中n是整数,包括1、2、3、4、5、6、7、8、9或更多。

[0226] 在一些情况下,柔性连接子可能无法维持特定用途所需的CAR距离或定位。在这些情况下,刚性或半刚性连接子可能是有用的。刚性或半刚性连接子的实例包括富含脯氨酸的连接子。在特定实施方案中,富含脯氨酸的连接子是具有比预期仅偶然出现的残基要多的脯氨酸残基的肽序列。在特定实施方案中,富含脯氨酸的连接子是具有至少30%、至少35%、至少36%、至少39%、至少40%、至少48%、至少50%或至少51%的脯氨酸残基的连接子。富含脯氨酸的连接子的具体实例包括富含脯氨酸的唾液蛋白(PRP)的片段。

[0227] 连接子可对裂解,例如对酸诱导的裂解、光诱导的裂解、肽酶诱导的裂解、酯酶诱导的裂解和二硫键裂解敏感(可裂解连接子)。或者,连接子可以基本上对裂解具有抗性(例如稳定连接子或不可裂解连接子)。在一些方面,连接子是预带电连接子(procharged linker)、亲水性连接子或基于二羧酸的连接子。

[0228] 当不需要和/或不想要由间隔子区提供的距离时,接头氨基酸可以是能够用于联

接各序列的连接子。例如，接头氨基酸可以是能够用于联接共刺激细胞内信号传导组分的短氨基酸序列。在特定实施方案中，接头氨基酸是9个氨基酸或更少(例如2、3、4、5、6、7、8或9个氨基酸)。在特定实施方案中，甘氨酸-丝氨酸双联体可以用作适合的接头氨基酸连接子。在特定实施方案中，单个氨基酸，例如丙氨酸、甘氨酸，可以用作适合的接头氨基酸。

[0229] (iii-b-vi)包括标签盒、转导标记物和/或自杀开关的控制特征。在特定实施方案中，CAR构建体可以包括一个或多个标签盒和/或转导标记物。标签盒和转导标记物可用于在体外、体内和/或离体活化经过基因修饰的细胞；促进所述细胞增殖；检测、富集、分离、追踪、耗尽和/或消除所述细胞。“标签盒”是指附着于CAR、与CAR融合或作为CAR的一部分的独特的合成肽序列，同源结合分子(例如配体、抗体或其他结合搭配物)能够与之特异性地结合，其中结合特性可以用于活化带标签的蛋白质和/或表达带标签的蛋白质的细胞；促进带标签的蛋白质和/或表达带标签的蛋白质的细胞的增殖；检测、富集、分离、追踪、耗尽和/或消除带标签的蛋白质和/或表达带标签的蛋白质的细胞。转导标记物可以用于相同的目的，但来源于天然存在的分子并且通常使用跳跃元件来表达，该跳跃元件将转导标记物与CAR分子的其余部分隔开。

[0230] 结合同源结合分子的标签盒包括例如His标签(HHHHHH;SEQ ID NO:93)、Flag标签(DYKDDDDK;SEQ ID NO:94)、Xpress标签(DLYDDDDK;SEQ ID NO:95)、Avi标签(GLNDIFEAQKIEWHE;SEQ ID NO:96)、钙调蛋白标签(KRRWKKNFIAVSAANRFKKISSSGAL;SEQ ID NO:97)、聚谷氨酸标签、HA标签(YPYDVPDYA;SEQ ID NO:98)、Myc标签(EQKLISEEDL;SEQ ID NO:99)、Strep标签(意思指原始STREP®标签(WRHPQFGG;SEQ ID NO:100)、STREP®标签II(WSHPQFEK SEQ ID NO:101(IBA Institut fur Bioanalytik,Germany)；参见例如US 7,981,632)、Softag 1(SLAE LLNAGLGGS;SEQ ID NO:102)、Softag 3(TQDPSRVG;SEQ ID NO:103)和V5标签(GKPIPNPLLGLDST;SEQ ID NO:104)。

[0231] 特异性结合本文所公开的标签盒序列的缀合物结合分子是可商购的。例如，His标签抗体可商购自包括Life Technologies、Pierce Antibodies和GenScript在内的供应商。Flag标签抗体可商购自包括Pierce Antibodies、GenScript和Sigma-Aldrich在内的供应商。Xpress标签抗体可商购自包括Pierce Antibodies、Life Technologies和GenScript在内的供应商。Avi标签抗体可商购自包括Pierce Antibodies、IsBio和Genecopoeia在内的供应商。钙调蛋白标签抗体可商购自包括Santa Cruz Biotechnology、Abcam和Pierce Antibodies在内的供应商。HA标签抗体可商购自包括Pierce Antibodies、Cell Signal和Abcam在内的供应商。Myc标签抗体可商购自包括Santa Cruz Biotechnology、Abcam和Cell Signal在内的供应商。Strep标签抗体可商购自包括Abcam、Iba和Qiagen在内的供应商。

[0232] 转导标记物可以选自以下至少一者：截短的CD19(tCD19;参见Budde等人，Blood 122:1660,2013)；截短的人EGFR(tEGFR;参见Wang等人，Blood 118:1255,2011)；人CD34的ECD;和/或组合有来自CD34(参见Fehse等人，Mol.Therapy 1(5Pt 1)；448-456,2000)和CD20抗原(参见Philip等人，Blood 124:1277-1278)的靶标表位的RQR8。

[0233] 在特定实施方案中，编码iCaspase9构建体(iCasp9)的多核苷酸可作为自杀开关插入CAR构建体中。

[0234] 控制特征可以呈多个拷贝存在于CAR中，或者可以使用跳跃元件(SEQ ID NO:23-27)表达为不同的分子。例如，CAR可具有一个、两个、三个、四个或五个标签盒和/或一个、两

个、三个、四个或五个转导标记物也可被表达。例如,实施方案可以包括具有两个Myc标签盒、或His标签和HA标签盒、或HA标签和Softag 1标签盒、或Myc标签和SBP标签盒的CAR构建体。示例性的转导标记物和同源对描述于US 13/463,247中。

[0235] 在CAR中包括至少一个控制特征的一个优点是施用给受试者的表达CAR的细胞可以使用标签盒的同源结合分子增加或耗尽。在某些实施方案中,本公开提供了一种通过使用对标签盒具有特异性的抗体、使用对控制特征具有特异性的同源结合分子或通过使用表达CAR并对控制特征具有特异性的另一种经过修饰的细胞来耗尽表达CAR的经过修饰的细胞的方法。可以使用对控制特征具有特异性的耗尽剂来实现经过修饰的细胞的消除。例如,如果使用tEGFR,则可以使用与细胞毒性试剂(例如毒素、放射性金属)融合或缀合的抗tEGFR结合结构域(例如抗体、scFv),或者可以使用抗tEGFR/抗CD3双特异性scFv或抗tEGFR CAR T细胞。

[0236] 在某些实施方案中,可以通过使用特异性结合控制特征的抗体(例如抗标签抗体)或通过特异性结合控制特征的其他同源结合分子在体内检测或追踪表达嵌合分子的经过修饰的细胞,所述控制特征的结合搭配物与荧光染料、放射性示踪剂、氧化铁纳米粒子或本领域已知的利用X射线、CT扫描、MRI扫描、PET扫描、超声、流式细胞术、近红外成像系统或其他成像形式检测的其他成像剂缀合(参见例如Yu等人,Theranostics 2:3,2012)。

[0237] 因此,与没有标签盒的经过修饰的细胞相比,表达至少一种控制特征连同CAR的经过修饰的细胞可以例如更容易地被鉴别、分离、分选、诱导增殖、追踪和/或消除。

[0238] (iv)细胞活化培养条件.细胞群体可以在培养起始组合物中培育,以扩增经过基因修饰的细胞群体。培育可以在培养容器中进行,如袋子、细胞培养板、烧瓶、腔室、色谱柱、交联凝胶、交联聚合物、柱、培养皿、中空纤维、微量滴定板、涂有二氧化硅的玻璃板、试管、管组、孔、小瓶或其他用于培养或栽培细胞的容器。

[0239] 培养条件可以包括以下中的一者或多者:特定培养基、温度、氧含量、二氧化碳含量、时间、试剂,例如营养物、氨基酸、抗生素、离子和/或刺激因子,如细胞因子、趋化因子、抗原、结合搭配物、融合蛋白、重组可溶性受体和任何其他被设计用于活化细胞的试剂。

[0240] 在一些方面,培育是根据如以下中所描述的技术进行:US 6,040,177;Klebanoff等人(2012)J Immunother.35(9):651-660;Terakura等人(2012)Blood.1:72-82;和/或Wang等人(2012)J Immunother.35(9):689-701。

[0241] 用于培养T细胞的示例性培养基包括(i)补充有非必需氨基酸、丙酮酸钠和青霉素/链霉素的RPMI;(ii)含HEPES、5-15%人血清、1-3%L-谷氨酰胺、0.5-1.5%青霉素/链霉素和0.25×10-4-0.75×10-4Mβ-巯基乙醇的RPMI;(iii)补充有10%胎牛血清(FBS)、2mM L-谷氨酰胺、10mM HEPES、100U/ml青霉素和100m/mL链霉素的RPMI-1640;(iv)补充有10%FBS、2mM L-谷氨酰胺、10mM HEPES、100U/mL青霉素和100m/mL链霉素的DMEM培养基;以及(v)补充有5%人AB血清(Gemcell,West Sacramento,CA)、1%HEPES(Gibco,Grand Island,NY)、1%青霉素-链霉素(Gibco)、1%GlutaMax(Gibco)和2%N-乙酰半胱氨酸(Sigma-Aldrich,St.Louis,MO)的X-Vivo 15培养基(Lonza,Walkersville,MD)。T细胞培养基也可从Hyclone(Logan,UT)商购。下文将更详细地描述可以添加至这些培养基中的其他T细胞活化组分。

[0242] 在一些实施方案中,通过向培养起始组合物中添加饲养细胞,如非分裂外周血单

核细胞(PBMC)(例如以使所得到的细胞群体含有待扩增的初始群体中的每个T淋巴细胞至少5、10、20或40个或更多个PBMC饲养细胞);并培育培养物(例如保持足以扩增T细胞的数量的时间)来扩增T细胞。在一些方面,非分裂饲养细胞可以包括经过γ照射的PBMC饲养细胞。在一些实施方案中,将PBMC用3000至3600rad范围内的γ射线照射以防止细胞分裂。在一些方面,饲养细胞是在添加T细胞群体之前添加至培养基中。

[0243] 任选地,培育还可包括添加经过EBV转化的非分裂类淋巴母细胞(LCL)作为饲养细胞。LCL可以用6000至10,000rad范围内的γ射线照射。在一些方面,LCL饲养细胞是以任何适合的量提供,如LCL饲养细胞与初始T淋巴细胞的比率为至少10:1。

[0244] 在一些实施方案中,刺激条件包括适于人T淋巴细胞生长的温度,例如至少25℃、至少30℃或37℃。

[0245] T细胞的活化培养条件包括使培养起始组合物中的T细胞增殖或扩增的条件。T细胞活化条件可以包括一种或多种细胞因子,例如白细胞介素(IL)-2、IL-7、IL-15和/或IL-21。可以包括在10-100ng/ml范围内(例如40、50或60ng/ml)的IL-2。可以独立地包括在0.1-50ng/ml范围内(例如5、10或15ng/ml)的IL-7、IL-15和/或IL-21。特定实施方案利用50ng/ml的IL-2。特定实施方案利用了独立地包括的10ng/ml的IL-7、IL-15和IL-21。

[0246] 在特定实施方案中,T细胞活化培养条件可以包括T细胞刺激表位。T细胞刺激表位包括CD3、CD27、CD2、CD4、CD5、CD7、CD8、CD28、CD30、CD40、CD56、CD83、CD90、CD95、4-1BB(CD137)、B7-H3、CTLA-4、卷曲蛋白-1(FZD1)、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、HVEM、ICOS、IL-1R、LAT、LFA-1、LIGHT、MHCI、MHCII、NKG2D、OX40、ROR2和RTK。

[0247] CD3是T细胞受体的主要信号转导元件。如先前所述,CD3在所有成熟T细胞上都有表达。在特定实施方案中,CD3刺激分子(即,CD3结合结构域)可以来源于OKT3抗体(参见US 5,929,212;US 4,361,549;ATCC®CRL-8001™;和Arakawa等人,J.Biochem.120,657-662(1996))、2OG6-F3抗体、4B4-D7抗体、4E7-C9或18F5-H10抗体。

[0248] 在特定实施方案中,CD3刺激分子可以呈至少0.25或0.5ng/ml的浓度或呈2.5-10μg/ml的浓度包括在培养基中。特定实施方案利用了5μg/ml的CD3刺激分子(例如OKT3)。

[0249] 在特定实施方案中,与avi标签缔合的活化分子可以被生物素化并结合至链霉抗生物素蛋白珠粒。这一方法可用于产生例如可去除的T细胞表位刺激活化系统。

[0250] CD28的示例性结合结构域可以包括或来源于TGN1412、CD80、CD86或9D7抗体。结合CD28的额外抗体包括9.3、KOLT-2、15E8、248.23.2、EX5.3D10和CD28.3(以合成单链Fv构建体形式保藏,GenBank登录号AF451974.1;另参见Vanhove等人,BLOOD,2003年7月15日,第102卷,第2号,第564-570页)。此外,1YJD提供了与有丝分裂抗体(5.11A1)的Fab片段复合的人CD28的晶体结构。在特定实施方案中,选择不与9D7竞争的抗体。

[0251] 4-1BB结合结构域可以来源于LOB12、IgG2a、LOB12.3或IgG1,如Taraban等人,Eur J Immunol.2002年12月;32(12):3617-27所描述。在特定实施方案中,4-1BB结合结构域来源于US 9,382,328中所描述的单克隆抗体。额外的4-1BB结合结构域描述于US 6,569,997;US 6,303,121;和Mittler等人,Immunol Res.2004;29(1-3):197-208中。

[0252] OX40(CD134)和/或ICOS活化也可以使用。OX40结合结构域描述于US20100196359;US 20150307617;WO 2015/153513;WO2013/038191;和Melero等人,Clin Cancer Res.2013年3月1日;19(5):1044-53中。可以结合并活化ICOS的示例性结合结构域描述于例如

US20080279851;和Deng等人,Hybrid Hybridomics.2004年6月;23(3):176-82中。

[0253] 当呈可溶形式时,T细胞活化剂可以与另一个分子,例如与聚乙二醇(PEG)分子偶联。可以使用任何适合的PEG分子。典型地,分子量是至多1000Da的PEG分子可溶于水或培养基中。在一些情况下,此类基于PEG的试剂可以使用可商购的活化PEG分子(例如可从NOF North America Corporation,Irvine,Calif.,USA获得的PEG-NHS衍生物或可从Creative PEGWorks,Chapel Hills,N.C.,USA获得的活化PEG衍生物)制备。

[0254] 在特定实施方案中,细胞刺激剂被固定于固相上,在培养基内。在特定实施方案中,固相是培养容器(例如袋子、细胞培养板、腔室、色谱柱、交联凝胶、交联聚合物、柱、培养皿、中空纤维、微量滴定板、涂有二氧化硅的玻璃板、试管、管组、孔、小瓶、用于培养或栽培细胞的其他结构或容器)的表面。

[0255] 在特定实施方案中,可以将固相添加至培养基中。此类固相可以包括例如珠粒、中空纤维、树脂、膜和聚合物。

[0256] 示例性珠粒包括磁珠、聚合物珠粒和树脂珠粒(例如Strep-Tactin®Sepharose、Strep-Tactin®Superflow和Strep-Tactin®MacroPrep IBA GmbH,Gottingen))。抗CD3/抗CD28珠粒是用于T细胞扩增的可商购的试剂(Invitrogen)。这些珠粒是均一的、4.5μm超顺磁性、无菌、无热原质聚苯乙烯珠粒,涂有针对人T细胞上的CD3和CD28细胞表面分子的亲和纯化的单克隆抗体的混合物。中空纤维可从TerumoBCT Inc.(Lakewood,Colo.,USA)获得。树脂包括金属亲和色谱(IMAC)树脂(例如TALON®树脂(Westburg,Leusden))。膜包括纸以及色谱基质的膜基底(例如硝酸纤维素膜或聚偏二氟乙烯(PVDF)膜)。

[0257] 示例性聚合物包括多糖,例如多糖基质。此类基质包括琼脂糖凝胶(例如可商购的Superflow™琼脂糖或Sepharose®材料,例如Superflow™Sepharose®,具有不同的珠粒和孔径)或交联葡聚糖凝胶。另一个说明性实例是一种颗粒状交联琼脂糖基质,有葡聚糖共价键合至该基质上,可以Sephadex®或Superdex®商购(呈各种珠粒大小和各种孔径),均得自GE Healthcare。

[0258] 可以使用的合成聚合物包括聚丙烯酰胺、聚甲基丙烯酸酯、多糖和琼脂糖的共聚物(例如聚丙烯酰胺/琼脂糖复合物)或多糖和N,N'-亚甲基双丙烯酰胺。葡聚糖和N,N'-亚甲基双丙烯酰胺的共聚物的一个实例是Sephacryl®(Pharmacia Fine Chemicals,Inc.,Piscataway,NJ)系列材料。

[0259] 特定实施方案可以利用与合成或天然聚合物偶联的二氧化硅粒子,如多糖接枝的二氧化硅、聚乙烯吡咯烷酮接枝的二氧化硅、聚氧化乙烯接枝的二氧化硅、聚(2-羟乙基天冬酰胺)二氧化硅和聚(N-异丙基丙烯酰胺)接枝的二氧化硅。

[0260] 细胞活化剂可以通过共价键固定于固相上或可以通过非共价连接可逆地固定。

[0261] 在特定实施方案中,T细胞活化培养基包括在具有HEPES、5-15%人血清、1-3%L-谷氨酰胺、0.5-1.5%青霉素/链霉素、0.25×10-4-0.75×10^{-4}Mβ-巯基乙醇并且个别地包括5-15ng/ml(例如10ng/ml)的IL-7、IL-15和IL-21的RPMI中培养的经过FACS分选的T细胞群体。培养是在平底孔板上进行,其中每孔平板接种0.1-0.5×10e6个细胞。在活化后第3天,将细胞转移至TC处理的板上。

[0262] 在特定实施方案中,T细胞活化培养基包括在具有HEPES、10%人血清、2%L-谷氨

酰胺、1％青霉素/链霉素、0.5×10^{-4}Mβ-巯基乙醇并且个别地包括5-15ng/ml(例如10ng/ml)的IL-7、IL-15和IL-21的RPMI中培养的经过FACS分选的CD8+T细胞群体。培养是在平底非组织培养物(TC)处理的96/48孔板上进行,其中每孔平板接种0.1-0.5×10e6个细胞。在活化后第3天,将细胞转移至TC处理的板上。

[0263] HSC/HSP的培养条件可以包括用Notch激动剂进行扩增(参见例如US 7,399,633;US 5,780,300;US 5,648,464;US 5,849,869;和US 5,856,441),并且培养条件中存在的生长因子如下:25-300ng/ml SCF、25-300ng/ml Flt-3配体、25-100ng/ml TPO、25-100ng/ml IL-6和10ng/ml IL-3。在更具体的实施方案中,可以使用50、100或200ng/ml的SCF;50、100或200ng/ml Flt-3L;50或100ng/ml TPO;50或100ng/ml IL-6;以及10ng/ml IL-3。

[0264] (v)离体制造的细胞配制物.在特定实施方案中,经过基因修饰的细胞可以从培养基中收集并洗涤,并且以治疗有效量浓缩到载剂中。示例性载剂包括盐水、缓冲盐水、生理盐水、水、汉克斯氏溶液、林格氏溶液、Nonnosol-R(Abbott Labs)、PLASMA-LYTE A®(Baxter Laboratories,Inc.,Morton Grove,IL)、甘油、乙醇及其组合。

[0265] 在特定实施方案中,载剂可以补充有人血清白蛋白(HSA)或其他人血清成分或胎牛血清。在特定实施方案中,用于输注的载剂包括含5％HAS或右旋糖的缓冲盐水。示例性等渗剂包括多元糖醇,包括三元或更高级糖醇,如甘油、赤藓糖醇、阿拉伯糖醇、木糖醇、山梨糖醇或甘露糖醇。

[0266] 载剂可包括缓冲剂,例如柠檬酸盐缓冲剂、琥珀酸盐缓冲剂、酒石酸盐缓冲剂、反丁烯二酸盐缓冲剂、葡萄糖酸盐缓冲剂、草酸盐缓冲剂、乳酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、磷酸盐缓冲剂、组氨酸缓冲剂和/或三甲胺盐。

[0267] 稳定剂是指一类范围广泛的赋形剂,其功能范围可从增积剂到有助于防止细胞粘附到容器壁上的添加剂。典型的稳定剂可以包括多元糖醇;氨基酸,例如精氨酸、赖氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、丙氨酸、鸟氨酸、L-亮氨酸、2-苯丙氨酸、谷氨酸和苏氨酸;有机糖或糖醇,例如乳糖、海藻糖、水苏糖、甘露糖醇、山梨糖醇、木糖醇、核糖醇、肌醇、半乳糖醇、甘油和环醇,例如肌醇;PEG;氨基酸聚合物;含硫还原剂,例如尿素、谷胱甘肽、硫辛酸、硫代乙醇酸钠、硫代甘油、α-单硫代甘油和硫代硫酸钠;低分子量多肽(即,<10个残基);蛋白质,例如HSA、牛血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,例如聚乙烯吡咯烷酮;单糖,例如木糖、甘露糖、果糖和葡萄糖;二糖,例如乳糖、麦芽糖和蔗糖;三糖,例如棉子糖;以及多糖,例如葡聚糖。

[0268] 在必要或有益的情况下,组合物或配制物可以包括局部麻醉剂,例如利多卡因,以减轻注射部位的疼痛。

[0269] 示例性防腐剂包括苯酚、苯甲醇、间甲酚、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、十八烷基二甲基苯甲基氯化铵、苯扎卤铵、氯化六烃季铵、对羟基苯甲酸烷酯如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯、邻苯二酚、间苯二酚、环己醇和3-戊醇。

[0270] 组合物或配制物中细胞的治疗有效量可以大于10^2个细胞、大于10^3个细胞、大于10^4个细胞、大于10^5个细胞、大于10^6个细胞、大于10^7个细胞、大于10^8个细胞、大于10^9个细胞、大于10^{10}个细胞或大于10^{11}个细胞。

[0271] 在本文所公开的组合物和配制物中,细胞的体积一般是一升或更少、500ml或更少、250ml或更少或者100ml或更少。因此,施用的细胞的密度典型地大于10^4个细胞/毫升、

10^7个细胞/毫升或10^8个细胞/毫升。

[0272] 如所指出的，组合物包括至少一种经过基因修饰的细胞类型(例如经过修饰的T细胞、NK细胞或干细胞)。配制物可以包括不同类型的经过基因修饰的细胞(例如T细胞、NK细胞和/或干细胞组合)。

[0273] 不同类型的经过基因修饰的细胞或细胞亚群(例如经过修饰的T细胞、NK细胞和/或干细胞)可以呈不同的比率提供，例如1:1:1比率、2:1:1比率、1:2:1比率、1:1:2比率、5:1:1比率、1:5:1比率、1:1:5比率、10:1:1比率、1:10:1比率、1:1:10比率、2:2:1比率、1:2:2比率、2:1:2比率、5:5:1比率、1:5:5比率、5:1:5比率、10:10:1比率、1:10:10比率、10:1:10比率等。这些比率也可适用于表达相同或不同CAR组分的细胞的数量。如果在配制物内仅组合两种细胞类型或仅包括所表达CAR组分的2个组合，则所述比率可以包括可由以上所提供的3个数字的组合产生的任何2个数字的组合。在实施方案中，测试组合的细胞群体的体外、体内和/或离体功效和/或细胞增殖情况，并选出提供细胞功效和/或增殖的细胞比率。特定实施方案包括1:1的CD4 T细胞与CD8 T细胞比率。

[0274] 可制备本文所公开的基于细胞的组合物以例如通过注射、输注、灌注或灌洗施用。组合物和配制物还可以被配制用于骨髓、静脉内、皮内、动脉内、结内、淋巴管内、腹膜内、病灶内、肿瘤内、囊内和/或皮下注射。

[0275] (vi)使用方法.本文所公开的方法包括用本文所公开的组合物和配制物治疗受试者(人类、兽医动物(狗、猫、爬行动物、鸟类等)、牲畜(马、牛、山羊、猪、绵羊、鸡等)和研究动物(猴、大鼠、小鼠、鱼类等))。治疗受试者包括递送治疗有效量。治疗有效量包括提供有效量、防治性治疗和/或治疗性治疗的那些。

[0276] “有效量”是引起受试者的所希望的生理变化所需的组合物的量。例如，有效量可以提供免疫原性抗癌作用。出于研究目的，通常施用有效量。本文所公开的有效量可在与评估癌症发展或进展有关的动物模型或体外测定中引起统计上显著的作用。免疫原性组合物可以呈有效量提供，其中有效量刺激免疫反应。

[0277] “防治性治疗”包括这样一种治疗，该治疗被施用给未展示癌症的病征或症状或者仅展示癌症的早期病征或症状的受试者，以使得施用治疗以达到减轻癌症或进一步降低发展癌症的风险的目的。因此，防治性治疗用作针对表达CD33的癌症的预防性治疗。在特定实施方案中，防治性治疗减少、延迟或防止原发性癌症肿瘤部位发生转移。

[0278] “治疗性治疗”包括施用给展示癌症的症状或病征的受试者的治疗，并且是出于减轻或消除癌症的病征或症状的目的而施用给受试者。治疗性治疗可以减少、控制或消除癌症的存在或活性和/或减少、控制或消除癌症的副作用。

[0279] 作为有效量的功能，防治性治疗和治疗性治疗并不相互排斥，并且在特定实施方案中，所施用的剂量可实现多种治疗类型。

[0280] 在特定实施方案中，治疗有效量提供抗癌作用。抗癌作用包括减少癌细胞数量、减少癌转移数量、减小肿瘤体积、增加预期寿命、诱导癌细胞的化疗敏感性或放射敏感性、抑制癌细胞附近的血管生成、抑制癌细胞增殖、抑制肿瘤生长、防止或减少癌转移、延长受试者寿命、减轻癌症相关的疼痛和/或减少治疗后癌症的复发或重现。

[0281] “肿瘤”是由细胞(称为赘生性细胞或肿瘤细胞)的异常生长形成的肿胀或病变。“肿瘤细胞”是通过快速、不受控制的细胞增殖来生长并在引发新生长的刺激停止后仍继续

生长的异常细胞。肿瘤显示出部分或完全缺乏正常组织的结构组构和与正常组织的功能协调，并且通常形成明显的组织块，它可以是良性、恶变前或恶性的。

[0282] 在特定实施方案中，治疗有效量诱导免疫反应。免疫反应可以针对癌细胞。

[0283] CD33相关病症的实例包括血液癌症，例如白血病和淋巴瘤，以及其他骨髓或淋巴增生性病症。

[0284] 示例性白血病包括急性淋巴母细胞性白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性髓单核细胞性白血病(CML)、肥大细胞白血病、骨髓增生异常综合征(MDS)、B细胞急性淋巴母细胞性白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴母细胞性白血病(T-ALL)和巨核细胞白血病。

[0285] AML的示例性亚型包括：急性嗜碱性粒细胞性白血病、急性红白血病(AML-M6)、急性成巨核细胞性白血病(AML-M7)、急性单核白血病(AML-M5a)、急性成单核细胞性白血病(AML-M5b)、急性成髓细胞性白血病伴粒细胞成熟、急性成髓细胞性白血病不伴成熟、急性髓单核细胞性白血病(AML-M4)、急性全髓增殖症伴骨髓纤维化、急性早幼粒细胞性白血病(APL)、红白血病(AML-M6a)、微分化型急性成髓细胞性白血病、髓单核细胞性白血病伴骨髓嗜酸性粒细胞增多和纯红白血病(AML-M6b)。

[0286] 示例性淋巴瘤包括多发性骨髓瘤。

[0287] 本文所公开的组合物也可用于治疗与上述淋巴增生性疾病和血液癌症相关的并发症或疾病。例如，与AML相关的并发症可包括先前的骨髓增生异常综合征(MDS，以前称为“白血病前期”)；继发性白血病，特别是继发性AML；高白细胞计数和缺乏奥氏小体(Auer rods)。其中，白细胞淤滞和中枢神经系统(CNS)受累、白细胞增多、残留疾病也被认为是与AML相关的并发症或疾病。

[0288] 本文所公开的组合物可用于靶向骨髓源性抑制细胞(MDSC)。MDSC是免疫抑制性肿瘤微环境中的主要参与者，并且已被发现可抑制T细胞和NK细胞的抗肿瘤反应性。特定的MDSC具有高CD33表达并且可以作为抗CD33治疗的靶标，包括单核细胞性MDSC和未成熟的MDSC。

[0289] 本文所公开的组合物还可用于治疗与AML风险相关的其他病理疾患或遗传综合征，例如唐氏综合征(Down syndrome)、三体症、范可尼氏贫血(Fanconi anemia)、布鲁姆氏综合征(Bloom syndrome)、共济失调-毛细血管扩张症、戴-布二氏贫血(Diamond-Blackfan anemia)、施-戴二氏综合征(Schwachman-Diamond syndrome)、李-法美尼氏综合征(Li-Fraumeni syndrome)、1型神经纤维瘤病、重症先天性粒细胞缺乏症(又称为柯氏综合征(Kostmann syndrome))。

[0290] 对于施用，可基于体外测定和/或动物模型研究的结果初步估计治疗有效量(本文中又称为剂量)。此类信息可用于更准确地确定关注受试者的有用剂量。施用给特定受试者的实际剂量的量可由医师、兽医或研究人员在考虑包括受试者的靶标、体重、疾患的严重程度、癌症类型、癌症分期、先前或同时进行的治疗干预、特发性疾病在内的身体和生理因素以及施用途径等参数的情况下确定。

[0291] 基于细胞的组合物的治疗有效量可包括10^4至10^9个细胞/公斤体重，或10^3至10^{11}个细胞/公斤体重。施用的治疗有效量可包括大于10^2个细胞、大于10^3个细胞、大于10^4个细胞、大于10^5个细胞、大于10^6个细胞、大于10^7个细胞、大于10^8个细胞、大于10^9个细胞、大于10^{10}

个细胞或大于10^{11}个细胞。

[0292] 治疗有效量可通过在治疗方案的过程期间(例如每天、每隔一天、每3天、每4天、每5天、每6天、每周、每2周、每3周、每月、每2个月、每3个月、每4个月、每5个月、每6个月、每7个月、每8个月、每9个月、每10个月、每11个月或每年)施用单次或多次剂量来实现。在特定实施方案中,治疗方案可以由临床试验方案或FDA批准的治疗方案决定。

[0293] 治疗有效量可以通过例如注射、输注、灌注或灌洗来施用。施用途径可包括静脉内、皮内、动脉内、非肠胃内、结内、淋巴管内、腹膜内、病灶内、前列腺内、鞘内、肿瘤内、囊内和/或皮下推注。

[0294] 在某些实施方案中,将细胞与任何数量的相关治疗方式结合(例如在所述相关治疗方式之前、同时或之后)施用给患者。在特定实施方案中,细胞可与化学疗法;放射;免疫抑制剂,如环孢菌素(cyclosporin)、硫唑嘌呤(azathioprine)、甲氨蝶呤(methotrexate)、霉酚酸酯(mycophenolate)和FK506;抗体或其它免疫消融剂,如CAM PATH、抗CD3抗体或其它抗体疗法;细胞毒素;氟达利滨(fludaribine);环孢菌素;FK506;雷帕霉素(rapamycin);霉烯酸(mycoplienolic acid);类固醇;FR901228;细胞因子;和辐照组合使用。

[0295] (vii)由对照群体得到的参考水平.获得的与本文所描述的疗法相关的参数值可与由对照群体得到的参考水平相比较,并且这一比较可指示本文所描述的疗法对有需要的受试者是否有效。参考水平可以从来自对照群体的一个或多个相关数据集获得。如本文所使用,“数据集”是在期望条件下评价样本(或样本群体)得到的一组数值。数据集的值可以通过例如利用实验从样本获得测量值并由这些测量值构建数据集来获得。本领域普通技术人员应理解,参考水平可以基于例如在本领域中有用和已知的用于从个别数据点的集合获得有意义的总参考水平的任何数学或统计公式;例如平均值、中值、平均值的中值等。或者,可以从如实验室之类服务提供者,或从存储有数据集的数据库或服务器获得参考水平或用于建立参考水平的数据集。

[0296] 数据集的参考水平可以从先前由对照群体得出的测量值得到。“对照群体”是具有类似特定特征的受试者或样本的任何分组。分组可以根据例如临床参数、临床评估、治疗方案、疾病状态、疾患的严重程度等。在特定实施方案中,分组是基于年龄范围(例如60-65岁)和非免疫受损状态。在特定实施方案中,正常对照群体包括与测试受试者年龄匹配且未免疫受损的个体。在特定实施方案中,视临床相关情况而定,年龄匹配包括例如0-10岁、30-40岁、60-65岁、70-85岁等。在特定实施方案中,对照群体可以包括患有CD33相关病症并且尚未被施用治疗有效量的群体。

[0297] 在特定实施方案中,与本文所描述的疗法相关的特定参数的值的相关参考水平是基于在对照群体中与疗法相关的特定对应参数的值来获得,以确定本文所公开的疗法对有需要的受试者是否具有治疗有效性。

[0298] 在特定实施方案中,基于样本值与参考水平在统计上有显著差异还是在统计上没有显著差异来得出结论。如果所述差异是在预期仅偶然发生的水平之内,则测量在统计上没有显著差异。相反,统计上显著的差异或增加是大于预期仅偶然发生的差异或增加。统计显著性或其缺乏可以通过本领域众所周知的各种方法中的任一者来确定。常用的统计显著性度量的一个实例是p值。p值表示获得与特定数据点相等的给定结果的概率,其中该数据点仅为随机机率的结果。当p值小于或等于0.05时,结果通常被认为是显著的(不是随机机

率)。在特定实施方案中,如果样本值和参考水平在统计学上没有显著差异,则样本值与由正常对照群体得到的参考水平“相当”。

[0299] 包括以下示例性实施方案和实施例以展示本公开的特定、非限制性实施方案。本领域普通技术人员依据本公开将认识到,在不脱离本公开的精神和范围的情况下,可对本文所公开的具体实施方案作出许多改变并且仍获得相同或类似的结果。

[0300] (viii)示例性实施方案.

[0301] 1.一种嵌合抗原受体(CAR),所述CAR包括

[0302] 细胞外组分,根据North、IMGT、Kabat、Chothia或Set 5,所述细胞外组分包括具有抗体9G2、1H7、6H9、2D5、5D12、3a5v1、3A5v2、7D5v1、7D5v2、8F5、12B12、11D11、7E7、11D5或13E11的互补决定区(CDR)集合的结合结构域;

[0303] 细胞内组分,所述细胞内组分包括效应结构域;和

[0304] 跨膜结构域,所述跨膜结构域将所述细胞外组分连接至所述细胞内组分。

[0305] 2.如实施方案1所述的CAR,其中所述结合结构域包括单链可变片段(scFv)。

[0306] 3.如实施方案2所述的CAR,其中所述scFv由以下编码

[0307] 如SEQ ID NO:1中所示的1H7 VHVL scFv编码序列;

[0308] 如SEQ ID NO:126中所示的1H7 VLVH scFv编码序列;

[0309] 如SEQ ID NO:2中所示的6H9 VHVL scFv编码序列;

[0310] 如SEQ ID NO:3中所示的9G2 VHVL scFv编码序列;

[0311] 如SEQ ID NO:131中所示的9G2 VLVH scFv编码序列;

[0312] 如SEQ ID NO:4中所示的2D5 VHVL scFv编码序列;

[0313] 如SEQ ID NO:5中所示的5D12 VHVL scFv编码序列;

[0314] 如SEQ ID NO:127中所示的3A5变体1 VHVL scFv编码序列;

[0315] 如SEQ ID NO:128中所示的3A5变体1 VLVH scFv编码序列;

[0316] 如SEQ ID NO:129中所示的3A5变体2 VHVL scFv编码序列;

[0317] 如SEQ ID NO:130中所示的3A5变体2 VLVH scFv编码序列;

[0318] 如SEQ ID NO:132中所示的7D5变体1 VHVL scFv编码序列;或

[0319] 如SEQ ID NO:133中所示的7D5变体2 VHVL scFv编码序列。

[0320] 4.如实施方案2所述的CAR,其中所述scFv是

[0321] 如SEQ ID NO:332中所示的1H7 scFv VH-VL;

[0322] 如SEQ ID NO:333中所示1H7 scFv VL-VH;

[0323] 如SEQ ID NO:334中所示的9G2 scFv VH-VL;

[0324] 如SEQ ID NO:335中所示的9G2 scFv VL-VH;

[0325] 如SEQ ID NO:336中所示的5D12 scFv VH-VL;

[0326] 如SEQ ID NO:337中所示的5D12 scFv VL-VH;

[0327] 如SEQ ID NO:338中所示的3A5变体1 scFv VH-VL;

[0328] 如SEQ ID NO:339中所示的3A5变体1 scFv VL-VH;

[0329] 如SEQ ID NO:340中所示的3A5变体2 scFv VH-VL;或

[0330] 如SEQ ID NO:341中所示的3A5变体2 scFv VL-VH。

[0331] 5.如实施方案1至4中任一实施方案所述的CAR,其中所述细胞外组分还包括间隔

子区。

[0332] 6.如实施方式5所述的CAR,其中所述间隔子区是135个氨基酸或更少或者16个氨基酸或更少。

[0333] 7.如实施方案5或6所述的CAR,其中所述间隔子区是131个氨基酸或更少并且包括IgG4的铰链区和CH3结构域。

[0334] 8.如实施方案5或6所述的CAR,其中所述间隔子区是12个氨基酸或更少并且包括IgG4的铰链区。

[0335] 9.如实施方案7或8所述的CAR,其中所述IgG4是人IgG4。

[0336] 10.如实施方案5至9中任一实施方案所述的CAR,其中所述间隔子区由如SEQ ID NO:6中所示的IgG4铰链编码序列-A;如SEQ ID NO:7中所示的IgG4铰链编码序列-B;或如SEQ ID NO:8中所示的IgG4-int(DS)编码序列编码。

[0337] 11.如实施方案1至10中任一实施方案所述的CAR,其中所述效应结构域包括:CD3ζ的信号传导结构域的全部或一部分;4-1BB的信号传导结构域的全部或一部分;CD28的信号传导结构域的全部或一部分;CD3ζ和4-1BB的信号传导结构域的全部或一部分;CD3ζ和CD28的信号传导结构域的全部或一部分;或CD3ζ、4-1BB和CD28的信号传导结构域的全部或一部分。

[0338] 12.如实施方案1至11中任一实施方案所述的CAR,其中所述效应结构域包括CD3ζ和4-1BB的信号传导结构域的全部或一部分。

[0339] 13.如实施方案11或12所述的CAR,其中所述CD3ζ信号传导结构域由如SEQ ID NO:10中所示的CD3ζ编码序列编码。

[0340] 14.如实施方案11至13中任一实施方案所述的CAR,其中所述CD3ζ信号传导结构域包括如SEQ ID NO:11或12中所示的序列。

[0341] 15.如实施方案11或12的CAR,其中所述4-1BB信号传导结构域由如SEQ ID NO:13中所示的4-1BB信号传导编码序列-A或如SEQ ID NO:14中所示的4-1BB信号传导编码序列-B编码。

[0342] 16.如实施方案11或15中任一实施方案所述的CAR,其中所述4-1BB信号结构域包括如SEQ ID NO:15中所示的4-1BB信号传导序列-A或如SEQ ID NO:16中所示的4-1BB信号传导序列-B。

[0343] 17.如实施方案1至16中任一实施方案所述的CAR,其中所述跨膜结构域包括CD28跨膜结构域。

[0344] 18.如实施方案17所述的CAR,其中所述CD28跨膜结构域由以下编码:

[0345] CD28TM编码序列-A(SEQ ID NO:17);

[0346] CD28TM编码序列-B(SEQ ID NO:18);

[0347] 或CD28TM编码序列-C(SEQ ID NO:19)。

[0348] 19.如实施方案17所述的CAR,其中所述CD28跨膜结构域包括CD28TM蛋白质序列-A(SEQ ID NO:20)或

[0349] CD28TM蛋白质序列-B(SEQ ID NO:21)。

[0350] 20.如实施方案1至19中任一实施方案所述的CAR,所述CAR还包括选自标签盒、转导标记物和/或杀开关的控制特征。

[0351] 21.一种基因构建体,所述基因构建体编码实施方案1至20中任一实施方案所述的CAR。

[0352] 22.如实施方案21所述的基因构建体,其中所述基因构建体包括如SEQ ID NO:42中所示的1H7-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链;

[0353] 如SEQ ID NO:43中所示的1H7-长-41bb-3z-T-CD19t正链;

[0354] 如SEQ ID NO:44中所示的1H7-sh-41bb-3z-T-CD19t正链;

[0355] 如SEQ ID NO:330中所示的1H7-LvHv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链;

[0356] 如SEQ ID NO:45中所示的6H9-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链;

[0357] 如SEQ ID NO:46中所示的9G2-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链;

[0358] 如SEQ ID NO:331中所示的9G2-LvHv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链;

[0359] 如SEQ ID NO:47中所示的5D12-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链;

[0360] 如SEQ ID NO:325中所示的5D12-LvHv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链;

[0361] 如SEQ ID NO:326中所示的3A5v1-HvLv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链;

[0362] 如SEQ ID NO:327中所示的3A5v2-HvLv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链;

[0363] 如SEQ ID NO:328中所示的3A5v1-LvHv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链;或

[0364] 如SEQ ID NO:329中所示的3A5v2-LvHv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链。

[0365] 23.一种纳米粒子,所述纳米粒子包封实施方案21或22所述的基因构建体。

[0366] 24.一种细胞,所述细胞被基因修饰成表达实施方案1至20中任一实施方案所述的CAR和/或包括实施方案21或22所述的基因构建体。

[0367] 25.如实施方案24所述的细胞,其中所述细胞相对于受试者是自体细胞或同种异体细胞。

[0368] 26.如实施方案24或25所述的细胞,其中所述细胞是在体内或离体的。

[0369] 27.如实施方案24至26中任一实施方案所述的细胞,其中所述细胞是T细胞、B细胞、自然杀伤(NK)细胞、NK-T细胞、单核细胞/巨噬细胞、造血干细胞(HSC)或造血祖细胞(HPC)。

[0370] 28.如实施方案24至27中任一实施方案所述的细胞,其中所述细胞是选自以下的T细胞:CD3+T细胞、CD4+T细胞、CD8+T细胞、中央记忆T细胞、效应记忆T细胞和/或初始T细胞。

[0371] 29.如实施方案24至28中任一实施方案所述的细胞,其中所述细胞是CD8+T细胞。

[0372] 30.如实施方案24至29中任一实施方案所述的细胞,其中所述细胞已经在包括IL-2、IL-7、IL-15和/或IL-21的细胞培养基中培育。

[0373] 31.如实施方案30所述的细胞,其中所述细胞已经在包括IL-2的细胞培养基中培育。

[0374] 32.如实施方案31所述的细胞,其中所述细胞培养基包括10-100ng/mL IL-2。

[0375] 33.如实施方案31或32所述的细胞,其中所述细胞培养基包括50ng/mL IL-2。

[0376] 34.如实施方案30所述的细胞,其中所述细胞已经在包括IL-7和IL-15的细胞培养基中培育。

[0377] 35.如实施方案34所述的细胞,其中所述细胞培养基包括5-15ng/mL IL-7和5-15ng/mL IL-15。

[0378] 36.如实施方案34或35所述的细胞,其中所述细胞培养基包括10ng/mL IL-7和

10ng/mL IL-15。

[0379] 37.如实施方案30所述的细胞,其中所述细胞培养基包括IL-7、IL-15和IL-21。

[0380] 38.如实施方案37所述的细胞,其中所述细胞培养基包括5-15ng/mL IL-7、5-15ng/mL IL-15和5-15ng/mL IL-21。

[0381] 39.如实施方案37或38所述的细胞,其中所述细胞培养基包括10ng/mL IL-7、10ng/mL IL-15和10ng/mL IL-21。

[0382] 40.一种实施方案24至39中任一实施方案所述的细胞的群体,所述群体被配制用于施用给受试者。

[0383] 41.一种治疗患有CD33相关病症的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的实施方案23所述的纳米粒子或实施方案40所述的细胞群体,由此治疗所述患有CD33相关病症的受试者。

[0384] 42.如实施方案41所述的方法,其中所述细胞群体包括自体细胞或同种异体细胞。

[0385] 43.如实施方案41或42所述的方法,其中所述CD33相关病症包括急性髓性白血病(AML)。

[0386] 44.如实施方案41或42所述的方法,其中所述CD33相关病症包括急性淋巴母细胞性白血病(ALL)、慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性髓单核细胞性白血病(CML)、肥大细胞白血病、骨髓增生异常综合征(MDS)、B细胞急性淋巴母细胞性白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴母细胞性白血病(T-ALL)或巨核细胞白血病。

[0387] 45.如实施方案41至44中任一实施方案所述的方法,所述方法还包括确定所述受试者是表达还是缺乏CD33的V型结构域,并且

[0388] 如果所述受试者表达所述CD33的V型结构域,则选择包括以下的组合疗法:

[0389] 组合物,所述组合物编码6H9、9G2、3A5、7D5、1H7和2D5中的一者或多者的结合结构域,以及

[0390] 5D12和8F5中的一者或多者中的一者或多者的结合结构域。

[0391] 46.如实施方案41至44中任一实施方案所述的方法,所述方法还包括确定所述受试者是表达还是缺乏所述CD33的V型结构域,并且

[0392] 如果所述受试者不表达所述CD33的V型结构域,则选择包括以下的组合疗法:

[0393] 组合物,所述组合物编码6H9、9G2、3A5、7D5、1H7和2D5中的一者或多者的结合结构域,以及

[0394] 12B12、11D5、13E11、11D11和7E7中的一者或多者中的一者或多者的结合结构域。

[0395] 47.一种活化有需要受试者的针对CD33表达细胞的免疫反应的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的实施方案23所述的纳米粒子或实施方案40所述的细胞群体,由此活化所述有需要受试者的针对CD33表达细胞的免疫反应。

[0396] 48.如实施方案47所述的方法,其中所述细胞群体包括自体细胞或同种异体细胞。

[0397] 49.如实施方案47或48所述的方法,其中所述CD33表达细胞包括急性骨髓性白血病(AML)细胞。

[0398] 50.如实施方案47或48所述的方法,其中所述CD33表达细胞包括急性淋巴母细胞性白血病(ALL)、慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性髓单核细胞性白血病(CML)、肥大细胞白血病、骨髓增生异常综合征(MDS)、B细胞急性淋巴母细胞性白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴

母细胞性白血病(T-ALL)或巨核细胞白血病细胞。

[0399] 51.如实施方案47至50中任一实施方案所述的方法,所述方法还包括确定所述受试者是表达还是缺乏CD33的V型结构域,并且

[0400] 如果所述受试者表达所述CD33的V型结构域,则选择包括以下的组合疗法:

[0401] 组合物,所述组合物编码6H9、9G2、3A5、7D5、1H7和2D5中的一者或多者的结合结构域,以及

[0402] 5D12和8F5中的一者或多者中的一者或多者的结合结构域。

[0403] 52.如实施方案47至50中任一实施方案所述的方法,所述方法还包括确定所述受试者是表达还是缺乏所述CD33的V型结构域,并且

[0404] 如果所述受试者不表达所述CD33的V型结构域,则选择包括以下的组合疗法:

[0405] 组合物,所述组合物编码6H9、9G2、3A5、7D5、1H7和2D5中的一者或多者的结合结构域,以及

[0406] 12B12、11D5、13E11、11D11和7E7中的一者或多者中的一者或多者的结合结构域。

[0407] 53.一种试剂盒,所述试剂盒包括编码CAR的核苷酸序列,所述CAR包括6H9、9G2、3A5、7D5、1H7和2D5中的一者或多者的结合结构域以及5D12和8F5中的一者或多者中的一者或多者的结合结构域。

[0408] 54.一种试剂盒,所述试剂盒包括:编码CAR的核苷酸序列,所述CAR包括6H9、9G2、3A5、7D5、1H7和2D5中的一者或多者的结合结构域;以及编码12B12、11D5、13E11、11D11和7E7中的一者或多者中的一者或多者的结合结构域的核苷酸序列。

[0409] (ix)实验性实施例.CD33(Siglec-3)是一种分化抗原,主要展示于正在成熟和成熟的骨髓细胞及其赘生性细胞对应物上(Walter等人,Blood.119(26):6198-6208,2012;以及Duan和Paulson,Annu Rev Immunol.38:365-395,2020)。利用这种表达模式,在治疗性靶向$CD33^+$细胞,首要的是急性髓细胞性白血病(AML)(Walter等人,Blood.119(26):6198-6208,2012;Grossbard等人,Blood.80(4):863-878,1992;以及Laszlo等人,Blood Rev.28(4):143-153,2014)以及其他恶性疾病中的CD33+肿瘤细胞、CD33+骨髓源性抑制细胞和正常CD33+小胶质细胞(Walter,Expert Opin Biol Ther.20(9):955-958,2020)方面付出了长期的努力。在AML中,使用抗体-药物缀合物吉妥珠单抗奥佐米星(GO)治疗的一些患者的生存期延长验证了CD33是药物靶标(Godwin等人,Leukemia.31(9):1855-1868,2017)。

[0410] GO的成功和局限性推动了开发更有效的CD33定向疗法的持续工作。然而,经证实,靶向CD33是很难的,而且由于缺乏功效,一些药物在临床上失败了。因此,研究集中在开发更强效的抗CD33治疗模式上,包括T细胞接合双特异性抗体(BsAb)和嵌合抗原受体(CAR)修饰的T细胞。作为这些研究的一个重要缺点,包括GO在内的现有和研究性治疗剂几乎仅仅识别在CD33的外显子2编码的膜远端V型结构域内的免疫显性表位(图2)(Walter.Expert Opin Investig Drugs.27(4):339-348,2018)。由于抗体的膜近端结合可以增加它们的效应功能(Bluemel等人,Cancer Immunol Immunother.59(8):1197-1209,2010;Lin,Pharmgenomics Pers Med.3:51-59,2010;Haso等人,Blood.121(7):1165-1174,2013;以及Cleary等人,J Immunol.198(10):3999-4011,2017),故据推断,用针对膜近端C2型结构域的抗体靶向CD33可能会优化与免疫效应细胞接合的CD33定向疗法。已经通过实验对这一概念进行了测试,并描述了基于V型和C2型结构域定向CD33抗体的一系列CAR构建体的产生。

[0411] 结果.距细胞膜的结合距离与CD33抗体的免疫效应功能相关。为了检查靶标表位与细胞膜之间的距离是否影响T细胞接合免疫疗法的功效,产生了一系列人造蛋白质,在这些蛋白质中,人CD33的V型结构域与细胞膜保持不同的距离,以允许用基于V型结构域定向的CD33抗体的治疗剂,如$CD33^{V型}$/CD3BsAb或$CD33^{V型}$定向的CAR T细胞进行靶向(图3)。具体而言,为了使CD33靶标表位更接近细胞膜,产生了通过去除外显子3和4($CD33^{\Delta E3-4}$)而缺乏整个C2型结构域的人工CD33蛋白质。使用经过工程改造的人CD33+AML细胞系来表达$CD33^{FL}$或$CD33^{\Delta E3-4}$,在该细胞系中,内源性CD33通过CRISPR/Cas9而缺失(Humbert等人,Leukemia.33(3):762-808,2019)。在第一系列实验中,将健康供体T细胞作为免疫效应细胞,用不同剂量的$CD33^{V型}$/CD3 BsAb对表达水平相对类似的靶标分子的亚系进行短期体外细胞毒性测定。作为比较物,使用了GO,这完全取决于为实现抗肿瘤作用而由卡奇霉素-γ_1有效负载诱导的毒性作用(Walter等人,Blood.119(26):6198-6208,2012;Laszlo等人,Blood Rev.28(4):143-153,2014;以及Godwin等人,Leukemia.31(9):1855-1868,2017)。如图5A-5C中所示,$CD33^{V型}$/CD3BsAb对表达$CD33^{\Delta E3-4}$的AML和ALL细胞的细胞毒性比对表达$CD33^{FL}$的细胞要大,而GO诱导的细胞毒性作用是类似的。当用$CD33^{V型}$/CD3 BsAb处理时,在表达这些相同CD33构建体的REH和RS4;11细胞(人$CD33^{-}$B型急性淋巴母细胞性白血病[B-ALL]细胞系)中观察到类似的作用(关于RS4;11细胞的数据示于图6中)。为了进一步展示靶标表位的膜距离对于CD33定向疗法接合T细胞的功效的重要性,使用人CD22的不同部分产生嵌合蛋白以延伸CD33靶标表位与细胞膜之间的距离(图3)。如图7中所示,$CD33^{V型}$/CD3 BsAb对表达CD22/$CD33^{FL}$嵌合蛋白的AML细胞的细胞毒性作用要低于对表达$CD33^{FL}$的成对细胞的细胞毒性作用。为了证实膜距离调节效应的重要性并不局限于靶向CD33的BsAb,我们进行了第二系列类似的实验,在实验中,使用具有已知临床活性的CAR构建体产生针对CD33的V型结构域的CAR T细胞(Turtle等人,Sci Transl Med.8(355):355ra116,2016)。实际上,如图9中所示,与表达相配水平的$CD33^{FL}$的细胞相比,$CD33^{V型}$定向的CAR T细胞对表达$CD33^{\Delta E3-4}$的经过工程改造的K562细胞显示出明显增强的细胞毒性,这与我们利用$CD33^{V型}$/CD3 BsAb的发现一致。总之,这些数据展示,改变CD33抗体结合表位的位置会改变CD33抗体衍生疗法的效应功能,并表明通过C2型结构域特异性治疗剂近膜靶向CD33可以改善靶向CD33的T细胞免疫疗法的功效。

[0412] 图32-35突出显示了靶向膜近端(C2型)结构域的CAR构建体优于靶向膜远端(V型)结构域而不增加免疫检查点标记物表达的CAR-T细胞的优良功效。这一结果特别重要,因为My96是先前报导的有关针对AML的CAR-T细胞的分析中(参见Kenderian等人,Leukemia.29(8):1637-47,2015)和目前正在招募针对AML的CAR-T细胞疗法的临床试验(例如NCT03971799)的中心中所报导的常见scFv。My96的核酸序列以SEQ ID NO:354提供。

[0413] (x)结尾段落.本文提供的核酸和氨基酸序列是使用如37C.F.R.§1.822中所定义以及WIPO标准ST.25(1998)附录2的表1和表3的表格中所示的核苷酸碱基和氨基酸残基的字母缩写显示。每个核酸序列仅显示一条链,但互补链应理解为包括在适合的实施方案中。

[0414] 就本文未明确提供的内容来说,本领域普通技术人员可以容易地得到本文所公开的蛋白质的编码序列和本文所公开的编码序列的蛋白质序列。

[0415] 还包括本文公开和引用的序列的变体。可以使用本领域众所周知的计算机程序,例如DNASTAR™(Madison,Wisconsin)软件来发现确定哪些氨基酸残基可以被取代、插入或

缺失而不会消除生物活性的指导。优选地，本文所公开的蛋白质变体中的氨基酸变化是保守氨基酸变化，即，类似带电荷或不带电氨基酸的取代。保守氨基酸变化涉及取代用侧链相关的氨基酸家族中的一者进行的取代。

[0416] 在肽或蛋白质中，适合的氨基酸保守取代是本领域技术人员已知的，并且一般可在不改变所得分子的生物活性的情况下进行。本领域技术人员认识到，一般来说，多肽非必需区域中的单个氨基酸取代基本上不会改变生物活性(参见例如Watson等人，Molecular Biology of the Gene，第4版，1987，The Benjamin/Cummings Pub.Co.，第224页)。天然存在的氨基酸一般分为以下保守性取代家族：第1组：丙氨酸(Ala)、甘氨酸(Gly)、丝氨酸(Ser)和苏氨酸(Thr)；第2组：(酸性)：天冬氨酸(Asp)和谷氨酸(Glu)；第3组：(酸性；也分类为极性带负电残基及其酰胺)：天冬酰胺(Asn)、谷氨酰胺(Gln)、Asp和Glu；第4组：Gln和Asn；第5组：(碱性；也分类为极性带正电残基)：精氨酸(Arg)、赖氨酸(Lys)和组氨酸(His)；第6组(大的脂肪族非极性残基)：异亮氨酸(Ile)、亮氨酸(Leu)、甲硫氨酸(Met)、缬氨酸(Val)和半胱氨酸(Cys)；第7组(不带电的极性残基)：酪氨酸(Tyr)、Gly、Asn、Gln、Cys、Ser和Thr、第8组(大的芳香族残基)：苯丙氨酸(Phe)、色氨酸(Trp)和Tyr；第9组(非极性)：脯氨酸(Pro)、Ala、Val、Leu、Ile、Phe、Met和Trp；第11组(脂肪族)：Gly、Ala、Val、Leu和Ile；第10组(小的脂肪族非极性或弱极性残基)：Ala、Ser、Thr、Pro和Gly；以及第12组(含硫残基)：Met和Cys。额外信息可见于Creighton(1984)Proteins，W.H.Freeman and Company。

[0417] 在进行此类变化时，可考虑氨基酸的亲水性指数。亲水性氨基酸指数在对蛋白质赋予相互作用生物功能方面的重要性是本领域中大体了解的(Kyte和Doolittle，1982，J.Mol.Biol.157(1)，105-32)。各氨基酸已基于其疏水性和电荷特征而指定亲水指数(Kyte和Doolittle，1982)。这些值是：Ile(+4.5)；Val(+4.2)；Leu(+3.8)；Phe(+2.8)；Cys(+2.5)；Met(+1.9)；Ala(+1.8)；Gly(-0.4)；Thr(-0.7)；Ser(-0.8)；Trp(-0.9)；Tyr(-1.3)；Pro(-1.6)；His(-3.2)；谷氨酰胺(-3.5)；Gln(-3.5)；天冬氨酸(-3.5)；Asn(-3.5)；Lys(-3.9)；和Arg(-4.5)。

[0418] 本领域中已知，某些氨基酸可以被具有类似亲水指数或分数的其他氨基酸取代并且仍然产生具有类似生物活性的蛋白质，即，仍然获得生物功能等效的蛋白质。在进行此类变化时，优选亲水指数在±2内的氨基酸，特别优选亲水指数在±1内的氨基酸，并且甚至更优选亲水指数在±0.5内的氨基酸。本领域中还应了解，可基于亲水性有效地进行类似氨基酸的取代。

[0419] 如美国专利号4,554,101中所详述，以下亲水性值已被指定给氨基酸残基：Arg(+3.0)；Lys(+3.0)；天冬氨酸(+3.0±1)；谷氨酸(+3.0±1)；Ser(+0.3)；Asn(+0.2)；Gln(+0.2)；Gly(0)；Thr(-0.4)；Pro(-0.5±1)；Ala(-0.5)；His(-0.5)；Cys(-1.0)；Met(-1.3)；Val(-1.5)；Leu(-1.8)；Ile(-1.8)；Tyr(-2.3)；Phe(-2.5)；Trp(-3.4)。应理解，氨基酸可被取代为具有类似亲水性值的另一个氨基酸，并且仍然获得生物学上等效的且特别是免疫学上等效的蛋白质。在这些变化中，优选亲水性值在±2内的氨基酸的取代，特别优选亲水性值在±1内的氨基酸的取代，并且甚至更优选亲水性值在±0.5内的氨基酸的取代。

[0420] 如上文所概述，氨基酸取代可以基于氨基酸侧链取代基的相对相似性，例如它们的疏水性、亲水性、电荷、大小等。

[0421] 如别处所示，基因序列的变体可以包括密码子优化的变体、序列多态性、剪接变体

和/或对编码产物的功能没有统计显著程度的影响的突变。

[0422] 本文所公开的蛋白质、核酸和基因序列的变体还包括与本文所公开的蛋白质、核酸或基因序列具有至少70％序列同一性、80％序列同一性、85％序列、90％序列同一性、95％序列同一性、96％序列同一性、97％序列同一性、98％序列同一性或99％序列同一性的序列。

[0423] “序列同一性％”是指如通过比较序列所确定的两种或更多种序列之间的关系。在本领域中，“同一性”还指通过此类序列串之间的匹配所确定的蛋白质、核酸或基因序列之间的序列相关性程度。“同一性”(通常称为“相似性”)可通过已知方法容易地计算，所述方法包括但不限于以下中描述的那些:Computational Molecular Biology(Lesk,A.M.,编辑)Oxford University Press,NY(1988);Biocomputing:Informatics and Genome Projects(Smith,D.W.,编辑)Academic Press,NY(1994);Computer Analysis of Sequence Data,Part I(Griffin,A.M.,和Griffin,H.G.,编辑)Humana Press,NJ(1994);Sequence Analysis in Molecular Biology(Von Heijne,G.,编辑)Academic Press(1987);以及Sequence Analysis Primer(Gribskov,M.和Devereux,J.,编辑)Oxford University Press,NY(1992)。确定同一性的优选方法被设计用于得到测试序列之间的最佳匹配。确定同一性和相似性的方法被编写于可公开获得的计算机程序中。序列比对和同一性百分比计算可使用LASERGENE生物信息学计算套件(DNASTAR,Inc.,Madison,Wisconsin)中的Megalign程序来执行。序列的多重比对还可使用Clustal比对方法(Higgins和Sharp CABIOS,5,151-153(1989)以默认参数(空位罚分＝10，空位长度罚分＝10)来执行。相关程序还包括GCG程序套件(Wisconsin软件包版本9.0,Genetics Computer Group(GCG),Madison,Wisconsin);BLASTP、BLASTN、BLASTX(Altschul等人,J.Mol.Biol.215:403-410(1990);DNASTAR(DNASTAR,Inc.,Madison,Wisconsin);以及纳入Smith-Waterman算法的FASTA程序(Pearson,Comput.Methods Genome Res.,[Proc.Int.Symp.](1994),Meeting Date1992,111-20.编辑:Suhai,Sandor.出版社:Plenum,New York,N.Y。在本公开的上下文内，应理解，在使用序列分析软件进行分析的情况下，分析的结果是基于所引用的程序的“默认值”。如本文所使用，“默认值”将意指在首次初始化时最初软件装载的值或参数的任何集合。

[0424] 变体还包括在严格杂交条件下与本文所公开的序列杂交并提供与参考序列相同功能的核酸分子。示例性严格杂交条件包括:在42℃下在包括50％甲酰胺、5XSSC(750mM NaCl、75mM柠檬酸三钠)、50mM磷酸钠(pH 7.6)、5XDenhardt溶液、10％硫酸葡聚糖和20μg/ml变性剪切的鲑鱼精DNA的溶液中培育过夜，随后在50℃下用0.1XSSC洗涤。杂交和信号检测的严格度的变化主要通过控制甲酰胺浓度(较低的甲酰胺百分比引起严格性降低)、盐条件或温度来实现。例如，中等严格度条件包括:在37℃下在包括6XSSPE(20XSSPE＝3M NaCl;0.2M NaH2PO4;0.02M EDTA,pH 7.4)、0.5％SDS、30％甲酰胺、100μg/ml鲑鱼精封闭DNA的溶液中培育过夜，随后在50℃下用1XSSPE、0.1％SDS洗涤。另外，为了获得甚至更低的严格度，在严格杂交后，可在较高盐浓度(例如5XSSC)下执行洗涤。上述条件的变化可以通过包括和/或取代用于抑制杂交实验中的背景的替代封闭试剂来实现。典型的封闭试剂包括Denhardt试剂、BLOTTO、肝素、变性鲑鱼精DNA和可商购的专有配制物。由于相容性问题，包括特定封闭试剂可能需要改变上述杂交条件。

[0425] “特异性结合”是指结合结构域(例如CAR结合结构域或纳米粒子选择的细胞靶向配体的结合结构域)与其同源结合分子以等于或大于10^5M^{-1}的亲和力或K_a(即,特定结合相互作用的平衡缔合常数,单位是1/M)缔合,而与相关环境样本中的任何其他分子或组分无显著缔合。结合结构域可以分为“高亲和力”或“低亲和力”的。在特定实施方案中,“高亲和力”结合结构域是指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$10^{12}M^{-1}$或至少$10^{13}M^{-1}$的结合结构域。在特定实施方案中,“低亲和力”结合结构域是指K_a是至多10^7M^{-1}、至多10^6M^{-1}、至多10^5M^{-1}的结合结构域。或者,亲和力可以定义为特定结合相互作用的平衡解离常数(K_d),并且单位是M(例如10^{-5}M至10^{-13}M)。在某些实施方案中,结合结构域可具有“增强的亲和力”,意思指选择的或经过工程改造的结合结构域与同源结合分子的结合比野生型(或亲本)结合结构域要强。例如,增强的亲和力可能是由于同源结合分子的K_a(平衡缔合常数)高于参考结合结构域或由于同源结合分子的K_d(解离常数)低于参考结合结构域或由于同源结合分子的解离速率(K_{off})低于参考结合结构域的解离速率。用于检测特异性结合特定同源结合分子的结合结构域以及确定结合亲和力的多种测定是已知的,例如蛋白质印迹、ELISA和BIACORE®分析(另参见参见例如Scatchard等人,1949,Ann.N.Y.Acad.Sci.51:660;以及美国专利号5,283,173、5,468,614或同等专利)。

[0426] 除非另有指示,否则本公开的实践可以采用免疫学、分子生物学、微生物学、细胞生物学和重组DNA的常规技术。这些方法在以下出版物中有描述。参见例如Sambrook等人,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,第2版(1989);F.M.Ausubel等人编,Current Protocols in Molecular Biology,(1987);the series Methods IN Enzymology (Academic Press,Inc.);M.MacPherson等人,PCR:A Practical Approach,IRL Press,Oxford University Press(1991);MacPherson等人编,PCR 2:Practical Approach,(1995);Harlow和Lane编,Antibodies,A Laboratory Manual,(1988);以及R.I.Freshney编,Animal Cell Culture(1987)。

[0427] 本领域普通技术人员应理解,本文所公开的每个实施方案都可包含其特别陈述的要素、步骤、成分或组分,基本上其由或由其组成。因此,“包括(include/including)”应解释为叙述:“包含、由……组成或基本上由……组成”。过渡性术语“包含/包括(comprise/comprises)”意思指具有、但不限于以及允许包括未说明的要素、步骤、成分或组分,即使是呈较大量也是如此。过渡性短语“由……组成”不包括未说明的任何要素、步骤、成分或组分。过渡性短语“基本上由……组成”将实施方案的范围局限于所说明的要素、步骤、成分或组分以及不会实质上影响该实施方案的那些。如本文所述,物质效应将导致在体外测定细胞杀伤测定中表达CD33的细胞溶解在统计学上显着降低。

[0428] 除非另外指示,否则说明书和权利要求书中所使用的表示成分的数量、特性如分子量、反应条件等的所有数字应当理解为在所有情况下都由术语“约”修饰。因此,除非有相反的指示,否则说明书和所附权利要求中所陈述的数值参数都是近似值,所述近似值可根据本发明寻求获得的所希望的特性而变化。在最低限度上,并且不试图将等同原则的应用局限于权利要求的范围,每个数值参数均应当至少根据所报告的有效数字的数目并通过应用普通四舍五入技术来解释。更确切地说,当与所陈述的数值或范围结合使用时,术语“约”具有本领域技术人员合理地归于它的含义,即,表示略大于或略小于所陈述的值或范围,在所陈述值的±20%范围内;在所陈述值的±19%范围内;在所陈述值的±18%范围内;在所

陈述值的±17%范围内;在所陈述值的±16%范围内;在所陈述值的±15%范围内;在所陈述值的±14%范围内;在所陈述值的±13%范围内;在所陈述值的±12%范围内;在所陈述值的±11%范围内;在所陈述值的±10%范围内;在所陈述值的±9%范围内;在所陈述值的±8%范围内;在所陈述值的±7%范围内;在所陈述值的±6%范围内;在所陈述值的±5%范围内;在所陈述值的±4%范围内;在所陈述值的±3%范围内;在所陈述值的±2%范围内;或在所陈述值的±1%范围内。

[0429] 尽管陈述本发明的宽泛范围的数值范围和参数是近似值,但在具体实施例中所陈述的数值尽可能精确地报告。然而,任何数值固有地含有由在其各自的测试测量中所发现的标准偏差而必然引起的一定误差。

[0430] 除非本文另外指示或者与上下文明显矛盾,否则在描述本发明的上下文中(尤其是在所附权利要求书的上下文中)使用的术语“一个/种”、“所述”以及类似指代语应解读为涵盖单数和复数指代语。本文中列举的值的范围仅意图充当个别地提到在该范围内的每个独立值的速记方法。除非本文另外指出,否则每一个别值都被并入本说明书中,就如同在本文中个别地叙述该值一样。除非本文中另外指出或另外明显与上下文矛盾,否则本文中所描述的所有方法都可以按任何适合的次序执行。本文所提供的任何和所有实施例或示例性语言(例如“如”)的使用仅旨在更好地说明本发明,而不会对原本要求保护的本发明的范围构成限制。说明书中的任何语言都不应解读为指示任何未要求保护的要素是实施本发明所必需的。

[0431] 本文所公开的本发明的替代性要素或实施方案的分组不应解读为是限制性的。每个群组成员都可个别地或与该群组其他成员或本文中发现的其他要素以任何组合形式被提到和要求保护。可预见的是,出于简便和/或可专利性的原因,一个群组的一个或多个成员可包括在所述组内,或从所述组中删除。当出现任何这种包括或删除时,认为本说明书含有如此修改的组,因此满足关于所附权利要求中使用的所有马库什组(Markush group)的书面描述。

[0432] 本文描述了本发明的某些实施方案,包括本发明人所知的用于实施本发明的最佳模式。当然,本领域普通技术人员在阅读前面的描述后将容易了解这些所描述的实施方案的变化形式。发明人希望熟练的技术人员在适当时可使用这些变化形式,而且发明人意图以除本文具体描述的方式以外的方式实践本发明。因此,本发明包括适用法律所容许的对所附权利要求中所述主题的所有修改和等效内容。此外,除非本文另外指示或另外明显与上下文矛盾,否则本发明涵盖上述要素的所有可能变化形式的任何组合。

[0433] 此外,在本说明书通篇,参考了众多的专利、印刷的出版物、期刊文章和其他书面文本(本文中的参考材料)。每一参考材料中提到的教义都个别地以引用的方式整体并入本文。

[0434] 最后,应当理解,本文所公开的本发明的实施方案是对本发明原理的说明。可采用的其他修改也在本发明的范围内。因此,例如但不限于,可根据本文的教义利用本发明的替代配置。因而,本发明不限于明确显示和描述的实施方案。

[0435] 本文示出的细节是作为举例并且仅出于说明性讨论本发明的优选实施方案的目的,并且呈现这些细节旨在提供被认为是本发明各个实施方案的原理和概念方面的最有用和最易理解的描述的内容。就此而言,除对于本发明的基本理解所必需的之外,没有企图更

详细地示出本发明的结构细节,借助于附图和/或实施例所作的描述使得本领域技术人员明了如何可以在实践中体现本发明的若干形式。

[0436] 除非在实施例中明确并毫无疑问地修改或是当含义的应用使得任何构建无意义或基本上无意义,否则在本公开中使用的定义和解释意指并且旨在控制任何未来构建。在术语的构建将使它无意义或基本上无意义的情况下,定义应该从韦氏字典(Webster's Dictionary)第3版或本领域普通技术人员已知的字典如生物化学和分子生物学牛津字典(Attwood T等人编辑,Oxford University Press,Oxford,2006)中取得。

序列表

<110> 弗雷德哈钦森癌症中心(Fred Hutchinson Cancer Center)

<120> 靶向CD33的嵌合抗原受体

<130> F053-0128PCT / 20-098-WO-PCT

<150> US 63/003,213

<151> 2020-03-31

<160> 378

<170> PatentIn 3.5版

<210> 1

<211> 783

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 1H7 scFv编码序列

<400> 1

atgctgctgc tcgtgaccag cctgctgctg tgcgaactgc cccaccctgc ctttctgctg 60
atcccccaag tacaacttca acaaagtgga gccgaactgg taaaacccgg agcgtctgtg 120
aagattagtt gcaaggcatc cggttacgcc ttctcaaatt attggatgaa ctgggtaaag 180
cagcggcccg gaaagggtct cgagtggatt gggcaaatca acccagggga cggggatacg 240
aactacaacg gtaagttcaa aggcaaggct acgttgacgg ctgataagag ctcaagcacc 300
gcttacatgc agttgtcttc tttgacaagt gaggatagtg ccgtttactt ctgcgcccga 360
gaggaccgag attattttga ttattggggc cagggaacaa ctctcaccgt cagctccgga 420
ggcggaggat ctggcggagg gggctctgga ggaggaggat ctgatattca gatgacccaa 480
actacgagtt ccctgtctgc cagccttggc gaccgggtca caattagttg cagggcttct 540
caggatatca actactattt gaactggtac cagcagaaac ctgatgggac ggtcaaactt 600
ctcatctact attcatccag actgcacagt ggcgtaccgt ctagattctc aggaagcggc 660
agtggtacgg attttagtct taccattagt aatctggaac aggaggacat cgccacgtat 720
ttttgccagc aggatgacgc actgccctat accttcggcg gaggcactaa gttggagata 780
aaa 783

<210> 2

<211> 789

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 6H9 scFv编码序列,经过密码子优化

<400> 2

atgctgctgc tcgtgaccag cctgctgctg tgcgaactgc cccaccctgc ctttctgctg 60
atccccgaag ttatgctcgt tgaaagcggt ggaggtctcg tcaaacccgg tggcagtctg 120

aagttgagct gtgcagcttc aggtttcact ttcagcagct acacaatgtc atgggttcgg 180
cagacaccag agaagcgctt ggaatgggtc gctacgattt ccggcgatgg aggcaacacc 240
tattattcag actcagtgaa aggacgattt acaatttcac gggacaacgc gaaaaatacg 300
ctttaccttc aaatgtcctc acttcgatct gaagataccg ctctttacta ttgcgctcga 360
caaggaactg gaacggatta cttcgactac tggggacaag gcaccactct tacggtctct 420
tctggaggcg gaggatctgg cggaggggc tctggaggag gaggatctga tatacagatg 480
acacagacca catcatcctt gtctgccagt ctgggcgacc gggtaactat cagttgcaga 540
gcgtctcagg atataaacat ttatctcaat tggtatcaac agaaaccgga cggtacagta 600
aagttgctca tttactacac aagcagattg cacagtggcg tgccgagtag attttctggg 660
tcaggtagcg gaactgatta cagtttgacc atctctaatt tggaacagga ggatattgcg 720
acttactttt gtcaacaggg agatacactt ccatggacat ttggcggggg gaccaaactc 780
gaaattaag 789

<210> 3
<211> 789
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 9G2 scFv编码序列
<400> 3

atgctgctgc tcgtgaccag cctgctgctg tgcgaactgc cccaccctgc ctttctgctg 60
atccccgagg tcaagcttgt cgagtcagag ggaggtttgg tccagccggg ttcttctatg 120
aaactctcct gcacagccag tggctttaca tttagtgatt actacatgag ttgggtgaga 180
caggtgcctg agaaagggct ggagtgggta gcttccatta actacgacgg aggtagcacc 240
tattacttgg actccttgaa aagcagattc ataatttcca gggataatac gaaaaacata 300
ctttatcttc aaatgtcctc tttgaagagc gaggacacag ccacatacta ttgcgccagg 360
gatagaggcg atggtgatta ttttgactat tggggacagg gcacaacact cacggtcagc 420
agcggaggcg gaggatctgg cggaggggc tctggaggag gaggatctga tatacaaatg 480
actcagacaa cgagcagttt gtccgcatct cttggcgatc gagtaactat tagctgcaag 540
acatcccagg acatatataa ttatttgaat tggtatcagc agaaaccgga cggaactgtc 600
aaactcctca tttattatac ctccaggctt catagtgggg ttccttcccg atttagtgga 660
ggaggctcag gtacggacta cagcctgacg atttccaacc ttgaacaaga agatatagct 720
acatacttct gtcagcaagg tgacaccttg ccctggacat tcggtggggg tacaaaactc 780
gaaataaag 789

<210> 4
<211> 780
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 2D5 scFv编码序列

<400> 4
atgctgctgc tcgtgaccag cctgctgctg tgcgaactgc cccaccctgc ctttctgctg 60
atcccccagg tgcagctgca gcagagcggc gcggaactgg tgcgcccggg cgcgagcgtg 120
accctgagct gcaaagcgag cggctatacc tttaccgatt atgatatgca ttgggtgaaa 180
cagaccccgg tgcatggcct ggaatggatt ggcgcgattg atccggaaac cggcggcacc 240
gcgtataacc agaactttaa aggcaaagcg attctgaccg tggataaaag cagccgcatt 300
gcgtatatgg aactgcgcag cctgaccagc gaagatagcg cggtgtttta ttgcaccagc 360
gattatgatt attttggcgt gtggggcacc ggcaccaccg tgaccgtgag cagcggaggc 420
ggaggatctg gcggaggggg ctctggagga ggaggatctg atattgtgat gacccagagc 480
cagaaattta tgagcaccag cgtgggcgat cgcgtgagcg tgacctgcaa agcgagccag 540
aacgtgggca ccaacgtggt gtggtatcat aaaaaaccgg gccagagccc gaaaggcctg 600
atttatagcg cgagcgatcg ctatagcggc gtgccggatc gctttaccgg cagcggcagc 660
ggcaccgatt ttaccctgac cattaacaac gtgcagagcg aagatctggc ggaatatttt 720
tgccagcagt ataacattta tccgtatacc tttggcggcg gcaccaaact ggaaattaaa 780
<210> 5
<211> 795
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 5D12 scFv编码序列
<400> 5
atgctgctgc tcgtgaccag cctgctgctg tgcgaactgc cccaccctgc ctttctgctg 60
atcccccaag ttcagttgca acaatcaggt gctgaggtgg taaagccagg tgccagtgtc 120
aaaatatctt gccgggcgtc tggttatgcg ttctccaact attggatgaa ctgggtaaaa 180
caacgcccag gtaagggact cgagtggata ggacaaatat acccaggcaa cttcaacaca 240
gactacaatg gtcaattcaa gggaaaggct actcttacag tcgataaatc ttcaaacacg 300
gcttacatgc agttgtcctc cttgacctcc gaggattcag cagtctattt ctgtgcccga 360
ttctttgatt ttggcgctta ttttacgttg gattattggg gccaagggac atctgtcaca 420
gtttcctccg gaggcggagg atctggcgga gggggctctg gaggaggagg atctgatata 480
aagatgactc agtcacccag cagtatatac gctagtctgg gagaaagggt cacgataaat 540
tgtaaggctt cacaagacat aaaaagttat ctttcatggt atcaacagaa accctggaaa 600
agccccaaga cccttatcta ctacgctacg actcttgcag atggtgtacc aagtcggttt 660
tccgggagcg gctccgggca agactattct ttgacaattt cctctttgga gtccgatgat 720
accgcaacct actactgcct gcatcacggt gagtcaccat ggacatttgg cgaagggaca 780
aagcttgaaa taaag 795
<210> 6
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> IgG4铰链编码序列-A
<400> 6
gagtctaagt acggaccgcc ctgccccct tgccct 36
<210> 7
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> IgG4铰链编码序列-B
<400> 7
gagtctaagt acggaccgcc ttgcccaccg tgccca 36
<210> 8
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> IgG4-int(DS)编码序列
<400> 8
ggccagccta gagaacccca ggtgtacacc ctgcctccca gccaggaaga gatgaccaag 60
aaccaggtgt ccctgacctg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgatat cgccgtggaa 120
tgggagagca acggccagcc cgagaacaac tacaagacca ccccccctgt gctggacagc 180
gacggcagct tcttcctgta ctcccggctg accgtggaca agagccggtg gcaggaaggc 240
aacgtcttca gctgcagcgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc 300
ctgagcctga gcctgggcaa g 321
<210> 9
<211> 648
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> IgG4-长间隔子编码序列
<400> 9
gcaccacctg tggcaggacc gtcagtcttc ctcttcccac caaaacccaa ggacaccctg 60
atgatcagcc ggaccccccga ggtgacctgc gtggtggtgg acgtgagcca ggaagatccc 120
gaggtccagt tcaattggta cgtggacggc gtggaagtgc acaacgccaa gaccaagccc 180
agagaggaac agttccaaag cacctaccgg gtggtgtctg tgctgaccgt gctgcaccag 240
gactggctga acggcaaaga atacaagtgc aaggtgtcca acaagggcct gcccagcagc 300
atcgaaaaga ccatcagcaa ggccaagggc cagcctcgcg agccccaggt gtacaccctg 360
cctccctccc aggaagagat gaccaagaac caggtgtccc tgacctgcct ggtgaagggc 420

ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg gagagcaacg gccagcctga gaacaactac 480
aagaccaccc ctcccgtgct ggacagcgac ggcagcttct tcctgtacag ccggctgacc 540
gtggacaaga gccggtggca ggaaggcaac gtctttagct gcagcgtgat gcacgaggcc 600
ctgcacaacc actacaccca gaagagcctg agcctgtccc tgggcaag 648

<210> 10
<211> 336
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD3z编码序列
<400> 10

cgggtgaagt tcagcagaag cgccgacgcc cctgcctacc agcagggcca gaatcagctg 60
tacaacgagc tgaacctggg cagaagggaa gagtacgacg tcctggataa gcggagaggc 120
cgggaccctg agatgggcgg caagcctcgg cggaagaacc cccaggaagg cctgtataac 180
gaactgcaga aagacaagat ggccgaggcc tacagcgaga tcggcatgaa gggcgagcgg 240
aggcggggca agggccacga cggcctgtat cagggcctgt ccaccgccac caaggatacc 300
tacgacgccc tgcacatgca ggccctgccc ccaagg 336

<210> 11
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD3z蛋白质 - A
<400> 11

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
1 5 10 15
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
20 25 30
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
35 40 45
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
50 55 60
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
65 70 75 80
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
85 90 95
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
100 105 110

<210> 12

<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD3z蛋白质 -B
<400> 12

Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln
1 5 10 15
Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
20 25 30
Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
35 40 45
Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
50 55 60
Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
65 70 75 80
Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
85 90 95
Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
100 105 110
Pro Arg

<210> 13
<211> 126
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 4-1BB信号传导编码序列-A
<400> 13

aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 60
actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 120
gaactg 126

<210> 14
<211> 129
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 4-1BB信号传导编码序列-B
<400> 14

gtgaaacggg gcagaaagaa actcctgtat atattcaaac aaccatttat gagaccagta 60

caaactactc aagaggaaga tggctgtagc tgccgatttc cagaagaaga agaaggagga 120
tgtgaactg 129
<210> 15
<211> 43
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 4-1BB蛋白质-A
<400> 15
Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe
1 5 10 15
Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg
20 25 30
Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
35 40
<210> 16
<211> 41
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 4-1BB蛋白质-B
<400> 16
Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe
1 5 10 15
Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg
20 25 30
Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
35 40
<210> 17
<211> 84
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD28TM编码序列-A
<400> 17
atgttctggg tgctggtggt ggtcggaggc gtgctggcct gctacagcct gctggtcacc 60
gtggccttca tcatcttttg ggtg 84
<210> 18
<211> 81

<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD28TM编码序列-B
<400> 18
atgttctggg tgctggtggt ggtcggaggc gtgctggcct gctacagcct gctggtcacc 60
gtggccttca tcatcttttg g 81
<210> 19
<211> 81
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD28TM编码序列-C
<400> 19
atgttctggg tgctggtggt ggtgggcggg gtgctggcct gctacagcct gctggtgaca 60
gtggccttca tcatcttttg g 81
<210> 20
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD28TM蛋白质-A
<400> 20
Met Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser
1 5 10 15
Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp
20 25
<210> 21
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD28TM蛋白质-B
<400> 21
Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu
1 5 10 15
Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp
20 25
<210> 22

<211> 972
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> tCD19编码序列
<400> 22
atgccacctc caagactcct cttcttcctc ctcttcctga caccaatgga agtcaggcct 60
gaggaacctc tagtggtgaa ggtggaagag ggagataacg ctgtgttaca gtgcctcaag 120
ggaacctcag atggacccac tcagcagctg acctggtctc gggagtctcc gcttaaaccc 180
ttcctgaaac tcagccttgg actgccaggt ctgggaatcc acatgaggcc actggctatc 240
tggctgttca tcttcaacgt ctctcaacag atgggaggct tctacctgtg tcagcctgga 300
ccaccttctg agaaggcatg gcagcctggt tggacagtca atgtggaggg ttctggtgag 360
ctgttccggt ggaatgtttc ggacctaggt ggactgggat gtggtctgaa gaacaggtcc 420
tcagagggac ctagctctcc ttccgggaag ctcatgagcc ccaagctgta tgtgtgggcc 480
aaagaccgcc ctgagatctg ggagggagag cctccgtgtg tcccaccgag ggacagcctg 540
aaccagagcc tcagccagga cctcaccatg gcccctggct ccacactctg gctgtcctgt 600
ggggtacccc ctgactctgt gtccaggggc cccctctcct ggacccatgt gcaccccaag 660
gggcctaagt cattgctgag cctagagctg aaggacgatc gccctgccag agatatgtgg 720
gtaatggaga cgggtctgtt gttgccccgg gccacagctc aagacgctgg aaagtattat 780
tgtcaccgtg gcaacctgac catgtcattc cacctggaga tcactgctcg gccagtacta 840
tggcactggc tgctgaggac tggtggctgg aaggtctcag ctgtgacttt ggcttatctg 900
atcttctgcc tgtgttccct tgtgggcatt cttcatcttc aaagagccct ggtcctgagg 960
aggaaaagat ga 972
<210> 23
<211> 72
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> T2A编码序列
<400> 23
ctcgagggcg gcggagaggg cagaggaagt cttctaacat gcggtgacgt ggaggagaat 60
ccaggcccta gg 72
<210> 24
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> T2A
<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(3)
<223> (GlySerGly)残基可添加至肽的5'端以提高裂解效率
<400> 24
Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu
1 5 10 15
Glu Asn Pro Gly Pro
20
<210> 25
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> P2A
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(3)
<223> (GlySerGly)残基可添加至肽的5'端以提高裂解效率
<400> 25
Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val
1 5 10 15
Glu Glu Asn Pro Gly Pro
20
<210> 26
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> E2A
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(3)
<223> (GlySerGly)残基可添加至肽的5'端以提高裂解效率
<400> 26
Gly Ser Gly Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp
1 5 10 15
Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20
<210> 27

<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> F2A
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(3)
<223> (GlySerGly)残基可添加至肽的5'端以提高裂解效率
<400> 27
Gly Ser Gly Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala
1 5 10 15
Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20 25
<210> 28
<211> 544
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> EF1启动子-A
<400> 28
ggatctgcga tcgctccggt gcccgtcagt gggcagagcg cacatcgccc acagtccccg 60
agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa ccggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa 120
actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gccttttcc cgagggtggg ggagaaccgt 180
atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac 240
agctgaagct tcgaggggct cgcatctctc cttcacgcgc ccgccgccct acctgaggcc 300
gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctcccgc ctgtggtgcc tcctgaactg 360
cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt ccggcgctcc 420
cttggagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg cttgctcaac 480
tctacgtctt tgtttcgttt tctgttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc 540
ctac 544
<210> 29
<211> 545
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> EF1启动子-B
<400> 29
ggatctgcga tcgctccggt gcccgtcagt gggcagagcg cacatcgccc acagtccccg 60

agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa ccggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa 120
actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gccttttttcc cgagggtggg ggagaaccgt 180
atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac 240
agctgaagct tcgaggggct cgcatctctc cttcacgcgc ccgccgccct acctgaggcc 300
gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctcccgc ctgtggtgcc tcctgaactg 360
cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt ccggcgctcc 420
cttggagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg cttgctcaac 480
tctacgtctt tgtttcgttt tctgttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc 540
ctacg 545

<210> 30
<211> 113
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> Psi
<400> 30
ctcggcttgc tgaagcgcgc acggcaagag gcgaggggcg gcgactggtg agtacgccaa 60
aaattttgac tagcggaggc tagaaggaga gagatgggtg cgagagcgtc agt 113

<210> 31
<211> 333
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> RRE
<400> 31
gcaaagagaa gagtggtgca gagagaaaaa agagcagtgg gaataggagc tttgttcctt 60
gggttcttgg gagcagcagg aagcactatg ggcgcagcgt caatgacgct gacggtacag 120
gccagacaat tattgtctgg tatagtgcag cagcagaaca atttgctgag ggctattgag 180
gcgcaacagc atctgttgca actcacagtc tggggcatca agcagctcca ggcaagaatc 240
ctggctgtgg aaagatacct aaaggatcaa cagctcctgg ggatttgggg ttgctctgga 300
aaactcattt gcaccactgc tgtgccttgg atc 333

<210> 32
<211> 179
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> Flap
<400> 32
tacaaatggc agtattcatc cacaatttta aaagaaaagg ggggattggg gggtacagtg 60

caggggaaag aatagtagac ataatagcaa cagacataca aactaaagaa ttacaaaaac 120
aaattacaaa aattcaaaat tttcgggttt attacaggga cagcagagat ccagtttgg 179
<210> 33
<211> 66
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> GM-CSFR编码序列
<400> 33
atgctgctgc tcgtgaccag cctgctgctg tgcgaactgc cccaccctgc ctttctgctg 60
atcccc 66
<210> 34
<211> 601
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> WPRE
<400> 34
atcgataatc aacctctgga ttacaaaatt tgtgaaagat tgactggtat tcttaactat 60
gttgctcctt ttacgctatg tggatacgct gctttaatgc ctttgtatca tgctattgct 120
tcccgtatgg ctttcatttt ctcctccttg tataaatcct ggttgctgtc tctttatgag 180
gagttgtggc ccgttgtcag gcaacgtggc gtggtgtgca ctgtgtttgc tgacgcaacc 240
cccactggtt ggggcattgc caccacctgt cagctccttt ccgggacttt cgctttcccc 300
ctcctattg ccacggcgga actcatcgcc gcctgccttg cccgctgctg gacaggggct 360
cggctgttgg gcactgacaa ttccgtggtg ttgtcgggga aatcatcgtc ctttccttgg 420
ctgctcgcct gtgttgccac ctggattctg cgcgggacgt ccttctgcta cgtcccttcg 480
gccctcaatc cagcggacct tccttcccgc ggcctgctgc cggctctgcg gcctcttccg 540
cgtcttcgcc ttcgccctca gacgagtcgg atctcccttt gggccgcctc cccgcatcga 600
t 601
<210> 35
<211> 105
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> delU3
<400> 35
gtacctttaa gaccaatgac ttacaaggca gctgtagatc ttagccactt tttaaaagaa 60
aaggggggac tggaagggct aattcactcc caaagaagac aagat 105
<210> 36

<211> 81
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> R
<400> 36
ctgctttttg cctgtactgg gtctctctgg ttagaccaga tctgagcctg ggagctctct 60
ggctaactag ggaacccact g 81
<210> 37
<211> 114
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> U5
<400> 37
cttaagcctc aataaagctt gccttgagtg cttcaagtag tgtgtgcccg tctgttgtgt 60
gactctggta actagagatc cctcagaccc ttttagtcag tgtggaaaat ctct 114
<210> 38
<211> 859
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> AmpR
<400> 38
atgagtattc aacatttccg tgtcgccctt attccctttt ttgcggcatt ttgccttcct 60
gtttttgctc acccagaaac gctggtgaaa gtaaaagatg ctgaagatca gttgggtgca 120
cgagtgggtt acatcgaact ggatctcaac agcggtaaga tccttgagag ttttcgcccc 180
gaagaacgtt ttccaatgat gagcactttt aaagttctgc tatgtggcgc ggtattatcc 240
cgtattgacg ccgggcaaga gcaactcggt cgccgcatac actattctca gaatgacttg 300
gttgagtact caccagtcac agaaaagcat cttacggatg gcatgacagt aagagaatta 360
tgcagtgctg ccataaccat gagtgataac actgcggcca acttacttct gacaacgatc 420
ggaggaccga aggagctaac cgcttttttg cacaacatgg gggatcatgt aactcgcctt 480
gatcgttggg aaccggagct gaatgaagcc ataccaaacg acgagcgtga caccacgatg 540
cctgtagcaa tggcaacaac gttgcgcaaa ctattaactg gcgaactact tactctagct 600
tcccggcaac aattaataga ctggatggag gcggataaag ttgcaggacc acttctgcgc 660
tcggcccttc cggctggctg gtttattgct gataaatctg gagccggtga gcgtgggtct 720
cgcggtatca ttgcagcact ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac 780
acgacgggga gtcaggcaac tatggatgaa cgaaatagac agatcgctga gataggtgcc 840
tcactgatta agcattggt 859

<210> 39
<211> 882
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CoE1起点
<400> 39
aaaaggatct aggtgaagat ccttttttgat aatctcatga ccaaaatccc ttaacgtgag 60
ttttcgttcc actgagcgtc agaccccgta gaaaagatca aaggatcttc ttgagatcct 120
ttttttctgc gcgtaatctg ctgcttgcaa acaaaaaaac caccgctacc agcggtggtt 180
tgtttgccgg atcaagagct accaactctt tttccgaagg taactggctt cagcagagcg 240
cagataccaa atactgttct tctagtgtag ccgtagttag gccaccactt caagaactct 300
gtagcaccgc ctacatacct cgctctgcta atcctgttac cagtggctgc tgccagtggc 360
gataagtcgt gtcttaccgg gttggactca agacgatagt taccggataa ggcgcagcgg 420
tcgggctgaa cgggggttc gtgcacacag cccagcttgg agcgaacgac ctacaccgaa 480
ctgagatacc tacagcgtga gctatgagaa agcgccacgc ttcccgaagg gagaaaggcg 540
gacaggtatc cggtaagcgg cagggtcgga acaggagagc gcacgaggga gcttccaggg 600
ggaaacgcct ggtatcttta tagtcctgtc gggtttcgcc acctctgact tgagcgtcga 660
tttttgtgat gctcgtcagg ggggcggagc ctatggaaaa acgccagcaa cgcggccttt 720
ttacggttcc tggccttttg ctggcctttt gctcacatgt tctttcctgc gttatcccct 780
gattctgtgg ataaccgtat taccgccttt gagtgagctg ataccgctcg ccgcagccga 840
acgaccgagc gcagcgagtc agtgagcgag gaagcggaag ag 882
<210> 40
<211> 200
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> SV40
<400> 40
ggtcgagatc cggtcgacca gcaaccatag tcccgcccct aactccgccc atcccgcccc 60
taactccgcc cagttccgcc cattctccgc cccatggctg actaattttt tttatttatg 120
cagaggccga ggccgcctcg gcctctgagc tattccagaa gtagtgagga ggcttttttg 180
gaggcctagg cttttgcaaa 200
<210> 41
<211> 600
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CMV

<400> 41

atcgattggc tcatgtccaa cattaccgcc atgttgacat tgattattga ctagttatta 60
atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat atggagttcc gcgttacata 120
acttacggta aatggcccgc ctggctgacc gcccaacgac ccccgcccat tgacgtcaat 180
aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc cattgacgtc aatgggtgga 240
gtatttacgg taaactgccc acttggcagt acatcaagtg tatcatatgc caagtacgcc 300
ccctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgcctggcat tatgcccagt acatgacctt 360
atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc atcgctatta ccatggtgat 420
gcggttttgg cagtacatca atgggcgtgg atagcggttt gactcacggg gatttccaag 480
tctccacccc attgacgtca atgggagttt gttttggcac caaaatcaac gggactttcc 540
aaaatgtcgt aacaactccg ccccattgac gcaaatgggc ggtaggcgtg tacggaattc 600

<210> 42

<211> 3285

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 1H7-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链

<400> 42

ggatctgcga tcgctccggt gcccgtcagt gggcagagcg cacatcgccc acagtccccg 60
agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa ccggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa 120
actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gccttttcc cgagggtggg ggagaaccgt 180
atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac 240
agctgaagct tcgaggggct cgcatctctc cttcacgcgc ccgccgccct acctgaggcc 300
gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctcccgc ctgtggtgcc tcctgaactg 360
cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt ccggcgctcc 420
cttggagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg cttgctcaac 480
tctacgtctt tgtttcgttt tctgttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc 540
ctacggctag ccaccatgct gctgctcgtg accagcctgc tgctgtgcga actgccccac 600
cctgcctttc tgctgatccc ccaagtacaa cttcaacaaa gtggagccga actggtaaaa 660
cccggagcgt ctgtgaagat tagttgcaag gcatccggtt acgccttctc aaattattgg 720
atgaactggg taaagcagcg gcccggaaag ggtctcgagt ggattgggca aatcaaccca 780
ggggacgggg atacgaacta caacggtaag ttcaaaggca aggctacgtt gacggctgat 840
aagagctcaa gcaccgctta catgcagttg tcttctttga caagtgagga tagtgccgtt 900
tacttctgcg cccgagagga ccgagattat tttgattatt ggggccaggg aacaactctc 960
accgtcagct ccggaggcgg aggatctggc ggaggggct ctggaggagg aggatctgat 1020
attcagatga cccaaactac gagttccctg tctgccagcc ttggcgaccg ggtcacaatt 1080
agttgcaggg cttctcagga tatcaactac tatttgaact ggtaccagca gaaacctgat 1140
gggacggtca aacttctcat ctactattca tccagactgc acagtggcgt accgtctaga 1200
ttctcaggaa gcggcagtgg tacggatttt agtcttacca ttagtaatct ggaacaggag 1260

gacatcgcca cgtatttttg ccagcaggat gacgcactgc cctatacctt cggcggaggc 1320
actaagttgg agataaaaga gtctaagtac ggaccgccct gccccccttg ccctggccag 1380
cctagagaac cccaggtgta caccctgcct cccagccagg aagagatgac caagaaccag 1440
gtgtccctga cctgcctggt caaaggcttc taccccagcg atatcgccgt ggaatgggag 1500
agcaacggcc agcccgagaa caactacaag accacccccc ctgtgctgga cagcgacggc 1560
agcttcttcc tgtactcccg gctgaccgtg gacaagagcc ggtggcagga aggcaacgtc 1620
ttcagctgca gcgtgatgca cgaggccctg cacaaccact acacccagaa gtccctgagc 1680
ctgagcctgg gcaagatgtt ctgggtgctg gtggtggtcg gaggcgtgct ggcctgctac 1740
agcctgctgg tcaccgtggc cttcatcatc ttttgggtga aacggggcag aaagaaactc 1800
ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc 1860
tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa ggaggatgtg aactgcgggt gaagttcagc 1920
agaagcgccg acgcccctgc ctaccagcag ggccagaatc agctgtacaa cgagctgaac 1980
ctgggcagaa gggaagagta cgacgtcctg gataagcgga gaggccggga ccctgagatg 2040
ggcggcaagc ctcggcggaa gaacccccag gaaggcctgt ataacgaact gcagaaagac 2100
aagatggccg aggcctacag cgagatcggc atgaagggcg agcggaggcg gggcaagggc 2160
cacgacggcc tgtatcaggg cctgtccacc gccaccaagg atacctacga cgccctgcac 2220
atgcaggccc tgcccccaag gctcgagggc ggcggagagg gcagaggaag tcttctaaca 2280
tgcggtgacg tggaggagaa tccaggccct aggatgccac ctccaagact cctcttcttc 2340
ctcctcttcc tgacaccaat ggaagtcagg cctgaggaac ctctagtggt gaaggtggaa 2400
gagggagata acgctgtgtt acagtgcctc aagggaacct cagatggacc cactcagcag 2460
ctgacctggt ctcgggagtc tccgcttaaa cccttcctga aactcagcct tggactgcca 2520
ggtctgggaa tccacatgag gccactggct atctggctgt tcatcttcaa cgtctctcaa 2580
cagatgggag gcttctacct gtgtcagcct ggaccacctt ctgagaaggc atggcagcct 2640
ggttggacag tcaatgtgga gggttctggt gagctgttcc ggtggaatgt ttcggaccta 2700
ggtggactgg gatgtggtct gaagaacagg tcctcagagg gacctagctc tccttccggg 2760
aagctcatga gccccaagct gtatgtgtgg gccaaagacc gccctgagat ctgggaggga 2820
gagcctccgt gtgtcccacc gagggacagc ctgaaccaga gcctcagcca ggacctcacc 2880
atggcccctg gctccacact ctggctgtcc tgtggggtac cccctgactc tgtgtccagg 2940
ggcccctct cctggaccca tgtgcacccc aaggggccta agtcattgct gagcctagag 3000
ctgaaggacg atcgccctgc cagagatatg tgggtaatgg agacgggtct gttgttgccc 3060
cgggccacag ctcaagacgc tggaaagtat tattgtcacc gtggcaacct gaccatgtca 3120
ttccacctgg agatcactgc tcggccagta ctatggcact ggctgctgag gactggtggc 3180
tggaaggtct cagctgtgac tttggcttat ctgatcttct gcctgtgttc ccttgtgggc 3240
attcttcatc ttcaaagagc cctggtcctg aggaggaaaa gatga 3285

<210> 43
<211> 3612
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> 1H7-长-41bb-3z-T-CD19t正链

<400> 43

ggatctgcga tcgctccggt gcccgtcagt gggcagagcg cacatcgccc acagtccccg 60
agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa ccggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa 120
actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gccttttcc cgagggtggg ggagaaccgt 180
atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac 240
agctgaagct tcgaggggct cgcatctctc cttcacgcgc ccgccgccct acctgaggcc 300
gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctcccgc ctgtggtgcc tcctgaactg 360
cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt ccggcgctcc 420
cttggagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg cttgctcaac 480
tctacgtctt tgtttcgttt tctgttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc 540
ctacggctag ccaccatgct gctgctcgtg accagcctgc tgctgtgcga actgccccac 600
cctgcctttc tgctgatccc ccaagtacaa cttcaacaaa gtggagccga actggtaaaa 660
cccggagcgt ctgtgaagat tagttgcaag gcatccggtt acgccttctc aaattattgg 720
atgaactggg taaagcagcg gcccggaaag ggtctcgagt ggattgggca aatcaaccca 780
ggggacgggg atacgaacta caacggtaag ttcaaaggca aggctacgtt gacggctgat 840
aagagctcaa gcaccgctta catgcagttg tcttctttga caagtgagga tagtgccgtt 900
tacttctgcg cccgagagga ccgagattat tttgattatt ggggccaggg aacaactctc 960
accgtcagct ccggaggcgg aggatctggc ggaggggct ctggaggagg aggatctgat 1020
attcagatga cccaaactac gagttccctg tctgccagcc ttggcgaccg ggtcacaatt 1080
agttgcaggg cttctcagga tatcaactac tatttgaact ggtaccagca gaaacctgat 1140
gggacggtca aacttctcat ctactattca tccagactgc acagtggcgt accgtctaga 1200
ttctcaggaa gcggcagtgg tacggatttt agtcttacca ttagtaatct ggaacaggag 1260
gacatcgcca cgtatttttg ccagcaggat gacgcactgc cctatacctt cggcggaggc 1320
actaagttgg agataaaaga gtctaagtac ggaccgcctt gcccaccgtg cccagcacca 1380
cctgtggcag gaccgtcagt cttcctcttc ccaccaaaac ccaaggacac cctgatgatc 1440
agccggaccc ccgaggtgac ctgcgtggtg gtggacgtga gccaggaaga tcccgaggtc 1500
cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa gtgcacaacg ccaagaccaa gcccagagag 1560
gaacagttcc aaagcaccta ccgggtggtg tctgtgctga ccgtgctgca ccaggactgg 1620
ctgaacggca aagaatacaa gtgcaaggtg tccaacaagg gcctgcccag cagcatcgaa 1680
aagaccatca gcaaggccaa gggccagcct cgcgagcccc aggtgtacac cctgcctccc 1740
tcccaggaag agatgaccaa gaaccaggtg tccctgacct gcctggtgaa gggcttctac 1800
cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aacggccagc ctgagaacaa ctacaagacc 1860
acccctcccg tgctggacag cgacggcagc ttcttcctgt acagccggct gaccgtggac 1920
aagagccggt ggcaggaagg caacgtcttt agctgcagcg tgatgcacga ggccctgcac 1980
aaccactaca cccagaagag cctgagcctg tccctgggca agatgttctg ggtgctggtg 2040
gtggtgggcg gggtgctggc ctgctacagc ctgctggtga cagtggcctt catcatcttt 2100
tgggtgaaac ggggcagaaa gaaactcctg tatatattca aacaaccatt tatgagacca 2160
gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt agctgccgat ttccagaaga agaagaagga 2220

ggatgtgaac tgcgggtgaa gttcagcaga agcgccgacg cccctgccta ccagcagggc 2280
cagaatcagc tgtacaacga gctgaacctg ggcagaaggg aagagtacga cgtcctggat 2340
aagcggagag gccgggaccc tgagatgggc ggcaagcctc ggcggaagaa cccccaggaa 2400
ggcctgtata acgaactgca gaaagacaag atggccgagg cctacagcga gatcggcatg 2460
aagggcgagc ggaggcgggg caagggccac gacggcctgt atcagggcct gtccaccgcc 2520
accaaggata cctacgacgc cctgcacatg caggccctgc ccccaaggct cgagggcggc 2580
ggagagggca gaggaagtct tctaacatgc ggtgacgtgg aggagaatcc aggccctagg 2640
atgccacctc caagactcct cttcttcctc ctcttcctga caccaatgga agtcaggcct 2700
gaggaacctc tagtggtgaa ggtggaagag ggagataacg ctgtgttaca gtgcctcaag 2760
ggaacctcag atggacccac tcagcagctg acctggtctc gggagtctcc gcttaaaccc 2820
ttcctgaaac tcagccttgg actgccaggt ctgggaatcc acatgaggcc actggctatc 2880
tggctgttca tcttcaacgt ctctcaacag atgggaggct tctacctgtg tcagcctgga 2940
ccaccttctg agaaggcatg gcagcctggt tggacagtca atgtggaggg ttctggtgag 3000
ctgttccggt ggaatgtttc ggacctaggt ggactgggat gtggtctgaa gaacaggtcc 3060
tcagagggac ctagctctcc ttccgggaag ctcatgagcc ccaagctgta tgtgtgggcc 3120
aaagaccgcc ctgagatctg ggagggagag cctccgtgtg tcccaccgag ggacagcctg 3180
aaccagagcc tcagccagga cctcaccatg gcccctggct ccacactctg gctgtcctgt 3240
ggggtacccc ctgactctgt gtccaggggc cccctctcct ggacccatgt gcaccccaag 3300
gggcctaagt cattgctgag cctagagctg aaggacgatc gccctgccag agatatgtgg 3360
gtaatggaga cgggtctgtt gttgccccgg gccacagctc aagacgctgg aaagtattat 3420
tgtcaccgtg gcaacctgac catgtcattc cacctggaga tcactgctcg gccagtacta 3480
tggcactggc tgctgaggac tggtggctgg aaggtctcag ctgtgacttt ggcttatctg 3540
atcttctgcc tgtgttccct tgtgggcatt cttcatcttc aaagagccct ggtcctgagg 3600
aggaaaagat ga 3612

<210> 44
<211> 2964
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7-sh-41bb-3z-T-CD19t正链
<400> 44

ggatctgcga tcgctccggt gcccgtcagt gggcagagcg cacatcgccc acagtccccg 60
agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa ccggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa 120
actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gccttttcc cgagggtggg ggagaaccgt 180
atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac 240
agctgaagct tcgaggggct cgcatctctc cttcacgcgc ccgccgccct acctgaggcc 300
gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctcccgc ctgtggtgcc tcctgaactg 360
cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt ccggcgctcc 420
cttggagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg cttgctcaac 480

tctacgtctt tgtttcgttt tctgttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc 540
ctacggctag ccaccatgct gctgctcgtg accagcctgc tgctgtgcga actgccccac 600
cctgcctttc tgctgatccc ccaagtacaa cttcaacaaa gtggagccga actggtaaaa 660
cccggagcgt ctgtgaagat tagttgcaag gcatccggtt acgccttctc aaattattgg 720
atgaactggg taaagcagcg gcccggaaag ggtctcgagt ggattgggca aatcaaccca 780
ggggacgggg atacgaacta caacggtaag ttcaaaggca aggctacgtt gacggctgat 840
aagagctcaa gcaccgctta catgcagttg tcttctttga caagtgagga tagtgccgtt 900
tacttctgcg cccgagagga ccgagattat tttgattatt ggggccaggg aacaactctc 960
accgtcagct ccggaggcgg aggatctggc ggagggggct ctggaggagg aggatctgat 1020
attcagatga cccaaactac gagttccctg tctgccagcc ttggcgaccg ggtcacaatt 1080
agttgcaggg cttctcagga tatcaactac tatttgaact ggtaccagca gaaacctgat 1140
gggacggtca aacttctcat ctactattca tccagactgc acagtggcgt accgtctaga 1200
ttctcaggaa gcggcagtgg tacggatttt agtcttacca ttagtaatct ggaacaggag 1260
gacatcgcca cgtatttttg ccagcaggat gacgcactgc cctatacctt cggcggaggc 1320
actaagttgg agataaaaga gtctaagtac ggaccgccct gccccccttg ccctatgttc 1380
tgggtgctgg tggtggtcgg aggcgtgctg gcctgctaca gcctgctggt caccgtggcc 1440
ttcatcatct tttgggtgaa acggggcaga aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca 1500
tttatgagac cagtacaaac tactcaagag gaagatggct gtagctgccg atttccagaa 1560
gaagaagaag gaggatgtga actgcgggtg aagttcagca gaagcgccga cgcccctgcc 1620
taccagcagg gccagaatca gctgtacaac gagctgaacc tgggcagaag ggaagagtac 1680
gacgtcctgg ataagcggag aggccgggac cctgagatgg gcggcaagcc tcggcggaag 1740
aacccccagg aaggcctgta taacgaactg cagaaagaca agatggccga ggcctacagc 1800
gagatcggca tgaagggcga gcggaggcgg ggcaagggcc acgacggcct gtatcagggc 1860
ctgtccaccg ccaccaagga tacctacgac gccctgcaca tgcaggccct gccccccaagg 1920
ctcgagggcg gcggagaggg cagaggaagt cttctaacat gcggtgacgt ggaggagaat 1980
ccaggcccta ggatgccacc tccaagactc ctcttcttcc tcctcttcct gacaccaatg 2040
gaagtcaggc ctgaggaacc tctagtggtg aaggtggaag agggagataa cgctgtgtta 2100
cagtgcctca agggaacctc agatggaccc actcagcagc tgacctggtc tcgggagtct 2160
ccgcttaaac ccttcctgaa actcagcctt ggactgccag gtctgggaat ccacatgagg 2220
ccactggcta tctggctgtt catcttcaac gtctctcaac agatgggagg cttctacctg 2280
tgtcagcctg gaccaccttc tgagaaggca tggcagcctg gttggacagt caatgtggag 2340
ggttctggtg agctgttccg gtggaatgtt tcggacctag gtggactggg atgtggtctg 2400
aagaacaggt cctcagaggg acctagctct ccttccggga agctcatgag ccccaagctg 2460
tatgtgtggg ccaaagaccg ccctgagatc tgggagggag agcctccgtg tgtcccaccg 2520
agggacagcc tgaaccagag cctcagccag gacctcacca tggcccctgg ctccacactc 2580
tggctgtcct gtggggtacc ccctgactct gtgtccaggg gccccctctc ctggacccat 2640
gtgcacccca aggggcctaa gtcattgctg agcctagagc tgaaggacga tcgccctgcc 2700
agagatatgt gggtaatgga gacgggtctg ttgttgcccc gggccacagc tcaagacgct 2760
ggaaagtatt attgtcaccg tggcaacctg accatgtcat tccacctgga gatcactgct 2820

cggccagtac tatggcactg gctgctgagg actggtggct ggaaggtctc agctgtgact 2880
ttggcttatc tgatcttctg cctgtgttcc cttgtgggca ttcttcatct tcaaagagcc 2940
ctggtcctga ggaggaaaag atga 2964
<210> 45
<211> 3291
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 6H9-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链
<400> 45
ggatctgcga tcgctccggt gcccgtcagt gggcagagcg cacatcgccc acagtccccg 60
agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa ccggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa 120
actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gccttttcc cgagggtggg ggagaaccgt 180
atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac 240
agctgaagct tcgaggggct cgcatctctc cttcacgcgc ccgccgccct acctgaggcc 300
gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctcccgc ctgtggtgcc tcctgaactg 360
cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt ccggcgctcc 420
cttggagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg cttgctcaac 480
tctacgtctt tgtttcgttt tctgttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc 540
ctacggctag ccaccatgct gctgctcgtg accagcctgc tgctgtgcga actgccccac 600
cctgcctttc tgctgatccc cgaagttatg ctcgttgaaa gcggtggagg tctcgtcaaa 660
cccggtggca gtctgaagtt gagctgtgca gcttcaggtt tcactttcag cagctacaca 720
atgtcatggg ttcggcagac accagagaag cgcttggaat gggtcgctac gatttccggc 780
gatggaggca acacctatta ttcagactca gtgaaaggac gatttacaat ttcacgggac 840
aacgcgaaaa atacgcttta ccttcaaatg tcctcacttc gatctgaaga taccgctctt 900
tactattgcg ctcgacaagg aactggaacg gattacttcg actactgggg acaaggcacc 960
actcttacgg tctcttctgg aggcggagga tctggcggag ggggctctgg aggaggagga 1020
tctgatatac agatgacaca gaccacatca tccttgtctg ccagtctggg cgaccgggta 1080
actatcagtt gcagagcgtc tcaggatata aacatttatc tcaattggta tcaacagaaa 1140
ccggacggta cagtaaagtt gctcatttac tacacaagca gattgcacag tggcgtgccg 1200
agtagatttt ctgggtcagg tagcggaact gattacagtt tgaccatctc taatttggaa 1260
caggaggata ttgcgactta cttttgtcaa cagggagata cacttccatg gacatttggc 1320
gggggggacca aactcgaaat taaggagtct aagtacggac cgccctgccc cccttgccct 1380
ggccagccta gagaacccca ggtgtacacc ctgcctccca gccaggaaga gatgaccaag 1440
aaccaggtgt ccctgacctg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgatat cgccgtggaa 1500
tgggagagca acggccagcc cgagaacaac tacaagacca ccccccctgt gctggacagc 1560
gacggcagct tcttcctgta ctcccggctg accgtggaca agagccggtg gcaggaaggc 1620
aacgtcttca gctgcagcgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc 1680
ctgagcctga gcctgggcaa gatgttctgg gtgctggtgg tggtcggagg cgtgctggcc 1740

tgctacagcc tgctggtcac cgtggccttc atcatctttt gggtgaaacg gggcagaaag 1800
aaactcctgt atatattcaa acaaccattt atgagaccag tacaaactac tcaagaggaa 1860
gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gcgggtgaag 1920
ttcagcagaa gcgccgacgc ccctgcctac cagcagggcc agaatcagct gtacaacgag 1980
ctgaacctgg gcagaaggga agagtacgac gtcctggata agcggagagg ccgggaccct 2040
gagatgggcg gcaagcctcg gcggaagaac ccccaggaag gcctgtataa cgaactgcag 2100
aaagacaaga tggccgaggc ctacagcgag atcggcatga agggcgagcg gaggcggggc 2160
aagggccacg acggcctgta tcagggcctg tccaccgcca ccaaggatac ctacgacgcc 2220
ctgcacatgc aggccctgcc cccaaggctc gagggcggcg gagagggcag aggaagtctt 2280
ctaacatgcg gtgacgtgga ggagaatcca ggccctagga tgccacctcc aagactcctc 2340
ttcttcctcc tcttcctgac accaatggaa gtcaggcctg aggaacctct agtggtgaag 2400
gtggaagagg gagataacgc tgtgttacag tgcctcaagg gaacctcaga tggacccact 2460
cagcagctga cctggtctcg ggagtctccg cttaaaccct tcctgaaact cagccttgga 2520
ctgccaggtc tgggaatcca catgaggcca ctggctatct ggctgttcat cttcaacgtc 2580
tctcaacaga tgggaggctt ctacctgtgt cagcctggac caccttctga gaaggcatgg 2640
cagcctggtt ggacagtcaa tgtggagggt tctggtgagc tgttccggtg gaatgtttcg 2700
gacctaggtg gactgggatg tggtctgaag aacaggtcct cagagggacc tagctctcct 2760
tccgggaagc tcatgagccc caagctgtat gtgtgggcca aagaccgccc tgagatctgg 2820
gagggagagc ctccgtgtgt cccaccgagg gacagcctga accagagcct cagccaggac 2880
ctcaccatgg cccctggctc cacactctgg ctgtcctgtg gggtaccccc tgactctgtg 2940
tccaggggcc ccctctcctg gacccatgtg caccccaagg ggcctaagtc attgctgagc 3000
ctagagctga aggacgatcg ccctgccaga gatatgtggg taatggagac gggtctgttg 3060
ttgccccggg ccacagctca agacgctgga aagtattatt gtcaccgtgg caacctgacc 3120
atgtcattcc acctggagat cactgctcgg ccagtactat ggcactggct gctgaggact 3180
ggtggctgga aggtctcagc tgtgactttg gcttatctga tcttctgcct gtgttccctt 3240
gtgggcattc ttcatcttca aagagccctg gtcctgagga ggaaaagatg a 3291

<210> 46
<211> 3291
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 9G2-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链
<400> 46

ggatctgcga tcgctccggt gcccgtcagt gggcagagcg cacatcgccc acagtccccg 60
agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa ccggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa 120
actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gccttttcc cgagggtggg ggagaaccgt 180
atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc ttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac 240
agctgaagct tcgaggggct cgcatctctc cttcacgcgc ccgccgccct acctgaggcc 300
gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctcccgc ctgtggtgcc tcctgaactg 360

cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt ccggcgctcc 420
cttggagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg cttgctcaac 480
tctacgtctt tgtttcgttt tctgttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc 540
ctacggctag ccaccatgct gctgctcgtg accagcctgc tgctgtgcga actgccccac 600
cctgcctttc tgctgatccc cgaggtcaag cttgtcgagt cagagggagg tttggtccag 660
ccgggttctt ctatgaaact ctcctgcaca gccagtggct ttacatttag tgattactac 720
atgagttggg tgagacaggt gcctgagaaa gggctggagt gggtagcttc cattaactac 780
gacggaggta gcacctatta cttggactcc ttgaaaagca gattcataat ttccagggat 840
aatacgaaaa acatacttta tcttcaaatg tcctctttga agagcgagga cacagccaca 900
tactattgcg ccagggatag aggcgatggt gattattttg actattgggg acagggcaca 960
acactcacgg tcagcagcgg aggcggagga tctggcggag ggggctctgg aggaggagga 1020
tctgatatac aaatgactca gacaacgagc agtttgtccg catctcttgg cgatcgagta 1080
actattagct gcaagacatc ccaggacata tataattatt tgaattggta tcagcagaaa 1140
ccggacggaa ctgtcaaact cctcatttat tatacctcca ggcttcatag tggggttcct 1200
tcccgattta gtggaggagg ctcaggtacg gactacagcc tgacgatttc caaccttgaa 1260
caagaagata tagctacata cttctgtcag caaggtgaca ccttgccctg gacattcggt 1320
gggggtacaa aactcgaaat aaaggagtct aagtacggac cgccctgccc cccttgccct 1380
ggccagccta gagaacccca ggtgtacacc ctgcctccca gccaggaaga gatgaccaag 1440
aaccaggtgt ccctgacctg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgatat cgccgtggaa 1500
tgggagagca acggccagcc cgagaacaac tacaagacca cccccccctgt gctggacagc 1560
gacggcagct tcttcctgta ctcccggctg accgtggaca agagccggtg gcaggaaggc 1620
aacgtcttca gctgcagcgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc 1680
ctgagcctga gcctgggcaa gatgttctgg gtgctggtgg tggtcggagg cgtgctggcc 1740
tgctacagcc tgctggtcac cgtggccttc atcatctttt gggtgaaacg gggcagaaag 1800
aaactcctgt atatattcaa acaaccattt atgagaccag tacaaactac tcaagaggaa 1860
gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gcgggtgaag 1920
ttcagcagaa gcgccgacgc ccctgcctac cagcagggcc agaatcagct gtacaacgag 1980
ctgaacctgg gcagaaggga agagtacgac gtcctggata agcggagagg ccgggaccct 2040
gagatgggcg gcaagcctcg gcggaagaac ccccaggaag gcctgtataa cgaactgcag 2100
aaagacaaga tggccgaggc ctacagcgag atcggcatga agggcgagcg gaggcggggc 2160
aagggccacg acggcctgta tcagggcctg tccaccgcca ccaaggatac ctacgacgcc 2220
ctgcacatgc aggccctgcc cccaaggctc gagggcggcg gagagggcag aggaagtctt 2280
ctaacatgcg gtgacgtgga ggagaatcca ggccctagga tgccacctcc aagactcctc 2340
ttcttcctcc tcttcctgac accaatggaa gtcaggcctg aggaacctct agtggtgaag 2400
gtggaagagg gagataacgc tgtgttacag tgcctcaagg gaacctcaga tggacccact 2460
cagcagctga cctggtctcg ggagtctccg cttaaaccct tcctgaaact cagccttgga 2520
ctgccaggtc tgggaatcca catgaggcca ctggctatct ggctgttcat cttcaacgtc 2580
tctcaacaga tgggaggctt ctacctgtgt cagcctggac caccttctga gaaggcatgg 2640
cagcctggtt ggacagtcaa tgtggagggt tctggtgagc tgttccggtg gaatgtttcg 2700

gacctaggtg gactgggatg tggtctgaag aacaggtcct cagagggacc tagctctcct 2760
tccgggaagc tcatgagccc caagctgtat gtgtgggcca aagaccgccc tgagatctgg 2820
gagggagagc ctccgtgtgt cccaccgagg gacagcctga accagagcct cagccaggac 2880
ctcaccatgg cccctggctc cacactctgg ctgtcctgtg gggtaccccc tgactctgtg 2940
tccaggggcc ccctctcctg gacccatgtg caccccaagg ggcctaagtc attgctgagc 3000
ctagagctga aggacgatcg ccctgccaga gatatgtggg taatggagac gggtctgttg 3060
ttgccccggg ccacagctca agacgctgga aagtattatt gtcaccgtgg caacctgacc 3120
atgtcattcc acctggagat cactgctcgg ccagtactat ggcactggct gctgaggact 3180
ggtggctgga aggtctcagc tgtgactttg gcttatctga tcttctgcct gtgttccctt 3240
gtgggcattc ttcatcttca aagagccctg gtcctgagga ggaaaagatg a 3291

<210> 47
<211> 3297
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 5D12-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链
<400> 47

ggatctgcga tcgctccggt gcccgtcagt gggcagagcg cacatcgccc acagtccccg 60
agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa ccggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa 120
actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gccttttcc cgagggtggg ggagaaccgt 180
atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac 240
agctgaagct tcgaggggct cgcatctctc cttcacgcgc ccgccgccct acctgaggcc 300
gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctcccgc ctgtggtgcc tcctgaactg 360
cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt ccggcgctcc 420
cttggagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg cttgctcaac 480
tctacgtctt tgtttcgttt tctgttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc 540
ctacggctag ccaccatgct gctgctcgtg accagcctgc tgctgtgcga actgccccac 600
cctgcctttc tgctgatccc ccaagttcag ttgcaacaat caggtgctga ggtggtaaag 660
ccaggtgcca gtgtcaaaat atcttgccgg gcgtctggtt atgcgttctc caactattgg 720
atgaactggg taaaacaacg cccaggtaag ggactcgagt ggataggaca aatataccca 780
ggcaacttca acacagacta caatggtcaa ttcaagggaa aggctactct tacagtcgat 840
aaatcttcaa acacggctta catgcagttg tcctccttga cctccgagga ttcagcagtc 900
tatttctgtg cccgattctt tgattttggc gcttatttta cgttggatta ttggggccaa 960
gggacatctg tcacagtttc ctccggaggc ggaggatctg gcggaggggg ctctggagga 1020
ggaggatctg atataaagat gactcagtca cccagcagta tatacgctag tctgggagaa 1080
agggtcacga taaattgtaa ggcttcacaa gacataaaaa gttatctttc atggtatcaa 1140
cagaaaccct ggaaaagccc caagaccctt atctactacg ctacgactct tgcagatggt 1200
gtaccaagtc ggttttccgg gagcggctcc gggcaagact attctttgac aatttcctct 1260
ttggagtccg atgataccgc aacctactac tgcctgcatc acggtgagtc accatggaca 1320

tttggcgaag ggacaaagct tgaaataaag gagtctaagt acggaccgcc ctgcccccct 1380
tgccctggcc agcctagaga accccaggtg tacaccctgc ctcccagcca ggaagagatg 1440
accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg gtcaaaggct tctaccccag cgatatcgcc 1500
gtggaatggg agagcaacgg ccagcccgag aacaactaca agaccacccc ccctgtgctg 1560
gacagcgacg gcagcttctt cctgtactcc cggctgaccg tggacaagag ccggtggcag 1620
gaaggcaacg tcttcagctg cagcgtgatg cacgaggccc tgcacaacca ctacacccag 1680
aagtccctga gcctgagcct gggcaagatg ttctgggtgc tggtggtggt cggaggcgtg 1740
ctggcctgct acagcctgct ggtcaccgtg gccttcatca tcttttgggt gaaacggggc 1800
agaaagaaac tcctgtatat attcaaacaa ccatttatga gaccagtaca aactactcaa 1860
gaggaagatg gctgtagctg ccgatttcca gaagaagaag aaggaggatg tgaactgcgg 1920
gtgaagttca gcagaagcgc cgacgcccct gcctaccagc agggccagaa tcagctgtac 1980
aacgagctga acctgggcag aagggaagag tacgacgtcc tggataagcg gagaggccgg 2040
gaccctgaga tgggcggcaa gcctcggcgg aagaaccccc aggaaggcct gtataacgaa 2100
ctgcagaaag acaagatggc cgaggcctac agcgagatcg gcatgaaggg cgagcggagg 2160
cggggcaagg gccacgacgg cctgtatcag ggcctgtcca ccgccaccaa ggatacctac 2220
gacgccctgc acatgcaggc cctgccccca aggctcgagg gcggcggaga gggcagagga 2280
agtcttctaa catgcggtga cgtggaggag aatccaggcc ctaggatgcc acctccaaga 2340
ctcctcttct tcctcctctt cctgacacca atggaagtca ggcctgagga acctctagtg 2400
gtgaaggtgg aagagggaga taacgctgtg ttacagtgcc tcaagggaac ctcagatgga 2460
cccactcagc agctgacctg gtctcgggag tctccgctta aacccttcct gaaactcagc 2520
cttggactgc caggtctggg aatccacatg aggccactgg ctatctggct gttcatcttc 2580
aacgtctctc aacagatggg aggcttctac ctgtgtcagc ctggaccacc ttctgagaag 2640
gcatggcagc ctggttggac agtcaatgtg gagggttctg gtgagctgtt ccggtggaat 2700
gtttcggacc taggtggact gggatgtggt ctgaagaaca ggtcctcaga gggacctagc 2760
tctccttccg ggaagctcat gagccccaag ctgtatgtgt gggccaaaga ccgccctgag 2820
atctgggagg gagagcctcc gtgtgtccca ccgagggaca gcctgaacca gagcctcagc 2880
caggacctca ccatggcccc tggctccaca ctctggctgt cctgtggggt acccccctgac 2940
tctgtgtcca ggggcccccc ctcctggacc catgtgcacc ccaaggggcc taagtcattg 3000
ctgagcctag agctgaagga cgatcgccct gccagagata tgtgggtaat ggagacgggt 3060
ctgttgttgc cccgggccac agctcaagac gctggaaagt attattgtca ccgtggcaac 3120
ctgaccatgt cattccacct ggagatcact gctcggccag tactatggca ctggctgctg 3180
aggactggtg gctggaaggt ctcagctgtg actttggctt atctgatctt ctgcctgtgt 3240
tcccttgtgg gcattcttca tcttcaaaga gccctggtcc tgaggaggaa aagatga 3297

<210> 48
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> IgG4的CH2结构域的前6个aa

<400> 48
Ala Pro Glu Phe Leu Gly
1 5
<210> 49
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> IgG2的前5个aa
<400> 49
Ala Pro Pro Val Ala
1 5
<210> 50
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7的CDRL1
<400> 50
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asn Tyr Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 51
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7的CDRL2
<400> 51
Tyr Tyr Ser Ser Arg Leu His Ser
1 5
<210> 52
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7的CDRL3
<400> 52
Gln Gln Asp Asp Ala Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 53
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7的CDRH1
<400> 53
Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Asn Tyr Trp Met Asn
1 5 10
<210> 54
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7的CDRH2
<400> 54
Gln Ile Asn Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn
1 5 10
<210> 55
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7的CDRH3
<400> 55
Ala Arg Glu Asp Arg Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 56
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 16H9的CDRL
<400> 56
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ile Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 57
<211> 8
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 6H9、9G2和/或11D11 的CDRL2
<400> 57
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser
1 5
<210> 58
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 6H9和/或9G2的CDRL3
<400> 58
Gln Gln Gly Asp Thr Leu Pro Trp Thr
1 5
<210> 59
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 6H9的CDRH1
<400> 59
Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Ser
1 5 10
<210> 60
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 6H9 的CDRH2
<400> 60
Thr Ile Ser Gly Asp Gly Gly Asn Thr Tyr
1 5 10
<210> 61
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 6H9的CDRH3

<400> 61
Ala Arg Gln Gly Thr Gly Thr Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 62
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 9G2的CDRL1
<400> 62
Lys Thr Ser Gln Asp Ile Tyr Asn Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 63
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 9G2的CDRH1
<400> 63
Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr Met Ser
1 5 10
<210> 64
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 9G2的CDRH2
<400> 64
Ser Ile Asn Tyr Asp Gly Gly Ser Thr Tyr
1 5 10
<210> 65
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 9G2的CDRH3
<400> 65
Ala Arg Asp Arg Gly Asp Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 66
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 2D5 的CDRL1
<400> 66
Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Val
1 5 10
<210> 67
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 2D5的CDRL2
<400> 67
Tyr Ser Ala Ser Asp Arg Tyr Ser
1 5
<210> 68
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 2D5、3A5v1和/或3A5v2的CDRL3
<400> 68
Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Tyr Thr
1 5
<210> 69
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 2D5的CDRH1
<400> 69
Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Asp Met His
1 5 10
<210> 70
<211> 10
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 的CDRH2 2D5
<400> 70
Ala Ile Asp Pro Glu Thr Gly Gly Thr Ala
1 5 10
<210> 71
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 2D5的CDRH3
<400> 71
Thr Ser Asp Tyr Asp Tyr Phe Gly Val
1 5
<210> 72
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 5D12的CDRL1
<400> 72
Lys Ala Ser Gln Asp Ile Lys Ser Tyr Leu Ser
1 5 10
<210> 73
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 5D12的CDRL2
<400> 73
Tyr Ala Thr Thr Leu Ala Asp
1 5
<210> 74
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 5D12的CDRL3

<400> 74
Leu His His Gly Glu Ser Pro Trp Thr
1 5
<210> 75
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 5D12的CDRH1
<400> 75
Gly Tyr Ala Phe Ser Asn Tyr Trp Met Asn
1 5 10
<210> 76
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 5D12的CDRH2
<400> 76
Gln Ile Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Thr Asp Tyr Asn Gly Gln Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 77
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 5D12的CDRH3
<400> 77
Phe Phe Asp Phe Gly Ala Tyr Phe Thr Leu Asp Tyr Val
1 5 10
<210> 78
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> GlySer连接子
<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(5)
<223> (GlyGlyGlyGlySer)可重复n次,其中n是整数1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。
<400> 78
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5
<210> 79
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> GlySer连接子
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(4)
<223> (GlyGlyGlySer)可重复n次,其中n是整数1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(9)
<223> (GlyGlyGlyGlySer)可重复n次,其中n是整数1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。
<400> 79
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5
<210> 80
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> GlySer连接子
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(4)
<223> (GlyGlyGlySer)可重复n次,其中n是整数1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(7)
<223> (GlyGlySer)可重复n次,其中n是整数 of
1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。
<400> 80
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 81

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> GlySer连接子

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(4)

<223> (GlyGlyGlySer)可重复n次,其中n是整数1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。

<400> 81

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 82

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> GlySer连接子

<400> 82

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 83

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> GlySer连接子

<400> 83

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 84

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> GlySer连接子
<400> 84
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10
<210> 85
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> GlySer连接子
<400> 85
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5
<210> 86
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> GlySer连接子
<400> 86
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5
<210> 87
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> GlySer连接子
<400> 87
Gly Gly Gly Ser
1
<210> 88
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> GlySer连接子
<400> 88
Gly Gly Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 89

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> GlySer连接子

<400> 89

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly

1 5 10

<210> 90

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> GlySer连接子

<400> 90

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Gly

1 5 10

<210> 91

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> GlySer连接子

<400> 91

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

1 5

<210> 92

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 间隔子

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(5)

<223> 整个序列可重复n次,其中n是整数,包括1、2、3、4、5、6、7、8、9或更多

<400> 92

Glu Ala Ala Ala Lys
1 5
<210> 93
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> His标签
<400> 93
His His His His His His
1 5
<210> 94
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> Flag标签
<400> 94
Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
1 5
<210> 95
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> Xpress标签
<400> 95
Asp Leu Tyr Asp Asp Asp Asp Lys
1 5
<210> 96
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> Avi标签
<400> 96
Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
1 5 10 15
<210> 97

<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 钙调蛋白标签
<400> 97
Lys Arg Arg Trp Lys Lys Asn Phe Ile Ala Val Ser Ala Ala Asn Arg
1 5 10 15
Phe Lys Lys Ile Ser Ser Ser Gly Ala Leu
20 25
<210> 98
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> HA标签
<400> 98
Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
1 5
<210> 99
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> Myc标签
<400> 99
Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
1 5 10
<210> 100
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> STREP标签
<400> 100
Trp Arg His Pro Gln Phe Gly Gly
1 5
<210> 101
<211> 8

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> STREP标签II
<400> 101
Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys
1 5
<210> 102
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> Softag 1
<400> 102
Ser Leu Ala Glu Leu Leu Asn Ala Gly Leu Gly Gly Ser
1 5 10
<210> 103
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> Softag 3
<400> 103
Thr Gln Asp Pro Ser Arg Val Gly
1 5
<210> 104
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> V5标签
<400> 104
Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr
1 5 10
<210> 105
<211> 726
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> CD33:CD22 4D蛋白质

<400> 105

Met Pro Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Ala Gly Ala Leu Ala
1 5 10 15
Met His His His His His His Gly Gly Gly Asp Pro Asn Phe Trp Leu
20 25 30
Gln Val Gln Glu Ser Val Thr Val Gln Glu Gly Leu Cys Val Leu Val
35 40 45
Pro Cys Thr Phe Phe His Pro Ile Pro Tyr Tyr Asp Lys Asn Ser Pro
50 55 60
Val His Gly Tyr Trp Phe Arg Glu Gly Ala Ile Ile Ser Arg Asp Ser
65 70 75 80
Pro Val Ala Thr Asn Lys Leu Asp Gln Glu Val Gln Glu Glu Thr Gln
85 90 95
Gly Arg Phe Arg Leu Leu Gly Asp Pro Ser Arg Asn Asn Cys Ser Leu
100 105 110
Ser Ile Val Asp Ala Arg Arg Arg Asp Asn Gly Ser Tyr Phe Phe Arg
115 120 125
Met Glu Arg Gly Ser Thr Lys Tyr Ser Tyr Lys Ser Pro Gln Leu Ser
130 135 140
Val His Val Thr Asp Leu Thr His Arg Pro Lys Ile Leu Ile Pro Gly
145 150 155 160
Thr Leu Glu Pro Gly His Ser Lys Asn Leu Thr Cys Ser Val Ser Trp
165 170 175
Ala Cys Glu Gln Gly Thr Pro Pro Ile Phe Ser Trp Leu Ser Ala Ala
180 185 190
Pro Thr Ser Leu Gly Pro Arg Thr Thr His Ser Ser Val Leu Ile Ile
195 200 205
Thr Pro Arg Pro Gln Asp His Gly Thr Asn Leu Thr Cys Gln Val Lys
210 215 220
Phe Ala Gly Ala Gly Val Thr Thr Glu Arg Thr Ile Gln Leu Asn Val
225 230 235 240
Thr Tyr Val Pro Gln Asn Pro Thr Thr Gly Ile Phe Pro Gly Asp Gly
245 250 255
Ser Gly Lys Gln Glu Thr Arg Ala Gly Val Val His Pro Glu Pro Ser
260 265 270
Thr Val Gln Ile Leu His Ser Pro Ala Val Glu Gly Ser Gln Val Glu
275 280 285
Phe Leu Cys Met Ser Leu Ala Asn Pro Leu Pro Thr Asn Tyr Thr Trp

290 295 300
Tyr His Asn Gly Lys Glu Met Gln Gly Arg Thr Glu Glu Lys Val His
305 310 315 320
Ile Pro Lys Ile Leu Pro Trp His Ala Gly Thr Tyr Ser Cys Val Ala
325 330 335
Glu Asn Ile Leu Gly Thr Gly Gln Arg Gly Pro Gly Ala Glu Leu Asp
340 345 350
Val Gln Tyr Pro Pro Lys Lys Val Thr Thr Val Ile Gln Asn Pro Met
355 360 365
Pro Ile Arg Glu Gly Asp Thr Val Thr Leu Ser Cys Asn Tyr Asn Ser
370 375 380
Ser Asn Pro Ser Val Thr Arg Tyr Glu Trp Lys Pro His Gly Ala Trp
385 390 395 400
Glu Glu Pro Ser Leu Gly Val Leu Lys Ile Gln Asn Val Gly Trp Asp
405 410 415
Asn Thr Thr Ile Ala Cys Ala Ala Cys Asn Ser Trp Cys Ser Trp Ala
420 425 430
Ser Pro Val Ala Leu Asn Val Gln Tyr Ala Pro Arg Asp Val Arg Val
435 440 445
Arg Lys Ile Lys Pro Leu Ser Glu Ile His Ser Gly Asn Ser Val Ser
450 455 460
Leu Gln Cys Asp Phe Ser Ser Ser His Pro Lys Glu Val Gln Phe Phe
465 470 475 480
Trp Glu Lys Asn Gly Arg Leu Leu Gly Lys Glu Ser Gln Leu Asn Phe
485 490 495
Asp Ser Ile Ser Pro Glu Asp Ala Gly Ser Tyr Ser Cys Trp Val Asn
500 505 510
Asn Ser Ile Gly Gln Thr Ala Ser Lys Ala Trp Thr Leu Glu Val Leu
515 520 525
Tyr Ala Pro Arg Arg Leu Arg Val Ser Met Ser Pro Gly Asp Gln Val
530 535 540
Met Glu Gly Lys Ser Ala Thr Leu Thr Cys Glu Ser Asp Ala Asn Pro
545 550 555 560
Pro Val Ser His Tyr Thr Trp Phe Asp Trp Asn Asn Gln Ser Leu Pro
565 570 575
Tyr His Ser Gln Lys Leu Arg Leu Glu Pro Val Lys Val Gln His Ser
580 585 590
Gly Ala Tyr Trp Cys Gln Gly Thr Asn Ser Val Gly Lys Gly Arg Ser
595 600 605

Pro Leu Ser Thr Leu Thr Val Tyr Tyr Ser Pro Glu Thr Gly Ala Ile
610 615 620
Gly Gly Ala Gly Val Thr Ala Leu Leu Ala Leu Cys Leu Cys Leu Ile
625 630 635 640
Phe Phe Ile Val Lys Thr His Arg Arg Lys Ala Ala Arg Thr Ala Val
645 650 655
Gly Arg Asn Asp Thr His Pro Thr Thr Gly Ser Ala Ser Pro Lys His
660 665 670
Gln Lys Lys Ser Lys Leu His Gly Pro Thr Glu Thr Ser Ser Cys Ser
675 680 685
Gly Ala Ala Pro Thr Val Glu Met Asp Glu Glu Leu His Tyr Ala Ser
690 695 700
Leu Asn Phe His Gly Met Asn Pro Ser Lys Asp Thr Ser Thr Glu Tyr
705 710 715 720
Ser Glu Val Arg Thr Gln
725

<210> 106
<211> 2178
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD33:CD22 4D核苷酸
<400> 106

atgcctctgc tgctactgct acctctgctg tgggctggag ccctggctat gcatcatcac 60
caccatcacg gcggcggcga tccaaatttc tggctgcaag tgcaggagtc agtgacggta 120
caggagggtt tgtgcgtcct cgtgccctgc actttcttcc atcccatacc ctactacgac 180
aagaactccc cagttcatgg ttactggttc cgggaaggag ccattatatc cagggactct 240
ccagtggcca caaacaagct agatcaagaa gtacaggagg agactcaggg cagattccgc 300
ctccttgggg atcccagtag gaacaactgc tccctgagca tcgtagacgc caggaggagg 360
gataatggtt catacttctt tcggatggag agaggaagta ccaaatacag ttacaaatct 420
ccccagctct ctgtgcatgt gacagacttg acccacaggc ccaaaatcct catccctggc 480
actctagaac ccggccactc caaaaacctg acctgctctg tgtcctgggc ctgtgagcag 540
ggaacacccc cgatcttctc ctggttgtca gctgccccca cctccctggg ccccaggact 600
actcactcct cggtgctcat aatcacccca cggccccagg accacggcac caacctgacc 660
tgtcaggtga agttcgctgg agctggtgtg actacggaga gaaccatcca gctgaacgtc 720
acctatgttc cacagaaccc aacaactggt atctttccag gagatggctc agggaaacaa 780
gagaccagag caggagtggt tcatccggaa ccttccacgg ttcagatcct ccactcaccg 840
gctgtggagg gaagtcaagt cgagtttctt tgcatgtcac tggccaatcc tcttccaaca 900
aattacacgt ggtaccacaa tgggaaagaa atgcagggaa ggacagagga gaaagtccac 960

atcccaaaga tcctcccttg gcacgctggg acttattcct gtgtggcaga aaacattctt 1020
ggtactggac agaggggccc tggagctgag ctggatgtcc agtatcctcc caagaaggtg 1080
accacagtga ttcaaaaccc catgccgatt cgagaaggag acacagtgac cctttcctgt 1140
aactacaatt ccagtaaccc cagtgttacc cggtatgaat ggaaacccca tggcgcctgg 1200
gaggagccat cgcttggggt gctgaagatc caaaacgttg gctgggacaa cacaaccatc 1260
gcctgcgcag cttgtaatag ttggtgctcg tgggcctccc ctgtcgccct gaatgtccag 1320
tatgcccccc gagacgtgag ggtccggaaa atcaagcccc tttccgagat tcactctgga 1380
aactcggtca gcctccaatg tgacttctca agcagccacc ccaaagaagt ccagttcttc 1440
tgggagaaaa atggcaggct tctggggaaa gaaagccagc tgaattttga ctccatctcc 1500
ccagaagatg ctgggagtta cagctgctgg gtgaacaact ccataggaca gacagcgtcc 1560
aaggcctgga cacttgaagt gctgtatgca cccaggaggc tgcgtgtgtc catgagccca 1620
ggggaccaag tgatggaggg gaagagtgca accctgacct gtgagagcga cgccaaccct 1680
cccgtctccc actacacctg gtttgactgg aataaccaaa gcctccccta ccacagccag 1740
aagctgagat tggagccggt gaaggtccag cactcgggtg cctactggtg ccaggggacc 1800
aacagtgtgg gcaagggccg ttcgcctctc agcaccctca ccgtctacta tagcccggag 1860
accggggcca ttggaggagc tggtgttaca gccctgctcg ctctttgtct ctgcctcatc 1920
ttcttcatag tgaagaccca caggaggaaa gcagccagga cagcagtggg caggaatgac 1980
acccacccta ccacagggtc agcctccccg aaacaccaga agaagtccaa gttacatggc 2040
cccactgaaa cctcaagctg ttcaggtgcc gcccctactg tggagatgga tgaggagctg 2100
cattatgctt ccctcaactt tcatgggatg aatccttcca aggacacctc caccgaatac 2160
tcagaggtca ggacccag 2178

<210> 107
<211> 552
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD33:CD22 2D蛋白质
<400> 107

Met Pro Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Ala Gly Ala Leu Ala
1 5 10 15
Met His His His His His His Gly Gly Gly Asp Pro Asn Phe Trp Leu
20 25 30
Gln Val Gln Glu Ser Val Thr Val Gln Glu Gly Leu Cys Val Leu Val
35 40 45
Pro Cys Thr Phe Phe His Pro Ile Pro Tyr Tyr Asp Lys Asn Ser Pro
50 55 60
Val His Gly Tyr Trp Phe Arg Glu Gly Ala Ile Ile Ser Arg Asp Ser
65 70 75 80
Pro Val Ala Thr Asn Lys Leu Asp Gln Glu Val Gln Glu Glu Thr Gln

85 90 95

Gly Arg Phe Arg Leu Leu Gly Asp Pro Ser Arg Asn Asn Cys Ser Leu
100 105 110

Ser Ile Val Asp Ala Arg Arg Arg Asp Asn Gly Ser Tyr Phe Phe Arg
115 120 125

Met Glu Arg Gly Ser Thr Lys Tyr Ser Tyr Lys Ser Pro Gln Leu Ser
130 135 140

Val His Val Thr Asp Leu Thr His Arg Pro Lys Ile Leu Ile Pro Gly
145 150 155 160

Thr Leu Glu Pro Gly His Ser Lys Asn Leu Thr Cys Ser Val Ser Trp
165 170 175

Ala Cys Glu Gln Gly Thr Pro Pro Ile Phe Ser Trp Leu Ser Ala Ala
180 185 190

Pro Thr Ser Leu Gly Pro Arg Thr Thr His Ser Ser Val Leu Ile Ile
195 200 205

Thr Pro Arg Pro Gln Asp His Gly Thr Asn Leu Thr Cys Gln Val Lys
210 215 220

Phe Ala Gly Ala Gly Val Thr Thr Glu Arg Thr Ile Gln Leu Asn Val
225 230 235 240

Thr Tyr Val Pro Gln Asn Pro Thr Thr Gly Ile Phe Pro Gly Asp Gly
245 250 255

Ser Gly Lys Gln Glu Thr Arg Ala Gly Val Val His Pro Arg Asp Val
260 265 270

Arg Val Arg Lys Ile Lys Pro Leu Ser Glu Ile His Ser Gly Asn Ser
275 280 285

Val Ser Leu Gln Cys Asp Phe Ser Ser Ser His Pro Lys Glu Val Gln
290 295 300

Phe Phe Trp Glu Lys Asn Gly Arg Leu Leu Gly Lys Glu Ser Gln Leu
305 310 315 320

Asn Phe Asp Ser Ile Ser Pro Glu Asp Ala Gly Ser Tyr Ser Cys Trp
325 330 335

Val Asn Asn Ser Ile Gly Gln Thr Ala Ser Lys Ala Trp Thr Leu Glu
340 345 350

Val Leu Tyr Ala Pro Arg Arg Leu Arg Val Ser Met Ser Pro Gly Asp
355 360 365

Gln Val Met Glu Gly Lys Ser Ala Thr Leu Thr Cys Glu Ser Asp Ala
370 375 380

Asn Pro Pro Val Ser His Tyr Thr Trp Phe Asp Trp Asn Asn Gln Ser
385 390 395 400

Leu Pro Tyr His Ser Gln Lys Leu Arg Leu Glu Pro Val Lys Val Gln
405 410 415
His Ser Gly Ala Tyr Trp Cys Gln Gly Thr Asn Ser Val Gly Lys Gly
420 425 430
Arg Ser Pro Leu Ser Thr Leu Thr Val Tyr Tyr Ser Pro Glu Thr Gly
435 440 445
Ala Ile Gly Gly Ala Gly Val Thr Ala Leu Leu Ala Leu Cys Leu Cys
450 455 460
Leu Ile Phe Phe Ile Val Lys Thr His Arg Arg Lys Ala Ala Arg Thr
465 470 475 480
Ala Val Gly Arg Asn Asp Thr His Pro Thr Thr Gly Ser Ala Ser Pro
485 490 495
Lys His Gln Lys Lys Ser Lys Leu His Gly Pro Thr Glu Thr Ser Ser
500 505 510
Cys Ser Gly Ala Ala Pro Thr Val Glu Met Asp Glu Glu Leu His Tyr
515 520 525
Ala Ser Leu Asn Phe His Gly Met Asn Pro Ser Lys Asp Thr Ser Thr
530 535 540
Glu Tyr Ser Glu Val Arg Thr Gln
545 550

<210> 108
<211> 1656
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD33:CD22 2D核苷酸
<400> 108

atgcctctgc tgctactgct acctctgctg tgggctggag ccctggctat gcatcatcac 60
caccatcacg gcggcggcga tccaaatttc tggctgcaag tgcaggagtc agtgacggta 120
caggagggtt tgtgcgtcct cgtgccctgc actttcttcc atcccatacc ctactacgac 180
aagaactccc cagttcatgg ttactggttc cgggaaggag ccattatatc cagggactct 240
ccagtggcca caaacaagct agatcaagaa gtacaggagg agactcaggg cagattccgc 300
ctccttgggg atcccagtag gaacaactgc tccctgagca tcgtagacgc caggaggagg 360
gataatggtt catacttctt tcggatggag agaggaagta ccaaatacag ttacaaatct 420
ccccagctct ctgtgcatgt gacagacttg acccacaggc ccaaaatcct catccctggc 480
actctagaac ccggccactc caaaaacctg acctgctctg tgtcctgggc ctgtgagcag 540
ggaacacccc cgatcttctc ctggttgtca gctgccccca cctccctggg ccccaggact 600
actcactcct cggtgctcat aatcacccca cggccccagg accacggcac caacctgacc 660
tgtcaggtga agttcgctgg agctggtgtg actacggaga gaaccatcca gctgaacgtc 720

acctatgttc cacagaaccc aacaactggt atctttccag gagatggctc agggaaacaa 780
gagaccagag caggagtggt tcatccccga gacgtgaggg tccggaaaat caagcccctt 840
tccgagattc actctggaaa ctcggtcagc ctccaatgtg acttctcaag cagccacccc 900
aaagaagtcc agttcttctg ggagaaaaat ggcaggcttc tggggaaaga aagccagctg 960
aattttgact ccatctcccc agaagatgct gggagttaca gctgctgggt gaacaactcc 1020
ataggacaga cagcgtccaa ggcctggaca cttgaagtgc tgtatgcacc caggaggctg 1080
cgtgtgtcca tgagcccagg ggaccaagtg atggagggga agagtgcaac cctgacctgt 1140
gagagcgacg ccaaccctcc cgtctcccac tacacctggt ttgactggaa taaccaaagc 1200
ctcccctacc acagccagaa gctgagattg gagccggtga aggtccagca ctcgggtgcc 1260
tactggtgcc aggggaccaa cagtgtgggc aagggccgtt cgcctctcag caccctcacc 1320
gtctactata gcccggagac cggggccatt ggaggagctg gtgttacagc cctgctcgct 1380
ctttgtctct gcctcatctt cttcatagtg aagacccaca ggaggaaagc agccaggaca 1440
gcagtgggca ggaatgacac ccaccctacc acagggtcag cctccccgaa acaccagaag 1500
aagtccaagt tacatggccc cactgaaacc tcaagctgtt caggtgccgc ccctactgtg 1560
gagatggatg aggagctgca ttatgcttcc ctcaactttc atgggatgaa tccttccaag 1620
gacacctcca ccgaatactc agaggtcagg acccag 1656

<210> 109
<211> 280
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD33 V型构建体(缺失外显子3和4)蛋白质
<400> 109

Met Pro Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Ala Gly Ala Leu Ala
1 5 10 15
Met His His His His His His Gly Gly Gly Asp Pro Asn Phe Trp Leu
20 25 30
Gln Val Gln Glu Ser Val Thr Val Gln Glu Gly Leu Cys Val Leu Val
35 40 45
Pro Cys Thr Phe Phe His Pro Ile Pro Tyr Tyr Asp Lys Asn Ser Pro
50 55 60
Val His Gly Tyr Trp Phe Arg Glu Gly Ala Ile Ile Ser Arg Asp Ser
65 70 75 80
Pro Val Ala Thr Asn Lys Leu Asp Gln Glu Val Gln Glu Glu Thr Gln
85 90 95
Gly Arg Phe Arg Leu Leu Gly Asp Pro Ser Arg Asn Asn Cys Ser Leu
100 105 110
Ser Ile Val Asp Ala Arg Arg Arg Asp Asn Gly Ser Tyr Phe Phe Arg
115 120 125

Met Glu Arg Gly Ser Thr Lys Tyr Ser Tyr Lys Ser Pro Gln Leu Ser
130 135 140
Val His Val Thr Tyr Val Pro Gln Asn Pro Thr Thr Gly Ile Phe Pro
145 150 155 160
Gly Asp Gly Ser Gly Lys Gln Glu Thr Arg Ala Gly Val Val His Gly
165 170 175
Ala Ile Gly Gly Ala Gly Val Thr Ala Leu Leu Ala Leu Cys Leu Cys
180 185 190
Leu Ile Phe Phe Ile Val Lys Thr His Arg Arg Lys Ala Ala Arg Thr
195 200 205
Ala Val Gly Arg Asn Asp Thr His Pro Thr Thr Gly Ser Ala Ser Pro
210 215 220
Lys His Gln Lys Lys Ser Lys Leu His Gly Pro Thr Glu Thr Ser Ser
225 230 235 240
Cys Ser Gly Ala Ala Pro Thr Val Glu Met Asp Glu Glu Leu His Tyr
245 250 255
Ala Ser Leu Asn Phe His Gly Met Asn Pro Ser Lys Asp Thr Ser Thr
260 265 270
Glu Tyr Ser Glu Val Arg Thr Gln
275 280

<210> 110
<211> 840
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD33 V型构建体(缺失外显子3和4)核苷酸
<400> 110

atgcctctgc tgctactgct acctctgctg tgggctggag ccctggctat gcatcatcac 60
caccatcacg gcggcggcga tccaaatttc tggctgcaag tgcaggagtc agtgacggta 120
caggagggtt tgtgcgtcct cgtgccctgc actttcttcc atcccatacc ctactacgac 180
aagaactccc cagttcatgg ttactggttc cgggaaggag ccattatatc cagggactct 240
ccagtggcca caaacaagct agatcaagaa gtacaggagg agactcaggg cagattccgc 300
ctccttgggg atcccagtag gaacaactgc tccctgagca tcgtagacgc caggaggagg 360
gataatggtt catacttctt tcggatggag agaggaagta ccaaatacag ttacaaatct 420
ccccagctct ctgtgcatgt gacatatgtt ccacagaacc caacaactgg tatctttcca 480
ggagatggct cagggaaaca agagaccaga gcaggagtgg ttcatggggc cattggagga 540
gctggtgtta cagccctgct cgctctttgt ctctgcctca tcttcttcat agtgaagacc 600
cacaggagga aagcagccag gacagcagtg ggcaggaatg acacccaccc taccacaggg 660
tcagcctccc cgaaacacca gaagaagtcc aagttacatg gccccactga aacctcaagc 720

tgttcaggtg ccgcccctac tgtggagatg gatgaggagc tgcattatgc ttccctcaac 780
tttcatggga tgaatccttc caaggacacc tccaccgaat actcagaggt caggacccag 840
<210> 111
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD33信号肽
<400> 111
Met Pro Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Ala Gly Ala Leu Ala
1 5 10 15
Met
<210> 112
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD33信号肽编码序列
<400> 112
atgcctctgc tgctactgct acctctgctg tgggctggag ccctggctat g 51
<210> 113
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> His tag编码序列
<400> 113
catcatcacc accatcac 18
<210> 114
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD33细胞外结构域
<400> 114
Asp Pro Asn Phe Trp Leu Gln Val Gln Glu Ser Val Thr Val Gln Glu
1 5 10 15
Gly Leu Cys Val Leu Val Pro Cys Thr Phe Phe His Pro Ile Pro Tyr
20 25 30

Tyr Asp Lys Asn Ser Pro Val His Gly Tyr Trp Phe Arg Glu Gly Ala
35 40 45
Ile Ile Ser Arg Asp Ser Pro Val Ala Thr Asn Lys Leu Asp Gln Glu
50 55 60
Val Gln Glu Glu Thr Gln Gly Arg Phe Arg Leu Leu Gly Asp Pro Ser
65 70 75 80
Arg Asn Asn Cys Ser Leu Ser Ile Val Asp Ala Arg Arg Arg Asp Asn
85 90 95
Gly Ser Tyr Phe Phe Arg Met Glu Arg Gly Ser Thr Lys Tyr Ser Tyr
100 105 110
Lys Ser Pro Gln Leu Ser Val His Val Thr Asp Leu Thr His Arg Pro
115 120 125
Lys Ile Leu Ile Pro Gly Thr Leu Glu Pro Gly His Ser Lys Asn Leu
130 135 140
Thr Cys Ser Val Ser Trp Ala Cys Glu Gln Gly Thr Pro Pro Ile Phe
145 150 155 160
Ser Trp Leu Ser Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Pro Arg Thr Thr His
165 170 175
Ser Ser Val Leu Ile Ile Thr Pro Arg Pro Gln Asp His Gly Thr Asn
180 185 190
Leu Thr Cys Gln Val Lys Phe Ala Gly Ala Gly Val Thr Thr Glu Arg
195 200 205
Thr Ile Gln Leu Asn Val Thr Tyr Val Pro Gln Asn Pro Thr Thr Gly
210 215 220
Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Gly Lys Gln Glu Thr Arg Ala Gly Val
225 230 235 240
Val His

<210> 115
<211> 726
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD33细胞外结构域编码序列
<400> 115

gatccaaatt tctggctgca agtgcaggag tcagtgacgg tacaggaggg tttgtgcgtc 60
ctcgtgccct gcactttctt ccatcccata ccctactacg acaagaactc cccagttcat 120
ggttactggt tccgggaagg agccattata tccagggact ctccagtggc cacaaacaag 180
ctagatcaag aagtacagga ggagactcag ggcagattcc gcctccttgg ggatcccagt 240
aggaacaact gctccctgag catcgtagac gccaggagga gggataatgg ttcatacttc 300

tttcggatgg agagaggaag taccaaatac agttacaaat ctccccagct ctctgtgcat 360
gtgacagact tgacccacag gcccaaaatc ctcatccctg gcactctaga acccggccac 420
tccaaaaacc tgacctgctc tgtgtcctgg gcctgtgagc agggaacacc cccgatcttc 480
tcctggttgt cagctgcccc cacctccctg ggccccagga ctactcactc ctcggtgctc 540
ataatcaccc cacggcccca ggaccacggc accaacctga cctgtcaggt gaagttcgct 600
ggagctggtg tgactacgga gagaaccatc cagctgaacg tcacctatgt tccacagaac 660
ccaacaactg gtatctttcc aggagatggc tcagggaaac aagagaccag agcaggagtg 720
gttcat 726

<210> 116
<211> 149
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 缺少CD33氨基酸140-232的CD33细胞外结构域
<400> 116

Asp Pro Asn Phe Trp Leu Gln Val Gln Glu Ser Val Thr Val Gln Glu
1 5 10 15
Gly Leu Cys Val Leu Val Pro Cys Thr Phe Phe His Pro Ile Pro Tyr
20 25 30
Tyr Asp Lys Asn Ser Pro Val His Gly Tyr Trp Phe Arg Glu Gly Ala
35 40 45
Ile Ile Ser Arg Asp Ser Pro Val Ala Thr Asn Lys Leu Asp Gln Glu
50 55 60
Val Gln Glu Glu Thr Gln Gly Arg Phe Arg Leu Leu Gly Asp Pro Ser
65 70 75 80
Arg Asn Asn Cys Ser Leu Ser Ile Val Asp Ala Arg Arg Arg Asp Asn
85 90 95
Gly Ser Tyr Phe Phe Arg Met Glu Arg Gly Ser Thr Lys Tyr Ser Tyr
100 105 110
Lys Ser Pro Gln Leu Ser Val His Val Thr Tyr Val Pro Gln Asn Pro
115 120 125
Thr Thr Gly Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Gly Lys Gln Glu Thr Arg
130 135 140
Ala Gly Val Val His
145

<210> 117
<211> 447
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 缺少CD33氨基酸140-232的CD33细胞外结构域的编码序列
<400> 117
gatccaaatt tctggctgca agtgcaggag tcagtgacgg tacaggaggg tttgtgcgtc 60
ctcgtgccct gcactttctt ccatcccata ccctactacg acaagaactc cccagttcat 120
ggttactggt tccgggaagg agccattata tccagggact ctccagtggc cacaaacaag 180
ctagatcaag aagtacagga ggagactcag ggcagattcc gcctccttgg ggatcccagt 240
aggaacaact gctccctgag catcgtagac gccaggagga gggataatgg ttcatacttc 300
tttcggatgg agagaggaag taccaaatac agttacaaat ctccccagct ctctgtgcat 360
gtgacatatg ttccacagaa cccaacaact ggtatctttc caggagatgg ctcagggaaa 420
caagagacca gagcaggagt ggttcat 447
<210> 118
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD33跨膜结构域
<400> 118
Gly Ala Ile Gly Gly Ala Gly Val Thr Ala Leu Leu Ala Leu Cys Leu
1 5 10 15
Cys Leu Ile Phe Phe Ile Val
20
<210> 119
<211> 69
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD33跨膜结构域编码序列
<400> 119
ggggccattg gaggagctgg tgttacagcc ctgctcgctc tttgtctctg cctcatcttc 60
ttcatagtg 69
<210> 120
<211> 82
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD33细胞内结构域
<400> 120
Lys Thr His Arg Arg Lys Ala Ala Arg Thr Ala Val Gly Arg Asn Asp

1 5 10 15
Thr His Pro Thr Thr Gly Ser Ala Ser Pro Lys His Gln Lys Lys Ser
20 25 30
Lys Leu His Gly Pro Thr Glu Thr Ser Ser Cys Ser Gly Ala Ala Pro
35 40 45
Thr Val Glu Met Asp Glu Glu Leu His Tyr Ala Ser Leu Asn Phe His
50 55 60
Gly Met Asn Pro Ser Lys Asp Thr Ser Thr Glu Tyr Ser Glu Val Arg
65 70 75 80
Thr Gln

<210> 121
<211> 246
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD33细胞内结构域编码序列
<400> 121
aagacccaca ggaggaaagc agccaggaca gcagtgggca ggaatgacac ccaccctacc 60
acagggtcag cctccccgaa acaccagaag aagtccaagt tacatggccc cactgaaacc 120
tcaagctgtt caggtgccgc ccctactgtg gagatggatg aggagctgca ttatgcttcc 180
ctcaactttc atgggatgaa tccttccaag gacacctcca ccgaatactc agaggtcagg 240
acccag 246

<210> 122
<211> 353
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD22细胞外结构域中含有定义为Ig样C2型3、Ig样C2型4、Ig样C2型5、Ig样C2型6的CD22结构域的部分
<400> 122
Pro Glu Pro Ser Thr Val Gln Ile Leu His Ser Pro Ala Val Glu Gly
1 5 10 15
Ser Gln Val Glu Phe Leu Cys Met Ser Leu Ala Asn Pro Leu Pro Thr
20 25 30
Asn Tyr Thr Trp Tyr His Asn Gly Lys Glu Met Gln Gly Arg Thr Glu
35 40 45
Glu Lys Val His Ile Pro Lys Ile Leu Pro Trp His Ala Gly Thr Tyr
50 55 60
Ser Cys Val Ala Glu Asn Ile Leu Gly Thr Gly Gln Arg Gly Pro Gly

65 70 75 80
Ala Glu Leu Asp Val Gln Tyr Pro Pro Lys Lys Val Thr Thr Val Ile
85 90 95
Gln Asn Pro Met Pro Ile Arg Glu Gly Asp Thr Val Thr Leu Ser Cys
100 105 110
Asn Tyr Asn Ser Ser Asn Pro Ser Val Thr Arg Tyr Glu Trp Lys Pro
115 120 125
His Gly Ala Trp Glu Glu Pro Ser Leu Gly Val Leu Lys Ile Gln Asn
130 135 140
Val Gly Trp Asp Asn Thr Thr Ile Ala Cys Ala Ala Cys Asn Ser Trp
145 150 155 160
Cys Ser Trp Ala Ser Pro Val Ala Leu Asn Val Gln Tyr Ala Pro Arg
165 170 175
Asp Val Arg Val Arg Lys Ile Lys Pro Leu Ser Glu Ile His Ser Gly
180 185 190
Asn Ser Val Ser Leu Gln Cys Asp Phe Ser Ser Ser His Pro Lys Glu
195 200 205
Val Gln Phe Phe Trp Glu Lys Asn Gly Arg Leu Leu Gly Lys Glu Ser
210 215 220
Gln Leu Asn Phe Asp Ser Ile Ser Pro Glu Asp Ala Gly Ser Tyr Ser
225 230 235 240
Cys Trp Val Asn Asn Ser Ile Gly Gln Thr Ala Ser Lys Ala Trp Thr
245 250 255
Leu Glu Val Leu Tyr Ala Pro Arg Arg Leu Arg Val Ser Met Ser Pro
260 265 270
Gly Asp Gln Val Met Glu Gly Lys Ser Ala Thr Leu Thr Cys Glu Ser
275 280 285
Asp Ala Asn Pro Pro Val Ser His Tyr Thr Trp Phe Asp Trp Asn Asn
290 295 300
Gln Ser Leu Pro Tyr His Ser Gln Lys Leu Arg Leu Glu Pro Val Lys
305 310 315 320
Val Gln His Ser Gly Ala Tyr Trp Cys Gln Gly Thr Asn Ser Val Gly
325 330 335
Lys Gly Arg Ser Pro Leu Ser Thr Leu Thr Val Tyr Tyr Ser Pro Glu
340 345 350
Thr

<210> 123
<211> 1059
<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> CD22细胞外结构域中含有定义为Ig样C2型3、Ig样C2型4、Ig样C2型5、Ig样C2型6的CD22结构域的部分的编码序列

<400> 123

ccggaacctt ccacggttca gatcctccac tcaccggctg tggagggaag tcaagtcgag 60
tttctttgca tgtcactggc caatcctctt ccaacaaatt acacgtggta ccacaatggg 120
aaagaaatgc agggaaggac agaggagaaa gtccacatcc caaagatcct cccttggcac 180
gctgggactt attcctgtgt ggcagaaaac attcttggta ctggacagag gggccctgga 240
gctgagctgg atgtccagta tcctcccaag aaggtgacca cagtgattca aaaccccatg 300
ccgattcgag aaggagacac agtgaccctt tcctgtaact acaattccag taaccccagt 360
gttacccggt atgaatggaa accccatggc gcctgggagg agccatcgct tggggtgctg 420
aagatccaaa acgttggctg ggacaacaca accatcgcct gcgcagcttg taatagttgg 480
tgctcgtggg cctcccctgt cgccctgaat gtccagtatg ccccccgaga cgtgagggtc 540
cggaaaatca agcccctttc cgagattcac tctggaaact cggtcagcct ccaatgtgac 600
ttctcaagca gccaccccaa agaagtccag ttcttctggg agaaaaatgg caggcttctg 660
gggaaagaaa gccagctgaa ttttgactcc atctccccag aagatgctgg gagttacagc 720
tgctgggtga acaactccat aggacagaca gcgtccaagg cctggacact tgaagtgctg 780
tatgcaccca ggaggctgcg tgtgtccatg agcccagggg accaagtgat ggaggggaag 840
agtgcaaccc tgacctgtga gagcgacgcc aaccctcccg tctcccacta cacctggttt 900
gactggaata accaaagcct cccctaccac agccagaagc tgagattgga gccggtgaag 960
gtccagcact cgggtgccta ctggtgccag gggaccaaca gtgtgggcaa gggccgttcg 1020
cctctcagca ccctcaccgt ctactatagc ccggagacc 1059

<210> 124

<211> 179

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> CD22细胞外结构域中含有定义为Ig样C2型5、Ig样C2型6的CD22结构域的部分

<400> 124

Pro Arg Asp Val Arg Val Arg Lys Ile Lys Pro Leu Ser Glu Ile His
1 5 10 15
Ser Gly Asn Ser Val Ser Leu Gln Cys Asp Phe Ser Ser Ser His Pro
20 25 30
Lys Glu Val Gln Phe Phe Trp Glu Lys Asn Gly Arg Leu Leu Gly Lys
35 40 45
Glu Ser Gln Leu Asn Phe Asp Ser Ile Ser Pro Glu Asp Ala Gly Ser
50 55 60
Tyr Ser Cys Trp Val Asn Asn Ser Ile Gly Gln Thr Ala Ser Lys Ala

65 70 75 80
Trp Thr Leu Glu Val Leu Tyr Ala Pro Arg Arg Leu Arg Val Ser Met
85 90 95
Ser Pro Gly Asp Gln Val Met Glu Gly Lys Ser Ala Thr Leu Thr Cys
100 105 110
Glu Ser Asp Ala Asn Pro Pro Val Ser His Tyr Thr Trp Phe Asp Trp
115 120 125
Asn Asn Gln Ser Leu Pro Tyr His Ser Gln Lys Leu Arg Leu Glu Pro
130 135 140
Val Lys Val Gln His Ser Gly Ala Tyr Trp Cys Gln Gly Thr Asn Ser
145 150 155 160
Val Gly Lys Gly Arg Ser Pro Leu Ser Thr Leu Thr Val Tyr Tyr Ser
165 170 175
Pro Glu Thr

<210> 125
<211> 537
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> CD22细胞外结构域中含有定义为Ig样C2型5、Ig样C2型6的CD22结构域的部分的编码序列
<400> 125
ccccgagacg tgagggtccg gaaaatcaag ccccttccg agattcactc tggaaactcg 60
gtcagcctcc aatgtgactt ctcaagcagc caccccaaag aagtccagtt cttctgggag 120
aaaaatggca ggcttctggg gaaagaaagc cagctgaatt ttgactccat ctccccagaa 180
gatgctggga gttacagctg ctgggtgaac aactccatag gacagacagc gtccaaggcc 240
tggacacttg aagtgctgta tgcacccagg aggctgcgtg tgtccatgag cccaggggac 300
caagtgatgg aggggaagag tgcaaccctg acctgtgaga gcgacgccaa ccctcccgtc 360
tcccactaca cctggtttga ctggaataac caaagcctcc cctaccacag ccagaagctg 420
agattggagc cggtgaaggt ccagcactcg ggtgcctact ggtgccaggg gaccaacagt 480
gtgggcaagg gccgttcgcc tctcagcacc ctcaccgtct actatagccc ggagacc 537
<210> 126
<211> 783
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7 VLVH scFv编码序列
<400> 126
atgctgctgc tcgtgaccag cctgctgctg tgcgaactgc cccaccctgc ctttctgctg 60

atccccgata ttcagatgac ccaaactacg agttccctgt ctgccagcct tggcgaccgg 120
gtcacaatta gttgcagggc ttctcaggat atcaactact atttgaactg gtaccagcag 180
aaacctgatg ggacggtcaa acttctcatc tactattcat ccagactgca cagtggcgta 240
ccgtctagat tctcaggaag cggcagtggt acggatttta gtcttaccat tagtaatctg 300
gaacaggagg acatcgccac gtatttttgc cagcaggatg acgcactgcc ctataccttc 360
ggcggaggca ctaagttgga gataaaagga ggcggaggat ctggcggagg gggctctgga 420
ggaggaggat ctcaagtaca acttcaacaa agtggagccg aactggtaaa acccggagcg 480
tctgtgaaga ttagttgcaa ggcatccggt tacgccttct caaattattg gatgaactgg 540
gtaaagcagc ggcccggaaa gggtctcgag tggattgggc aaatcaaccc aggggacggg 600
gatacgaact acaacggtaa gttcaaaggc aaggctacgt tgacggctga taagagctca 660
agcaccgctt acatgcagtt gtcttctttg acaagtgagg atagtgccgt ttacttctgc 720
gcccgagagg accgagatta ttttgattat tggggccagg gaacaactct caccgtcagc 780
tcc 783

<210> 127
<211> 780
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5变体1 VHVL scFv编码序列
<400> 127

atgctgctgc tcgtgaccag cctgctgctg tgcgaactgc cccaccctgc ctttctgctg 60
atcccccagg tgcaactcca gcagtccggc gccgagctgg tcaggccagg tgcatccgta 120
actctgtcat gtaaggcgtc cggatacacc ttcacggact acgaaatgca ttggataaaa 180
caaactccag ttcatgggtt ggagtggatt ggctccatag acccggaaac gggagtaacg 240
gcgtataacc agaaattcac ggggaaagcg atagtaacgg cagacaagtc tagtagcact 300
gcctacatgg aacttagaag tctcacaagt gaagacagcg cggtatatta ttgcacctcc 360
gattatggat actttgacgt ttggggtacg ggcacgacag tgactgttag ttctggaggc 420
ggaggatctg gcggaggggg ctctggagga ggaggatctg atgttgtaat gacgcagtct 480
caaaagttta tgtcaacgtc tgttggtgat cgcgttagca ttacctgcaa agcatctcaa 540
agtgtaggat ctgatgtggc atggtaccag caacggcctg gacgctgtcc taaagcgctg 600
atttatcttg cttctaaccg gcatacgggg gtcccagaca ggtttactgg gtctggatct 660
ggaacggact ttacactgac catatcaaac gttcagtcag aggacctggc cgagtatttc 720
tgtcaacaat ataacatata cccctatacc ttcggtggag gaactaaatt ggagataaag 780

<210> 128
<211> 780
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5变体1 VLVH scFv编码序列

<400> 128
atgctgctgc tcgtgaccag cctgctgctg tgcgaactgc cccaccctgc ctttctgctg 60
atccccgatg ttgtaatgac gcagtctcaa aagtttatgt caacgtctgt tggtgatcgc 120
gttagcatta cctgcaaagc atctcaaagt gtaggatctg atgtggcatg gtaccagcaa 180
cggcctggac gctgtcctaa agcgctgatt tatcttgctt ctaaccggca tacgggggtc 240
ccagacaggt ttactgggtc tggatctgga acggacttta cactgaccat atcaaacgtt 300
cagtcagagg acctggccga gtatttctgt caacaatata acatataccc ctataccttc 360
ggtggaggaa ctaaattgga gataaaggga ggcggaggat ctggcggagg gggctctgga 420
ggaggaggat ctcaggtgca actccagcag tccggcgccg agctggtcag gccaggtgca 480
tccgtaactc tgtcatgtaa ggcgtccgga tacaccttca cggactacga aatgcattgg 540
ataaaacaaa ctccagttca tgggttggag tggattggct ccatagaccc ggaaacggga 600
gtaacggcgt ataaccagaa attcacgggg aaagcgatag taacggcaga caagtctagt 660
agcactgcct acatggaact tagaagtctc acaagtgaag acagcgcggt atattattgc 720
acctccgatt atggatactt tgacgtttgg ggtacgggca cgacagtgac tgttagttct 780
<210> 129
<211> 780
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5变体2 VHVL scFv编码序列
<400> 129
atgctgctgc tcgtgaccag cctgctgctg tgcgaactgc cccaccctgc ctttctgctg 60
atcccccagg tgcaactcca gcagtccggc gccgagctgg tcaggccagg tgcatccgta 120
actctgtcat gtaaggcgtc cggatacacc ttcacggact acgaaatgca ttggataaaa 180
caaactccag ttcatgggtt ggagtggatt ggctccatag acccggaaac gggagtaacg 240
gcgtataacc agaaattcac ggggaaagcg atagtaacgg cagacaagtc tagtagcact 300
gcctacatgg aacttagaag tctcacaagt gaagacagcg cggtatatta ttgcacctcc 360
gattatggat actttaacgt ttggggtacg ggcacgacag tgactgttag ttctggaggc 420
ggaggatctg gcggaggggg ctctggagga ggaggatctg atgttgtaat gacgcagtct 480
caaaagttta tgtcaacgtc tgttggtgat cgcgttagca ttacctgcaa agcatctcaa 540
agtgtaggat ctgatgtggc atggtaccag caacggcctg gacgctgtcc taaagcgctg 600
atttatcttg cttctaaccg gcatacgggg gtcccagaca ggtttactgg gtctggatct 660
ggaacggact ttacactgac catatcaaac gttcagtcag aggacctggc cgagtatttc 720
tgtcaacaat ataacatata ccctatacc ttcggtggag gaactaaatt ggagataaag 780
<210> 130
<211> 780
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> 3A5变体2 VLVH scFv编码序列

<400> 130

atgctgctgc tcgtgaccag cctgctgctg tgcgaactgc cccaccctgc ctttctgctg 60
atccccgatg ttgtaatgac gcagtctcaa aagtttatgt caacgtctgt tggtgatcgc 120
gttagcatta cctgcaaagc atctcaaagt gtaggatctg atgtggcatg gtaccagcaa 180
cggcctggac gctgtcctaa agcgctgatt tatcttgctt ctaaccggca tacgggggtc 240
ccagacaggt ttactgggtc tggatctgga acggacttta cactgaccat atcaaacgtt 300
cagtcagagg acctggccga gtatttctgt caacaatata acatataccc ctataccttc 360
ggtggaggaa ctaaattgga gataaaggga ggcggaggat ctggcggagg gggctctgga 420
ggaggaggat ctcaggtgca actccagcag tccggcgccg agctggtcag gccaggtgca 480
tccgtaactc tgtcatgtaa ggcgtccgga tacaccttca cggactacga aatgcattgg 540
ataaaacaaa ctccagttca tgggttggag tggattggct ccatagaccc ggaaacggga 600
gtaacggcgt ataaccagaa attcacgggg aaagcgatag taacggcaga caagtctagt 660
agcactgcct acatggaact tagaagtctc acaagtgaag acagcgcggt atattattgc 720
acctccgatt atggatactt taacgtttgg ggtacgggca cgacagtgac tgttagttct 780

<210> 131

<211> 789

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 9G2 VLVH scFv编码序列

<400> 131

atgctgctgc tcgtgaccag cctgctgctg tgcgaactgc cccaccctgc ctttctgctg 60
atccccgata tacaaatgac tcagacaacg agcagtttgt ccgcatctct tggcgatcga 120
gtaactatta gctgcaagac atcccaggac atatataatt atttgaattg gtatcagcag 180
aaaccggacg gaactgtcaa actcctcatt tattatacct ccaggcttca tagtggggtt 240
ccttcccgat ttagtggagg aggctcaggt acggactaca gcctgacgat ttccaacctt 300
gaacaagaag atatagctac atacttctgt cagcaaggtg acaccttgcc ctggacattc 360
ggtgggggta caaaactcga aataaaggga ggcggaggat ctggcggagg gggctctgga 420
ggaggaggat ctgaggtcaa gcttgtcgag tcagagggag gtttggtcca gccgggttct 480
tctatgaaac tctcctgcac agccagtggc tttacattta gtgattacta catgagttgg 540
gtgagacagg tgcctgagaa agggctggag tgggtagctt ccattaacta cgacggaggt 600
agcacctatt acttggactc cttgaaaagc agattcataa tttccaggga taatacgaaa 660
aacatacttt atcttcaaat gtcctctttg aagagcgagg acacagccac atactattgc 720
gccagggata gaggcgatgg tgattatttt gactattggg gacagggcac aacactcacg 780
gtcagcagc 789

<210> 132

<211> 789

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5变体1 VHVL scFv编码序列
<400> 132
atgctgctgc tcgtgaccag cctgctgctg tgcgaactgc cccaccctgc ctttctgctg 60
atcccccagg ttcaacttaa agagagcggc cccggcctgg tcgcaccctc tcagtctctc 120
tccatcacat gcactgtgag cgggttttca ctcacaagct acaacattaa ctggataaga 180
caaccaccgg gaaaaggatt ggaatggttg ggtgtgatat ggaccggtgg agacacgaac 240
tataactccg cctttatgag taggcttagt atatccaaag acaattcaaa gagtcaactg 300
ttcctgaaga tgaatagcct ccagacggac gacacggcca tctactactg cgttcgggac 360
gggactggca ctggggacta ttttgactac tgggggcaag gtacgactct gacggtgtca 420
agcggaggcg gaggatctgg cggaggggc tctggaggag gaggatctga tattcagatg 480
acccaaacga cttcatcatt gagtgcctcc cttggggatc gagttacgat ttcatgcagg 540
gccagccaag atattttcaa ttacctgaat tggtatcagc agaagcctga cggtacagtc 600
aaacttttga tctattacgc cagtagattg cacagcggcg taccaagtcg atttagcggg 660
agcggaagtg gcacagacta ctcccttaca attcataacc tggaacagga ggacatagct 720
acctatttct gtcaacaagg ggacacgctg ccttacacgt ttggcggagg cactaaactt 780
gaaataaag 789
<210> 133
<211> 789
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5变体2 VHVL scFv编码序列
<400> 133
atgctgctgc tcgtgaccag cctgctgctg tgcgaactgc cccaccctgc ctttctgctg 60
atcccccagg ttcaacttaa agagagcggc cccggcctgg tcgcaccctc tcagtctctc 120
tccatcacat gcactgtgag cgggttttca ctcacaagct acaacattaa ctggataaga 180
caaccaccgg gaaaaggatt ggaatggttg ggtgtgatat ggaccggtgg agacacgaac 240
tataactccg cctttatgag taggcttagt atatccaaag acaattcaaa gagtcaactg 300
ttcctgaaga tgaatagcct ccagacggac gacacggcca tctactactg cgttcgggac 360
gggactggca ctggggacca ttttgactac tgggggcaag gtacgactct gacggtgtca 420
agcggaggcg gaggatctgg cggaggggc tctggaggag gaggatctga tattcagatg 480
acccaaacga cttcatcatt gagtgcctcc cttggggatc gagttacgat ttcatgcagg 540
gccagccaag atattttcaa ttacctgaat tggtatcagc agaagcctga cggtacagtc 600
aaacttttga tctattacgc cagtagattg cacagcggcg taccaagtcg atttagcggg 660
agcggaagtg gcacagacta ctcccttaca attcataacc tggaacagga ggacatagct 720
acctatttct gtcaacaagg ggacacgctg ccttacacgt ttggcggagg cactaaactt 780
gaaataaag 789

<210> 134
<211> 63
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 信号肽编码序列
<400> 134
ctgctgctcg tgaccagcct gctgctgtgc gaactgcccc accctgcctt tctgctgatc 60
ccc 63
<210> 135
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> G4Sx3连接子编码序列
<400> 135
ggaggcggag gatctggcgg agggggctct ggaggaggag gatct 45
<210> 136
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7可变轻链编码序列
<400> 136
gatattcaga tgacccaaac tacgagttcc ctgtctgcca gccttggcga ccgggtcaca 60
attagttgca gggcttctca ggatatcaac tactatttga actggtacca gcagaaacct 120
gatgggacgg tcaaacttct catctactat tcatccagac tgcacagtgg cgtaccgtct 180
agattctcag gaagcggcag tggtacggat tttagtctta ccattagtaa tctggaacag 240
gaggacatcg ccacgtattt ttgccagcag gatgacgcac tgccctatac cttcggcgga 300
ggcactaagt tggagataaa a 321
<210> 137
<211> 351
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7可变重链编码序列
<400> 137
caagtacaac ttcaacaaag tggagccgaa ctggtaaaac ccggagcgtc tgtgaagatt 60
agttgcaagg catccggtta cgccttctca aattattgga tgaactgggt aaagcagcgg 120

cccggaaagg gtctcgagtg gattgggcaa atcaacccag gggacgggga tacgaactac 180
aacggtaagt tcaaaggcaa ggctacgttg acggctgata agagctcaag caccgcttac 240
atgcagttgt cttctttgac aagtgaggat agtgccgttt acttctgcgc ccgagaggac 300
cgagattatt ttgattattg gggccaggga acaactctca ccgtcagctc c 351

<210> 138
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5变体1和变体2可变轻链编码序列
<400> 138

gatgttgtaa tgacgcagtc tcaaaagttt atgtcaacgt ctgttggtga tcgcgttagc 60
attacctgca aagcatctca aagtgtagga tctgatgtgg catggtacca gcaacggcct 120
ggacgctgtc ctaaagcgct gatttatctt gcttctaacc ggcatacggg ggtcccagac 180
aggtttactg ggtctggatc tggaacggac tttacactga ccatatcaaa cgttcagtca 240
gaggacctgg ccgagtattt ctgtcaacaa tataacatat acccctatac cttcggtgga 300
ggaactaaat tggagataaa g 321

<210> 139
<211> 348
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5变体1可变重链编码序列
<400> 139

caggtgcaac tccagcagtc cggcgccgag ctggtcaggc caggtgcatc cgtaactctg 60
tcatgtaagg cgtccggata caccttcacg gactacgaaa tgcattggat aaaacaaact 120
ccagttcatg ggttggagtg gattggctcc atagacccgg aaacgggagt aacggcgtat 180
aaccagaaat tcacggggaa agcgatagta acggcagaca agtctagtag cactgcctac 240
atggaactta gaagtctcac aagtgaagac agcgcggtat attattgcac ctccgattat 300
ggatactttg acgtttgggg tacgggcacg acagtgactg ttagttct 348

<210> 140
<211> 348
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5变体2可变重链编码序列
<400> 140

caggtgcaac tccagcagtc cggcgccgag ctggtcaggc caggtgcatc cgtaactctg 60
tcatgtaagg cgtccggata caccttcacg gactacgaaa tgcattggat aaaacaaact 120

ccagttcatg ggttggagtg gattggctcc atagacccgg aaacgggagt aacggcgtat 180
aaccagaaat tcacggggaa agcgatagta acggcagaca agtctagtag cactgcctac 240
atggaactta gaagtctcac aagtgaagac agcgcggtat attattgcac ctccgattat 300
ggatacttta acgtttgggg tacgggcacg acagtgactg ttagttct 348

<210> 141
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 9G2可变轻链编码序列
<400> 141

gatatacaaa tgactcagac aacgagcagt ttgtccgcat ctcttggcga tcgagtaact 60
attagctgca agacatccca ggacatatat aattatttga attggtatca gcagaaaccg 120
gacggaactg tcaaactcct catttattat acctccaggc ttcatagtgg ggttccttcc 180
cgatttagtg gaggaggctc aggtacggac tacagcctga cgatttccaa ccttgaacaa 240
gaagatatag ctacatactt ctgtcagcaa ggtgacacct tgccctggac attcggtggg 300
ggtacaaaac tcgaaataaa g 321

<210> 142
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 9G2可变重链编码序列
<400> 142

gaggtcaagc ttgtcgagtc agagggaggt ttggtccagc cgggttcttc tatgaaactc 60
tcctgcacag ccagtggctt tacatttagt gattactaca tgagttgggt gagacaggtg 120
cctgagaaag ggctggagtg ggtagcttcc attaactacg acggaggtag cacctattac 180
ttggactcct tgaaaagcag attcataatt tccagggata atacgaaaaa catactttat 240
cttcaaatgt cctctttgaa gagcgaggac acagccacat actattgcgc cagggataga 300
ggcgatggtg attattttga ctattgggga cagggcacaa cactcacggt cagcagc 357

<210> 143
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5变体1和变体2可变轻链编码序列
<400> 143

gatattcaga tgacccaaac gacttcatca ttgagtgcct cccttgggga tcgagttacg 60
atttcatgca gggccagcca agatattttc aattacctga attggtatca gcagaagcct 120

gacggtacag tcaaactttt gatctattac gccagtagat tgcacagcgg cgtaccaagt 180
cgatttagcg ggagcggaag tggcacagac tactccctta caattcataa cctggaacag 240
gaggacatag ctacctattt ctgtcaacaa ggggacacgc tgccttacac gtttggcgga 300
ggcactaaac ttgaaataaa g 321

<210> 144
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5变体1可变重链编码序列
<400> 144

caggttcaac ttaaagagag cggccccggc ctggtcgcac cctctcagtc tctctccatc 60
acatgcactg tgagcgggtt ttcactcaca agctacaaca ttaactggat aagacaacca 120
ccgggaaaag gattggaatg gttgggtgtg atatggaccg gtggagacac gaactataac 180
tccgccttta tgagtaggct tagtatatcc aaagacaatt caaagagtca actgttcctg 240
aagatgaata gcctccagac ggacgacacg gccatctact actgcgttcg ggacgggact 300
ggcactgggg actattttga ctactggggg caaggtacga ctctgacggt gtcaagc 357

<210> 145
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5变体2可变重链编码序列
<400> 145

caggttcaac ttaaagagag cggccccggc ctggtcgcac cctctcagtc tctctccatc 60
acatgcactg tgagcgggtt ttcactcaca agctacaaca ttaactggat aagacaacca 120
ccgggaaaag gattggaatg gttgggtgtg atatggaccg gtggagacac gaactataac 180
tccgccttta tgagtaggct tagtatatcc aaagacaatt caaagagtca actgttcctg 240
aagatgaata gcctccagac ggacgacacg gccatctact actgcgttcg ggacgggact 300
ggcactgggg accattttga ctactggggg caaggtacga ctctgacggt gtcaagc 357

<210> 146
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 8F5的CDRL1
<400> 146

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Arg Asn Gln Tyr Asn Phe Leu
1 5 10 15

Ala
<210> 147
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 8F5的CDRL2
<400> 147
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5
<210> 148
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 8F5的CDRL3
<400> 148
Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5
<210> 149
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 8F5的CDRH1
<400> 149
Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Phe Tyr Met Tyr
1 5 10
<210> 150
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 8F5的CDRH2
<400> 150
Phe Ile Ser Asn Ala Gly Val Thr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Glu
1 5 10 15
Gly
<210> 151

<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 8F5的CDRH3
<400> 151
Ser Asp Tyr Asp Gly Ala Trp Phe Pro Tyr
1 5 10
<210> 152
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 12B12的CDRL1
<400> 152
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr
1 5 10 15
<210> 153
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 12B12和/或11D5的CDRL2
<400> 153
Gln Met Ser Asn Leu Ala Ser
1 5
<210> 154
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 12B12和/或11D5的CDRL3
<400> 154
Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Pro Thr
1 5
<210> 155
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 12B12的CDRH1
<400> 155
Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Trp Met His
1 5 10
<210> 156
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 12B12的CDRH2
<400> 156
Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Thr Ser Tyr Asn Gln
1 5 10
<210> 157
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 12B12的CDRH3
<400> 157
Tyr Asp Gly Tyr His Phe Ile
1 5
<210> 158
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D11的CDRL1
<400> 158
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 159
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D11、6H9和/或9G2的CDRL2
<400> 159

Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser
1 5
<210> 160
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D11的CDRL3
<400> 160
Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Pro Thr
1 5
<210> 161
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D11的CDRH1
<400> 161
Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Phe Tyr Met Glu
1 5 10
<210> 162
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D11的CDRH2
<400> 162
Ala Ser Arg Asn Lys Ala Asn Asp Tyr Thr Thr Glu Tyr
1 5 10
<210> 163
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D11的CDRH3
<400> 163
Asp Thr Gly Pro Met Asp Tyr
1 5
<210> 164

<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 17E7的CDRL
<400> 164
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Ser
1 5 10 15
<210> 165
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7E7的CDRL2
<400> 165
Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly
1 5
<210> 166
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7E7的CDRL3
<400> 166
Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Leu Thr
1 5
<210> 167
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7E7的CDRH1
<400> 167
Gly Phe Ser Leu Asn Ser Tyr Gly Met Gly Ile Gly
1 5 10
<210> 168
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 7E7的CDRH2
<400> 168
His Ile Trp Trp Asp Asp Asn Lys Tyr Tyr Lys Pro Asp Leu Lys Ser
1 5 10 15
<210> 169
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7E7的CDRH3
<400> 169
Asp Gly Gly Tyr Ser Leu Phe Ala Tyr
1 5
<210> 170
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D5的CDRL1
<400> 170
Arg Ser Asn Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr
1 5 10 15
<210> 171
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D5的CDRH1
<400> 171
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met His
1 5 10
<210> 172
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D5的CDRH2
<400> 172

Ala Ile Tyr Cys Gly Asn Ser Asp Thr Ser Tyr Asn Gln
1 5 10

<210> 173
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D5的CDRH3
<400> 173
Tyr Asp Gly Tyr His Phe Asp Tyr
1 5

<210> 174
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 13E11的CDRL1
<400> 174
Lys Ala Ser His Gly Val Glu Tyr Ala Gly Ala His Tyr Met Asn
1 5 10 15

<210> 175
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 13E11的CDRL2
<400> 175
Ala Ala Ser Asn Leu Gly Ser
1 5

<210> 176
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 13E11的CDRL3
<400> 176
Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Arg Thr
1 5

<210> 177

<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 13E11的CDRH1
<400> 177
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Thr Leu His
1 5 10
<210> 178
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 13E11的CDRH2
<400> 178
Trp Phe Tyr Pro Thr Ser Gly Ser Ile Asn Tyr Asn Glu
1 5 10
<210> 179
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 13E11的CDRH3
<400> 179
His Lys Phe Gly Phe Asp Tyr
1 5
<210> 180
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 5D12 的CDRL2
<400> 180
Tyr Tyr Ala Thr Thr Leu Ala Asp
1 5
<210> 181
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 5D12 的CDRH1
<400> 181
Arg Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Asn Tyr Trp Met Asn
1 5 10
<210> 182
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 5D12的CDRH2
<400> 182
Gln Ile Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Thr Asp
1 5 10
<210> 183
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 5D12的CDRH3
<400> 183
Ala Arg Phe Phe Asp Phe Gly Ala Tyr Phe Thr Leu Asp Tyr
1 5 10
<210> 184
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5v1和/或3A5v2的CDRL1
<400> 184
Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Ser Asp Val Ala
1 5 10
<210> 185
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5v1和/或3A5v2的CDRL2
<400> 185

Tyr Leu Ala Ser Asn Arg His Thr
1 5
<210> 186
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5v1和/或3A5v2的CDRH1
<400> 186
Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Glu Met His
1 5 10
<210> 187
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5v1和/或3A5v2的CDRH2
<400> 187
Ser Ile Asp Pro Glu Thr Gly Val Thr Ala
1 5 10
<210> 188
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5v1的CDRH3
<400> 188
Thr Ser Asp Tyr Gly Tyr Phe Asp Val
1 5
<210> 189
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5v2的CDRH3
<400> 189
Thr Ser Asp Tyr Gly Tyr Phe Asn Val
1 5
<210> 190

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5v1和/或7D5v2的CDRL1
<400> 190
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Phe Asn Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 191
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5v1和/或7D5v2的CDRL2
<400> 191
Tyr Tyr Ala Ser Arg Leu His Ser
1 5
<210> 192
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5v1和/或7D5v2的CDRL3
<400> 192
Gln Gln Gly Asp Thr Leu Pro Tyr Thr
1 5
<210> 193
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5v1和/或7D5v2的CDRH1
<400> 193
Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr Asn Ile Asn
1 5 10
<210> 194
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 7D5v1和/或7D5v2的CDRH2
<400> 194
Val Ile Trp Thr Gly Gly Asp Thr Asn
1 5
<210> 195
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5v1的CDRH3
<400> 195
Val Arg Asp Gly Thr Gly Thr Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 196
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5v2的CDRH3
<400> 196
Val Arg Asp Gly Thr Gly Thr Gly Asp His Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 197
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 8F5的CDRL2
<400> 197
Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5
<210> 198
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 8F5的CDRH1
<400> 198

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Phe Tyr Met Tyr
1 5 10

<210> 199
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 8F5的CDRH2
<400> 199
Phe Ile Ser Asn Ala Gly Val Thr Thr Tyr
1 5 10

<210> 200
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 8F5的CDRH3
<400> 200
Thr Lys Ser Asp Tyr Asp Gly Ala Trp Phe Pro Tyr
1 5 10

<210> 201
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 12B12和/或11D5的CDRL2
<400> 201
Tyr Gln Met Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 202
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 12B12的CDRH1
<400> 202
Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Trp Met His
1 5 10

<210> 203

<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 12B12的CDRH2
<400> 203
Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Thr Ser
1 5 10
<210> 204
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 12B12的CDRH3
<400> 204
Glu Ile Tyr Asp Gly Tyr His Phe Ile Tyr
1 5 10
<210> 205
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D11的CDRH1
<400> 205
Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Phe Tyr Met Glu
1 5 10
<210> 206
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D11的CDRH2
<400> 206
Ala Ser Arg Asn Lys Ala Asn Asp Tyr Thr Thr Glu
1 5 10
<210> 207
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 11D11的CDRH3
<400> 207
Thr Arg Asp Thr Gly Pro Met Asp Tyr
1 5
<210> 208
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7E7的CDRL2
<400> 208
His Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser
1 5
<210> 209
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7E7的CDRH1
<400> 209
Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Asn Ser Tyr Gly Met Gly Ile Gly
1 5 10 15
<210> 210
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7E7的CDRH2
<400> 210
His Ile Val Trp Trp Asp Asp Asn Lys Tyr
1 5 10
<210> 211
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7E7的CDRH3
<400> 211

Ala Arg Asp Gly Gly Tyr Ser Leu Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 212
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D5的CDRH1
<400> 212
Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met His
1 5 10

<210> 213
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D5的CDRH2
<400> 213
Ala Ile Tyr Cys Gly Asn Ser Asp Thr Ser
1 5 10

<210> 214
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D5的CDRH3
<400> 214
Lys Ile Tyr Asp Gly Tyr His Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 215
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 13E11的CDRL2
<400> 215
Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gly Ser
1 5

<210> 216

<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 13E11的CDRH1
<400> 216
Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Thr Leu His
1 5 10
<210> 217
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 13E11的CDRH2
<400> 217
Trp Phe Tyr Pro Thr Ser Gly Ser Ile Asn
1 5 10
<210> 218
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 13E11的CDRH3
<400> 218
Ala Arg His Lys Phe Gly Phe Asp Tyr
1 5
<210> 219
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7的CDRL1
<400> 219
Gln Asp Ile Asn Tyr Tyr
1 5
<210> 220
<211> 511
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> CD33/CD3双特异性分子

<400> 220

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Trp Ser Trp Ser Asp Gly Tyr Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser
130 135 140
Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly Glu Arg Thr Thr Ile Asn Cys
145 150 155 160
Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser Ser Thr Asn Lys Asn Ser Leu
165 170 175
Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Leu Ser
180 185 190
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
195 200 205
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp Ser Pro Gln Pro Glu
210 215 220
Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ala His Phe Pro Ile Thr
225 230 235 240
Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser
245 250 255
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
260 265 270
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
275 280 285

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
290 295 300
Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
305 310 315 320
Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
325 330 335
Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
355 360 365
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
370 375 380
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
385 390 395 400
Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
405 410 415
Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
420 425 430
Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
435 440 445
Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
450 455 460
Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
465 470 475 480
Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
485 490 495
Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu His His His His His His
500 505 510

<210> 221
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7和/或5D12的CDRH1
<400> 221
Gly Tyr Ala Phe Ser Asn Tyr Trp
1 5

<210> 222
<211> 8

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7的CDRH2
<400> 222
Ile Asn Pro Gly Asp Gly Asp Thr
1 5
<210> 223
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 6H9的CDRL1
<400> 223
Gln Asp Ile Asn Ile Tyr
1 5
<210> 224
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 12B12可变重链
<400> 224
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Thr Val Leu Ala Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Ile Lys Gln Ser Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Lys Leu Thr Ala Val Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Asn Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Glu Ile Tyr Asp Gly Tyr His Phe Ile Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110
Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 225
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 6H9 的CDRH1
<400> 225
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Thr
1 5
<210> 226
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 6H9的CDRH2
<400> 226
Ile Ser Gly Asp Gly Gly Asn Thr
1 5
<210> 227
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 9G2的CDRL1
<400> 227
Gln Asp Ile Tyr Asn Tyr
1 5
<210> 228
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 9G2的CDRH1
<400> 228
Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr
1 5
<210> 229
<211> 8
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 9G2的CDRH2
<400> 229
Ile Asn Tyr Asp Gly Gly Ser Thr
1 5
<210> 230
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 2D5 的CDRL1
<400> 230
Gln Asn Val Gly Thr Asn
1 5
<210> 231
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D11可变轻链
<400> 231
Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Ser Thr Leu Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105
<210> 232
<211> 8
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 2D5的CDRH1
<400> 232
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Asp
1 5
<210> 233
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 2D5的CDRH2
<400> 233
Ile Asp Pro Glu Thr Gly Gly Thr
1 5
<210> 234
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 5D12的CDRL1
<400> 234
Gln Asp Ile Lys Ser Tyr
1 5
<210> 235
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D11可变重链
<400> 235
Glu Val Asn Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ser Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Phe
20 25 30
Tyr Met Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Ala Ala Ser Arg Asn Lys Ala Asn Asp Tyr Thr Thr Glu Tyr Lys Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Ile Val Ser Arg Asp Thr Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ala Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Arg Asp Thr Gly Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 236
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 5D12的CDRH2
<400> 236
Ile Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Thr
1 5

<210> 237
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5v1和/或3A5v2的CDRL1
<400> 237
Gln Ser Val Gly Ser Asp
1 5

<210> 238
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7E7可变轻链
<400> 238
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ile Leu Ser Val Thr Ile Gly
1 5 10 15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30
Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Ser Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile His Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95
Thr His Phe Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 239
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5v1和/或3A5v2的CDRH1
<400> 239
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Glu
1 5

<210> 240
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5v1和/或3A5v2的CDRH2
<400> 240
Ile Asp Pro Glu Thr Gly Val Thr
1 5

<210> 241
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5v1和/或7D5v2的CDRL1
<400> 241
Gln Asp Ile Phe Asn Tyr
1 5

<210> 242
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 7E7可变重链
<400> 242
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Asn Ser Tyr
20 25 30
Gly Met Gly Ile Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Ala His Ile Val Trp Trp Asp Asp Asn Lys Tyr Tyr Lys Pro
50 55 60
Asp Leu Lys Ser Arg Leu Thr Val Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln
65 70 75 80
Val Phe Leu Lys Ile Ala Asn Val Asp Thr Thr Asp Thr Ala Thr Tyr
85 90 95
Phe Cys Ala Arg Asp Gly Gly Tyr Ser Leu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Val
115 120
<210> 243
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5v1和/或7D5v2的CDRH1
<400> 243
Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr Asn
1 5
<210> 244
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5v1和/或7D5v2的CDRH2
<400> 244
Ile Trp Thr Gly Gly Asp Thr
1 5
<210> 245
<211> 12

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 8F5的CDRL1
<400> 245
Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Arg Asn Gln Tyr Asn Phe
1 5 10
<210> 246
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D5可变轻链
<400> 246
Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Phe Ser Asn Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15
Thr Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Asn Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30
Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Ser Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn
85 90 95
Leu Glu Leu Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110
<210> 247
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 8F5和/或11D11的CDRH1
<400> 247
Gly Phe Thr Phe Ser Asp Phe Tyr
1 5
<210> 248
<211> 8

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 8F5的CDRH2
<400> 248
Ile Ser Asn Ala Gly Val Thr Thr
1 5
<210> 249
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 12B12的CDRL1
<400> 249
Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr
1 5 10
<210> 250
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D5可变重链
<400> 250
Glu Val Gln Phe Gln Gln Ser Glu Thr Val Leu Ala Arg Pro Gly Thr
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Leu Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ala Ile Tyr Cys Gly Asn Ser Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Lys Leu Thr Ala Val Thr Ser Ala Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Asn Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Lys Ile Tyr Asp Gly Tyr His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110
Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 251
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 12B12的CDRH1
<400> 251
Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Trp
1 5
<210> 252
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 12B12的CDRH2
<400> 252
Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Thr
1 5
<210> 253
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D11的CDRL1
<400> 253
Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
1 5
<210> 254
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D11的CDRH2
<400> 254
Ser Arg Asn Lys Ala Asn Asp Tyr Thr Thr
1 5 10
<210> 255
<211> 11
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7E7的CDRL1
<400> 255
Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr
1 5 10
<210> 256
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 13E11可变轻链
<400> 256
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Val Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser His Gly Val Glu Tyr Ala
20 25 30
Gly Ala His Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gly Ser Gly Ile Pro Pro
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80
Pro Val Glu Glu Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95
Glu Asp Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110
<210> 257
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7E7的CDRH1
<400> 257
Gly Phe Ser Leu Asn Ser Tyr Gly Met Gly
1 5 10
<210> 258
<211> 8
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7E7的CDRH2
<400> 258
Ile Val Trp Trp Asp Asp Asn Lys
1 5
<210> 259
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D5的CDRL1
<400> 259
Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr
1 5 10
<210> 260
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D5的CDRH1
<400> 260
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
1 5
<210> 261
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D5的CDRH2
<400> 261
Ile Tyr Cys Gly Asn Ser Asp Thr
1 5
<210> 262
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 13E11的CDRL1

<400> 262
His Gly Val Glu Tyr Ala Gly Ala His Tyr
1 5 10
<210> 263
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 13E11可变重链
<400> 263
Lys Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Thr Leu His Trp Leu Lys Gln Arg Ser Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Trp Phe Tyr Pro Thr Ser Gly Ser Ile Asn Tyr Asn Glu Arg Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Thr Ser Val Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg His Lys Phe Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115
<210> 264
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 13E11的CDRH1
<400> 264
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Thr
1 5
<210> 265
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 13E11的CDRH2
<400> 265
Phe Tyr Pro Thr Ser Gly Ser Ile
1 5
<210> 266
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7的CDRL2
<400> 266
Tyr Ser Ser Arg Leu His Ser
1 5
<210> 267
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7和/或5D12的CDRH1
<400> 267
Asn Tyr Trp Met Asn
1 5
<210> 268
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7的CDRH2
<400> 268
Gln Ile Asn Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 269
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7的CDRH3

<400> 269
Glu Asp Arg Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5
<210> 270
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 6H9的CDRH1
<400> 270
Ser Tyr Thr Met Ser
1 5
<210> 271
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 6H9的CDRH2
<400> 271
Thr Ile Ser Gly Asp Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ser Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 272
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 6H9的CDRH3
<400> 272
Gln Gly Thr Gly Thr Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 273
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 9G2的CDRH1
<400> 273
Asp Tyr Tyr Met Ser

1 5

<210> 274

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 9G2的CDRH2

<400> 274

Ser Ile Asn Tyr Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Leu Asp Ser Leu Lys
1 5 10 15

Ser

<210> 275

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 9G2的CDRH3

<400> 275

Asp Arg Gly Asp Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 276

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 2D5的CDRL2

<400> 276

Ser Ala Ser Asp Arg Tyr Ser
1 5

<210> 277

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 2D5的CDRH1

<400> 277

Asp Tyr Asp Met His
1 5

<210> 278

<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 2D5的CDRH2
<400> 278
Ala Ile Asp Pro Glu Thr Gly Gly Thr Ala Tyr Asn Gln Asn Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 279
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 2D5的CDRH3
<400> 279
Asp Tyr Asp Tyr Phe Gly Val
1 5
<210> 280
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5v1和/或3A5v2的CDRL2
<400> 280
Leu Ala Ser Asn Arg His Thr
1 5
<210> 281
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5v1和/或3A5v2的CDRH1
<400> 281
Asp Tyr Glu Met His
1 5
<210> 282
<211> 17
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5v1和/或3A5v2的CDRH2
<400> 282
Ser Ile Asp Pro Glu Thr Gly Val Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe Thr
1 5 10 15
Gly
<210> 283
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5v1的CDRH3
<400> 283
Asp Tyr Gly Tyr Phe Asp Val
1 5
<210> 284
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5v2的CDRH3
<400> 284
Asp Tyr Gly Tyr Phe Asn Val
1 5
<210> 285
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5v1和/或7D5v2的CDRL2
<400> 285
Tyr Ala Ser Arg Leu His Ser
1 5
<210> 286
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> 7D5v1和/或7D5v2的CDRH1
<400> 286
Ser Tyr Asn Ile Asn
1 5
<210> 287
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5v1和/或7D5v2的CDRH2
<400> 287
Val Ile Trp Thr Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Phe Met Ser
1 5 10 15
<210> 288
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5v1的CDRH3
<400> 288
Asp Gly Thr Gly Thr Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 289
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5v2的CDRH3
<400> 289
Asp Gly Thr Gly Thr Gly Asp His Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 290
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 8F5的CDRH1
<400> 290
Asp Phe Tyr Met Tyr

1 5

<210> 291

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 12B12的CDRH1

<400> 291

Thr Tyr Trp Met His

1 5

<210> 292

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 12B12的CDRH2

<400> 292

Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 293

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 12B12的CDRH3

<400> 293

Tyr Asp Gly Tyr His Phe Ile Tyr

1 5

<210> 294

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 11D11的CDRH1

<400> 294

Asp Phe Tyr Met Glu

1 5

<210> 295

<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D11的CDRH2
<400> 295
Ala Ser Arg Asn Lys Ala Asn Asp Tyr Thr Thr Glu Tyr Lys Ala Ser
1 5 10 15
Val Lys Gly
<210> 296
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7E7的CDRL2
<400> 296
Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser
1 5
<210> 297
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7E7的CDRH1
<400> 297
Ser Tyr Gly Met Gly Ile Gly
1 5
<210> 298
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7E7的CDRH2
<400> 298
His Ile Val Trp Trp Asp Asp Asn Lys Tyr Tyr Lys Pro Asp Leu Lys
1 5 10 15
Ser
<210> 299
<211> 5

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D5的CDRH1
<400> 299
Ser Tyr Trp Met His
1 5
<210> 300
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D5的CDRH2
<400> 300
Ala Ile Tyr Cys Gly Asn Ser Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 301
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 13E11的CDRH1
<400> 301
Asp Tyr Thr Leu His
1 5
<210> 302
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 13E11的CDRH2
<400> 302
Trp Phe Tyr Pro Thr Ser Gly Ser Ile Asn Tyr Asn Glu Arg Phe Lys
1 5 10 15
Asp
<210> 303
<211> 7
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7和/或5D12的CDRH1
<400> 303
Gly Tyr Ala Phe Ser Asn Tyr
1 5
<210> 304
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7的CDRH2
<400> 304
Asn Pro Gly Asp Gly Asp
1 5
<210> 305
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 6H9的CDRH1
<400> 305
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
1 5
<210> 306
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 6H9的CDRH2
<400> 306
Ser Gly Asp Gly Gly Asn
1 5
<210> 307
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 9G2的CDRH1

<400> 307
Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
1 5
<210> 308
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 9G2的CDRH2
<400> 308
Asn Tyr Asp Gly Gly Ser
1 5
<210> 309
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 2D5、3A5v1、3A5v2和/或13E11的CDRH1
<400> 309
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
1 5
<210> 310
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 2D5的CDRH2
<400> 310
Asp Pro Glu Thr Gly Gly
1 5
<210> 311
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 5D12的CDRH2
<400> 311
Tyr Pro Gly Asn Phe Asn
1 5

<210> 312
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5v1和/或3A5v2的CDRH2
<400> 312
Asp Pro Glu Thr Gly Val
1 5
<210> 313
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5v1和/或7D5v2的CDRH1
<400> 313
Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
1 5
<210> 314
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5v1和/或7D5v2的CDRH2
<400> 314
Trp Thr Gly Gly Asp
1 5
<210> 315
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 8F5和/或11D11的CDRH1
<400> 315
Gly Phe Thr Phe Ser Asp Phe
1 5
<210> 316
<211> 6
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 8F5的CDRH2
<400> 316
Ser Asn Ala Gly Val Thr
1 5
<210> 317
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 12B12的CDRH1
<400> 317
Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
1 5
<210> 318
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 12B12的CDRH2
<400> 318
Tyr Pro Gly Asn Ser Asp
1 5
<210> 319
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D11的CDRH2
<400> 319
Arg Asn Lys Ala Asn Asp Tyr Thr
1 5
<210> 320
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7E7的CDRH1

<400> 320
Gly Phe Ser Leu Asn Ser Tyr Gly Met
1 5
<210> 321
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7E7的CDRH2
<400> 321
Val Trp Trp Asp Asp Asn
1 5
<210> 322
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D5的CDRH1
<400> 322
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
1 5
<210> 323
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D5的CDRH2
<400> 323
Tyr Cys Gly Asn Ser Asp
1 5
<210> 324
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 13E11的CDRH1
<400> 324
Tyr Pro Thr Ser Gly Ser
1 5

<210> 325
<211> 3297
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 5D12-LvHv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链
<400> 325

ggatctgcga tcgctccggt gcccgtcagt gggcagagcg cacatcgccc acagtccccg 60
agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa ccggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa 120
actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gccttttcc cgagggtggg ggagaaccgt 180
atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac 240
agctgaagct tcgaggggct cgcatctctc cttcacgcgc ccgccgccct acctgaggcc 300
gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctcccgc ctgtggtgcc tcctgaactg 360
cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt ccggcgctcc 420
cttggagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg cttgctcaac 480
tctacgtctt tgtttcgttt tctgttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc 540
ctacggctag ccaccatgct gctgctcgtg accagcctgc tgctgtgcga actgccccac 600
cctgcctttc tgctgatccc cgatataaag atgactcagt cacccagcag tatatacgct 660
agtctgggag aaagggtcac gataaattgt aaggcttcac aagacataaa aagttatctt 720
tcatggtatc aacagaaacc ctggaaaagc cccaagaccc ttatctacta cgctacgact 780
cttgcagatg gtgtaccaag tcggttttcc gggagcggct ccgggcaaga ctattctttg 840
acaatttcct ctttggagtc cgatgatacc gcaacctact actgcctgca tcacggtgag 900
tcaccatgga catttggcga agggacaaag cttgaaataa agggaggcgg aggatctggc 960
ggaggggct ctggaggagg aggatctcaa gttcagttgc aacaatcagg tgctgaggtg 1020
gtaaagccag gtgccagtgt caaaatatct tgccgggcgt ctggttatgc gttctccaac 1080
tattggatga actgggtaaa acaacgccca ggtaagggac tcgagtggat aggacaaata 1140
tacccaggca acttcaacac agactacaat ggtcaattca agggaaaggc tactcttaca 1200
gtcgataaat cttcaaacac ggcttacatg cagttgtcct ccttgacctc cgaggattca 1260
gcagtctatt tctgtgcccg attctttgat tttggcgctt attttacgtt ggattattgg 1320
ggccaaggga catctgtcac agtttcctcc gagtctaagt acggaccgcc ctgccccct 1380
tgccctggcc agcctagaga accccaggtg tacaccctgc ctcccagcca ggaagagatg 1440
accaagaacc aggtgtccct gacctgcctg gtcaaaggct tctaccccag cgatatcgcc 1500
gtggaatggg agagcaacgg ccagcccgag aacaactaca agaccacccc ccctgtgctg 1560
gacagcgacg gcagcttctt cctgtactcc cggctgaccg tggacaagag ccggtggcag 1620
gaaggcaacg tcttcagctg cagcgtgatg cacgaggccc tgcacaacca ctacacccag 1680
aagtccctga gcctgagcct gggcaagatg ttctgggtgc tggtggtggt cggaggcgtg 1740
ctggcctgct acagcctgct ggtcaccgtg gccttcatca tcttttgggt gaaacggggc 1800
agaaagaaac tcctgtatat attcaaacaa ccatttatga gaccagtaca aactactcaa 1860
gaggaagatg gctgtagctg ccgatttcca gaagaagaag aaggaggatg tgaactgcgg 1920

gtgaagttca gcagaagcgc cgacgcccct gcctaccagc agggccagaa tcagctgtac 1980
aacgagctga acctgggcag aagggaagag tacgacgtcc tggataagcg gagaggccgg 2040
gaccctgaga tgggcggcaa gcctcggcgg aagaaccccc aggaaggcct gtataacgaa 2100
ctgcagaaag acaagatggc cgaggcctac agcgagatcg gcatgaaggg cgagcggagg 2160
cggggcaagg gccacgacgg cctgtatcag ggcctgtcca ccgccaccaa ggatacctac 2220
gacgccctgc acatgcaggc cctgccccca aggctcgagg gcggcggaga gggcagagga 2280
agtcttctaa catgcggtga cgtggaggag aatccaggcc ctaggatgcc acctccaaga 2340
ctcctcttct tcctcctctt cctgacacca atggaagtca ggcctgagga acctctagtg 2400
gtgaaggtgg aagagggaga taacgctgtg ttacagtgcc tcaagggaac ctcagatgga 2460
cccactcagc agctgacctg gtctcgggag tctccgctta aacccttcct gaaactcagc 2520
cttggactgc caggtctggg aatccacatg aggccactgg ctatctggct gttcatcttc 2580
aacgtctctc aacagatggg aggcttctac ctgtgtcagc ctggaccacc ttctgagaag 2640
gcatggcagc ctggttggac agtcaatgtg gagggttctg gtgagctgtt ccggtggaat 2700
gtttcggacc taggtggact gggatgtggt ctgaagaaca ggtcctcaga gggacctagc 2760
tctccttccg ggaagctcat gagccccaag ctgtatgtgt gggccaaaga ccgccctgag 2820
atctgggagg gagagcctcc gtgtgtccca ccgagggaca gcctgaacca gagcctcagc 2880
caggacctca ccatggcccc tggctccaca ctctggctgt cctgtggggt acccccctgac 2940
tctgtgtcca ggggcccct ctcctggacc catgtgcacc ccaaggggcc taagtcattg 3000
ctgagcctag agctgaagga cgatcgccct gccagagata tgtgggtaat ggagacgggt 3060
ctgttgttgc cccgggccac agctcaagac gctggaaagt attattgtca ccgtggcaac 3120
ctgaccatgt cattccacct ggagatcact gctcggccag tactatggca ctggctgctg 3180
aggactggtg gctggaaggt ctcagctgtg actttggctt atctgatctt ctgcctgtgt 3240
tcccttgtgg gcattcttca tcttcaaaga gccctggtcc tgaggaggaa aagatga 3297

<210> 326
<211> 3282
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5v1-HvLv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链
<400> 326

ggatctgcga tcgctccggt gcccgtcagt gggcagagcg cacatcgccc acagtccccg 60
agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa ccggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa 120
actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gccttttcc cgagggtggg ggagaaccgt 180
atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac 240
agctgaagct tcgaggggct cgcatctctc cttcacgcgc ccgccgccct acctgaggcc 300
gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctcccgc ctgtggtgcc tcctgaactg 360
cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt ccggcgctcc 420
cttggagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg cttgctcaac 480
tctacgtctt tgtttcgttt tctgttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc 540

ctacggctag ccaccatgct gctgctcgtg accagcctgc tgctgtgcga actgccccac 600
cctgcctttc tgctgatccc ccaggtgcaa ctccagcagt ccggcgccga gctggtcagg 660
ccaggtgcat ccgtaactct gtcatgtaag gcgtccggat acaccttcac ggactacgaa 720
atgcattgga taaaacaaac tccagttcat gggttggagt ggattggctc catagacccg 780
gaaacgggag taacggcgta taaccagaaa ttcacgggga aagcgatagt aacggcagac 840
aagtctagta gcactgccta catggaactt agaagtctca caagtgaaga cagcgcggta 900
tattattgca cctccgatta tggatacttt gacgtttggg gtacgggcac gacagtgact 960
gttagttctg gaggcggagg atctggcgga gggggctctg gaggaggagg atctgatgtt 1020
gtaatgacgc agtctcaaaa gtttatgtca acgtctgttg gtgatcgcgt tagcattacc 1080
tgcaaagcat ctcaaagtgt aggatctgat gtggcatggt accagcaacg gcctggacgc 1140
tgtcctaaag cgctgattta tcttgcttct aaccggcata cgggggtccc agacaggttt 1200
actgggtctg gatctggaac ggactttaca ctgaccatat caaacgttca gtcagaggac 1260
ctggccgagt atttctgtca acaatataac atataccccct ataccttcgg tggaggaact 1320
aaattggaga taaaggagtc taagtacgga ccgccctgcc ccccttgccc tggccagcct 1380
agagaacccc aggtgtacac cctgcctccc agccaggaag agatgaccaa gaaccaggtg 1440
tccctgacct gcctggtcaa aggcttctac cccagcgata tcgccgtgga atgggagagc 1500
aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc acccccccctg tgctggacag cgacggcagc 1560
ttcttcctgt actcccggct gaccgtggac aagagccggt ggcaggaagg caacgtcttc 1620
agctgcagcg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccagaagtc cctgagcctg 1680
agcctgggca agatgttctg ggtgctggtg gtggtcggag gcgtgctggc ctgctacagc 1740
ctgctggtca ccgtggcctt catcatcttt tgggtgaaac ggggcagaaa gaaactcctg 1800
tatatattca aacaaccatt tatgagacca gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt 1860
agctgccgat ttccagaaga agaagaagga ggatgtgaac tgcgggtgaa gttcagcaga 1920
agcgccgacg cccctgccta ccagcagggc cagaatcagc tgtacaacga gctgaacctg 1980
ggcagaaggg aagagtacga cgtcctggat aagcggagag gccgggaccc tgagatgggc 2040
ggcaagcctc ggcggaagaa cccccaggaa ggcctgtata acgaactgca gaaagacaag 2100
atggccgagg cctacagcga gatcggcatg aagggcgagc ggaggcgggg caagggccac 2160
gacggcctgt atcagggcct gtccaccgcc accaaggata cctacgacgc cctgcacatg 2220
caggccctgc ccccaaggct cgagggcggc ggagagggca gaggaagtct tctaacatgc 2280
ggtgacgtgg aggagaatcc aggccctagg atgccacctc caagactcct cttcttcctc 2340
ctcttcctga caccaatgga agtcaggcct gaggaacctc tagtggtgaa ggtggaagag 2400
ggagataacg ctgtgttaca gtgcctcaag ggaacctcag atggacccac tcagcagctg 2460
acctggtctc gggagtctcc gcttaaaccc ttcctgaaac tcagccttgg actgccaggt 2520
ctgggaatcc acatgaggcc actggctatc tggctgttca tcttcaacgt ctctcaacag 2580
atgggaggct tctacctgtg tcagcctgga ccaccttctg agaaggcatg gcagcctggt 2640
tggacagtca atgtggaggg ttctggtgag ctgttccggt ggaatgtttc ggacctaggt 2700
ggactgggat gtggtctgaa gaacaggtcc tcagagggac ctagctctcc ttccgggaag 2760
ctcatgagcc ccaagctgta tgtgtgggcc aaagaccgcc ctgagatctg ggagggagag 2820
cctccgtgtg tcccaccgag ggacagcctg aaccagagcc tcagccagga cctcaccatg 2880

gcccctggct ccacactctg gctgtcctgt ggggtacccc ctgactctgt gtccaggggc 2940
cccctctcct ggacccatgt gcaccccaag gggcctaagt cattgctgag cctagagctg 3000
aaggacgatc gccctgccag agatatgtgg gtaatggaga cgggtctgtt gttgccccgg 3060
gccacagctc aagacgctgg aaagtattat tgtcaccgtg gcaacctgac catgtcattc 3120
cacctggaga tcactgctcg gccagtacta tggcactggc tgctgaggac tggtggctgg 3180
aaggtctcag ctgtgacttt ggcttatctg atcttctgcc tgtgttccct tgtgggcatt 3240
cttcatcttc aaagagccct ggtcctgagg aggaaaagat ga 3282

<210> 327
<211> 3282
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5v2-HvLv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链
<400> 327

ggatctgcga tcgctccggt gcccgtcagt gggcagagcg cacatcgccc acagtccccg 60
agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa ccggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa 120
actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gccttttttcc cgagggtggg ggagaaccgt 180
atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac 240
agctgaagct tcgaggggct cgcatctctc cttcacgcgc ccgccgccct acctgaggcc 300
gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctcccgc ctgtggtgcc tcctgaactg 360
cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt ccggcgctcc 420
cttggagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg cttgctcaac 480
tctacgtctt tgtttcgttt tctgttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc 540
ctacggctag ccaccatgct gctgctcgtg accagcctgc tgctgtgcga actgccccac 600
cctgcctttc tgctgatccc ccaggtgcaa ctccagcagt ccggcgccga gctggtcagg 660
ccaggtgcat ccgtaactct gtcatgtaag gcgtccggat acaccttcac ggactacgaa 720
atgcattgga taaaacaaac tccagttcat gggttggagt ggattggctc catagacccg 780
gaaacgggag taacggcgta taaccagaaa ttcacgggga aagcgatagt aacggcagac 840
aagtctagta gcactgccta catggaactt agaagtctca caagtgaaga cagcgcggta 900
tattattgca cctccgatta tggatacttt aacgtttggg gtacgggcac gacagtgact 960
gttagttctg gaggcggagg atctggcgga gggggctctg gaggaggagg atctgatgtt 1020
gtaatgacgc agtctcaaaa gtttatgtca acgtctgttg gtgatcgcgt tagcattacc 1080
tgcaaagcat ctcaaagtgt aggatctgat gtggcatggt accagcaacg gcctggacgc 1140
tgtcctaaag cgctgattta tcttgcttct aaccggcata cgggggtccc agacaggttt 1200
actgggtctg gatctggaac ggactttaca ctgaccatat caaacgttca gtcagaggac 1260
ctggccgagt atttctgtca acaatataac atataccccct ataccttcgg tggaggaact 1320
aaattggaga taaaggagtc taagtacgga ccgccctgcc ccccttgccc tggccagcct 1380
agagaacccc aggtgtacac cctgcctccc agccaggaag agatgaccaa gaaccaggtg 1440
tccctgacct gcctggtcaa aggcttctac cccagcgata tcgccgtgga atgggagagc 1500

aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc acccccccctg tgctggacag cgacggcagc 1560
ttcttcctgt actcccggct gaccgtggac aagagccggt ggcaggaagg caacgtcttc 1620
agctgcagcg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccagaagtc cctgagcctg 1680
agcctgggca agatgttctg ggtgctggtg gtggtcggag gcgtgctggc ctgctacagc 1740
ctgctggtca ccgtggcctt catcatcttt tgggtgaaac ggggcagaaa gaaactcctg 1800
tatatattca aacaaccatt tatgagacca gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt 1860
agctgccgat ttccagaaga agaagaagga ggatgtgaac tgcgggtgaa gttcagcaga 1920
agcgccgacg cccctgccta ccagcagggc cagaatcagc tgtacaacga gctgaacctg 1980
ggcagaaggg aagagtacga cgtcctggat aagcggagag gccgggaccc tgagatgggc 2040
ggcaagcctc ggcggaagaa cccccaggaa ggcctgtata acgaactgca gaaagacaag 2100
atggccgagg cctacagcga gatcggcatg aagggcgagc ggaggcgggg caagggccac 2160
gacggcctgt atcagggcct gtccaccgcc accaaggata cctacgacgc cctgcacatg 2220
caggccctgc ccccaaggct cgagggcggc ggagagggca gaggaagtct tctaacatgc 2280
ggtgacgtgg aggagaatcc aggccctagg atgccacctc caagactcct cttcttcctc 2340
ctcttcctga caccaatgga agtcaggcct gaggaacctc tagtggtgaa ggtggaagag 2400
ggagataacg ctgtgttaca gtgcctcaag ggaacctcag atggacccac tcagcagctg 2460
acctggtctc gggagtctcc gcttaaaccc ttcctgaaac tcagccttgg actgccaggt 2520
ctgggaatcc acatgaggcc actggctatc tggctgttca tcttcaacgt ctctcaacag 2580
atgggaggct tctacctgtg tcagcctgga ccaccttctg agaaggcatg gcagcctggt 2640
tggacagtca atgtggaggg ttctggtgag ctgttccggt ggaatgtttc ggacctaggt 2700
ggactgggat gtggtctgaa gaacaggtcc tcagagggac ctagctctcc ttccgggaag 2760
ctcatgagcc ccaagctgta tgtgtgggcc aaagaccgcc ctgagatctg ggagggagag 2820
cctccgtgtg tcccaccgag ggacagcctg aaccagagcc tcagccagga cctcaccatg 2880
gcccctggct ccacactctg gctgtcctgt ggggtacccc ctgactctgt gtccaggggc 2940
cccctctcct ggacccatgt gcaccccaag gggcctaagt cattgctgag cctagagctg 3000
aaggacgatc gccctgccag agatatgtgg gtaatggaga cgggtctgtt gttgccccgg 3060
gccacagctc aagacgctgg aaagtattat tgtcaccgtg gcaacctgac catgtcattc 3120
cacctggaga tcactgctcg gccagtacta tggcactggc tgctgaggac tggtggctgg 3180
aaggtctcag ctgtgacttt ggcttatctg atcttctgcc tgtgttccct tgtgggcatt 3240
cttcatcttc aaagagccct ggtcctgagg aggaaaagat ga 3282

<210> 328
<211> 3282
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5v1-LvHv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链
<400> 328

ggatctgcga tcgctccggt gcccgtcagt gggcagagcg cacatcgccc acagtccccg 60
agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa ccggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa 120

actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gccttttcc cgagggtggg ggagaaccgt 180
atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac 240
agctgaagct tcgaggggct cgcatctctc cttcacgcgc ccgccgccct acctgaggcc 300
gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctcccgc ctgtggtgcc tcctgaactg 360
cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt ccggcgctcc 420
cttggagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg cttgctcaac 480
tctacgtctt tgtttcgttt tctgttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc 540
ctacggctag ccaccatgct gctgctcgtg accagcctgc tgctgtgcga actgccccac 600
cctgcctttc tgctgatccc cgatgttgta atgacgcagt ctcaaaagtt tatgtcaacg 660
tctgttggtg atcgcgttag cattacctgc aaagcatctc aaagtgtagg atctgatgtg 720
gcatggtacc agcaacggcc tggacgctgt cctaaagcgc tgatttatct tgcttctaac 780
cggcatacgg gggtcccaga caggtttact gggtctggat ctggaacgga ctttacactg 840
accatatcaa acgttcagtc agaggacctg gccgagtatt tctgtcaaca atataacata 900
tacccctata ccttcggtgg aggaactaaa ttggagataa agggaggcgg aggatctggc 960
ggaggggget ctggaggagg aggatctcag gtgcaactcc agcagtccgg cgccgagctg 1020
gtcaggccag gtgcatccgt aactctgtca tgtaaggcgt ccggatacac cttcacggac 1080
tacgaaatgc attggataaa acaaactcca gttcatgggt tggagtggat tggctccata 1140
gacccggaaa cgggagtaac ggcgtataac cagaaattca cggggaaagc gatagtaacg 1200
gcagacaagt ctagtagcac tgcctacatg gaacttagaa gtctcacaag tgaagacagc 1260
gcggtatatt attgcacctc cgattatgga tactttgacg tttggggtac gggcacgaca 1320
gtgactgtta gttctgagtc taagtacgga ccgccctgcc ccccttgccc tggccagcct 1380
agagaacccc aggtgtacac cctgcctccc agccaggaag agatgaccaa gaaccaggtg 1440
tccctgacct gcctggtcaa aggcttctac cccagcgata tcgccgtgga atgggagagc 1500
aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc acccccccctg tgctggacag cgacggcagc 1560
ttcttcctgt actcccggct gaccgtggac aagagccggt ggcaggaagg caacgtcttc 1620
agctgcagcg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccagaagtc cctgagcctg 1680
agcctgggca agatgttctg ggtgctggtg gtggtcggag gcgtgctggc ctgctacagc 1740
ctgctggtca ccgtggcctt catcatcttt tgggtgaaac ggggcagaaa gaaactcctg 1800
tatatattca aacaaccatt tatgagacca gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt 1860
agctgccgat ttccagaaga agaagaagga ggatgtgaac tgcgggtgaa gttcagcaga 1920
agcgccgacg cccctgccta ccagcagggc cagaatcagc tgtacaacga gctgaacctg 1980
ggcagaaggg aagagtacga cgtcctggat aagcggagag gccgggaccc tgagatgggc 2040
ggcaagcctc ggcggaagaa cccccaggaa ggcctgtata acgaactgca gaaagacaag 2100
atggccgagg cctacagcga gatcggcatg aagggcgagc ggaggcgggg caagggccac 2160
gacggcctgt atcagggcct gtccaccgcc accaaggata cctacgacgc cctgcacatg 2220
caggccctgc ccccaaggct cgagggcggc ggagagggca gaggaagtct tctaacatgc 2280
ggtgacgtgg aggagaatcc aggccctagg atgccacctc caagactcct cttcttcctc 2340
ctcttcctga caccaatgga agtcaggcct gaggaacctc tagtggtgaa ggtggaagag 2400
ggagataacg ctgtgttaca gtgcctcaag ggaacctcag atggacccac tcagcagctg 2460

acctggtctc gggagtctcc gcttaaaccc ttcctgaaac tcagccttgg actgccaggt 2520
ctgggaatcc acatgaggcc actggctatc tggctgttca tcttcaacgt ctctcaacag 2580
atgggaggct tctacctgtg tcagcctgga ccaccttctg agaaggcatg gcagcctggt 2640
tggacagtca atgtggaggg ttctggtgag ctgttccggt ggaatgtttc ggacctaggt 2700
ggactgggat gtggtctgaa gaacaggtcc tcagagggac ctagctctcc ttccgggaag 2760
ctcatgagcc ccaagctgta tgtgtgggcc aaagaccgcc ctgagatctg ggagggagag 2820
cctccgtgtg tcccaccgag ggacagcctg aaccagagcc tcagccagga cctcaccatg 2880
gcccctggct ccacactctg gctgtcctgt ggggtacccc ctgactctgt gtccaggggc 2940
cccctctcct ggacccatgt gcaccccaag gggcctaagt cattgctgag cctagagctg 3000
aaggacgatc gccctgccag agatatgtgg gtaatggaga cgggtctgtt gttgccccgg 3060
gccacagctc aagacgctgg aaagtattat tgtcaccgtg gcaacctgac catgtcattc 3120
cacctggaga tcactgctcg gccagtacta tggcactggc tgctgaggac tggtggctgg 3180
aaggtctcag ctgtgacttt ggcttatctg atcttctgcc tgtgttccct tgtgggcatt 3240
cttcatcttc aaagagccct ggtcctgagg aggaaaagat ga 3282

<210> 329
<211> 3282
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5v2-LvHv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链
<400> 329

ggatctgcga tcgctccggt gcccgtcagt gggcagagcg cacatcgccc acagtccccg 60
agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa ccggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa 120
actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gccttttcc cgagggtggg ggagaaccgt 180
atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac 240
agctgaagct tcgaggggct cgcatctctc cttcacgcgc ccgccgccct acctgaggcc 300
gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctcccgc ctgtggtgcc tcctgaactg 360
cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt ccggcgctcc 420
cttggagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg cttgctcaac 480
tctacgtctt tgtttcgttt tctgttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc 540
ctacggctag ccaccatgct gctgctcgtg accagcctgc tgctgtgcga actgccccac 600
cctgcctttc tgctgatccc cgatgttgta atgacgcagt ctcaaaagtt tatgtcaacg 660
tctgttggtg atcgcgttag cattacctgc aaagcatctc aaagtgtagg atctgatgtg 720
gcatggtacc agcaacggcc tggacgctgt cctaaagcgc tgatttatct tgcttctaac 780
cggcatacgg gggtcccaga caggtttact gggtctggat ctggaacgga ctttacactg 840
accatatcaa acgttcagtc agaggacctg gccgagtatt tctgtcaaca atataacata 900
tacccctata ccttcggtgg aggaactaaa ttggagataa agggaggcgg aggatctggc 960
ggaggggggct ctggaggagg aggatctcag gtgcaactcc agcagtccgg cgccgagctg 1020
gtcaggccag gtgcatccgt aactctgtca tgtaaggcgt ccggatacac cttcacggac 1080

tacgaaatgc attggataaa acaaactcca gttcatgggt tggagtggat tggctccata 1140
gacccggaaa cgggagtaac ggcgtataac cagaaattca cggggaaagc gatagtaacg 1200
gcagacaagt ctagtagcac tgcctacatg gaacttagaa gtctcacaag tgaagacagc 1260
gcggtatatt attgcacctc cgattatgga tactttaacg tttggggtac gggcacgaca 1320
gtgactgtta gttctgagtc taagtacgga ccgccctgcc ccccttgccc tggccagcct 1380
agagaacccc aggtgtacac cctgcctccc agccaggaag agatgaccaa gaaccaggtg 1440
tccctgacct gcctggtcaa aggcttctac cccagcgata tcgccgtgga atgggagagc 1500
aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc acccccccctg tgctggacag cgacggcagc 1560
ttcttcctgt actcccggct gaccgtggac aagagccggt ggcaggaagg caacgtcttc 1620
agctgcagcg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccagaagtc cctgagcctg 1680
agcctgggca agatgttctg ggtgctggtg gtggtcggag gcgtgctggc ctgctacagc 1740
ctgctggtca ccgtggcctt catcatcttt tgggtgaaac ggggcagaaa gaaactcctg 1800
tatatattca aacaaccatt tatgagacca gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt 1860
agctgccgat ttccagaaga agaagaagga ggatgtgaac tgcgggtgaa gttcagcaga 1920
agcgccgacg cccctgccta ccagcagggc cagaatcagc tgtacaacga gctgaacctg 1980
ggcagaaggg aagagtacga cgtcctggat aagcggagag gccgggaccc tgagatgggc 2040
ggcaagcctc ggcggaagaa cccccaggaa ggcctgtata acgaactgca gaaagacaag 2100
atggccgagg cctacagcga gatcggcatg aagggcgagc ggaggcgggg caagggccac 2160
gacggcctgt atcagggcct gtccaccgcc accaaggata cctacgacgc cctgcacatg 2220
caggccctgc ccccaaggct cgagggcggc ggagagggca gaggaagtct tctaacatgc 2280
ggtgacgtgg aggagaatcc aggccctagg atgccacctc caagactcct cttcttcctc 2340
ctcttcctga caccaatgga agtcaggcct gaggaacctc tagtggtgaa ggtggaagag 2400
ggagataacg ctgtgttaca gtgcctcaag ggaacctcag atggacccac tcagcagctg 2460
acctggtctc gggagtctcc gcttaaaccc ttcctgaaac tcagccttgg actgccaggt 2520
ctgggaatcc acatgaggcc actggctatc tggctgttca tcttcaacgt ctctcaacag 2580
atgggaggct tctacctgtg tcagcctgga ccaccttctg agaaggcatg gcagcctggt 2640
tggacagtca atgtggaggg ttctggtgag ctgttccggt ggaatgtttc ggacctaggt 2700
ggactgggat gtggtctgaa gaacaggtcc tcagagggac ctagctctcc ttccgggaag 2760
ctcatgagcc ccaagctgta tgtgtgggcc aaagaccgcc ctgagatctg ggagggagag 2820
cctccgtgtg tcccaccgag ggacagcctg aaccagagcc tcagccagga cctcaccatg 2880
gcccctggct ccacactctg gctgtcctgt ggggtacccc ctgactctgt gtccaggggc 2940
cccctctcct ggacccatgt gcaccccaag gggcctaagt cattgctgag cctagagctg 3000
aaggacgatc gccctgccag agatatgtgg gtaatggaga cgggtctgtt gttgccccgg 3060
gccacagctc aagacgctgg aaagtattat tgtcaccgtg gcaacctgac catgtcattc 3120
cacctggaga tcactgctcg gccagtacta tggcactggc tgctgaggac tggtggctgg 3180
aaggtctcag ctgtgacttt ggcttatctg atcttctgcc tgtgttccct tgtgggcatt 3240
cttcatcttc aaagagccct ggtcctgagg aggaaaagat ga 3282

<210> 330

<211> 3285

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 1H7-LvHv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链

<400> 330

ggatctgcga tcgctccggt gcccgtcagt gggcagagcg cacatcgccc acagtccccg 60
agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa ccggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa 120
actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gccttttcc cgagggtggg ggagaaccgt 180
atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac 240
agctgaagct tcgaggggct cgcatctctc cttcacgcgc ccgccgccct acctgaggcc 300
gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctcccgc ctgtggtgcc tcctgaactg 360
cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt ccggcgctcc 420
cttggagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg cttgctcaac 480
tctacgtctt tgtttcgttt tctgttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc 540
ctacggctag ccaccatgct gctgctcgtg accagcctgc tgctgtgcga actgccccac 600
cctgcctttc tgctgatccc cgatattcag atgacccaaa ctacgagttc cctgtctgcc 660
agccttggcg accgggtcac aattagttgc agggcttctc aggatatcaa ctactatttg 720
aactggtacc agcagaaacc tgatgggacg gtcaaacttc tcatctacta ttcatccaga 780
ctgcacagtg gcgtaccgtc tagattctca ggaagcggca gtggtacgga ttttagtctt 840
accattagta atctggaaca ggaggacatc gccacgtatt tttgccagca ggatgacgca 900
ctgccctata ccttcggcgg aggcactaag ttggagataa aaggaggcgg aggatctggc 960
ggaggggget ctggaggagg aggatctcaa gtacaacttc aacaaagtgg agccgaactg 1020
gtaaaacccg gagcgtctgt gaagattagt tgcaaggcat ccggttacgc cttctcaaat 1080
tattggatga actgggtaaa gcagcggccc ggaaagggtc tcgagtggat tgggcaaatc 1140
aacccagggg acggggatac gaactacaac ggtaagttca aaggcaaggc tacgttgacg 1200
gctgataaga gctcaagcac cgcttacatg cagttgtctt ctttgacaag tgaggatagt 1260
gccgtttact tctgcgcccg agaggaccga gattattttg attattgggg ccagggaaca 1320
actctcaccg tcagctccga gtctaagtac ggaccgccct gccccccttg ccctggccag 1380
cctagagaac cccaggtgta caccctgcct cccagccagg aagagatgac caagaaccag 1440
gtgtccctga cctgcctggt caaaggcttc taccccagcg atatcgccgt ggaatgggag 1500
agcaacggcc agcccgagaa caactacaag accacccccc ctgtgctgga cagcgacggc 1560
agcttcttcc tgtactcccg gctgaccgtg gacaagagcc ggtggcagga aggcaacgtc 1620
ttcagctgca gcgtgatgca cgaggccctg cacaaccact acacccagaa gtccctgagc 1680
ctgagcctgg gcaagatgtt ctgggtgctg gtggtggtcg gaggcgtgct ggcctgctac 1740
agcctgctgg tcaccgtggc cttcatcatc ttttgggtga aacggggcag aaagaaactc 1800
ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc 1860
tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa ggaggatgtg aactgcgggt gaagttcagc 1920
agaagcgccg acgcccctgc ctaccagcag ggccagaatc agctgtacaa cgagctgaac 1980
ctgggcagaa gggaagagta cgacgtcctg gataagcgga gaggccggga ccctgagatg 2040

ggcggcaagc ctcggcggaa gaacccccag gaaggcctgt ataacgaact gcagaaagac 2100
aagatggccg aggcctacag cgagatcggc atgaagggcg agcggaggcg gggcaagggc 2160
cacgacggcc tgtatcaggg cctgtccacc gccaccaagg atacctacga cgccctgcac 2220
atgcaggccc tgcccccaag gctcgagggc ggcggagagg gcagaggaag tcttctaaca 2280
tgcggtgacg tggaggagaa tccaggccct aggatgccac ctccaagact cctcttcttc 2340
ctcctcttcc tgacaccaat ggaagtcagg cctgaggaac ctctagtggt gaaggtggaa 2400
gagggagata acgctgtgtt acagtgcctc aagggaacct cagatggacc cactcagcag 2460
ctgacctggt ctcgggagtc tccgcttaaa cccttcctga aactcagcct tggactgcca 2520
ggtctgggaa tccacatgag gccactggct atctggctgt tcatcttcaa cgtctctcaa 2580
cagatgggag gcttctacct gtgtcagcct ggaccacctt ctgagaaggc atggcagcct 2640
ggttggacag tcaatgtgga gggttctggt gagctgttcc ggtggaatgt ttcggaccta 2700
ggtggactgg gatgtggtct gaagaacagg tcctcagagg gacctagctc tccttccggg 2760
aagctcatga gccccaagct gtatgtgtgg gccaaagacc gccctgagat ctgggaggga 2820
gagcctccgt gtgtcccacc gagggacagc ctgaaccaga gcctcagcca ggacctcacc 2880
atggcccctg gctccacact ctggctgtcc tgtggggtac cccctgactc tgtgtccagg 2940
ggcccctct cctggaccca tgtgcacccc aaggggccta agtcattgct gagcctagag 3000
ctgaaggacg atcgccctgc cagagatatg tgggtaatgg agacgggtct gttgttgccc 3060
cgggccacag ctcaagacgc tggaaagtat tattgtcacc gtggcaacct gaccatgtca 3120
ttccacctgg agatcactgc tcggccagta ctatggcact ggctgctgag gactggtggc 3180
tggaaggtct cagctgtgac tttggcttat ctgatcttct gcctgtgttc ccttgtgggc 3240
attcttcatc ttcaaagagc cctggtcctg aggaggaaaa gatga 3285

<210> 331
<211> 3291
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 9G2-LvHv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链
<400> 331

ggatctgcga tcgctccggt gcccgtcagt gggcagagcg cacatcgccc acagtccccg 60
agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa ccggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa 120
actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gccttttcc cgagggtggg ggagaaccgt 180
atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac 240
agctgaagct tcgaggggct cgcatctctc cttcacgcgc ccgccgccct acctgaggcc 300
gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctcccgc ctgtggtgcc tcctgaactg 360
cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt ccggcgctcc 420
cttggagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg cttgctcaac 480
tctacgtctt tgtttcgttt tctgttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc 540
ctacggctag ccaccatgct gctgctcgtg accagcctgc tgctgtgcga actgccccac 600
cctgcctttc tgctgatccc cgatatacaa atgactcaga caacgagcag tttgtccgca 660

tctcttggcg atcgagtaac tattagctgc aagacatccc aggacatata taattatttg 720
aattggtatc agcagaaacc ggacggaact gtcaaactcc tcatttatta tacctccagg 780
cttcatagtg gggttccttc ccgatttagt ggaggaggct caggtacgga ctacagcctg 840
acgatttcca accttgaaca agaagatata gctacatact tctgtcagca aggtgacacc 900
ttgccctgga cattcggtgg gggtacaaaa ctcgaaataa agggaggcgg aggatctggc 960
ggaggggget ctggaggagg aggatctgag gtcaagcttg tcgagtcaga gggaggtttg 1020
gtccagccgg gttcttctat gaaactctcc tgcacagcca gtggctttac atttagtgat 1080
tactacatga gttgggtgag acaggtgcct gagaaagggc tggagtgggt agcttccatt 1140
aactacgacg gaggtagcac ctattacttg gactccttga aaagcagatt cataatttcc 1200
agggataata cgaaaaacat actttatctt caaatgtcct ctttgaagag cgaggacaca 1260
gccacatact attgcgccag ggatagaggc gatggtgatt attttgacta ttggggacag 1320
ggcacaacac tcacggtcag cagcgagtct aagtacggac cgccctgccc cccttgccct 1380
ggccagccta gagaacccca ggtgtacacc ctgcctccca gccaggaaga gatgaccaag 1440
aaccaggtgt ccctgacctg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgatat cgccgtggaa 1500
tgggagagca acggccagcc cgagaacaac tacaagacca ccccccctgt gctggacagc 1560
gacggcagct tcttcctgta ctcccggctg accgtggaca agagccggtg gcaggaaggc 1620
aacgtcttca gctgcagcgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc 1680
ctgagcctga gcctgggcaa gatgttctgg gtgctggtgg tggtcggagg cgtgctggcc 1740
tgctacagcc tgctggtcac cgtggccttc atcatctttt gggtgaaacg gggcagaaag 1800
aaactcctgt atatattcaa acaaccattt atgagaccag tacaaactac tcaagaggaa 1860
gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gcgggtgaag 1920
ttcagcagaa gcgccgacgc ccctgcctac cagcagggcc agaatcagct gtacaacgag 1980
ctgaacctgg gcagaaggga agagtacgac gtcctggata agcggagagg ccgggaccct 2040
gagatgggcg gcaagcctcg gcggaagaac ccccaggaag gcctgtataa cgaactgcag 2100
aaagacaaga tggccgaggc ctacagcgag atcggcatga agggcgagcg gaggcggggc 2160
aagggccacg acggcctgta tcagggcctg tccaccgcca ccaaggatac ctacgacgcc 2220
ctgcacatgc aggccctgcc cccaaggctc gagggcggcg gagagggcag aggaagtctt 2280
ctaacatgcg gtgacgtgga ggagaatcca ggccctagga tgccacctcc aagactcctc 2340
ttcttcctcc tcttcctgac accaatggaa gtcaggcctg aggaacctct agtggtgaag 2400
gtggaagagg gagataacgc tgtgttacag tgcctcaagg gaacctcaga tggacccact 2460
cagcagctga cctggtctcg ggagtctccg cttaaaccct tcctgaaact cagccttgga 2520
ctgccaggtc tgggaatcca catgaggcca ctggctatct ggctgttcat cttcaacgtc 2580
tctcaacaga tgggaggctt ctacctgtgt cagcctggac caccttctga gaaggcatgg 2640
cagcctggtt ggacagtcaa tgtggagggt tctggtgagc tgttccggtg gaatgtttcg 2700
gacctaggtg gactgggatg tggtctgaag aacaggtcct cagagggacc tagctctcct 2760
tccgggaagc tcatgagccc caagctgtat gtgtgggcca aagaccgccc tgagatctgg 2820
gagggagagc ctccgtgtgt cccaccgagg gacagcctga accagagcct cagccaggac 2880
ctcaccatgg cccctggctc cacactctgg ctgtcctgtg gggtaccccc tgactctgtg 2940
tccaggggcc ccctctcctg gacccatgtg caccccaagg ggcctaagtc attgctgagc 3000

ctagagctga aggacgatcg ccctgccaga gatatgtggg taatggagac gggtctgttg 3060
ttgccccggg ccacagctca agacgctgga aagtattatt gtcaccgtgg caacctgacc 3120
atgtcattcc acctggagat cactgctcgg ccagtactat ggcactggct gctgaggact 3180
ggtggctgga aggtctcagc tgtgactttg gcttatctga tcttctgcct gtgttccctt 3240
gtgggcattc ttcatcttca aagagccctg gtcctgagga ggaaaagatg a 3291

<210> 332
<211> 259
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7 scFv VH-VL取向
<400> 332

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val
20 25 30
Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala
35 40 45
Phe Ser Asn Tyr Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Lys Gly
50 55 60
Leu Glu Trp Ile Gly Gln Ile Asn Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr
65 70 75 80
Asn Gly Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser
85 90 95
Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala
100 105 110
Val Tyr Phe Cys Ala Arg Glu Asp Arg Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
115 120 125
Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
130 135 140
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr
145 150 155 160
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg
165 170 175
Ala Ser Gln Asp Ile Asn Tyr Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
180 185 190
Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ser Ser Arg Leu His Ser
195 200 205
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser

210 215 220

Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys
225 230 235 240

Gln Gln Asp Asp Ala Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
245 250 255

Glu Ile Lys

<210> 333

<211> 259

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 1H7 scFv VL-VH取向

<400> 333

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp
35 40 45

Ile Asn Tyr Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ser Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Asp Asp
100 105 110

Ala Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val
130 135 140

Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val
145 150 155 160

Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Asn Tyr Trp Met
165 170 175

Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Gln
180 185 190

Ile Asn Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly
195 200 205

Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln
210 215 220
Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
225 230 235 240
Glu Asp Arg Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
245 250 255
Val Ser Ser

<210> 334
<211> 261
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 9G2 scFv VH-VL取向
<400> 334

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Glu Gly Gly Leu Val
20 25 30
Gln Pro Gly Ser Ser Met Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr
35 40 45
Phe Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Val Pro Glu Lys Gly
50 55 60
Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Asn Tyr Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr
65 70 75 80
Leu Asp Ser Leu Lys Ser Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys
85 90 95
Asn Ile Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala
100 105 110
Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Gly Asp Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr
115 120 125
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln
145 150 155 160
Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser
165 170 175
Cys Lys Thr Ser Gln Asp Ile Tyr Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln
180 185 190
Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu

195 200 205

His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Asp
210 215 220

Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr
225 230 235 240

Phe Cys Gln Gln Gly Asp Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr
245 250 255

Lys Leu Glu Ile Lys
260

<210> 335
<211> 261
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 9G2 scFv VL-VH取向
<400> 335

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gln Asp
35 40 45

Ile Tyr Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asp
100 105 110

Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val
130 135 140

Lys Leu Val Glu Ser Glu Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Ser Ser Met
145 150 155 160

Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr Met
165 170 175

Ser Trp Val Arg Gln Val Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser

180 185 190

Ile Asn Tyr Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Leu Asp Ser Leu Lys Ser
195 200 205

Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Ile Leu Tyr Leu Gln
210 215 220

Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg
225 230 235 240

Asp Arg Gly Asp Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
245 250 255

Leu Thr Val Ser Ser
260

<210> 336

<211> 263

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 5D12 scFv VH-VL取向

<400> 336

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Val
20 25 30

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Ala
35 40 45

Phe Ser Asn Tyr Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Lys Gly
50 55 60

Leu Glu Trp Ile Gly Gln Ile Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Thr Asp Tyr
65 70 75 80

Asn Gly Gln Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser
85 90 95

Asn Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala
100 105 110

Val Tyr Phe Cys Ala Arg Phe Phe Asp Phe Gly Ala Tyr Phe Thr Leu
115 120 125

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Lys Met
145 150 155 160

Thr Gln Ser Pro Ser Ser Ile Tyr Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Thr

165 170 175
Ile Asn Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Lys Ser Tyr Leu Ser Trp Tyr
180 185 190
Gln Gln Lys Pro Trp Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile Tyr Tyr Ala Thr
195 200 205
Thr Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
210 215 220
Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ser Asp Asp Thr Ala
225 230 235 240
Thr Tyr Tyr Cys Leu His His Gly Glu Ser Pro Trp Thr Phe Gly Glu
245 250 255
Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
260

<210> 337
<211> 263
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 5D12 scFv VL-VH取向
<400> 337
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Ile Tyr
20 25 30
Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Thr Ile Asn Cys Lys Ala Ser Gln Asp
35 40 45
Ile Lys Ser Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Trp Lys Ser Pro
50 55 60
Lys Thr Leu Ile Tyr Tyr Ala Thr Thr Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser
65 70 75 80
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser
85 90 95
Ser Leu Glu Ser Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu His His Gly
100 105 110
Glu Ser Pro Trp Thr Phe Gly Glu Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly
115 120 125
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val
130 135 140
Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala Ser Val

145 150 155 160
Lys Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Asn Tyr Trp Met
165 170 175
Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Gln
180 185 190
Ile Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Thr Asp Tyr Asn Gly Gln Phe Lys Gly
195 200 205
Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Met Gln
210 215 220
Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
225 230 235 240
Phe Phe Asp Phe Gly Ala Tyr Phe Thr Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
260

<210> 338
<211> 258
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5变体1 scFv VH-VL取向
<400> 338
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val
20 25 30
Arg Pro Gly Ala Ser Val Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
35 40 45
Phe Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Lys Gln Thr Pro Val His Gly
50 55 60
Leu Glu Trp Ile Gly Ser Ile Asp Pro Glu Thr Gly Val Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Asn Gln Lys Phe Thr Gly Lys Ala Ile Val Thr Ala Asp Lys Ser Ser
85 90 95
Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala
100 105 110
Val Tyr Tyr Cys Thr Ser Asp Tyr Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Gln Lys
145 150 155 160
Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala
165 170 175
Ser Gln Ser Val Gly Ser Asp Val Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly
180 185 190
Arg Cys Pro Lys Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Arg His Thr Gly
195 200 205
Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
210 215 220
Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln
225 230 235 240
Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu
245 250 255
Ile Lys

<210> 339
<211> 258
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5变体1 scFv VL-VH取向
<400> 339

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly Asp Val Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser
20 25 30
Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser
35 40 45
Val Gly Ser Asp Val Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Arg Cys Pro
50 55 60
Lys Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val Pro Asp
65 70 75 80
Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95
Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn
100 105 110
Ile Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val
130 135 140
Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala Ser Val
145 150 155 160
Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Glu Met
165 170 175
His Trp Ile Lys Gln Thr Pro Val His Gly Leu Glu Trp Ile Gly Ser
180 185 190
Ile Asp Pro Glu Thr Gly Val Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe Thr Gly
195 200 205
Lys Ala Ile Val Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Glu
210 215 220
Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ser
225 230 235 240
Asp Tyr Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val
245 250 255
Ser Ser

<210> 340
<211> 258
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5变体2 scFv VH-VL取向
<400> 340

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val
20 25 30
Arg Pro Gly Ala Ser Val Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
35 40 45
Phe Thr Asp Tyr Glu Met His Trp Ile Lys Gln Thr Pro Val His Gly
50 55 60
Leu Glu Trp Ile Gly Ser Ile Asp Pro Glu Thr Gly Val Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Asn Gln Lys Phe Thr Gly Lys Ala Ile Val Thr Ala Asp Lys Ser Ser
85 90 95
Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala
100 105 110
Val Tyr Tyr Cys Thr Ser Asp Tyr Gly Tyr Phe Asn Val Trp Gly Thr

115 120 125

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Gln Lys
145 150 155 160

Phe Met Ser Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala
165 170 175

Ser Gln Ser Val Gly Ser Asp Val Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly
180 185 190

Arg Cys Pro Lys Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Arg His Thr Gly
195 200 205

Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
210 215 220

Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln
225 230 235 240

Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu
245 250 255

Ile Lys

<210> 341

<211> 258

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 3A5变体2 scFv VL-VH取向

<400> 341

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Val Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser
20 25 30

Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser
35 40 45

Val Gly Ser Asp Val Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Arg Cys Pro
50 55 60

Lys Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val Pro Asp
65 70 75 80

Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn
100 105 110

Ile Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly
115 120 125
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val
130 135 140
Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala Ser Val
145 150 155 160
Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Glu Met
165 170 175
His Trp Ile Lys Gln Thr Pro Val His Gly Leu Glu Trp Ile Gly Ser
180 185 190
Ile Asp Pro Glu Thr Gly Val Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe Thr Gly
195 200 205
Lys Ala Ile Val Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Glu
210 215 220
Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ser
225 230 235 240
Asp Tyr Gly Tyr Phe Asn Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val
245 250 255
Ser Ser

<210> 342
<211> 1092
<212> DNA
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 342

atgccgctgc tgctactgct gcccctgctg tgggcagggg ccctggctat ggatccaaat 60
ttctggctgc aagtgcagga gtcagtgacg gtacaggagg gtttgtgcgt cctcgtgccc 120
tgcactttct tccatcccat accctactac gacaagaact ccccagttca tggttactgg 180
ttccgggaag gagccattat atccagggac tctccagtgg ccacaaacaa gctagatcaa 240
gaagtacagg aggagactca gggcagattc cgcctccttg gggatcccag taggaacaac 300
tgctccctga gcatcgtaga cgccaggagg agggataatg gttcatactt ctttcggatg 360
gagagaggaa gtaccaaata cagttacaaa tctccccagc tctctgtgca tgtgacagac 420
ttgacccaca ggcccaaaat cctcatccct ggcactctag aacccggcca ctccaaaaac 480
ctgacctgct ctgtgtcctg ggcctgtgag cagggaacac ccccgatctt ctcctggttg 540
tcagctgccc ccacctccct gggccccagg actactcact cctcggtgct cataatcacc 600
ccacggcccc aggaccacgg caccaacctg acctgtcagg tgaagttcgc tggagctggt 660
gtgactacgg agagaaccat ccagctcaac gtcacctatg ttccacagaa cccaacaact 720
ggtatctttc caggagatgg ctcagggaaa caagagacca gagcaggagt ggttcatggg 780
gccattggag gagctggtgt tacagccctg ctcgctcttt gtctctgcct catcttcttc 840
atagtgaaga cccacaggag gaaagcagcc aggacagcag tgggcaggaa tgacacccac 900

cctaccacag ggtcagcctc cccgaaacac cagaagaagt ccaagttaca tggccccact 960
gaaacctcaa gctgttcagg tgccgcccct actgtggaga tggatgagga gctgcattat 1020
gcttccctca actttcatgg gatgaatcct tccaaggaca cctccaccga atactcagag 1080
gtcaggaccc ag 1092

<210> 343
<211> 364
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 343

Met Pro Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Ala Gly Ala Leu Ala
1 5 10 15
Met Asp Pro Asn Phe Trp Leu Gln Val Gln Glu Ser Val Thr Val Gln
20 25 30
Glu Gly Leu Cys Val Leu Val Pro Cys Thr Phe Phe His Pro Ile Pro
35 40 45
Tyr Tyr Asp Lys Asn Ser Pro Val His Gly Tyr Trp Phe Arg Glu Gly
50 55 60
Ala Ile Ile Ser Arg Asp Ser Pro Val Ala Thr Asn Lys Leu Asp Gln
65 70 75 80
Glu Val Gln Glu Glu Thr Gln Gly Arg Phe Arg Leu Leu Gly Asp Pro
85 90 95
Ser Arg Asn Asn Cys Ser Leu Ser Ile Val Asp Ala Arg Arg Arg Asp
100 105 110
Asn Gly Ser Tyr Phe Phe Arg Met Glu Arg Gly Ser Thr Lys Tyr Ser
115 120 125
Tyr Lys Ser Pro Gln Leu Ser Val His Val Thr Asp Leu Thr His Arg
130 135 140
Pro Lys Ile Leu Ile Pro Gly Thr Leu Glu Pro Gly His Ser Lys Asn
145 150 155 160
Leu Thr Cys Ser Val Ser Trp Ala Cys Glu Gln Gly Thr Pro Pro Ile
165 170 175
Phe Ser Trp Leu Ser Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Pro Arg Thr Thr
180 185 190
His Ser Ser Val Leu Ile Ile Thr Pro Arg Pro Gln Asp His Gly Thr
195 200 205
Asn Leu Thr Cys Gln Val Lys Phe Ala Gly Ala Gly Val Thr Thr Glu
210 215 220
Arg Thr Ile Gln Leu Asn Val Thr Tyr Val Pro Gln Asn Pro Thr Thr
225 230 235 240

Gly Ile Phe Pro Gly Asp Gly Ser Gly Lys Gln Glu Thr Arg Ala Gly
245 250 255
Val Val His Gly Ala Ile Gly Gly Ala Gly Val Thr Ala Leu Leu Ala
260 265 270
Leu Cys Leu Cys Leu Ile Phe Phe Ile Val Lys Thr His Arg Arg Lys
275 280 285
Ala Ala Arg Thr Ala Val Gly Arg Asn Asp Thr His Pro Thr Thr Gly
290 295 300
Ser Ala Ser Pro Lys His Gln Lys Lys Ser Lys Leu His Gly Pro Thr
305 310 315 320
Glu Thr Ser Ser Cys Ser Gly Ala Ala Pro Thr Val Glu Met Asp Glu
325 330 335
Glu Leu His Tyr Ala Ser Leu Asn Phe His Gly Met Asn Pro Ser Lys
340 345 350
Asp Thr Ser Thr Glu Tyr Ser Glu Val Arg Thr Gln
355 360

<210> 344
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 9G2和/或6H9的轻链信号肽
<400> 344
Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln
1 5 10 15
Gly Thr Arg Cys
20

<210> 345
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> Light chain信号肽 of 3A5v1, 3A5v2和/或2D5
<400> 345
Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Phe Val Tyr Met Leu Leu Trp Leu Ser
1 5 10 15
Gly Val Asp Gly
20

<210> 346

<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5v1和/或7D5v2的轻链信号肽
<400> 346
Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln Gly
1 5 10 15
Thr Arg Cys
<210> 347
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D5的的轻链信号肽
<400> 347
Met Arg Phe Ser Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Val Leu Trp Ile Pro
1 5 10 15
Glu Ser Thr Ala
20
<210> 348
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 6H9的重链信号肽
<400> 348
Met Asn Phe Gly Leu Ser Leu Ile Phe Leu Val Leu Ile Leu Lys Gly
1 5 10 15
Val Gln Cys
<210> 349
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5v1和/或3A5v2的重链信号肽
<400> 349
Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Ile Ala Gly
1 5 10 15

Val Gln Ser
<210> 350
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5v1和/或7D5v2的重链信号肽
<400> 350
Met Ala Val Leu Ala Leu Leu Leu Cys Leu Val Ala Phe Pro Ser Cys
1 5 10 15
Thr Leu Ser
<210> 351
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 2D5的的重链信号肽
<400> 351
Met Glu Trp Ser Trp Val Cys Leu Phe Leu Leu Ser Val Ile Ala Gly
1 5 10 15
Val Gln Ser
<210> 352
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 11D5的重链信号肽
<400> 352
Met Glu Ser Asn Trp Ile Leu Pro Phe Ile Leu Ser Val Thr Ser Gly
1 5 10 15
Val Tyr Ser
<210> 353
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 13E11的重链信号肽
<400> 353
Met Glu Trp Cys Trp Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly

1 5 10 15

Val His Ser

<210> 354

<211> 738

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> My96编码序列

<400> 354

gagatcgtgc tgacacagag ccctggaagc ctggccgtgt ctcctggcga gcgcgtgaca 60
atgagctgca agagcagcca gagcgtgttc ttcagcagct cccagaagaa ctacctggcc 120
tggtatcagc agatccccgg ccagagcccc agactgctga tctactgggc cagcaccaga 180
gaaagcggcg tgcccgatag attcaccggc agcggctctg gcaccgactt caccctgaca 240
atcagcagcg tgcagcccga ggacctggcc atctactact gccaccagta cctgagcagc 300
cggacctttg gccagggcac caagctggaa atcaagagag gcggcggagg ctctggcgga 360
ggcggatcta gtggcggagg atctcaggtg cagctgcagc agcctggcgc cgaggtcgtg 420
aaacctggcg cctctgtgaa gatgtcctgc aaggccagcg gctacacctt caccagctac 480
tacatccact ggatcaagca gacccctgga cagggcctgg aatgggtggg agtgatctac 540
cccggcaacg acgacatcag ctacaaccag aagttccagg gcaaggccac cctgaccgcc 600
gacaagtcta gcaccaccgc ctacatgcag ctgtccagcc tgaccagcga ggacagcgcc 660
gtgtactact gcgccagaga agtgcggctg cggtacttcg atgtgtgggg ccagggaacc 720
accgtgaccg tgtcatct 738

<210> 355

<211> 9278

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> My96_int_41BB_3z_TCD19编码序列

<400> 355

gttagaccag atctgagcct gggagctctc tggctaacta gggaacccac tgcttaagcc 60
tcaataaagc ttgccttgag tgcttcaagt agtgtgtgcc cgtctgttgt gtgactctgg 120
taactagaga tccctcagac cctttttagtc agtgtggaaa atctctagca gtggcgcccg 180
aacagggact tgaaagcgaa agggaaacca gaggagctct ctcgacgcag gactcggctt 240
gctgaagcgc gcacggcaag aggcgagggg cggcgactgg tgagtacgcc aaaaattttg 300
actagcggag gctagaagga gagagatggg tgcgagagcg tcagtattaa gcgggggaga 360
attagatcga tgggaaaaaa ttcggttaag gccaggggga aagaaaaaat ataaattaaa 420
acatatagta tgggcaagca gggagctaga acgattcgca gttaatcctg gcctgttaga 480
aacatcagaa ggctgtagac aaatactggg acagctacaa ccatcccttc agacaggatc 540
agaagaactt agatcattat ataatacagt agcaaccctc tattgtgtgc atcaaaggat 600

agagataaaa gacaccaagg aagctttaga caagatagag gaagagcaaa acaaaagtaa 660
gaaaaaagca cagcaagcag cagctgacac aggacacagc aatcaggtca gccaaaatta 720
ccctatagtg cagaacatcc aggggcaaat ggtacatcag gccatatcac ctagaacttt 780
aaatgcatgg gtaaaagtag tagaagagaa ggctttcagc ccagaagtga tacccatgtt 840
ttcagcatta tcagaaggag ccaccccaca agatttaaac accatgctaa acacagtggg 900
gggacatcaa gcagccatgc aaatgttaaa agagaccatc aatgaggaag ctgcaggcaa 960
agagaagagt ggtgcagaga gaaaaaagag cagtgggaat aggagctttg ttccttgggt 1020
tcttgggagc agcaggaagc actatgggcg cagcgtcaat gacgctgacg gtacaggcca 1080
gacaattatt gtctggtata gtgcagcagc agaacaattt gctgagggct attgaggcgc 1140
aacagcatct gttgcaactc acagtctggg gcatcaagca gctccaggca agaatcctgg 1200
ctgtggaaag atacctaaag gatcaacagc tcctggggat ttggggttgc tctggaaaac 1260
tcatttgcac cactgctgtg ccttggatct acaaatggca gtattcatcc acaattttaa 1320
aagaaaaggg gggattgggg ggtacagtgc aggggaaaga atagtagaca taatagcaac 1380
agacatacaa actaaagaat tacaaaaaca aattacaaaa attcaaaatt ttcgggttta 1440
ttacagggac agcagagatc cagtttgggg atcaattgca tgaagaatct gcttagggtt 1500
aggcgttttg cgctgcttcg cgaggatctg cgatcgctcc ggtgcccgtc agtgggcaga 1560
gcgcacatcg cccacagtcc ccgagaagtt gggggggaggg gtcggcaatt gaaccggtgc 1620
ctagagaagg tggcgcgggg taaactggga aagtgatgtc gtgtactggc tccgcctttt 1680
tcccgagggt gggggagaac cgtatataag tgcagtagtc gccgtgaacg ttcttttcg 1740
caacgggttt gccgccagaa cacagctgaa gcttcgaggg gctcgcatct ctccttcacg 1800
cgcccgccgc cctacctgag gccgccatcc acgccggttg agtcgcgttc tgccgcctcc 1860
cgcctgtggt gcctcctgaa ctgcgtccgc cgtctaggta agtttaaagc tcaggtcgag 1920
accgggcctt tgtccggcgc tcccttggag cctacctaga ctcagccggc tctccacgct 1980
ttgcctgacc ctgcttgctc aactctacgt ctttgtttcg ttttctgttc tgcgccgtta 2040
cagatccaag ctgtgaccgg cgcctacggc tagccaccat gctgctgctc gtgaccagcc 2100
tgctgctgtg cgaactgccc caccctgcct ttctgctgat ccccgagatc gtgctgacac 2160
agagccctgg aagcctggcc gtgtctcctg gcgagcgcgt gacaatgagc tgcaagagca 2220
gccagagcgt gttcttcagc agctcccaga agaactacct ggcctggtat cagcagatcc 2280
ccggccagag ccccagactg ctgatctact gggccagcac cagagaaagc ggcgtgcccg 2340
atagattcac cggcagcggc tctggcaccg acttcaccct gacaatcagc agcgtgcagc 2400
ccgaggacct ggccatctac tactgccacc agtacctgag cagccggacc tttggccagg 2460
gcaccaagct ggaaatcaag agaggcggcg gaggctctgg cggaggcgga tctagtggcg 2520
gaggatctca ggtgcagctg cagcagcctg gcgccgaggt cgtgaaacct ggcgcctctg 2580
tgaagatgtc ctgcaaggcc agcggctaca ccttcaccag ctactacatc cactggatca 2640
agcagacccc tggacagggc ctggaatggg tgggagtgat ctaccccggc aacgacgaca 2700
tcagctacaa ccagaagttc cagggcaagg ccaccctgac cgccgacaag tctagcacca 2760
ccgcctacat gcagctgtcc agcctgacca gcgaggacag cgccgtgtac tactgcgcca 2820
gagaagtgcg gctgcggtac ttcgatgtgt ggggccaggg aaccaccgtg accgtgtcat 2880
ctgagtctaa gtacggaccg ccctgccccc cttgccctat gttctgggtg ctggtggtgg 2940

tcggaggcgt gctggcctgc tacagcctgc tggtcaccgt ggccttcatc atcttttggg 3000
tgaaacgggg cagaaagaaa ctcctgtata tattcaaaca accatttatg agaccagtac 3060
aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa gaaggaggat 3120
gtgaactgcg ggtgaagttc agcagaagcg ccgacgcccc tgcctaccag cagggccaga 3180
atcagctgta caacgagctg aacctgggca gaagggaaga gtacgacgtc ctggataagc 3240
ggagaggccg ggaccctgag atgggcggca agcctcggcg gaagaacccc caggaaggcc 3300
tgtataacga actgcagaaa gacaagatgg ccgaggccta cagcgagatc ggcatgaagg 3360
gcgagcggag gcggggcaag ggccacgacg gcctgtatca gggcctgtcc accgccacca 3420
aggataccta cgacgccctg cacatgcagg ccctgccccc aaggctcgag ggcggcggag 3480
agggcagagg aagtcttcta acatgcggtg acgtggagga gaatccaggc cctaggatgc 3540
cacctccaag actcctcttc ttcctcctct tcctgacacc aatggaagtc aggcctgagg 3600
aacctctagt ggtgaaggtg gaagagggag ataacgctgt gttacagtgc ctcaagggaa 3660
cctcagatgg acccactcag cagctgacct ggtctcggga gtctccgctt aaacccttcc 3720
tgaaactcag ccttggactg ccaggtctgg gaatccacat gaggccactg gctatctggc 3780
tgttcatctt caacgtctct caacagatgg gaggcttcta cctgtgtcag cctggaccac 3840
cttctgagaa ggcatggcag cctggttgga cagtcaatgt ggagggttct ggtgagctgt 3900
tccggtggaa tgtttcggac ctaggtggac tgggatgtgg tctgaagaac aggtcctcag 3960
agggacctag ctctccttcc gggaagctca tgagccccaa gctgtatgtg tgggccaaag 4020
accgccctga gatctgggag ggagagcctc cgtgtgtccc accgagggac agcctgaacc 4080
agagcctcag ccaggacctc accatggccc ctggctccac actctggctg tcctgtgggg 4140
taccccctga ctctgtgtcc aggggccccc tctcctggac ccatgtgcac cccaaggggc 4200
ctaagtcatt gctgagccta gagctgaagg acgatcgccc tgccagagat atgtgggtaa 4260
tggagacggg tctgttgttg ccccgggcca cagctcaaga cgctggaaag tattattgtc 4320
accgtggcaa cctgaccatg tcattccacc tggagatcac tgctcggcca gtactatggc 4380
actggctgct gaggactggt ggctggaagg tctcagctgt gactttggct tatctgatct 4440
tctgcctgtg ttcccttgtg ggcattcttc atcttcaaag agccctggtc ctgaggagga 4500
aaagatgagc ggccgctcta gacccgggct gcaggaattc gatatcaagc ttatcgataa 4560
tcaacctctg gattacaaaa tttgtgaaag attgactggt attcttaact atgttgctcc 4620
ttttacgcta tgtggatacg ctgctttaat gcctttgtat catgctattg cttcccgtat 4680
ggctttcatt ttctcctcct tgtataaatc ctggttgctg tctctttatg aggagttgtg 4740
gcccgttgtc aggcaacgtg gcgtggtgtg cactgtgttt gctgacgcaa cccccactgg 4800
ttggggcatt gccaccacct gtcagctcct ttccgggact ttcgctttcc ccctccctat 4860
tgccacggcg gaactcatcg ccgcctgcct tgcccgctgc tggacagggg ctcggctgtt 4920
gggcactgac aattccgtgg tgttgtcggg gaaatcatcg tcctttcctt ggctgctcgc 4980
ctgtgttgcc acctggattc tgcgcgggac gtccttctgc tacgtccctt cggccctcaa 5040
tccagcggac cttccttccc gcggcctgct gccggctctg cggcctcttc cgcgtcttcg 5100
ccttcgccct cagacgagtc ggatctccct ttgggccgcc tccccgcatc gataccgtcg 5160
actagccgta cctttaagac caatgactta caaggcagct gtagatctta gccacttttt 5220
aaaagaaaag gggggactgg aagggctaat tcactcccaa agaagacaag atctgctttt 5280

tgcctgtact gggtctctct ggttagacca gatctgagcc tgggagctct ctggctaact 5340
agggaaccca ctgcttaagc ctcaataaag cttgccttga gtgcttcaag tagtgtgtgc 5400
ccgtctgttg tgtgactctg gtaactagag atccctcaga ccctttttagt cagtgtggaa 5460
aatctctagc agaattcgat atcaagctta tcgataccgt cgacctcgag gggggcccg 5520
gtacccaatt cgccctatag tgagtcgtat tacaattcac tggccgtcgt tttacaacgt 5580
cgtgactggg aaaaccctgg cgttacccaa cttaatcgcc ttgcagcaca tccccctttc 5640
gccagctggc gtaatagcga agaggcccgc accgatcgcc cttcccaaca gttgcgcagc 5700
ctgaatggcg aatggaaatt gtaagcgtta atattttgtt aaaattcgcg ttaaattttt 5760
gttaaatcag ctcatttttt aaccaatagg ccgaaatcgg caaaatccct tataaatcaa 5820
aagaatagac cgagataggg ttgagtgttg ttccagtttg gaacaagagt ccactattaa 5880
agaacgtgga ctccaacgtc aaagggcgaa aaaccgtcta tcagggcgat ggcccactac 5940
gtgaaccatc accctaatca agtttttttgg ggtcgaggtg ccgtaaagca ctaaatcgga 6000
accctaaagg gagcccccga tttagagctt gacggggaaa gccggcgaac gtggcgagaa 6060
aggaagggaa gaaagcgaaa ggagcgggcg ctagggcgct ggcaagtgta gcggtcacgc 6120
tgcgcgtaac caccacaccc gccgcgctta atgcgccgct acagggcgcg tcaggtggca 6180
cttttcgggg aaatgtgcgc ggaacccctа tttgtttatt tttctaaata cattcaaata 6240
tgtatccgct catgagacaa taaccctgat aaatgcttca ataatattga aaaaggaaga 6300
gtatgagtat tcaacatttc cgtgtcgccc ttattccctt ttttgcggca ttttgccttc 6360
ctgtttttgc tcacccagaa acgctggtga aagtaaaaga tgctgaagat cagttgggtg 6420
cacgagtggg ttacatcgaa ctggatctca acagcggtaa gatccttgag agttttcgcc 6480
ccgaagaacg ttttccaatg atgagcactt ttaaagttct gctatgtggc gcggtattat 6540
cccgtattga cgccgggcaa gagcaactcg gtcgccgcat acactattct cagaatgact 6600
tggttgagta ctcaccagtc acagaaaagc atcttacgga tggcatgaca gtaagagaat 6660
tatgcagtgc tgccataacc atgagtgata acactgcggc caacttactt ctgacaacga 6720
tcggaggacc gaaggagcta accgcttttt tgcacaacat gggggatcat gtaactcgcc 6780
ttgatcgttg ggaaccggag ctgaatgaag ccataccaaa cgacgagcgt gacaccacga 6840
tgcctgtagc aatggcaaca acgttgcgca aactattaac tggcgaacta cttactctag 6900
cttcccggca acaattaata gactggatgg aggcggataa agttgcagga ccacttctgc 6960
gctcggccct tccggctggc tggtttattg ctgataaatc tggagccggt gagcgtgggt 7020
ctcgcggtat cattgcagca ctggggccag atggtaagcc ctcccgtatc gtagttatct 7080
acacgacggg gagtcaggca actatggatg aacgaaatag acagatcgct gagataggtg 7140
cctcactgat taagcattgg taactgtcag accaagttta ctcatatata ctttagattg 7200
atttaaaact tcatttttaa tttaaaagga tctaggtgaa gatccttttt gataatctca 7260
tgaccaaaat cccttaacgt gagttttcgt tccactgagc gtcagacccc gtagaaaaga 7320
tcaaaggatc ttcttgagat cctttttttc tgcgcgtaat ctgctgcttg caaacaaaaa 7380
aaccaccgct accagcggtg gtttgtttgc cggatcaaga gctaccaact ctttttccga 7440
aggtaactgg cttcagcaga gcgcagatac caaatactgt tcttctagtg tagccgtagt 7500
taggccacca cttcaagaac tctgtagcac cgcctacata cctcgctctg ctaatcctgt 7560
taccagtggc tgctgccagt ggcgataagt cgtgtcttac cgggttggac tcaagacgat 7620

agttaccgga taaggcgcag cggtcgggct gaacgggggg ttcgtgcaca cagcccagct 7680
tggagcgaac gacctacacc gaactgagat acctacagcg tgagctatga gaaagcgcca 7740
cgcttcccga agggagaaag gcggacaggt atccggtaag cggcagggtc ggaacaggag 7800
agcgcacgag ggagcttcca gggggaaacg cctggtatct ttatagtcct gtcgggtttc 7860
gccacctctg acttgagcgt cgatttttgt gatgctcgtc agggggggcgg agcctatgga 7920
aaaacgccag caacgcggcc tttttacggt tcctggcctt ttgctggcct tttgctcaca 7980
tgttctttcc tgcgttatcc cctgattctg tggataaccg tattaccgcc tttgagtgag 8040
ctgataccgc tcgccgcagc cgaacgaccg agcgcagcga gtcagtgagc gaggaagcgg 8100
aagagcgccc aatacgcaaa ccgcctctcc ccgcgcgttg gccgattcat taatgcagct 8160
ggcacgacag gtttcccgac tggaaagcgg gcagtgagcg caacgcaatt aatgtgagtt 8220
agctcactca ttaggcaccc caggctttac actttatgct tccggctcgt atgttgtgtg 8280
gaattgtgag cggataacaa tttcacacag gaaacagcta tgaccatgat tacgccaagc 8340
tcgaaattaa ccctcactaa agggaacaaa agctggagct ccaccgcggt ggcggcctcg 8400
aggtcgagat ccggtcgacc agcaaccata gtcccgcccc taactccgcc catcccgccc 8460
ctaactccgc ccagttccgc ccattctccg ccccatggct gactaatttt ttttatttat 8520
gcagaggccg aggccgcctc ggcctctgag ctattccaga agtagtgagg aggcttttt 8580
ggaggcctag gcttttgcaa aaagcttcga cggtatcgat tggctcatgt ccaacattac 8640
cgccatgttg acattgatta ttgactagtt attaatagta atcaattacg gggtcattag 8700
ttcatagccc atatatggag ttccgcgtta cataacttac ggtaaatggc ccgcctggct 8760
gaccgcccaa cgacccccgc ccattgacgt caataatgac gtatgttccc atagtaacgc 8820
caatagggac tttccattga cgtcaatggg tggagtattt acggtaaact gcccacttgg 8880
cagtacatca agtgtatcat atgccaagta cgccccctat tgacgtcaat gacggtaaat 8940
ggcccgcctg gcattatgcc cagtacatga ccttatggga ctttcctact tggcagtaca 9000
tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg tgatgcggtt ttggcagtac atcaatgggc 9060
gtggatagcg gtttgactca cggggatttc caagtctcca ccccattgac gtcaatggga 9120
gtttgttttg gcaccaaaat caacgggact ttccaaaatg tcgtaacaac tccgccccat 9180
tgacgcaaat gggcggtagg cgtgtacgga attcggagtg gcgagccctc agatcctgca 9240
tataagcagc tgctttttgc ctgtactggg tctctctg 9278

<210> 356
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7可变轻链
<400> 356

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asn Tyr Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Ser Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Asp Asp Ala Leu Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 357
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 1H7可变重链
<400> 357
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Gln Ile Asn Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Asp Arg Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110
Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 358
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 6H9可变轻链

<400> 358

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ile Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asp Thr Leu Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 359

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 6H9可变重链

<400> 359

Glu Val Met Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Thr Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Thr Ile Ser Gly Asp Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ser Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gln Gly Thr Gly Thr Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Thr Leu Thr Val Ser
115

<210> 360

<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 9G2可变轻链
<400> 360

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gln Asp Ile Tyr Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Gly Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asp Thr Leu Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 361
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 9G2可变重链
<400> 361

Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Glu Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Met Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Val Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Ser Ile Asn Tyr Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Leu Asp Ser Leu
50 55 60
Lys Ser Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Ile Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Arg Gly Asp Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 362
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 2D5可变轻链
<400> 362

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
20 25 30
Val Val Trp Tyr His Lys Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Gly Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asp Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Asn Val Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 363
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 2D5可变重链
<400> 363

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Asp Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Val His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ala Ile Asp Pro Glu Thr Gly Gly Thr Ala Tyr Asn Gln Asn Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Ile Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Arg Ile Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Phe Tyr Cys
85 90 95

Thr Ser Asp Tyr Asp Tyr Phe Gly Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 364
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5可变轻链
<400> 364

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Ser Asp
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Arg Cys Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

Tyr Leu Ala Ser Asn Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 365
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5变体1可变重链
<400> 365

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Glu Met His Trp Ile Lys Gln Thr Pro Val His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ser Ile Asp Pro Glu Thr Gly Val Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Thr Gly Lys Ala Ile Val Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Ser Asp Tyr Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 366
<211> 250
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> V型定向的CD33 scFv
<400> 366
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Trp Ser Trp Ser Asp Gly Tyr Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser
130 135 140

Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly Glu Arg Thr Thr Ile Asn Cys
145 150 155 160
Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser Ser Thr Asn Lys Asn Ser Leu
165 170 175
Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Leu Ser
180 185 190
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
195 200 205
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp Ser Pro Gln Pro Glu
210 215 220
Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ala His Phe Pro Ile Thr
225 230 235 240
Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
245 250

<210> 367
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 3A5变体2可变重链
<400> 367
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Glu Met His Trp Ile Lys Gln Thr Pro Val His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ser Ile Asp Pro Glu Thr Gly Val Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Thr Gly Lys Ala Ile Val Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Ser Asp Tyr Gly Tyr Phe Asn Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 368
<211> 107

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5可变轻链
<400> 368

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Phe Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Ala Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile His Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asp Thr Leu Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 369
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5变体1可变重链
<400> 369

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
20 25 30
Asn Ile Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45
Gly Val Ile Trp Thr Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Phe Met
50 55 60
Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Leu Phe Leu
65 70 75 80
Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Val
85 90 95
Arg Asp Gly Thr Gly Thr Gly Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 370
<211> 750
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> V型定向的CD33 scFv编码序列
<400> 370

caagttcagc tcgtgcagag tggtgcagag gtcaagaagc ctggagagag cgtcaaggtc 60
agctgtaaag catctggcta tacattcact aattacggaa tgaactgggt caagcaggcg 120
ccaggtcagg gacttgaatg gatgggctgg ataaacacat atacaggaga gccaacttat 180
gctgacaaat tccagggtag agtcacgatg acgacggaca catcaacctc caccgcgtat 240
atggaaatca ggaatttggg cggagacgat acagcggttt actactgcgc ccgatggagt 300
tggtctgatg gctattatgt gtatttcgac tactggggtc agggtacaag cgtcacagta 360
agttcaggag gcggaggatc tggcggaggg ggctctggag gaggaggatc tgatattgta 420
atgacccaat cccctgactc attgacagta tccctcggag agcggaccac tataaactgc 480
aaatccagcc agtctgtatt ggactccagc accaacaaaa atagccttgc gtggtatcag 540
caaaagccgg gtcaaccacc caagctgctc ttgagttggg cgagtaccag agagagtggg 600
atacccgaca ggtttagtgg atctggctct ggcaccgatt ttacgcttac aatcgacagt 660
ccgcaacccg aagactccgc gacgtactac tgtcagcaat ctgcacactt tccaataacc 720
ttcgggcaag ggacacggct ggagatcaaa 750

<210> 371
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 7D5变体2可变重链
<400> 371

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15
Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
20 25 30
Asn Ile Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45
Gly Val Ile Trp Thr Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Phe Met
50 55 60
Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Leu Phe Leu

65 70 75 80
Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Val
85 90 95
Arg Asp Gly Thr Gly Thr Gly Asp His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 372
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 5D12可变轻链
<400> 372
Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Ile Tyr Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Val Thr Ile Asn Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Lys Ser Tyr
20 25 30
Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Trp Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Ala Thr Thr Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ser
65 70 75 80
Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu His His Gly Glu Ser Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Glu Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 373
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 5D12可变重链
<400> 373
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Gln Ile Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Thr Asp Tyr Asn Gly Gln Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Phe Phe Asp Phe Gly Ala Tyr Phe Thr Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 374
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 8F5可变轻链
<400> 374

Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Pro Val Ser Val Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Leu Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30
Arg Asn Gln Tyr Asn Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln
35 40 45
Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95
Tyr Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 375
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> 8F5可变重链
<400> 375

Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Phe
20 25 30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Phe Ile Ser Asn Ala Gly Val Thr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
50 55 60
Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Ser Arg Leu Met Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Lys Ser Asp Tyr Asp Gly Ala Trp Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser
115

<210> 376
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 12B12可变轻链
<400> 376

Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Phe Ser Asn Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15
Thr Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30
Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Ser Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn
85 90 95
Leu Glu Leu Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 377
<211> 531
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> V型定向的CD33/CD3 BsAb (RC1)
<400> 377

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
20 25 30
Lys Pro Gly Glu Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
35 40 45
Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly
50 55 60
Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr
65 70 75 80
Ala Asp Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr
85 90 95
Ser Thr Ala Tyr Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala
100 105 110
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Ser Trp Ser Asp Gly Tyr Tyr Val Tyr
115 120 125
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
130 135 140
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val
145 150 155 160
Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly Glu Arg Thr
165 170 175
Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser Ser Thr Asn
180 185 190
Lys Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys
195 200 205
Leu Leu Leu Ser Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile Pro Asp Arg
210 215 220
Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp Ser
225 230 235 240
Pro Gln Pro Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ala His
245 250 255

Phe Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Ser Gly
260 265 270
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
275 280 285
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
290 295 300
Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
305 310 315 320
Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
325 330 335
Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
340 345 350
Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
355 360 365
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
370 375 380
Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
385 390 395 400
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
405 410 415
Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
420 425 430
Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly
435 440 445
Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
450 455 460
Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
465 470 475 480
Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
485 490 495
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn
500 505 510
Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu His His His
515 520 525
His His His
530

<210> 378
<211> 505
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 不含前导序列或His标签的V型定向的CD33/CD3 BsAb (RC1)

<400> 378

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Trp Ser Trp Ser Asp Gly Tyr Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser
130 135 140
Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly Glu Arg Thr Thr Ile Asn Cys
145 150 155 160
Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser Ser Thr Asn Lys Asn Ser Leu
165 170 175
Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Leu Ser
180 185 190
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
195 200 205
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp Ser Pro Gln Pro Glu
210 215 220
Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ala His Phe Pro Ile Thr
225 230 235 240
Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser
245 250 255
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
260 265 270
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr

275 280 285

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

290 295 300

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

305 310 315 320

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

325 330 335

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

340 345 350

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp

355 360 365

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

370 375 380

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val

385 390 395 400

Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu

405 410 415

Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn

420 425 430

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly

435 440 445

Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu

450 455 460

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp

465 470 475 480

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe

485 490 495

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

500 505

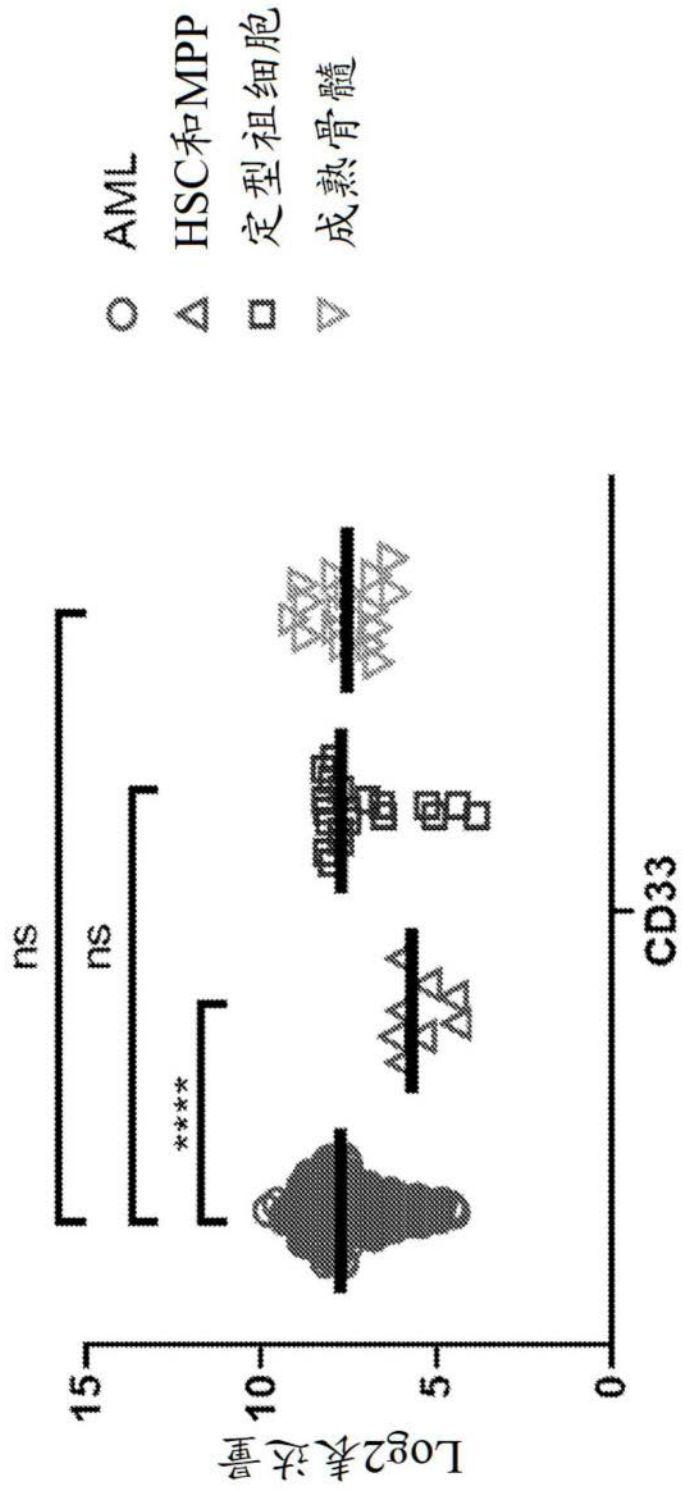


图1

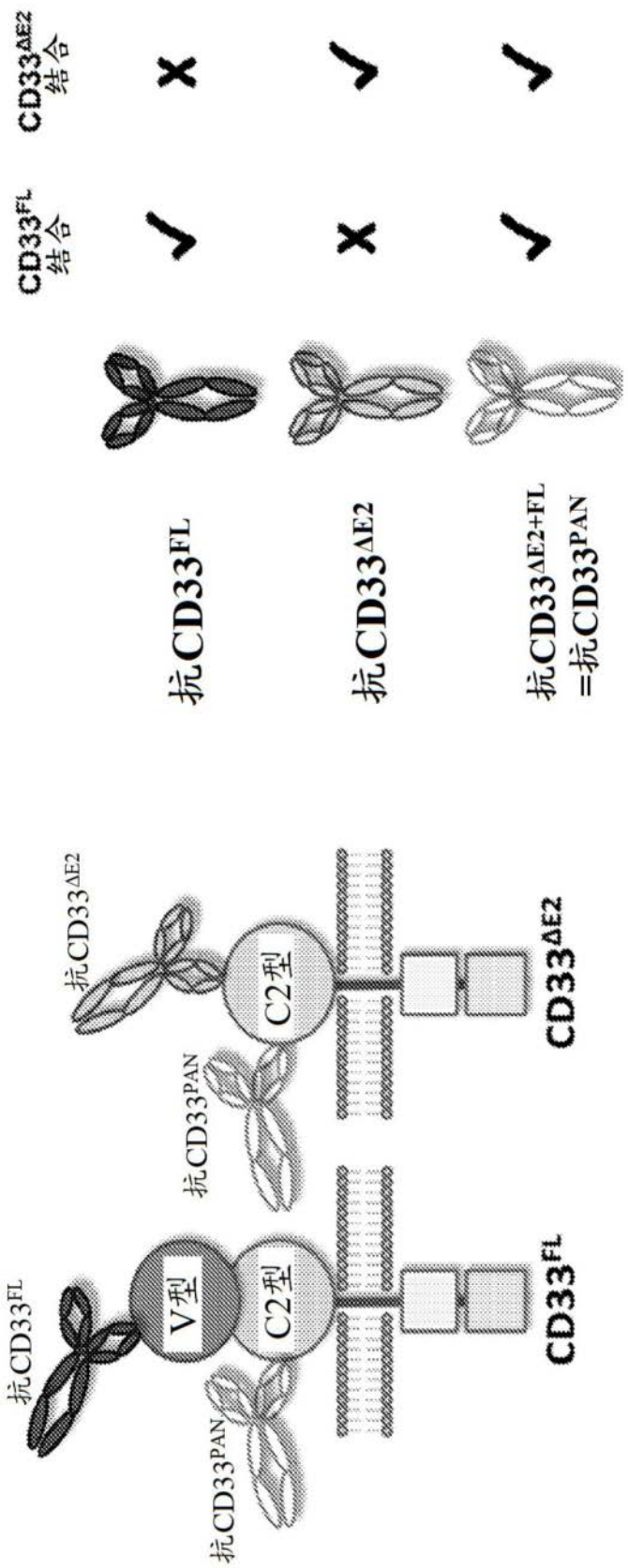

CD33ΔE2结合
CD33FL结合
抗CD33FL
抗CD33ΔE2
抗CD33ΔE2+FL
=抗CD33PAN
抗CD33FL
抗CD33PAN
V型
C2型
抗CD33ΔE2
抗CD33PAN
C2型
CD33FL
CD33ΔE2

图2

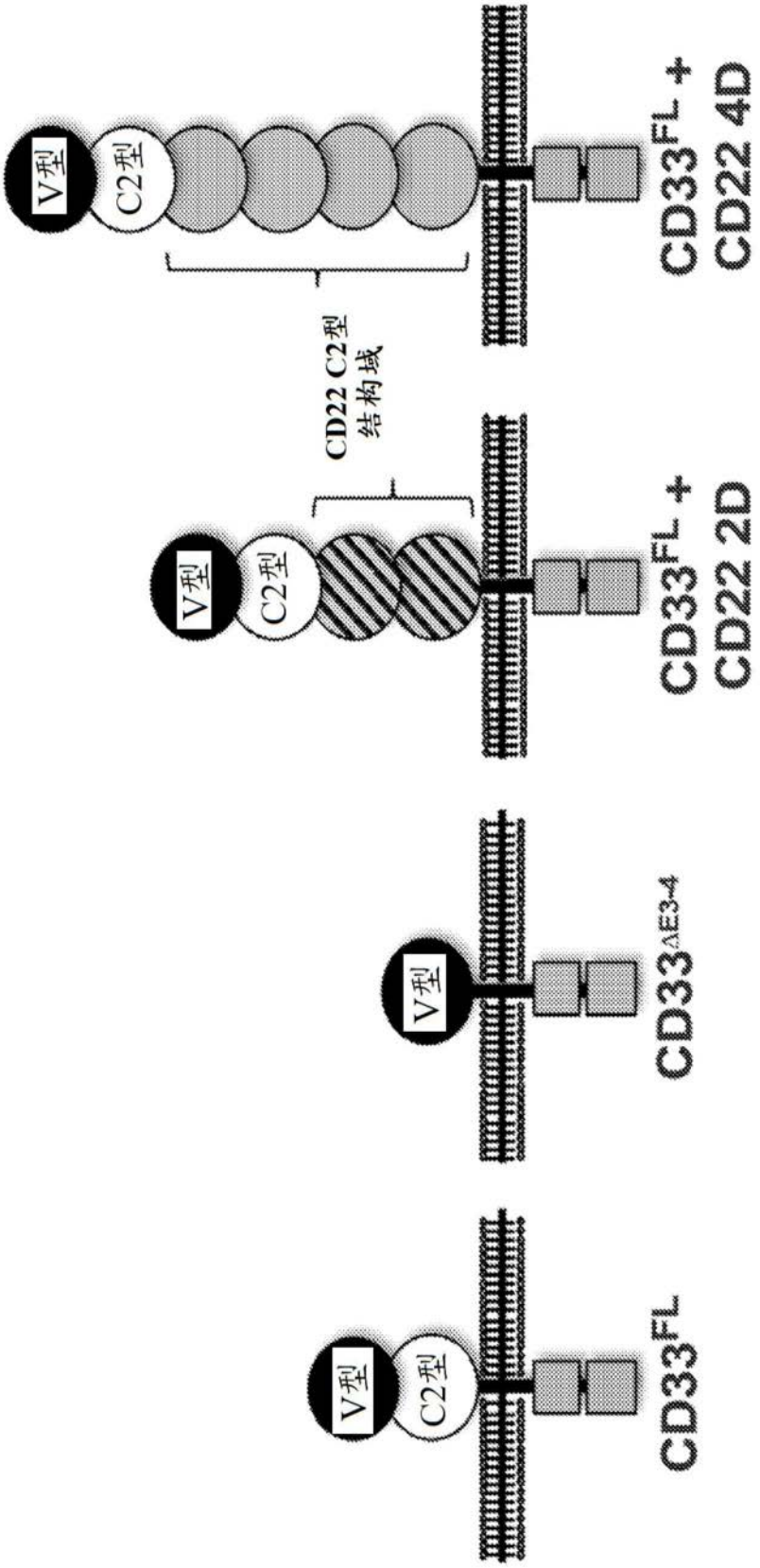

V型
C2型
CD33FL
V型
CD33ΔE3-4
V型
C2型
CD33FL +
CD22 2D
CD22 C2型
结构域
V型
C2型
CD33FL +
CD22 4D

图3

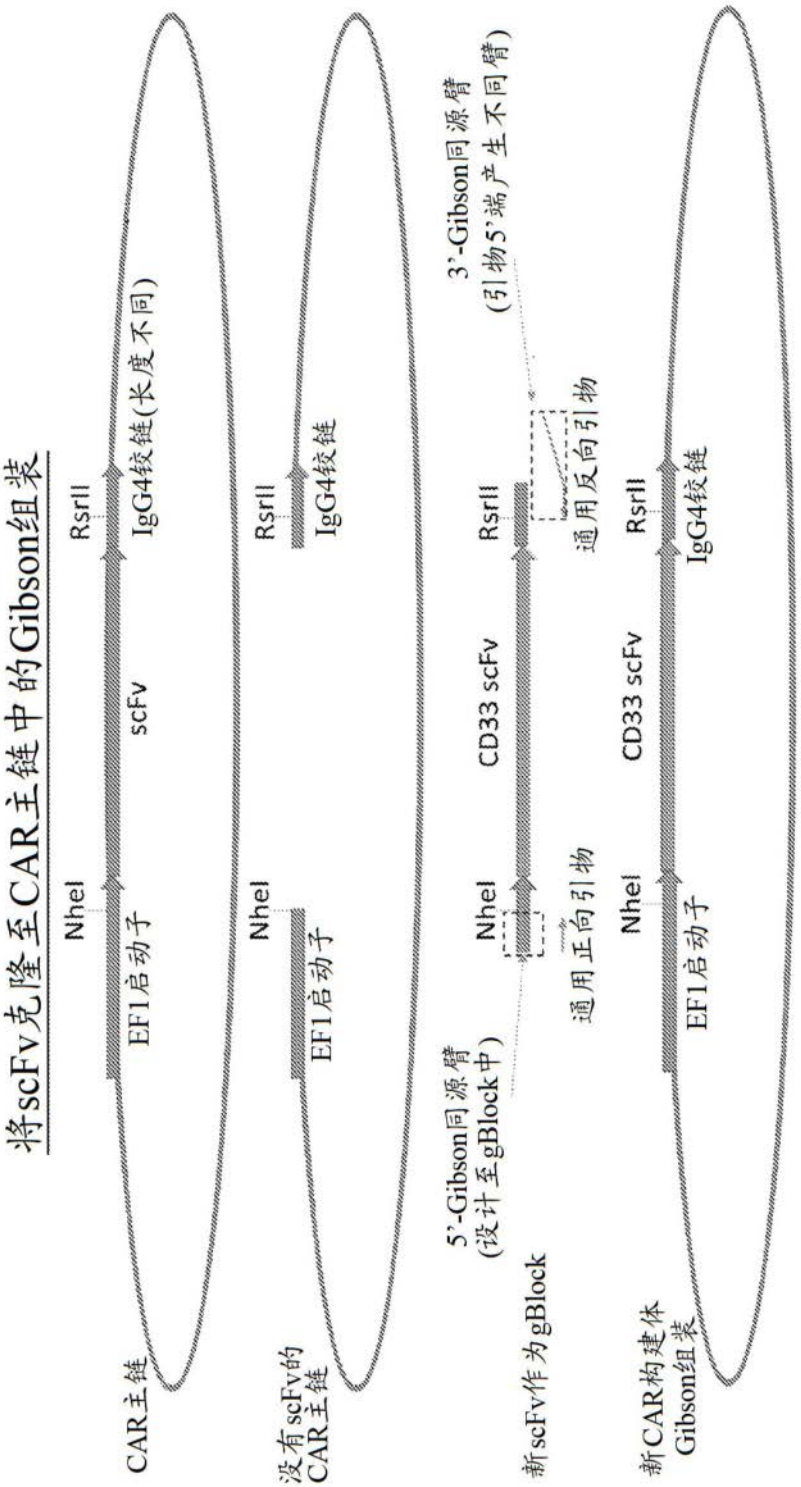

将scFv克隆至CAR主链中的Gibson组装
NheI
RsrII
EF1启动子
scFv
IgG4铰链(长度不同)
CAR主链
NheI
RsrII
EF1启动子
IgG4铰链
没有scFv的
CAR主链
5'-Gibson同源臂
(设计至gBlock中)
NheI
CD33 scFv
RsrII
3'-Gibson同源臂
(引物5'端产生不同臂)
通用正向引物
通用反向引物
新scFv作为gBlock
NheI
CD33 scFv
RsrII
EF1启动子
IgG4铰链
新CAR构建体
Gibson组装

图4

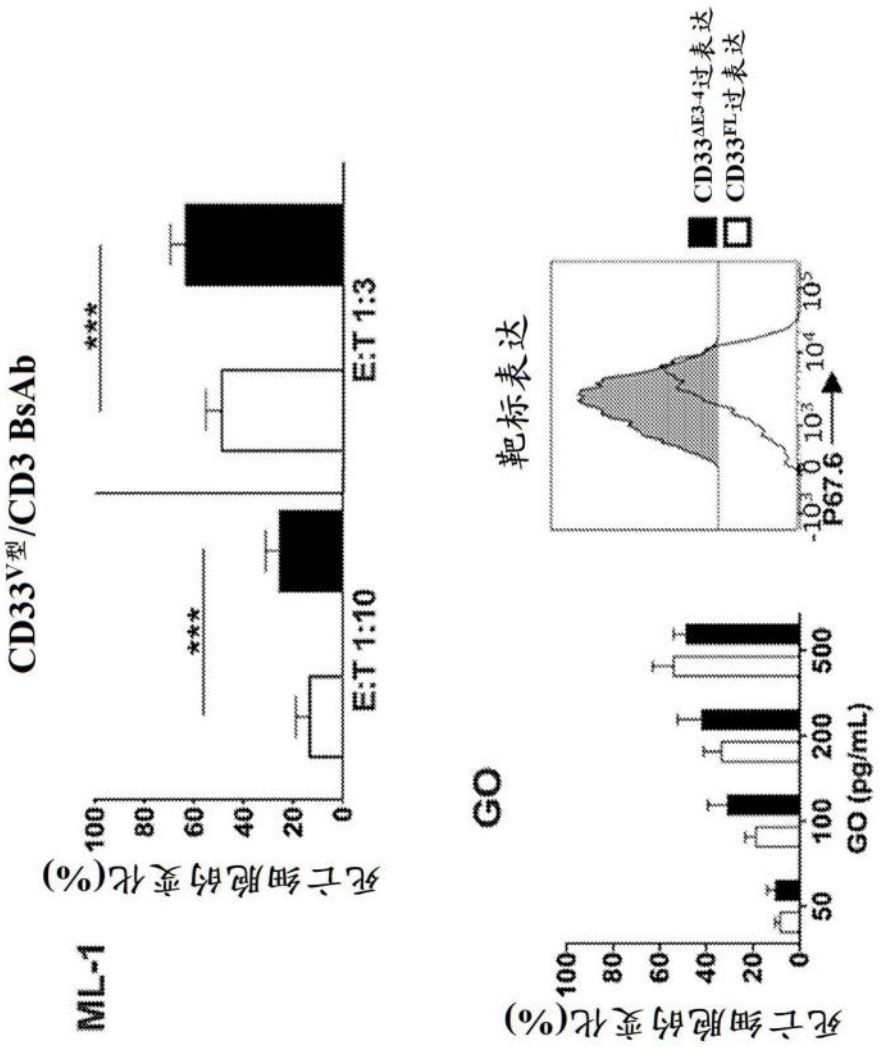

CD33V型/CD3 BsAb
ML-1
死亡细胞的变化(%)
E:T 1:10
E:T 1:3
***
***
GO
靶标表达
CD33ΔE3-4过表达
CD33FL过表达
P67.6
GO (pg/mL)

图5A

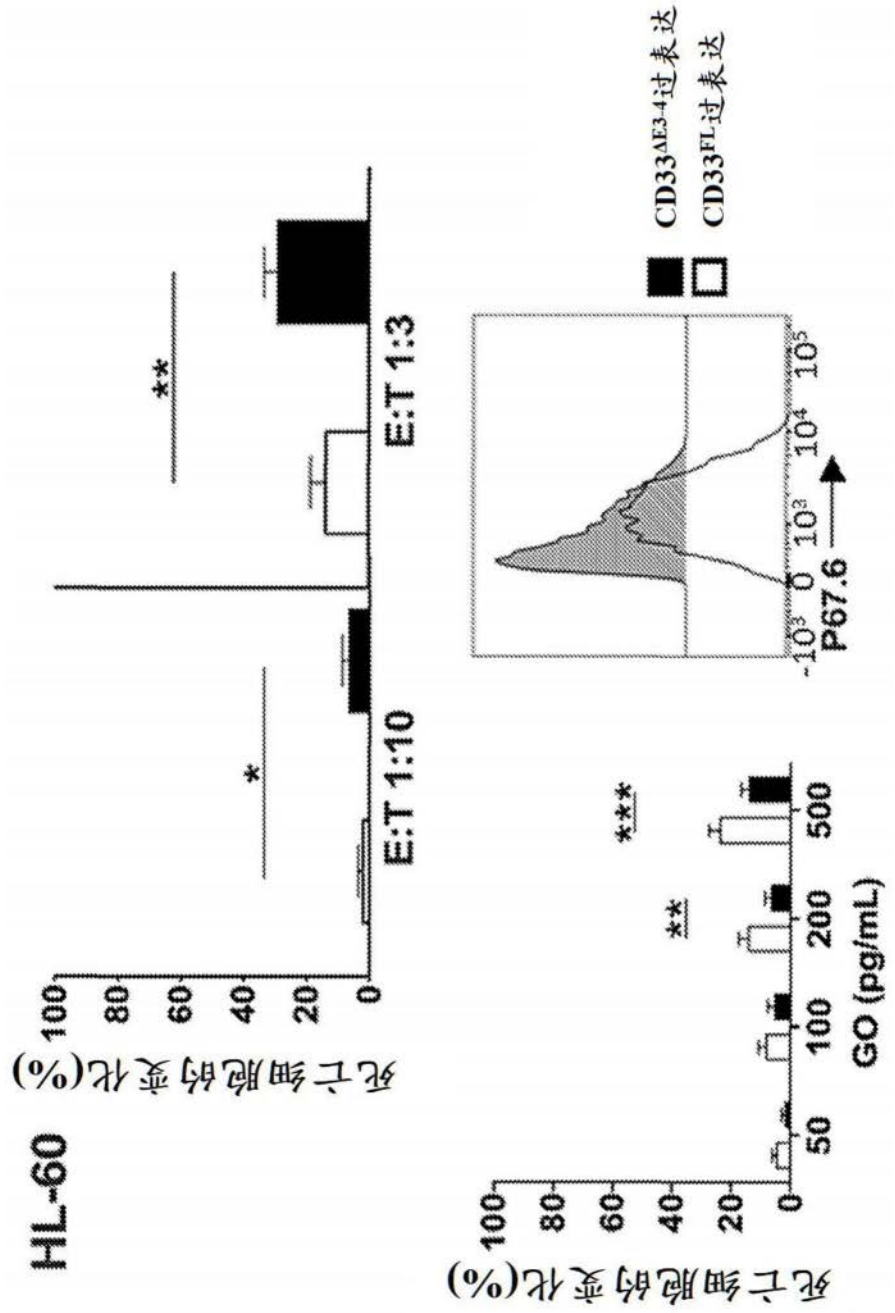

HL-60
死亡细胞的变化(%)
E:T 1:10
E:T 1:3
*
**
CD33ΔE3-4过表达
CD33FL过表达
P67.6
GO (pg/mL)
***

图5B

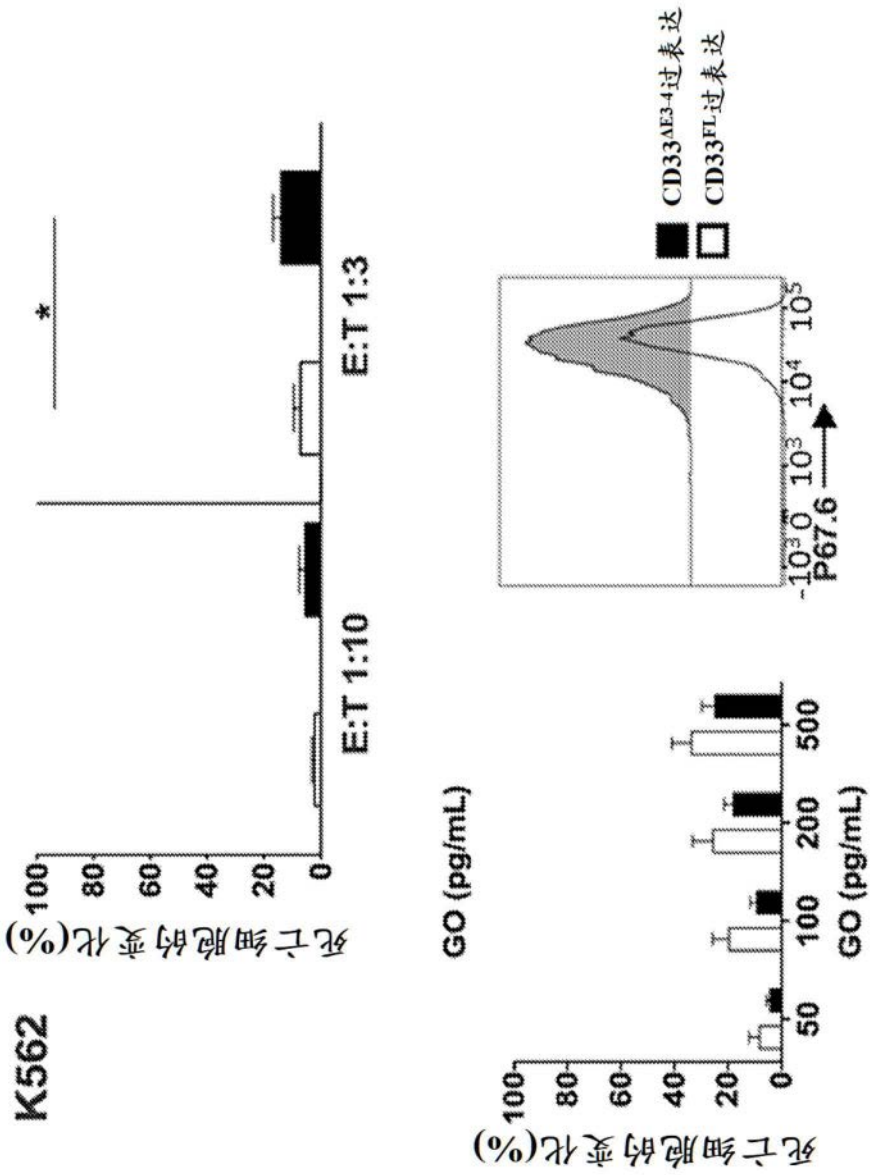

K562
死亡细胞的变化(%)
100
80
60
40
20
0
E:T 1:10
E:T 1:3
*
GO (pg/mL)
50
100
200
500
CD33ΔE3-4过表达
CD33FL过表达
P67.6
10^3
10^4
10^5

图5C

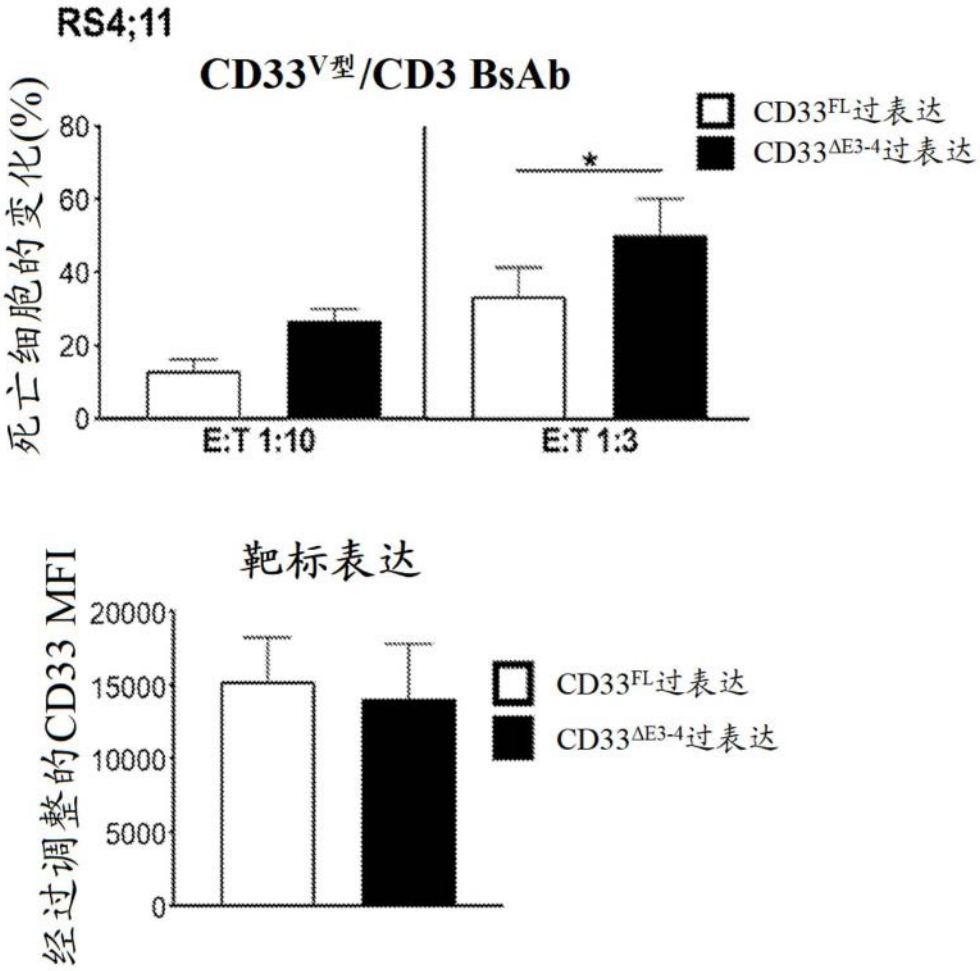

RS4;11
CD33V型/CD3 BsAb
死亡细胞的变化(%)
0
20
40
60
80
E:T 1:10
E:T 1:3
*
CD33FL过表达
CD33ΔE3-4过表达
靶标表达
经过调整的CD33 MFI
0
5000
10000
15000
20000
CD33FL过表达
CD33ΔE3-4过表达

图6

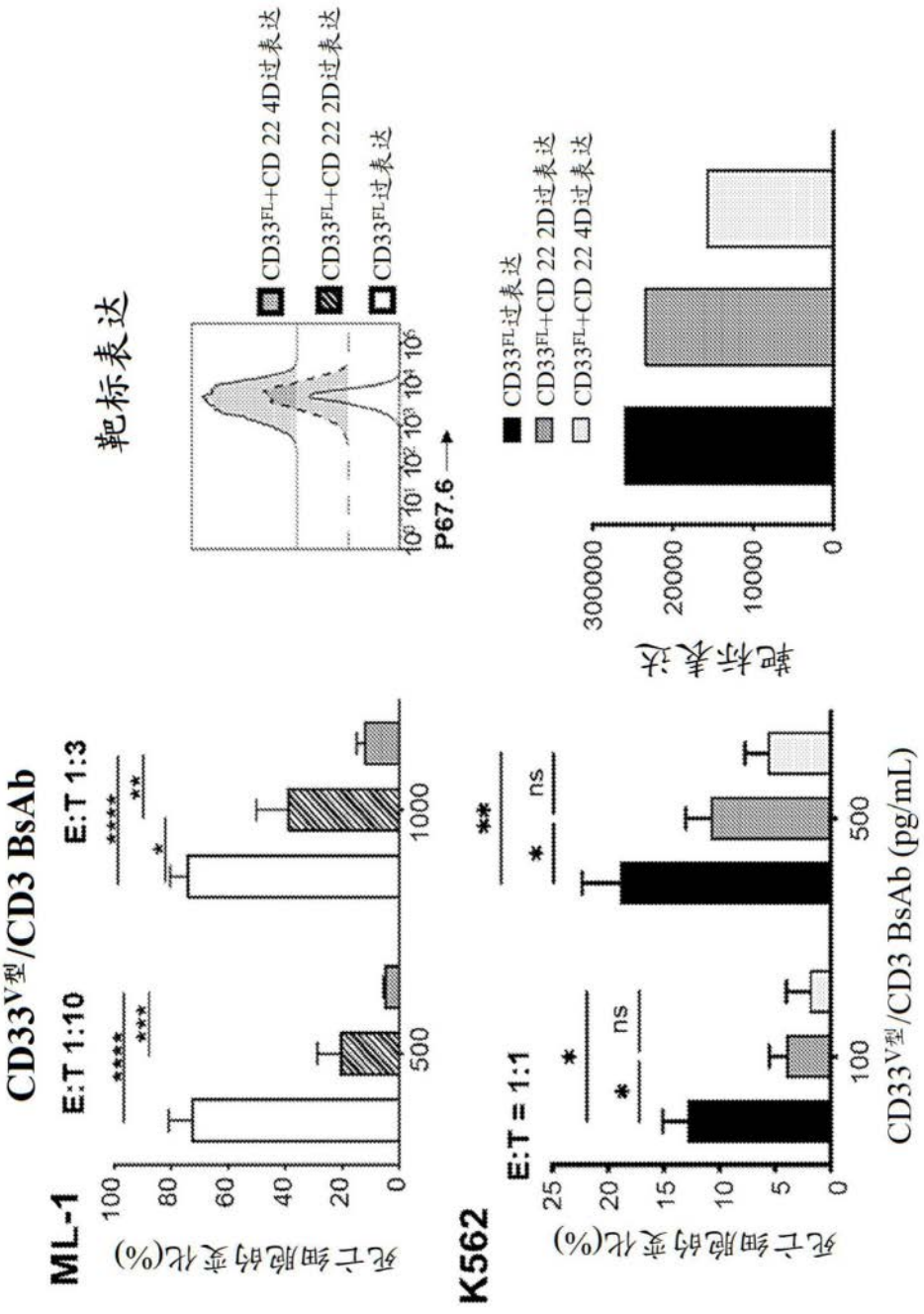

靶标表达
CD33FL+CD 22 4D过表达
CD33FL+CD 22 2D过表达
CD33FL过表达
P67.6
CD33V型/CD3 BsAb
ML-1
E:T 1:10
E:T 1:3
死亡细胞的变化(%)
K562
E:T = 1:1
CD33V型/CD3 BsAb (pg/mL)

图7

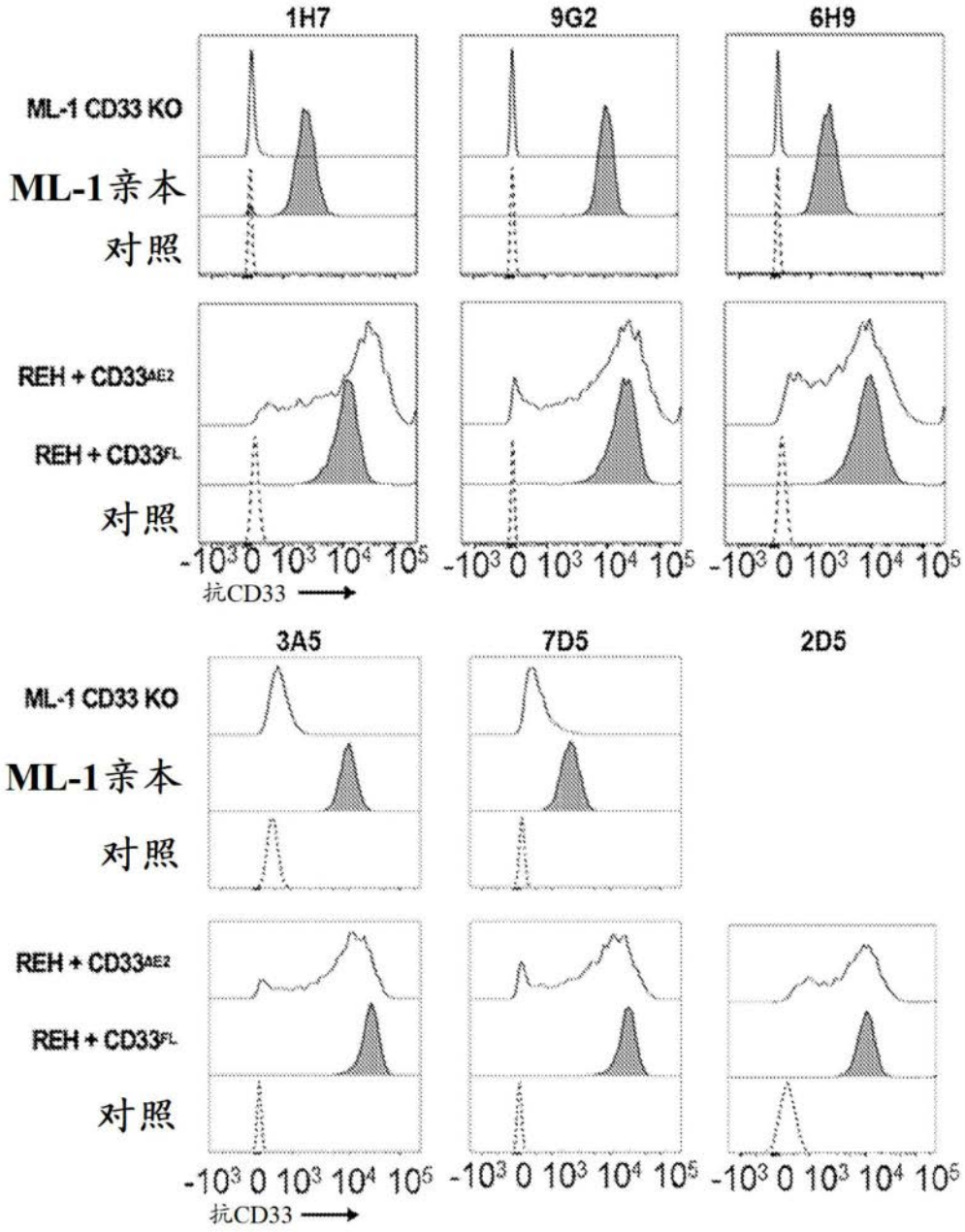

1H7
9G2
6H9
ML-1 CD33 KO
ML-1亲本
对照
REH + CD33ΔE2
REH + CD33FL
对照
-10³ 0 10³ 10⁴ 10⁵
抗CD33
3A5
7D5
2D5
ML-1 CD33 KO
ML-1亲本
对照
REH + CD33ΔE2
REH + CD33FL
对照
-10³ 0 10³ 10⁴ 10⁵
抗CD33

图8A

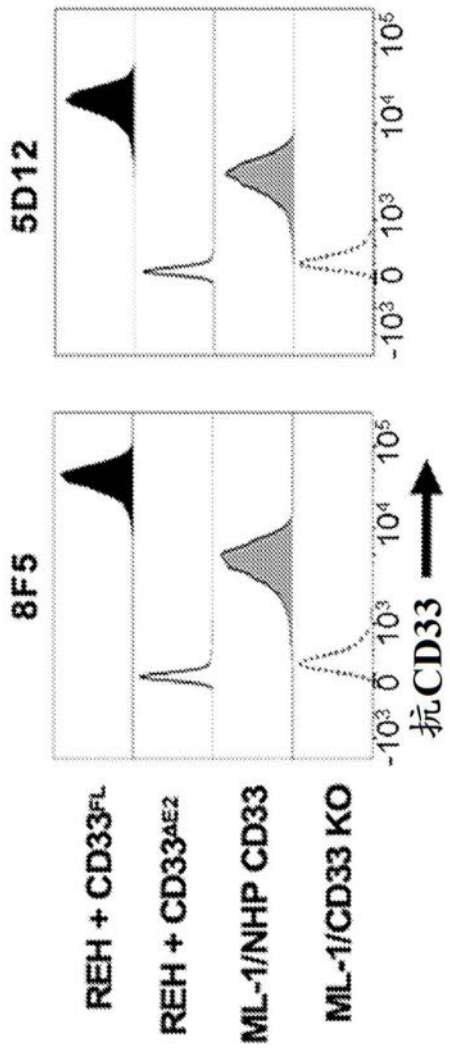

5D12
8F5
-10³ 0 10³ 10⁴ 10⁵
抗CD33
REH + CD33FL
REH + CD33AE2
ML-1/NHP CD33
ML-1/CD33 KO

图8B

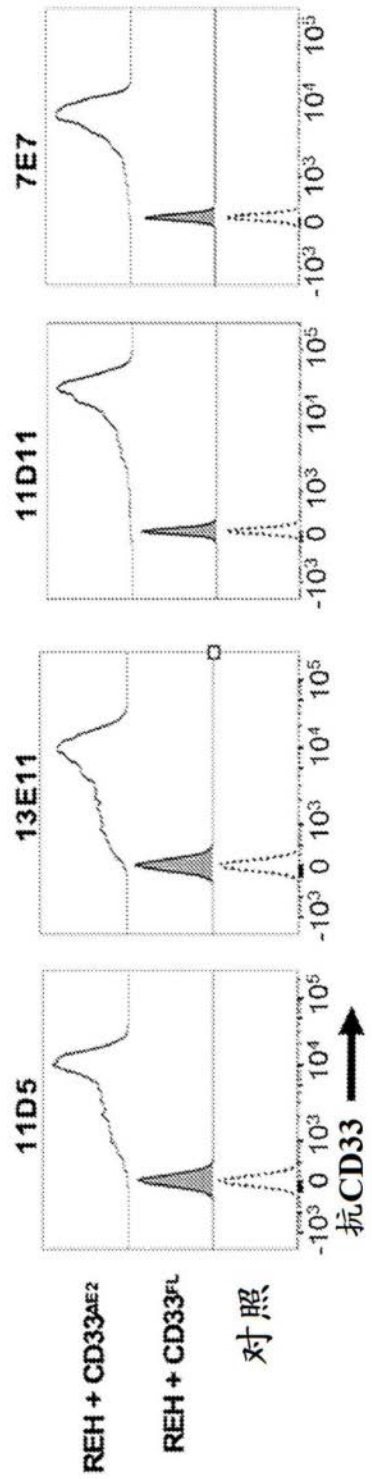


图8C

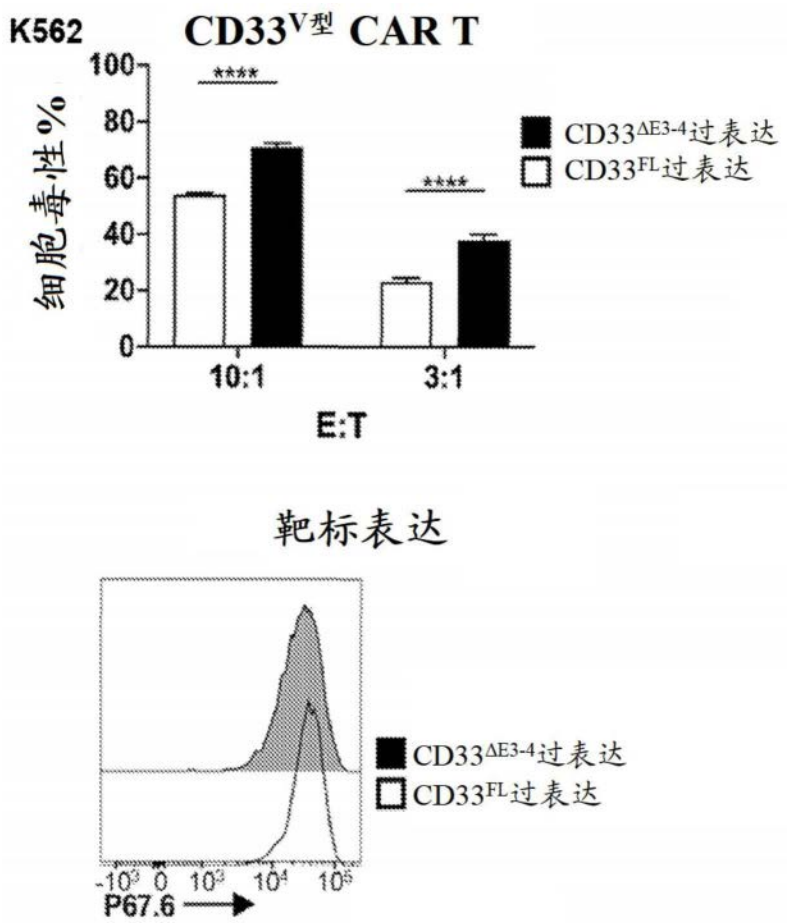

K562
CD33V型 CAR T
细胞毒性%
100
80
60
40
20
0
****
****
CD33ΔE3-4过表达
CD33FL过表达
10:1
3:1
E:T
靶标表达
CD33ΔE3-4过表达
CD33FL过表达
-10³ 0 10³ 10⁴ 10⁵
P67.6

图9

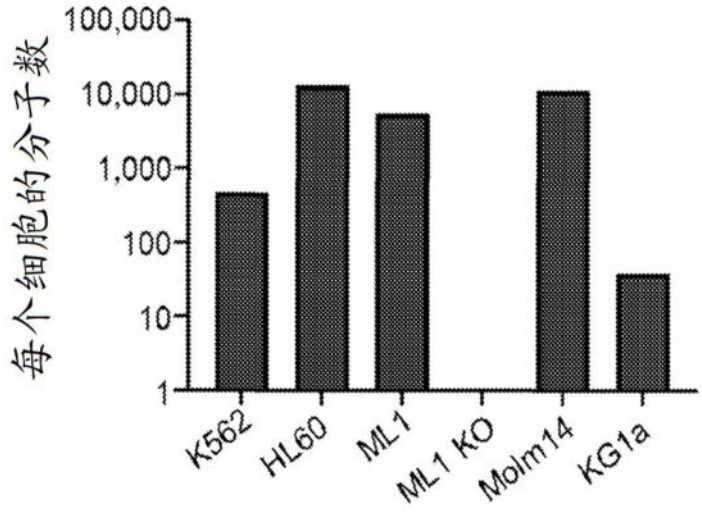

每个细胞的分子数
100,000
10,000
1,000
100
10
1
K562
HL60
ML1
ML1 KO
Molm14
KG1a

图10

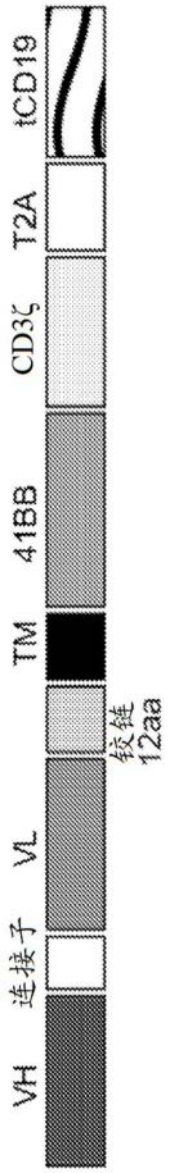


图11A

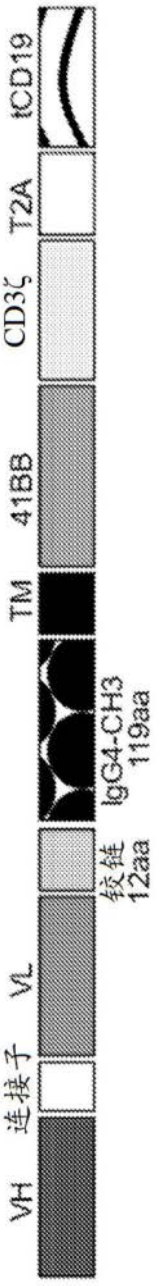


图11B

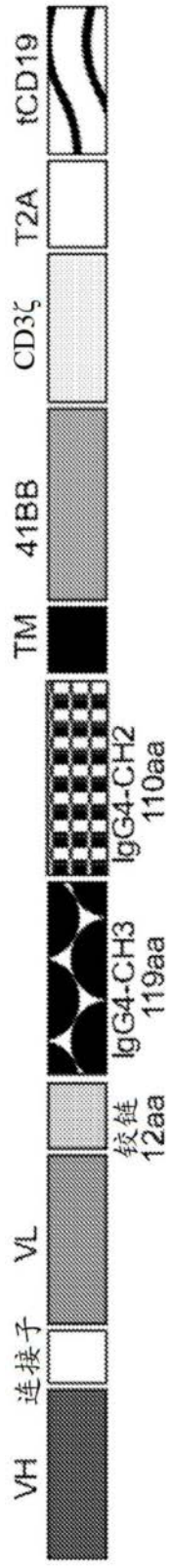

VH
连接子
VL
铰链
12aa
IgG4-CH3
119aa
IgG4-CH2
110aa
TM
41BB
CD3ζ
T2A
tCD19

图11C

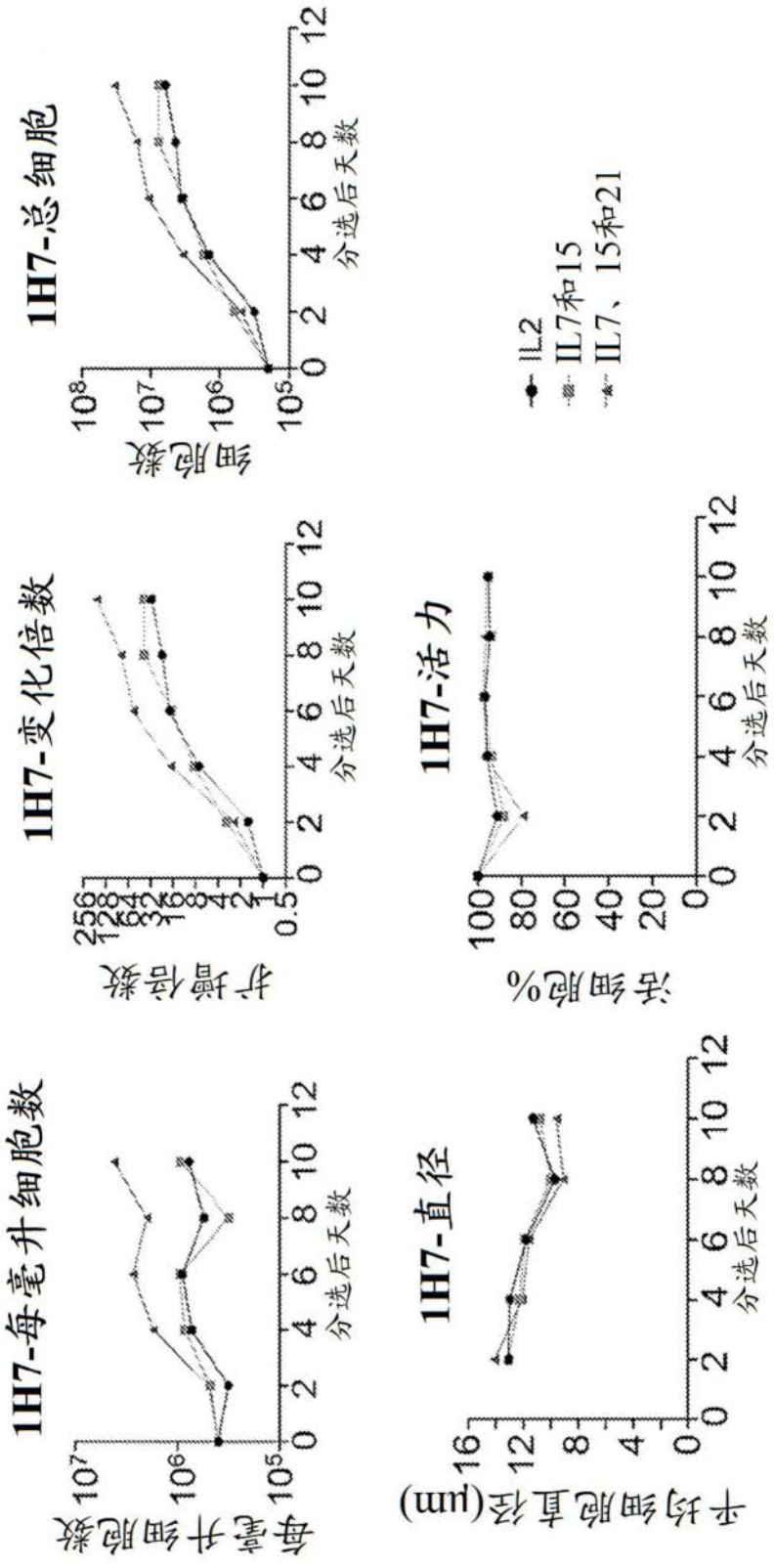

1H7-总细胞
细胞数
分选后天数
IL2
IL7和15
IL7、15和21
1H7-变化倍数
扩增倍数
分选后天数
1H7-活力
活细胞%
分选后天数
1H7-每毫升细胞数
每毫升细胞数
分选后天数
1H7-直径
平均细胞直径(μm)
分选后天数

图12

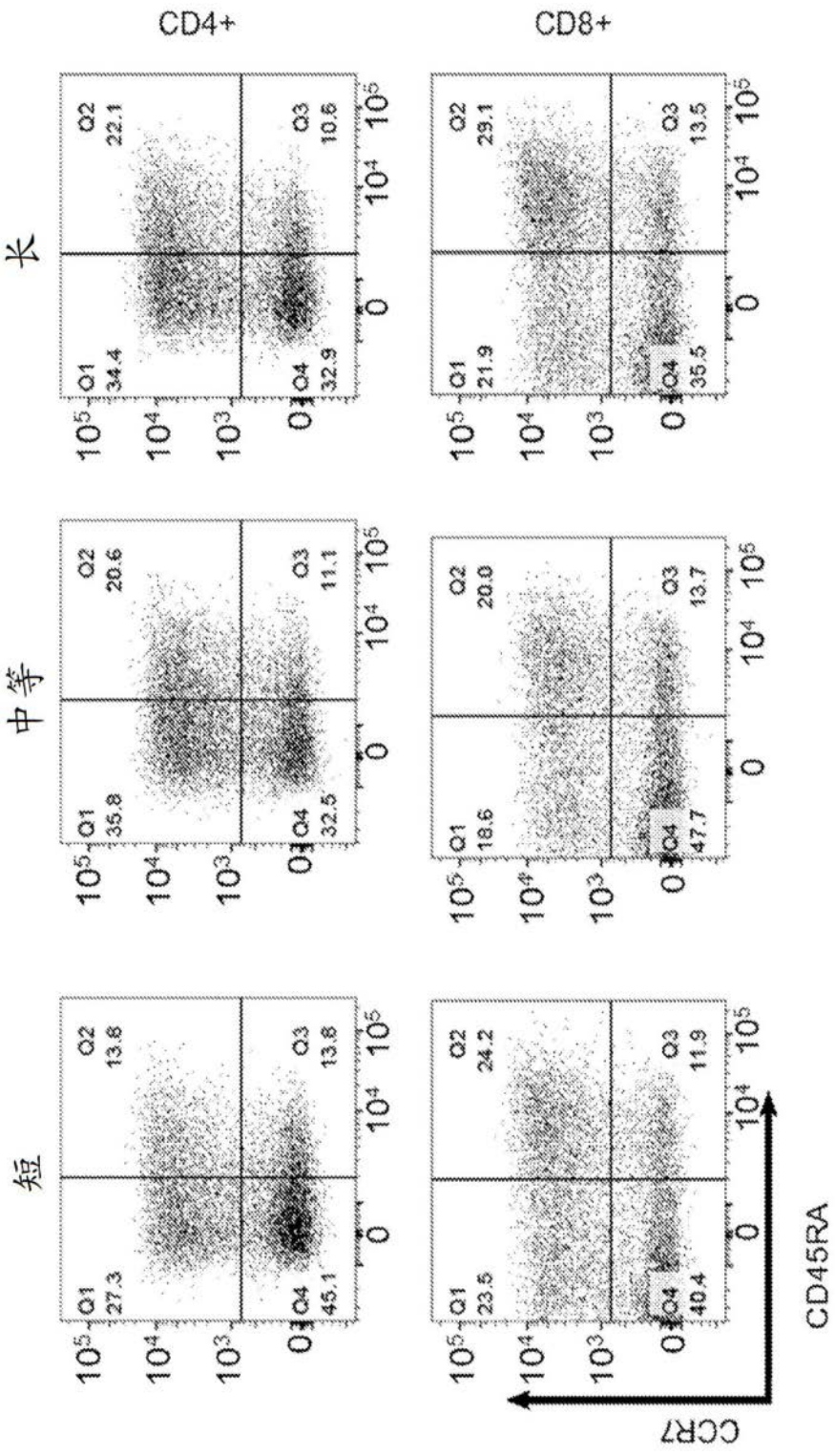

CD4+
CD8+
长
中等
短
Q1 34.4
Q2 22.1
Q3 10.6
Q4 32.9
Q1 21.9
Q2 29.1
Q3 13.5
Q4 35.5
Q1 35.8
Q2 20.6
Q3 11.1
Q4 32.5
Q1 18.6
Q2 20.0
Q3 13.7
Q4 47.7
Q1 27.3
Q2 13.8
Q3 13.8
Q4 45.1
Q1 23.5
Q2 24.2
Q3 11.9
Q4 40.4
CCR7
CD45RA

图13

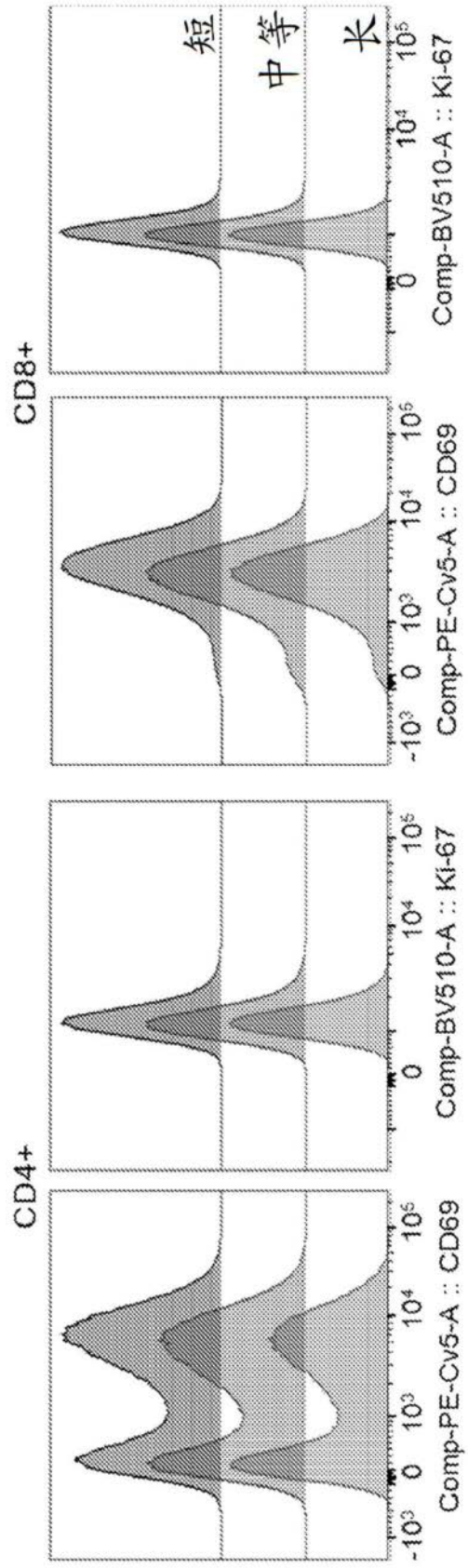

CD4+
CD8+
短
中等
长
Comp-PE-Cy5-A :: CD69
Comp-BV510-A :: Ki-67
-10³ 0 10³ 10⁴ 10⁵

图14A

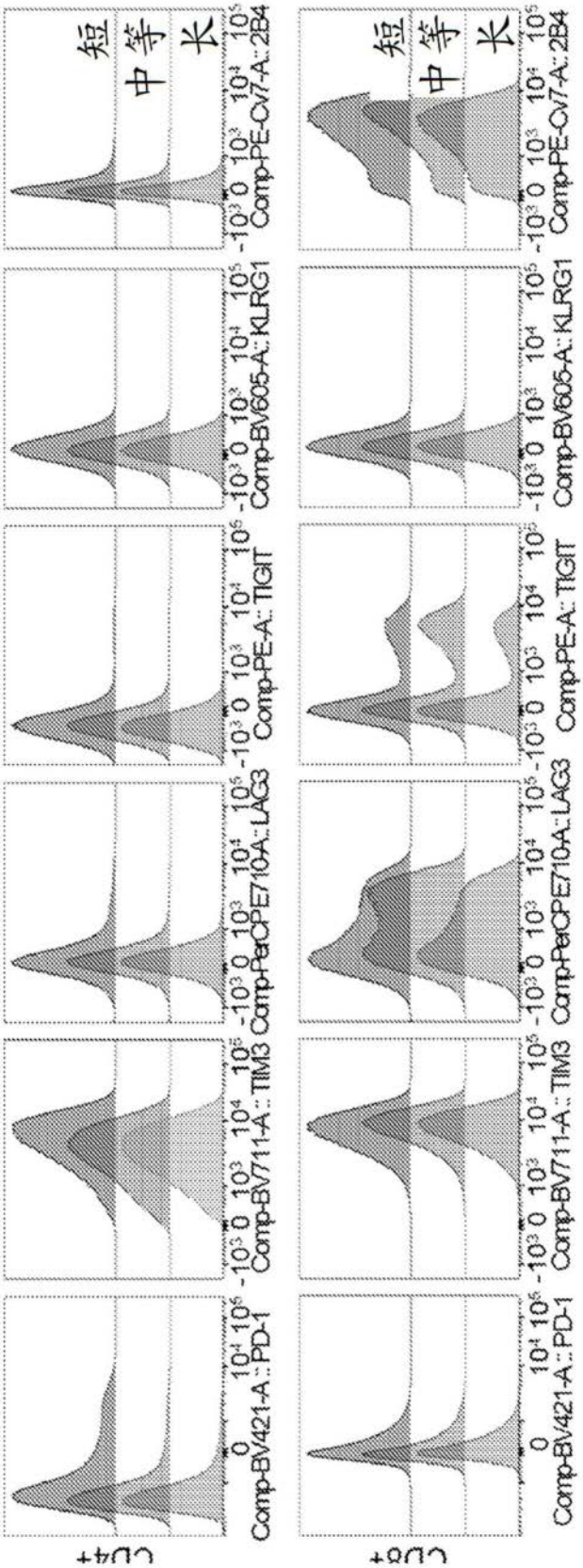

CD4+
CD8+
短
中等
长
Comp-BV421-A :: PD-1
Comp-BV711-A :: TIM3
Comp-PerCPeF710-A :: LAG3
Comp-PE-A :: TIGIT
Comp-BV605-A :: KLRG1
Comp-PE-Cy7-A :: 2B4

图14B

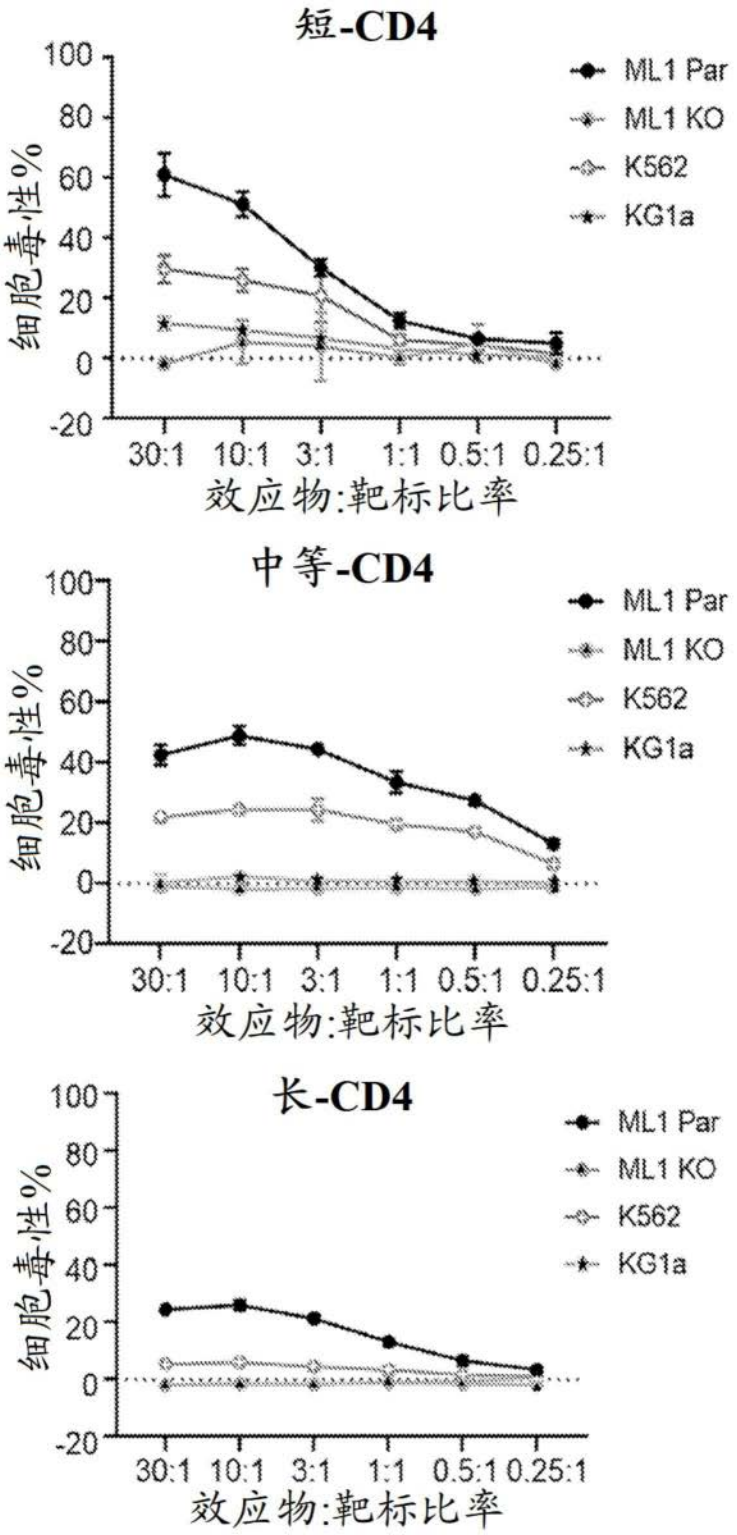
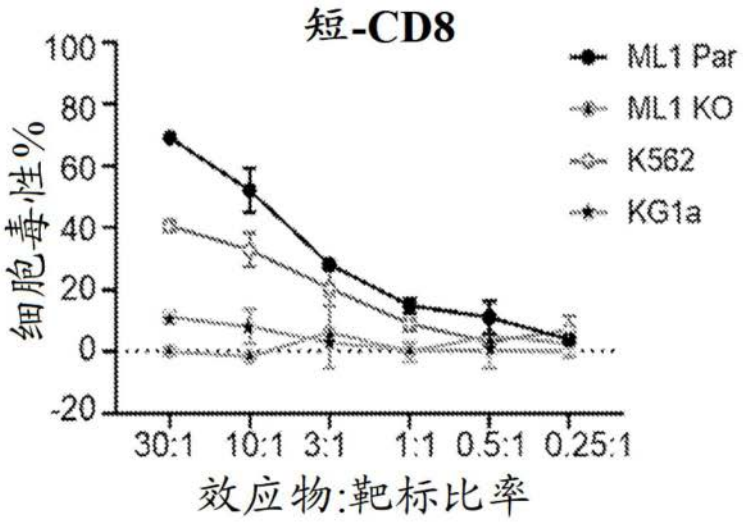
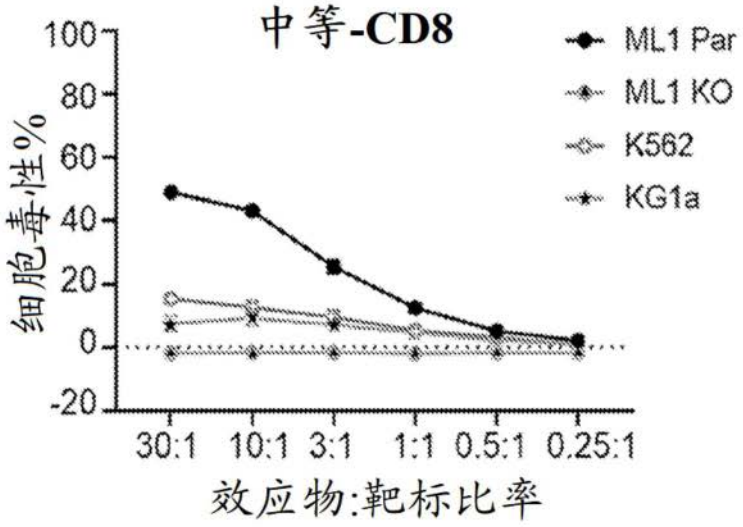

短-CD4
细胞毒性%
100
80
60
40
20
0
-20
30:1 10:1 3:1 1:1 0.5:1 0.25:1
效应物:靶标比率
ML1 Par
ML1 KO
K562
KG1a
中等-CD4
细胞毒性%
效应物:靶标比率
ML1 Par
ML1 KO
K562
KG1a
长-CD4
细胞毒性%
效应物:靶标比率
ML1 Par
ML1 KO
K562
KG1a

图15


短-CD8
细胞毒性%
100
80
60
40
20
0
-20
30:1 10:1 3:1 1:1 0.5:1 0.25:1
效应物:靶标比率
ML1 Par
ML1 KO
K562
KG1a


中等-CD8
细胞毒性%
100
80
60
40
20
0
-20
30:1 10:1 3:1 1:1 0.5:1 0.25:1
效应物:靶标比率
ML1 Par
ML1 KO
K562
KG1a

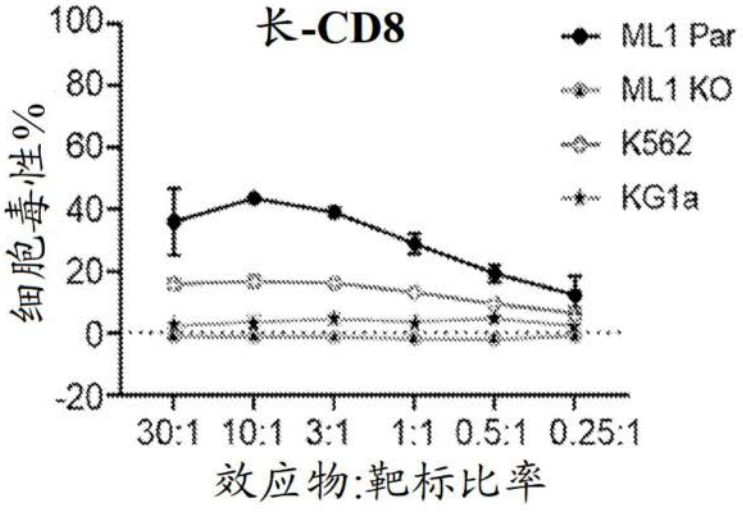

长-CD8
细胞毒性%
100
80
60
40
20
0
-20
30:1 10:1 3:1 1:1 0.5:1 0.25:1
效应物:靶标比率
ML1 Par
ML1 KO
K562
KG1a

图15续

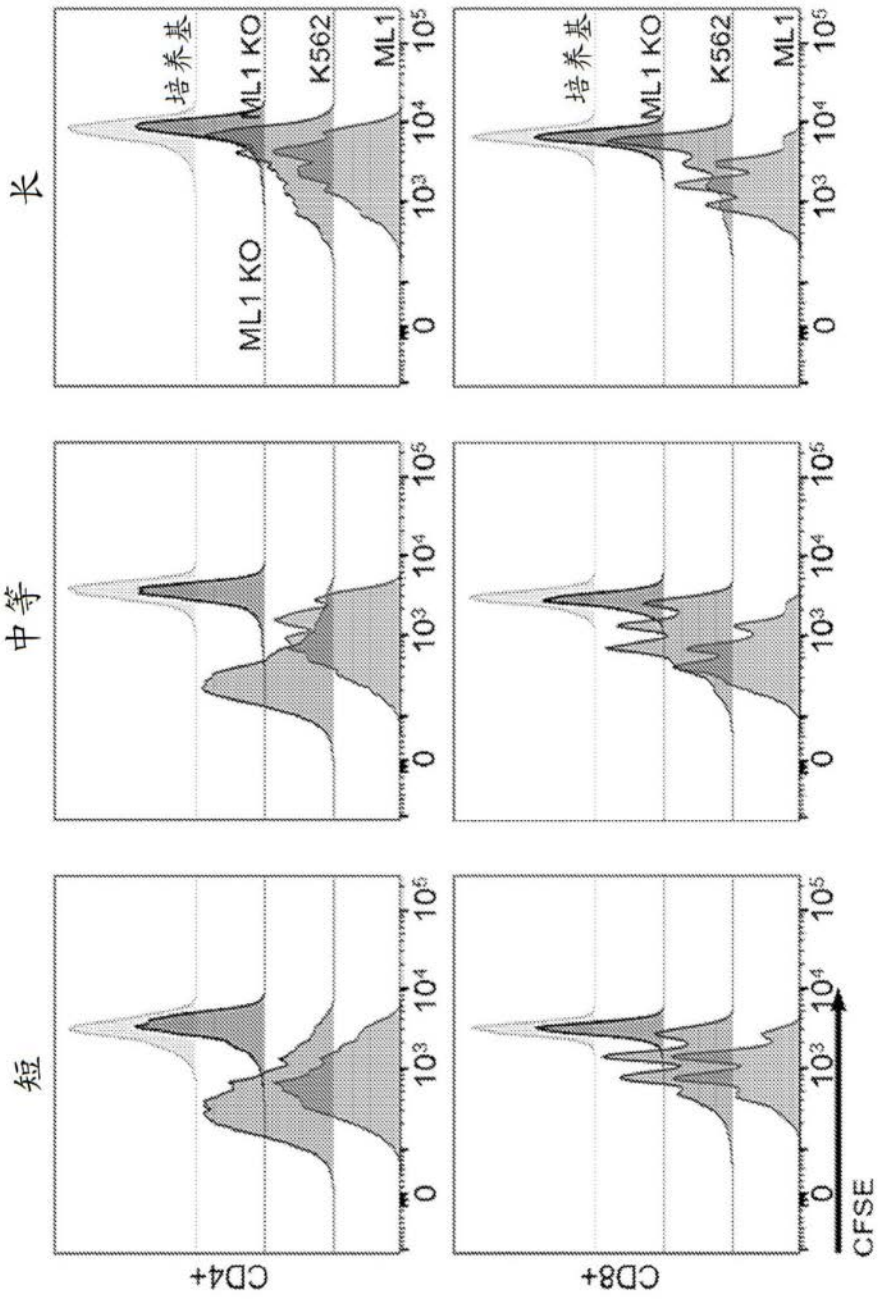


图16

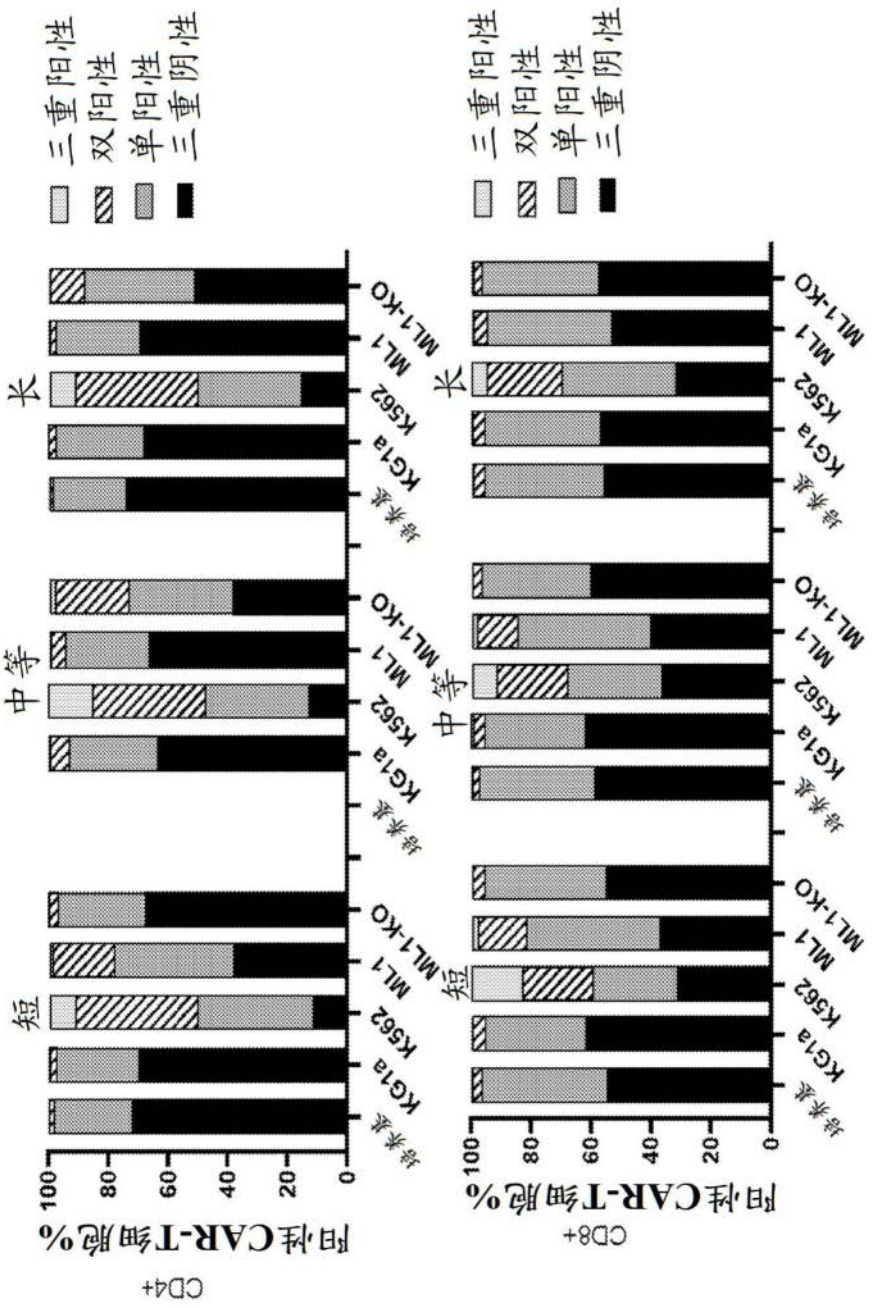

三重阳性
双阳性
单阳性
三重阴性
CD4+
CD8+
阳性CAR-T细胞%
100
80
60
40
20
0
长
中等
短
靶来源
K562
KG1a
ML-1
ML-1-KO

图17

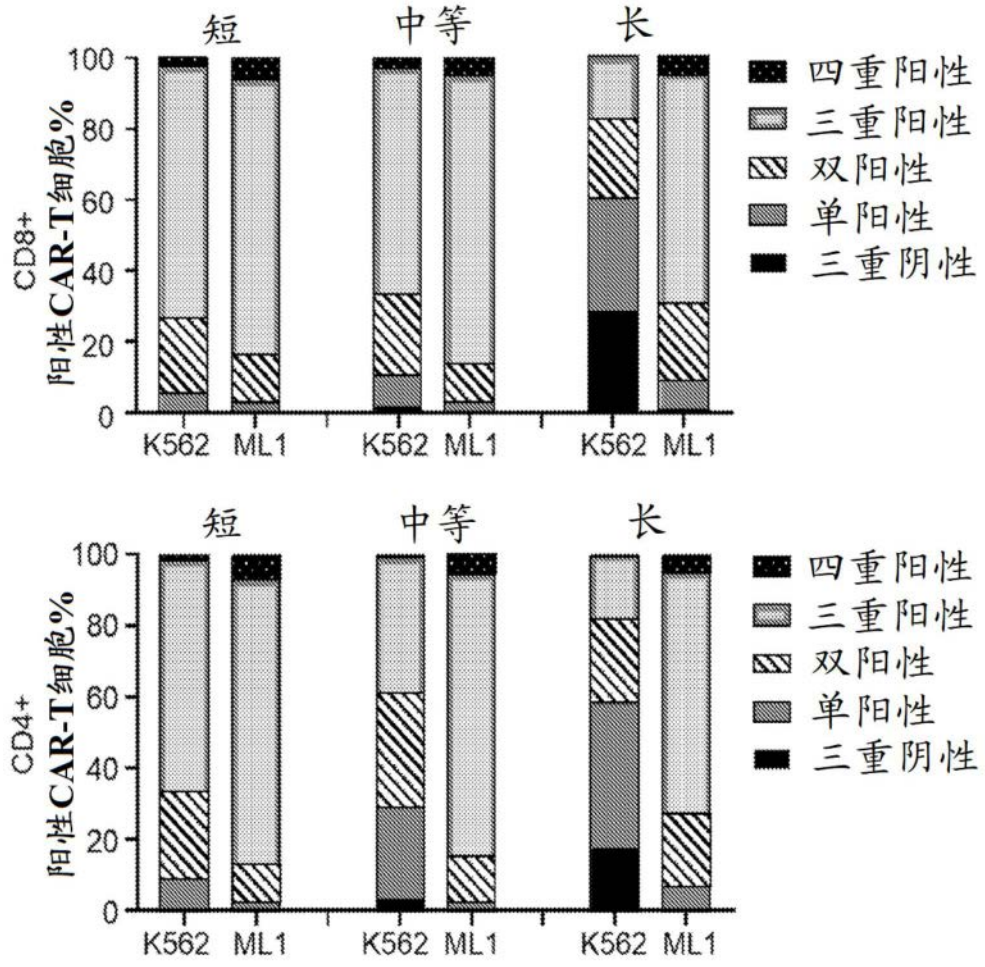

短
中等
长
CD8+
阳性CAR-T细胞%
100
80
60
40
20
0
K562
ML1
四重阳性
三重阳性
双阳性
单阳性
三重阴性
CD4+
阳性CAR-T细胞%

图18

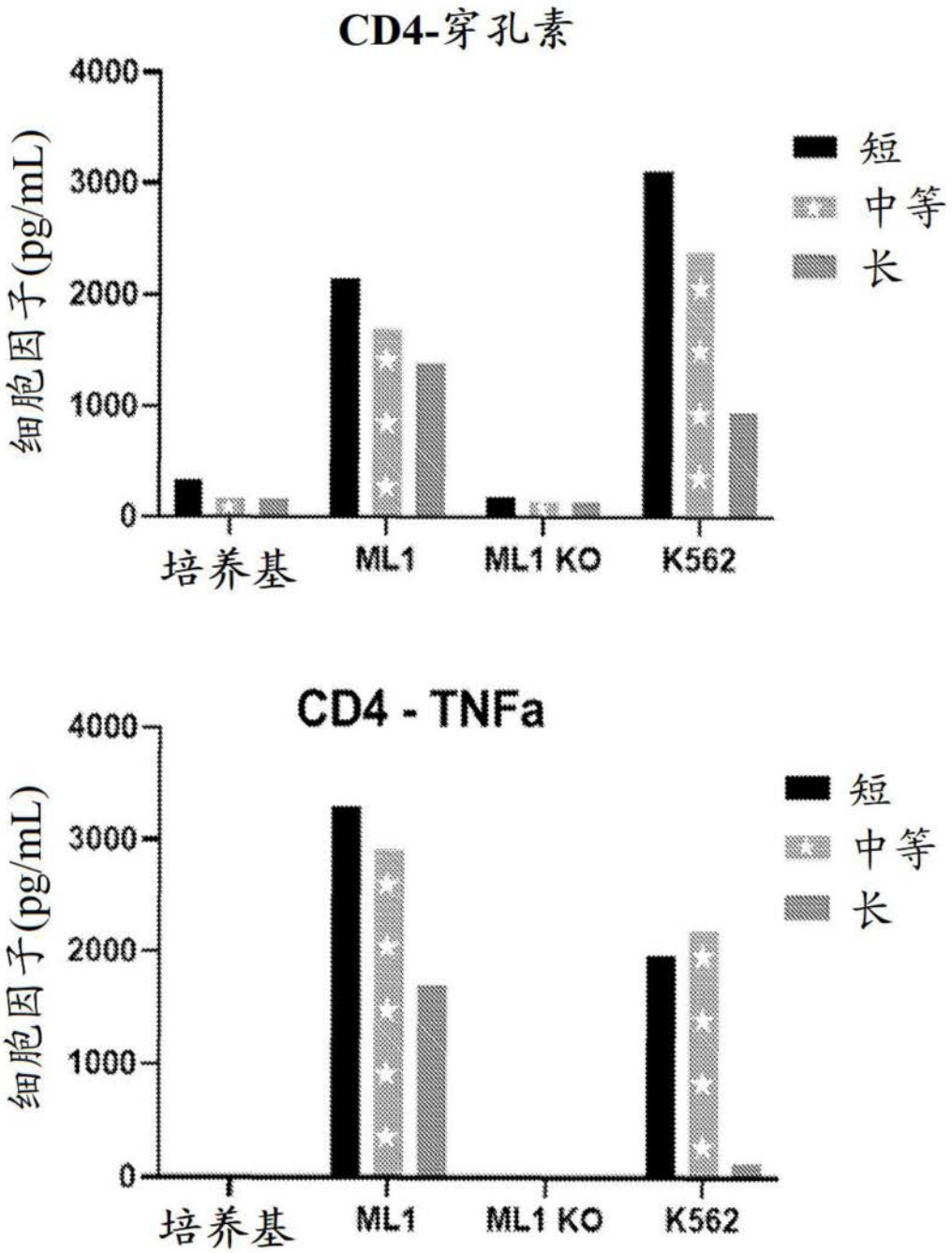

CD4-穿孔素
细胞因子(pg/mL)
4000
3000
2000
1000
0
培养基
ML1
ML1 KO
K562
短
中等
长
CD4 - TNFa
细胞因子(pg/mL)
4000
3000
2000
1000
0
培养基
ML1
ML1 KO
K562
短
中等
长

图19

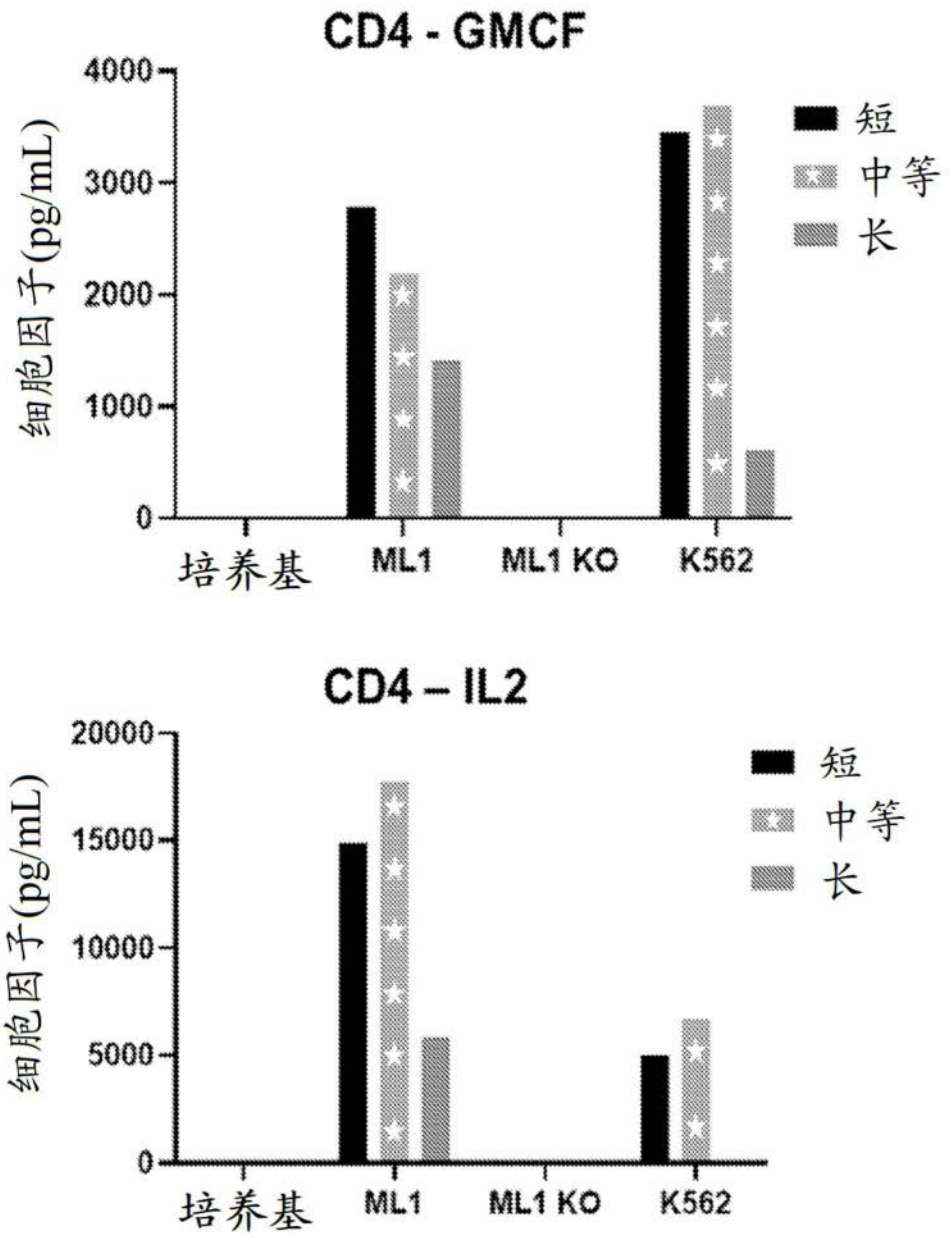

CD4 - GMCF
细胞因子(pg/mL)
4000
3000
2000
1000
0
培养基
ML1
ML1 KO
K562
短
中等
长
CD4 – IL2
细胞因子(pg/mL)
20000
15000
10000
5000
0
培养基
ML1
ML1 KO
K562
短
中等
长

图19续

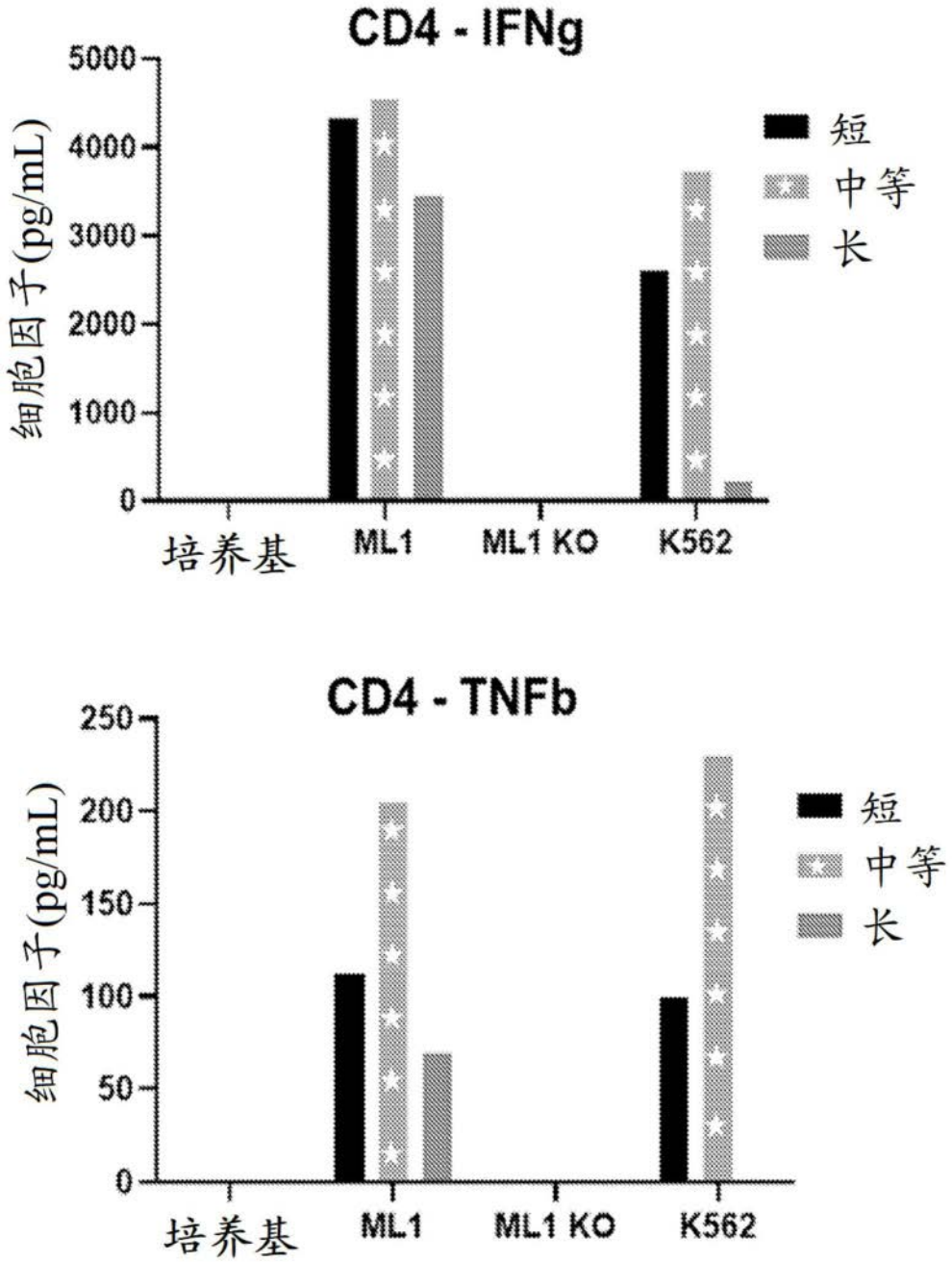

CD4 - IFNg
细胞因子(pg/mL)
5000
4000
3000
2000
1000
0
培养基
ML1
ML1 KO
K562
短
中等
长
CD4 - TNFb
细胞因子(pg/mL)
250
200
150
100
50
0
培养基
ML1
ML1 KO
K562
短
中等
长

图19续

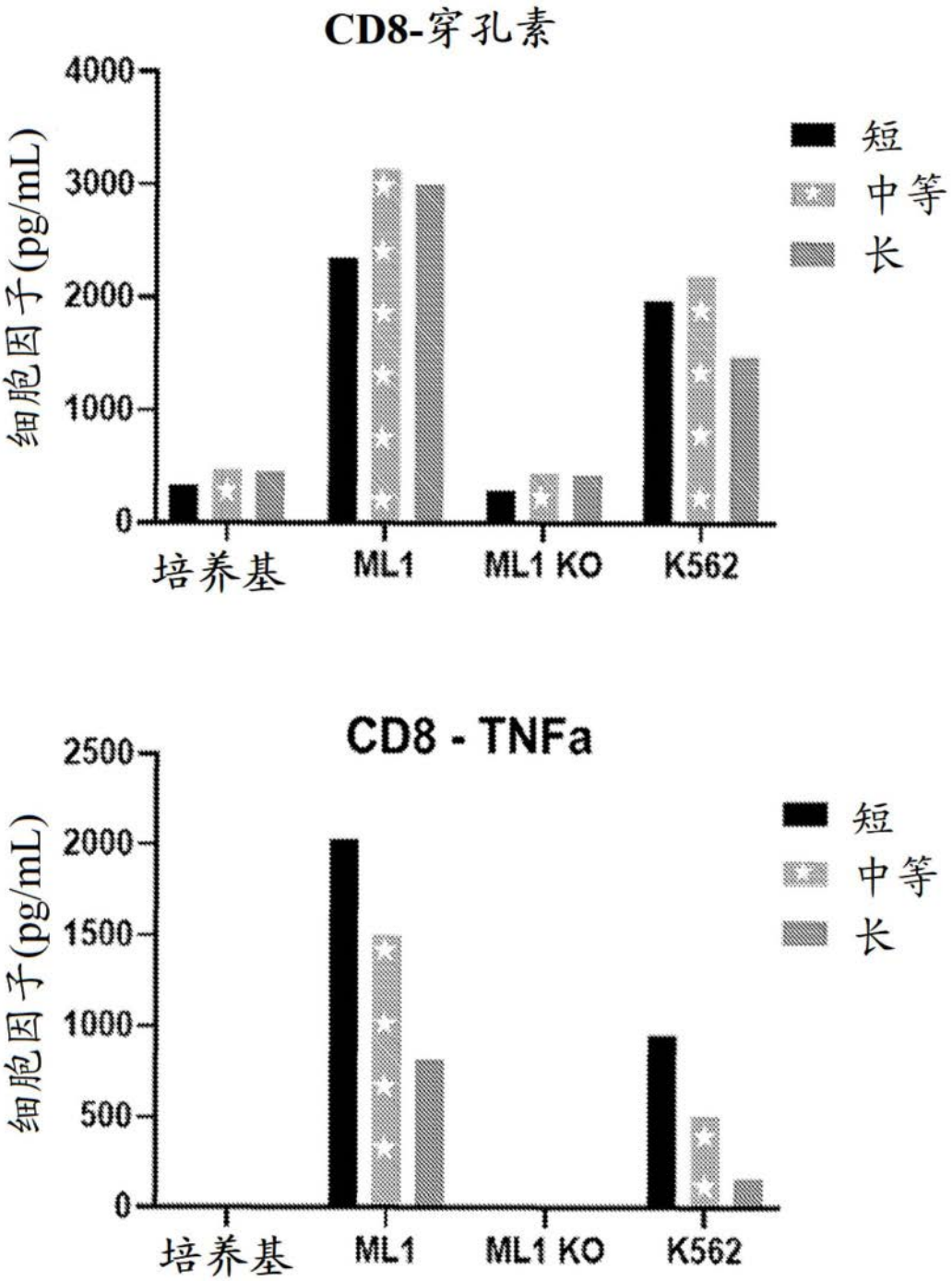

CD8-穿孔素
细胞因子(pg/mL)
4000
3000
2000
1000
0
短
中等
长
培养基
ML1
ML1 KO
K562
CD8 - TNFa
细胞因子(pg/mL)
2500
2000
1500
1000
500
0
短
中等
长
培养基
ML1
ML1 KO
K562

图20

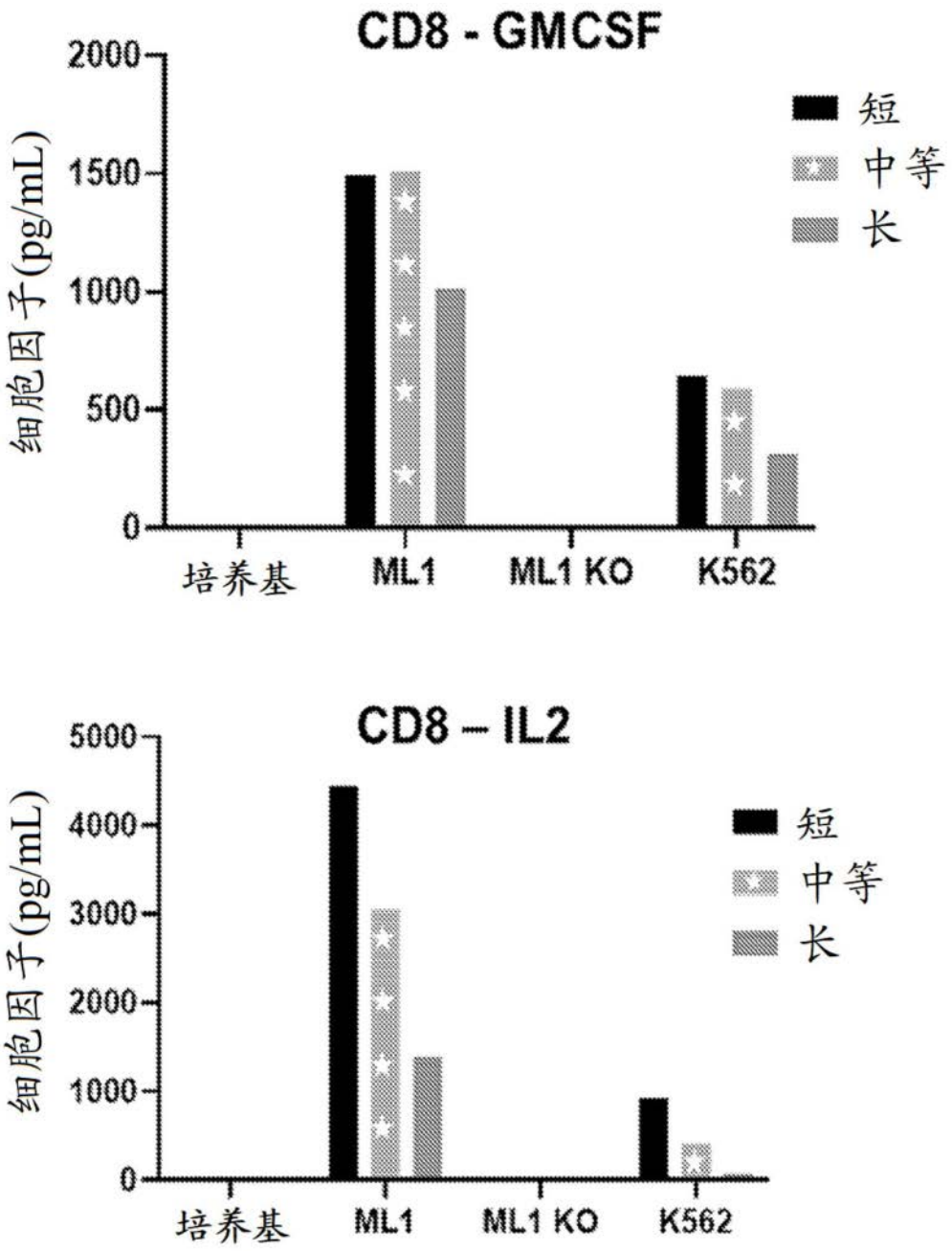
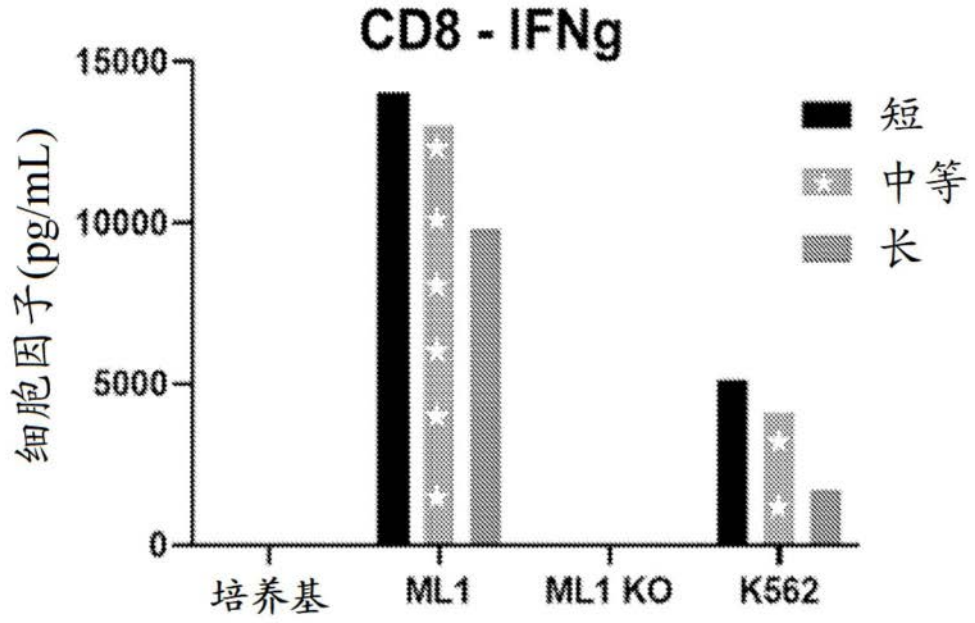

CD8 - GMCSF
细胞因子(pg/mL)
2000
1500
1000
500
0
短
中等
长
培养基
ML1
ML1 KO
K562
CD8 – IL2
细胞因子(pg/mL)
5000
4000
3000
2000
1000
0
短
中等
长
培养基
ML1
ML1 KO
K562

图20续


CD8 - IFNg
细胞因子(pg/mL)
15000
10000
5000
0
短
中等
长
培养基
ML1
ML1 KO
K562

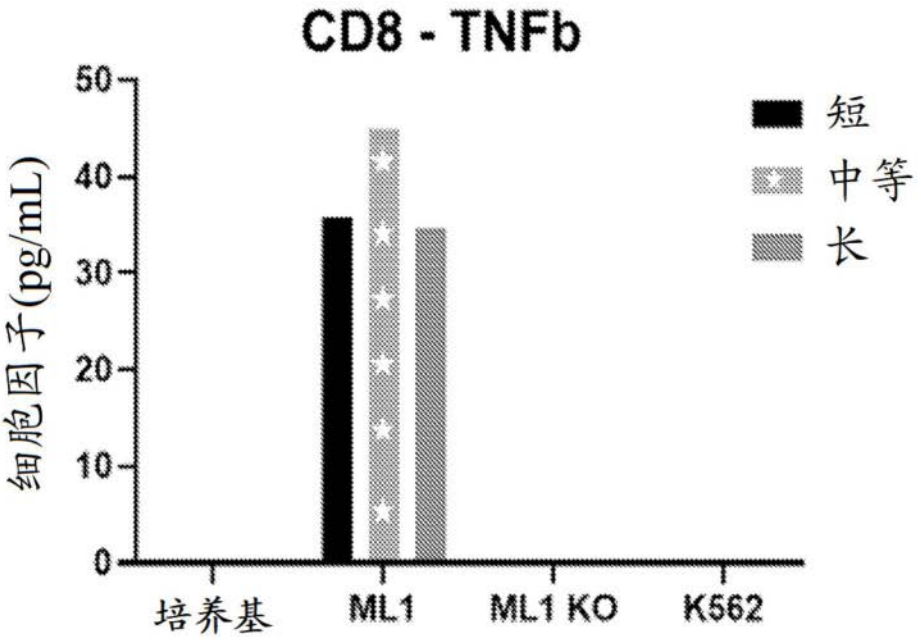

CD8 - TNFb
细胞因子(pg/mL)
50
40
30
20
10
0
短
中等
长
培养基
ML1
ML1 KO
K562

图20续

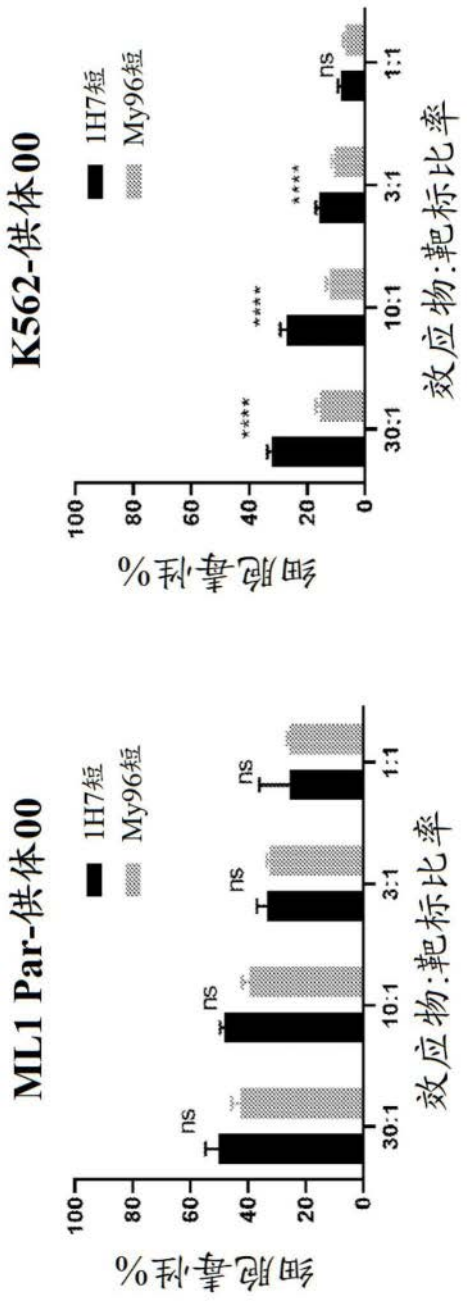

K562-供体00
1H7短
My96短
细胞毒性%
效应物:靶标比率
30:1
10:1
3:1
1:1
0
20
40
60
80
100
****
****
****
ns
ML1 Par-供体00
1H7短
My96短
细胞毒性%
效应物:靶标比率
30:1
10:1
3:1
1:1
0
20
40
60
80
100
ns
ns
ns
ns

图21A

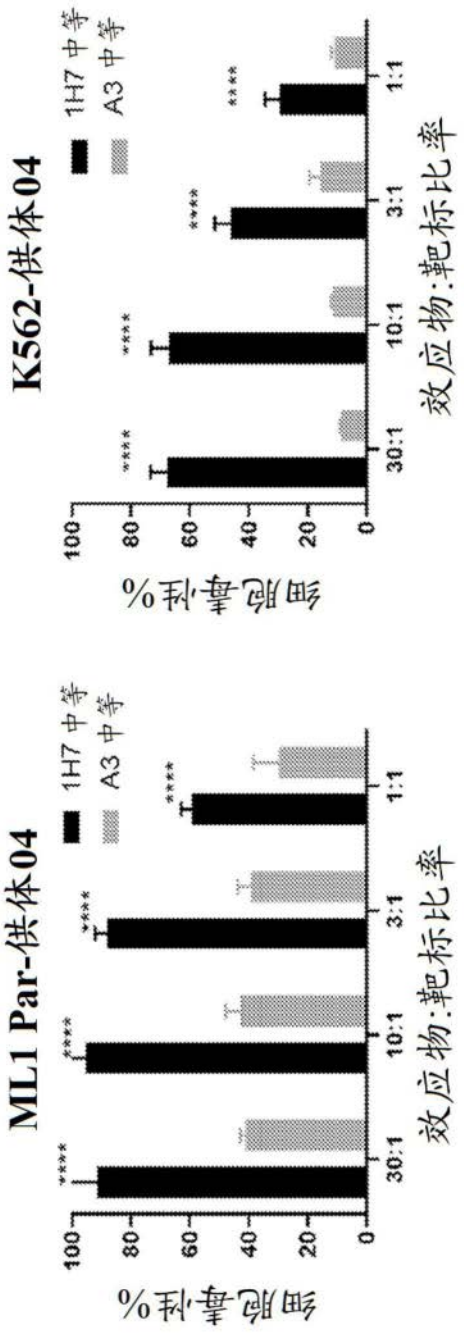

K562-供体04
1H7 中等
A3 中等
细胞毒性%
效应物:靶标比率
30:1
10:1
3:1
1:1
ML1 Par-供体04
1H7 中等
A3 中等
细胞毒性%
效应物:靶标比率
30:1
10:1
3:1
1:1

图21B

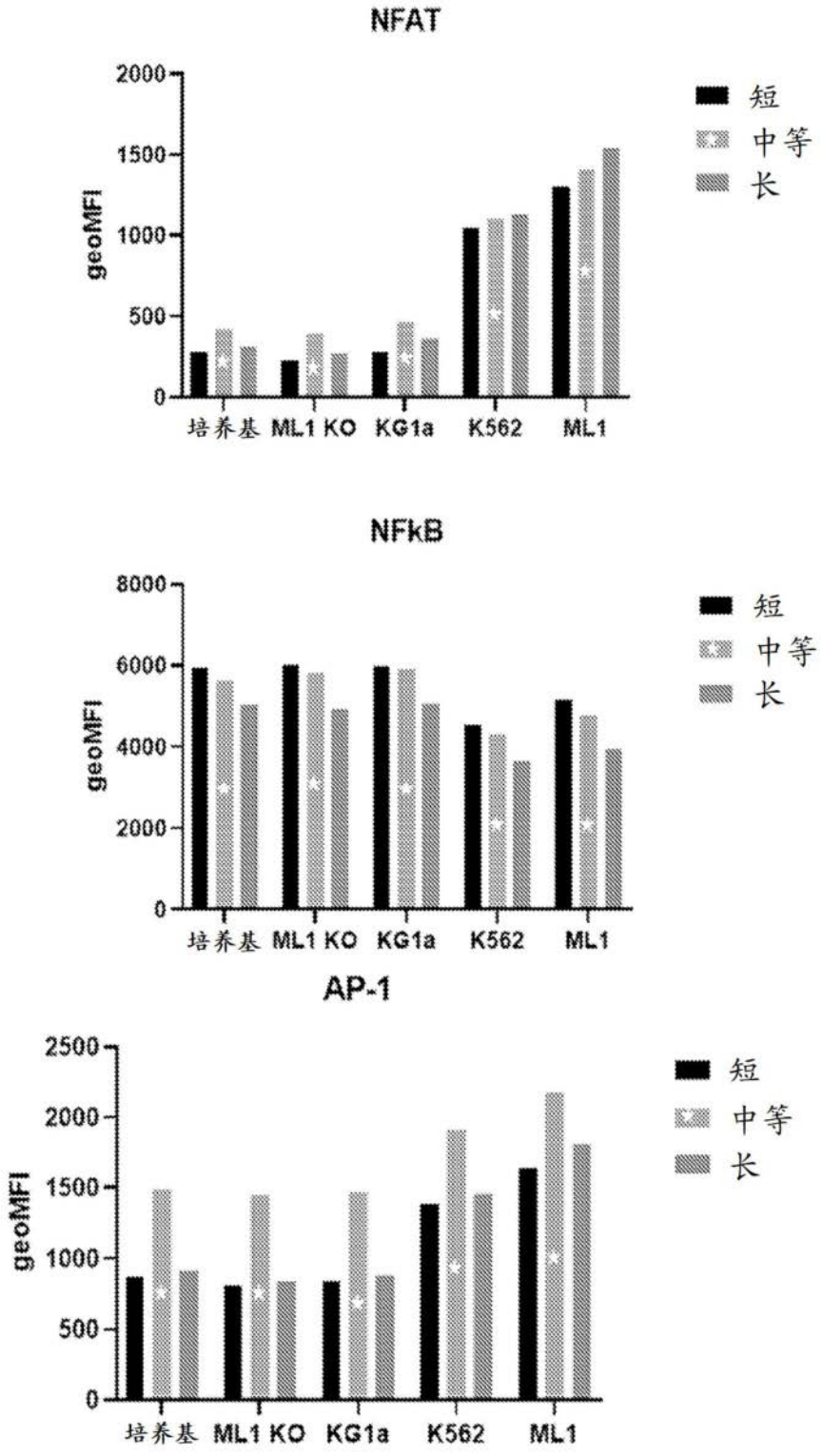

NFAT
geoMFI
2000
1500
1000
500
0
培养基
ML1 KO
KG1a
K562
ML1
短
中等
长
NFkB
geoMFI
8000
6000
4000
2000
0
培养基
ML1 KO
KG1a
K562
ML1
短
中等
长
AP-1
geoMFI
2500
2000
1500
1000
500
0
培养基
ML1 KO
KG1a
K562
ML1
短
中等
长

图22

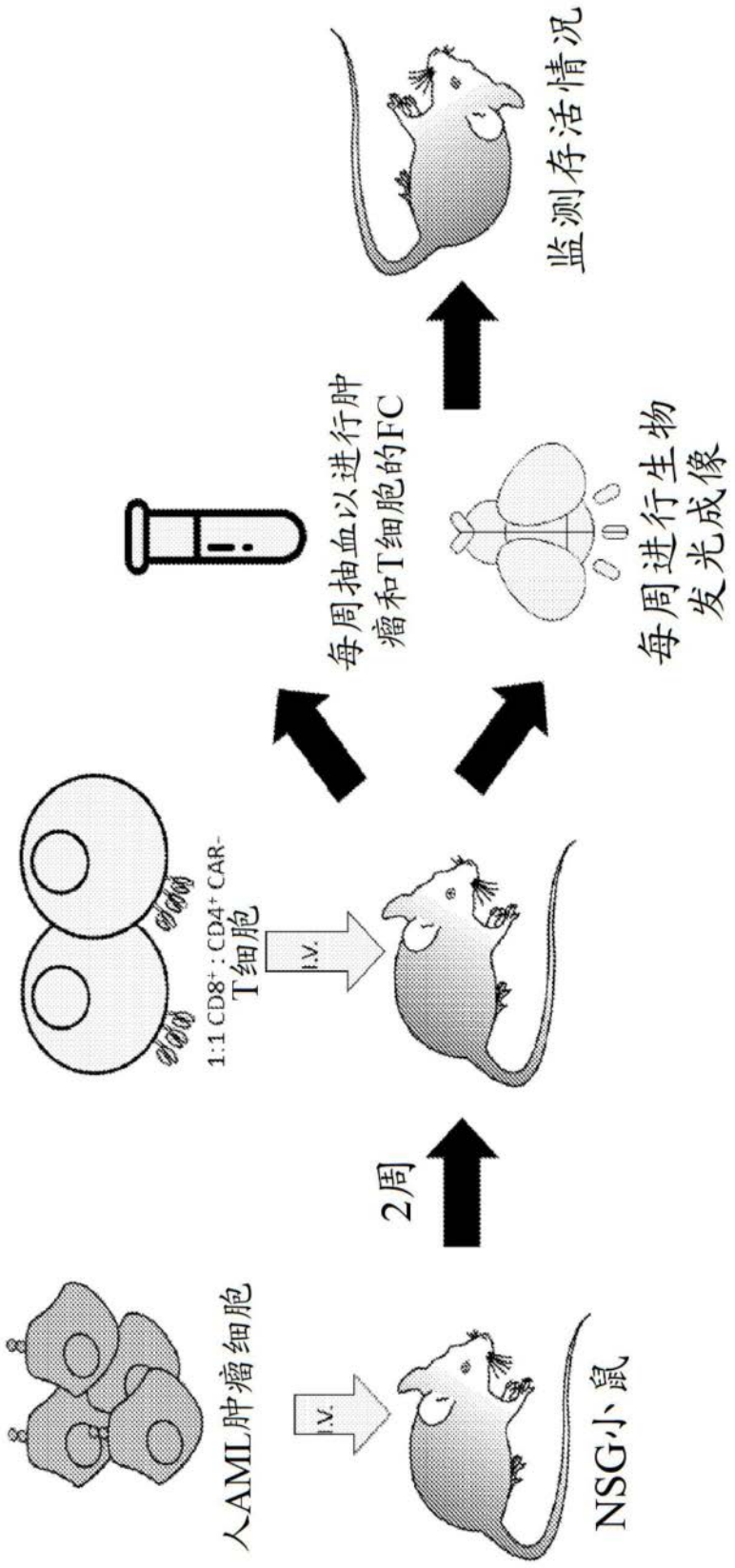

人AML肿瘤细胞
I.V.
NSG小鼠
2周
1:1 CD8+ : CD4+ CAR-T细胞
I.V.
每周抽血以进行肿瘤和T细胞的FC
每周进行生物发光成像
监测存活情况

图23

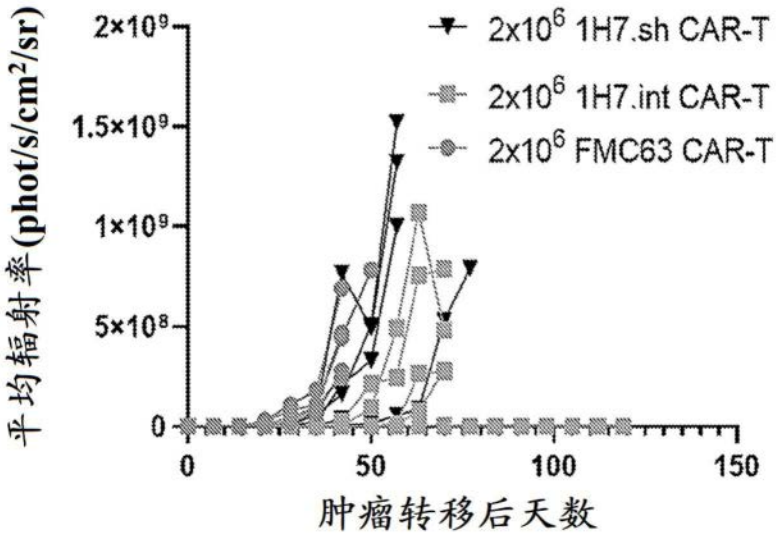

2x10^6 1H7.sh CAR-T
2x10^6 1H7.int CAR-T
2x10^6 FMC63 CAR-T
平均辐射率(phot/s/cm²/sr)
2×10⁹
1.5×10⁹
1×10⁹
5×10⁸
0
0
50
100
150
肿瘤转移后天数

图24A

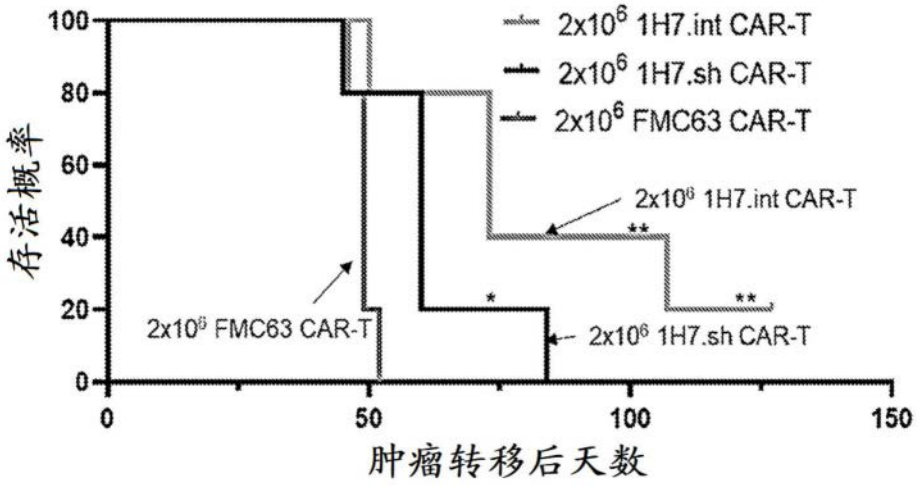

2x10^6 1H7.int CAR-T
2x10^6 1H7.sh CAR-T
2x10^6 FMC63 CAR-T
存活概率
100
80
60
40
20
0
2x10^6 1H7.int CAR-T
**
*
**
2x10^6 FMC63 CAR-T
2x10^6 1H7.sh CAR-T
0
50
100
150
肿瘤转移后天数

图24B

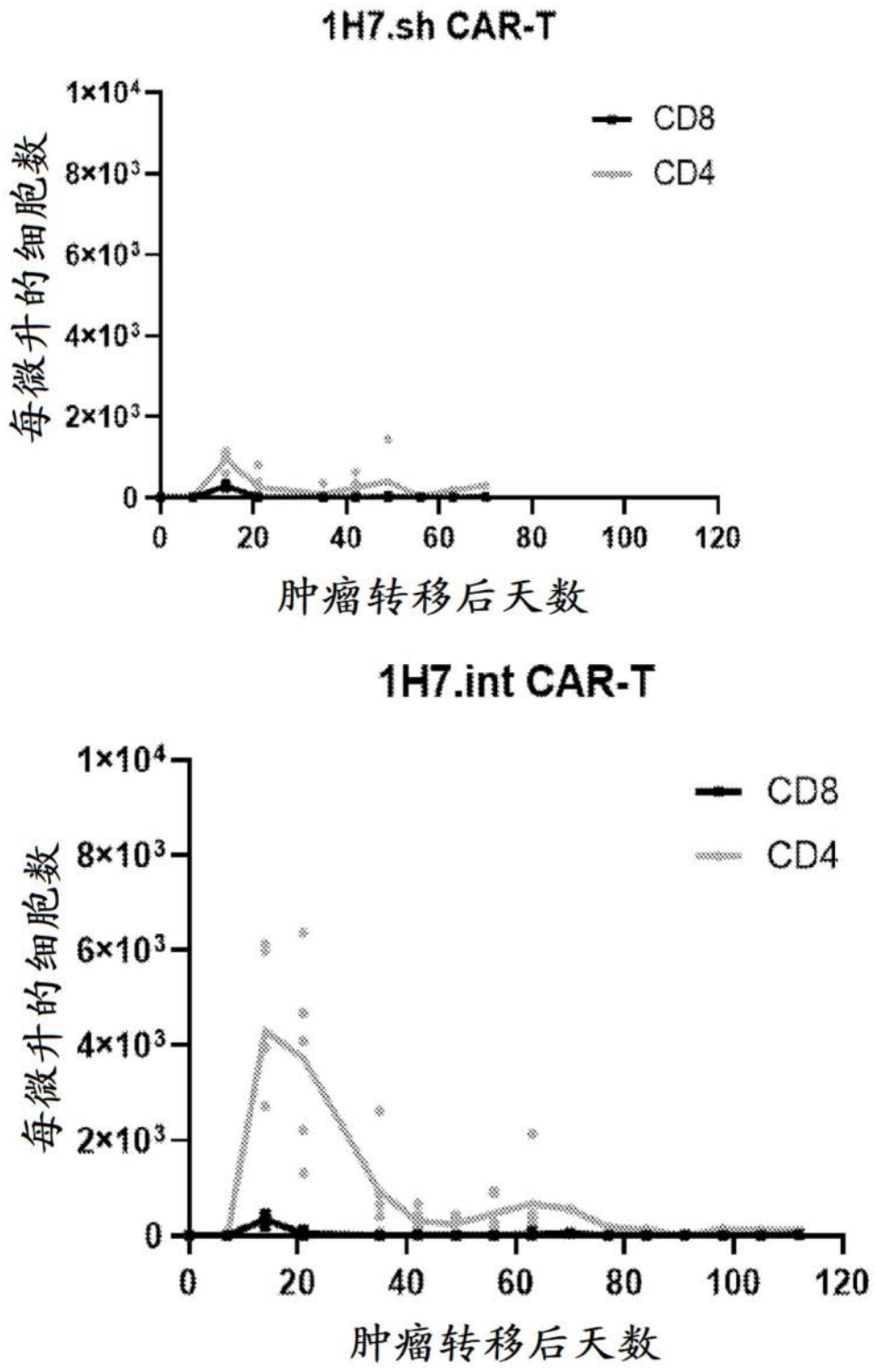

1H7.sh CAR-T
CD8
CD4
每微升的细胞数
1×10⁴
8×10³
6×10³
4×10³
2×10³
0
0
20
40
60
80
100
120
肿瘤转移后天数
1H7.int CAR-T
CD8
CD4
每微升的细胞数
1×10⁴
8×10³
6×10³
4×10³
2×10³
0
0
20
40
60
80
100
120
肿瘤转移后天数

图25

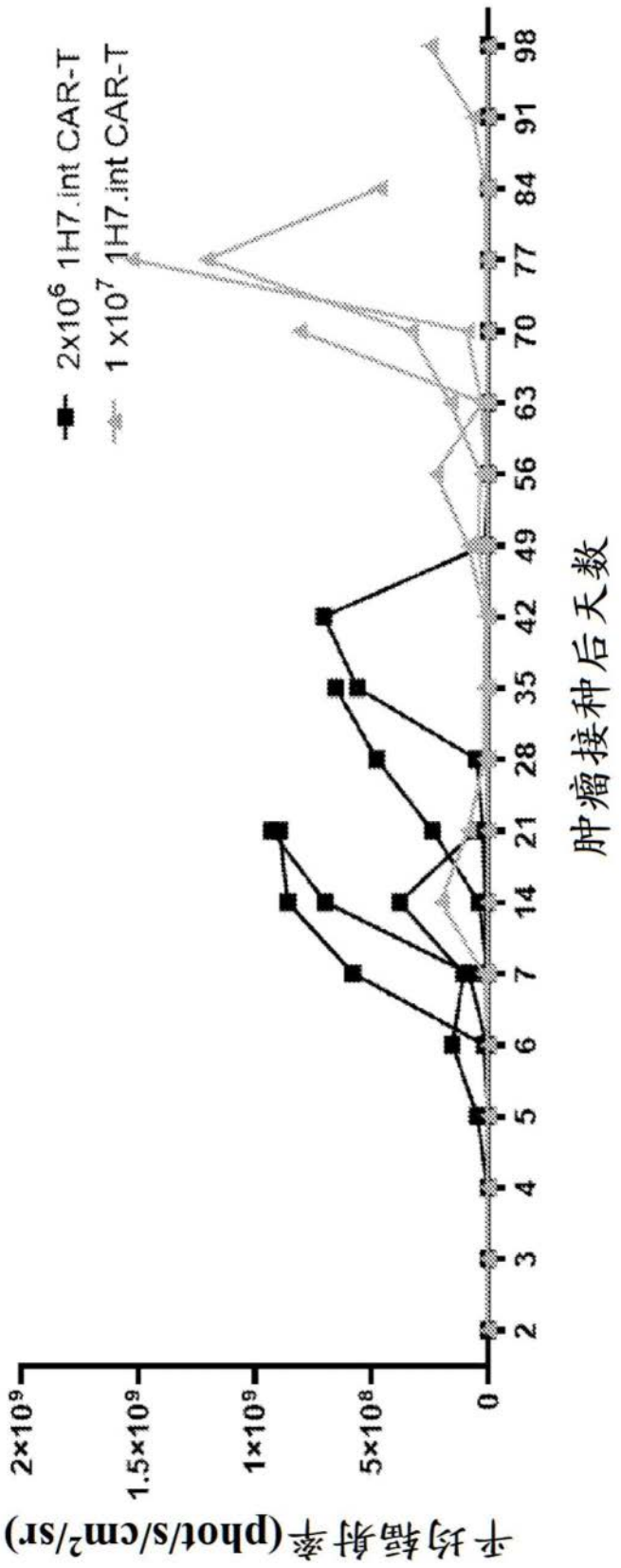

2x10^6 1H7.int CAR-T
1 x10^7 1H7.int CAR-T
平均辐射率(phott/s/cm²/sr)
2×10^9
1.5×10^9
1×10^9
5×10^8
0
2
3
4
5
6
7
14
21
28
35
42
49
56
63
70
77
84
91
98
肿瘤接种后天数

图26A

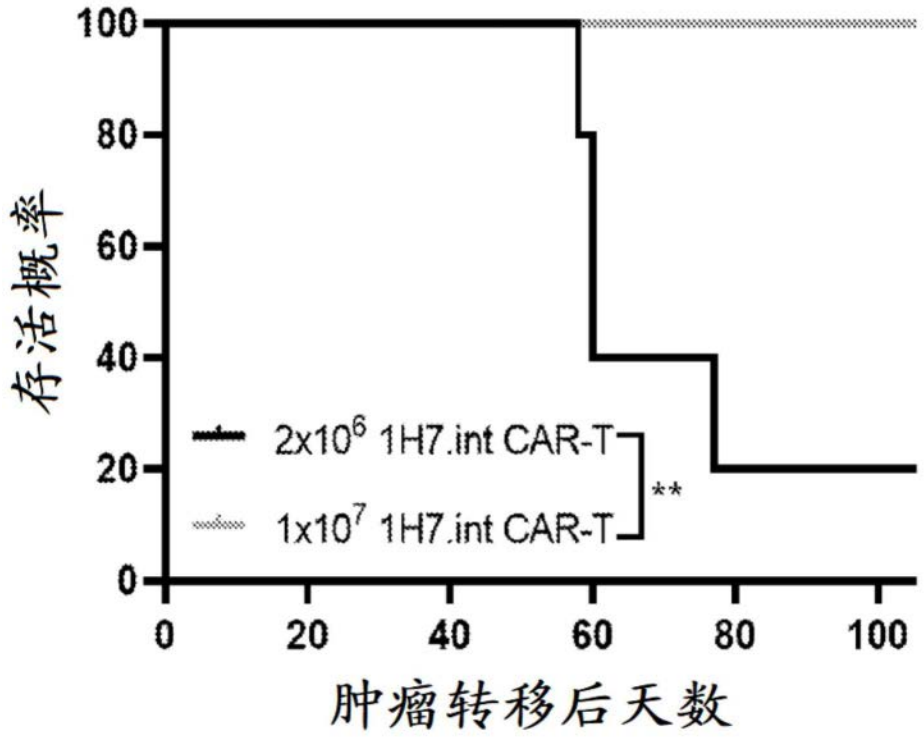

100
80
60
40
20
0
存活概率
2x10^6 1H7.int CAR-T
1x10^7 1H7.int CAR-T
**
0
20
40
60
80
100
肿瘤转移后天数

图26B

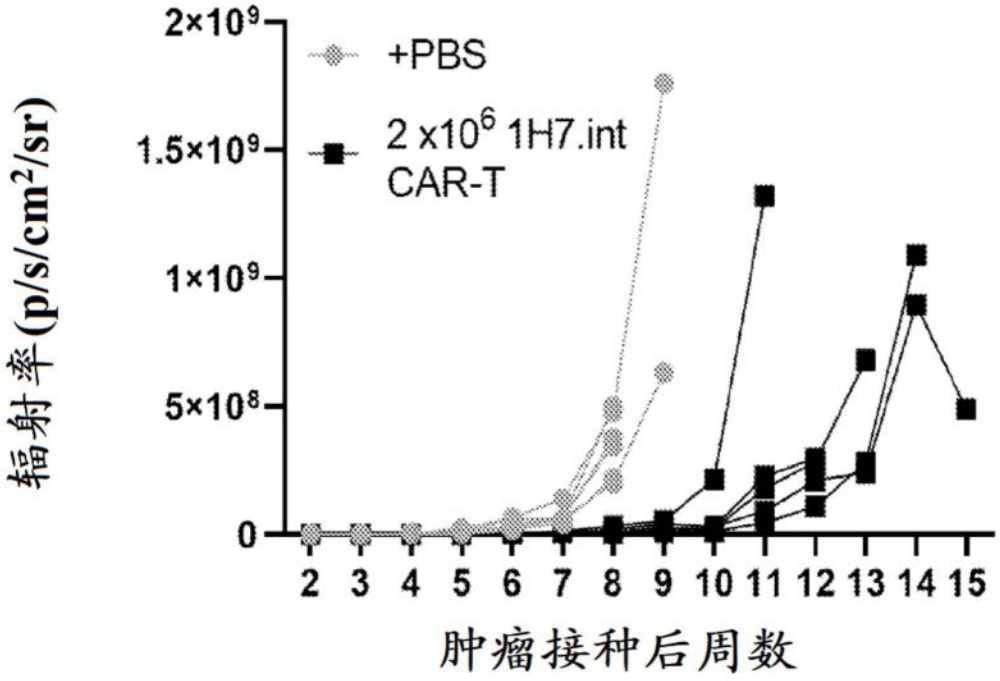

2×10^9
1.5×10^9
1×10^9
5×10^8
0
辐射率(p/s/cm²/sr)
+PBS
2 x10^6 1H7.int CAR-T
2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
肿瘤接种后周数

图27A

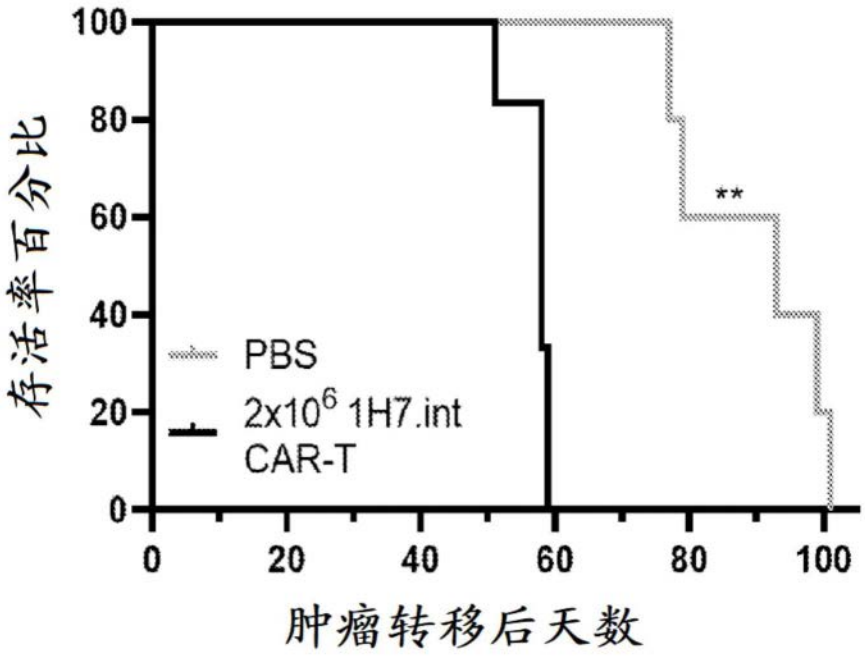

100
80
60
40
20
0
存活率百分比
**
PBS
2x10^6 1H7.int
CAR-T
0
20
40
60
80
100
肿瘤转移后天数

图27B

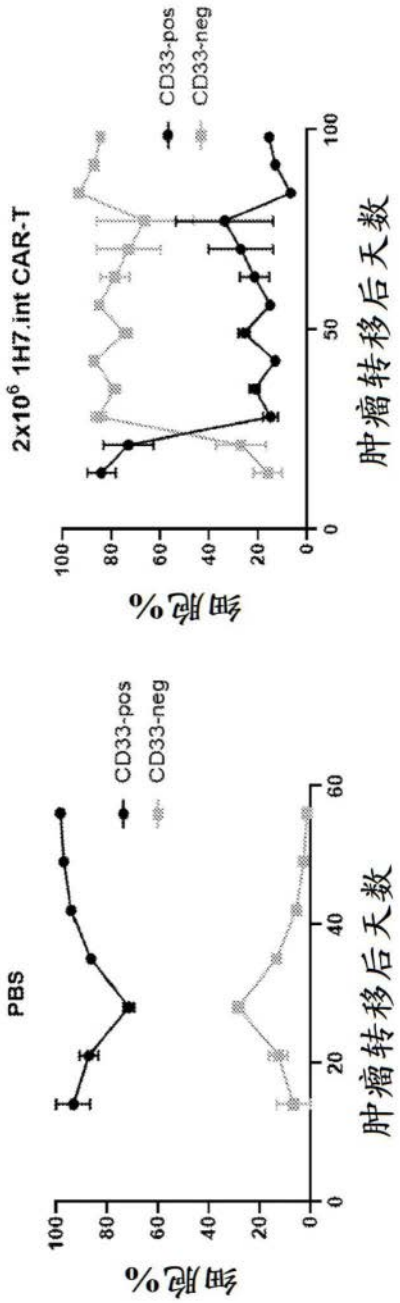

2x10^6 1H7.int CAR-T
CD33-pos
CD33-neg
细胞%
肿瘤转移后天数
PBS
CD33-pos
CD33-neg
细胞%
肿瘤转移后天数

图28A

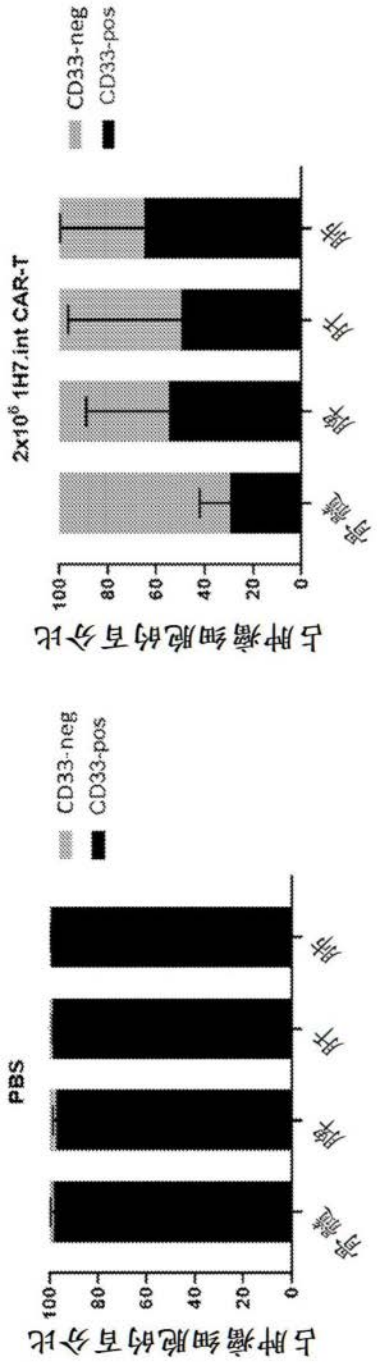

CD33-neg
CD33-pos
2x10^6 1H7.int CAR-T
占肿瘤细胞的百分比
100
80
60
40
20
0
脊髓
脾
肝
肺
CD33-neg
CD33-pos
PBS
占肿瘤细胞的百分比
100
80
60
40
20
0
脊髓
脾
肝
肺

图28B

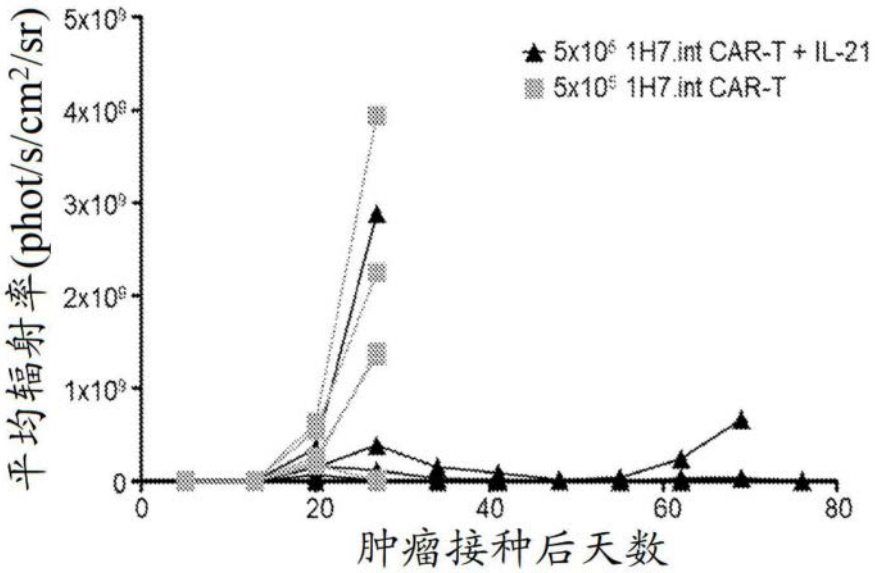

5x10⁶ 1H7.int CAR-T + IL-21
5x10⁵ 1H7.int CAR-T
平均辐射率(phot/s/cm²/sr)
5x10⁹
4x10⁹
3x10⁹
2x10⁹
1x10⁹
0
0
20
40
60
80
肿瘤接种后天数

图29A

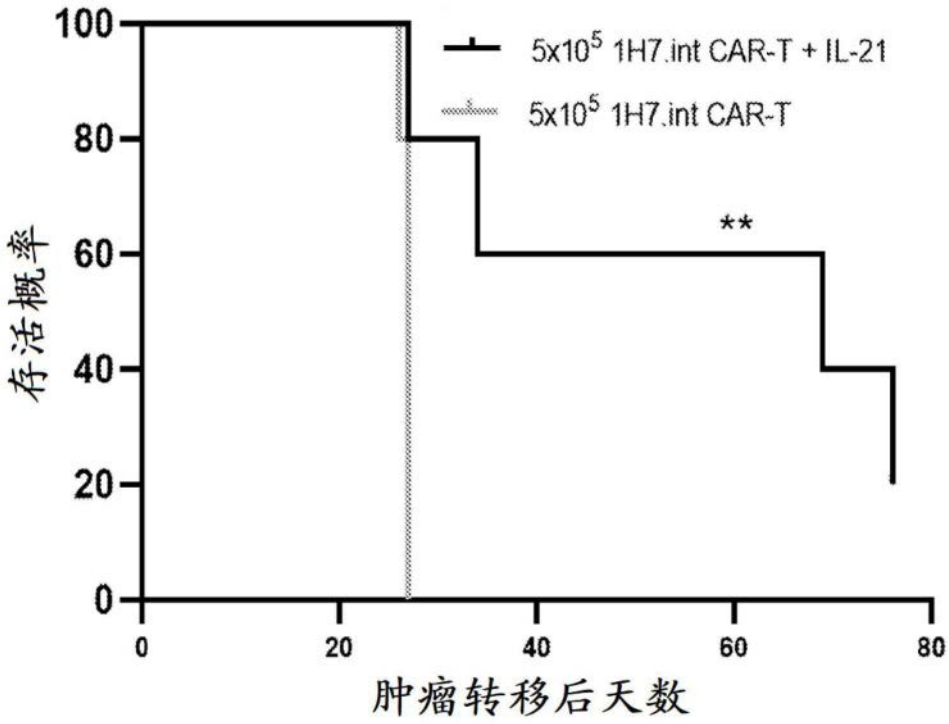

5x10⁵ 1H7.int CAR-T + IL-21
5x10⁵ 1H7.int CAR-T
**
存活概率
100
80
60
40
20
0
0
20
40
60
80
肿瘤转移后天数

图29B

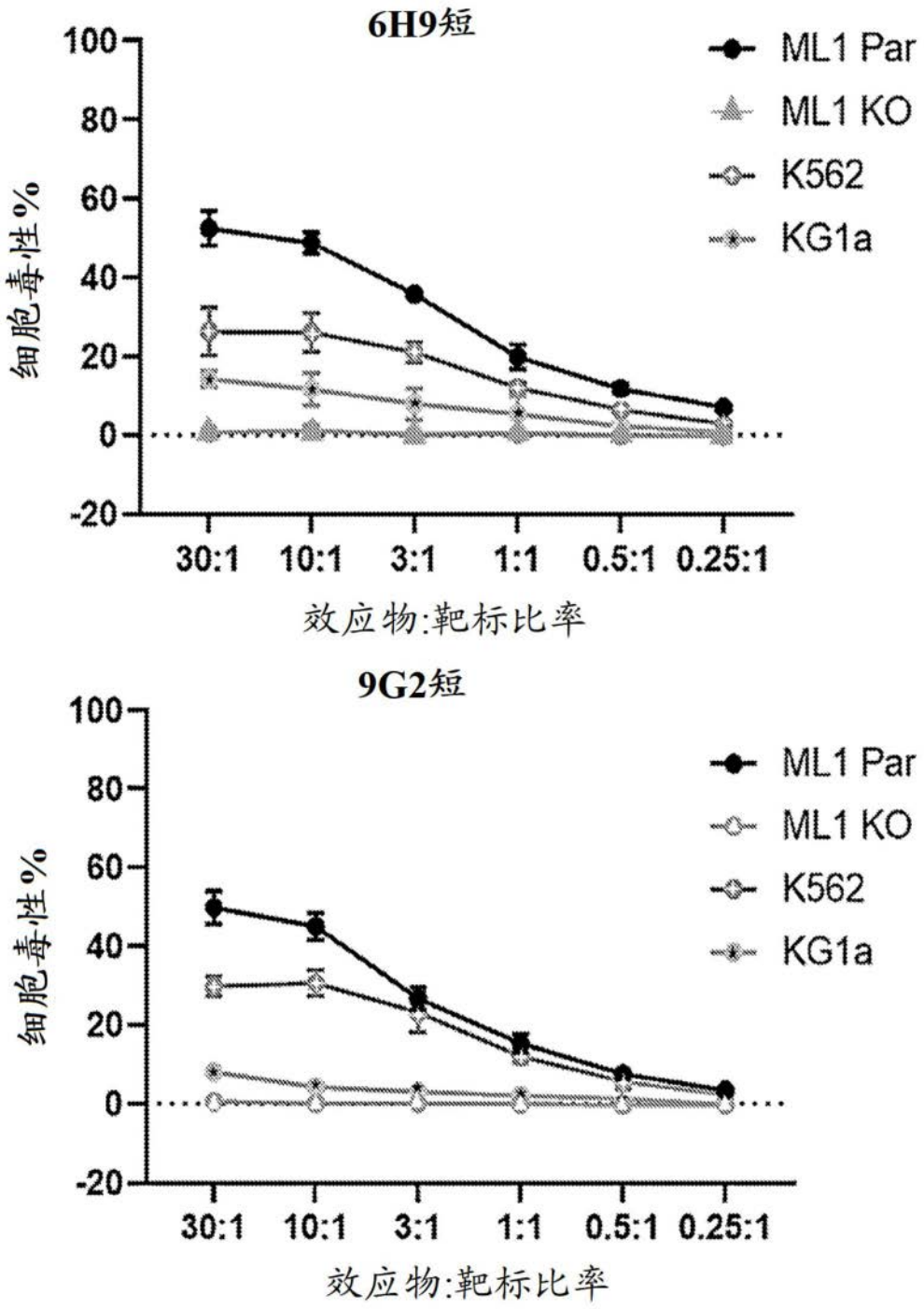

6H9短
ML1 Par
ML1 KO
K562
KG1a
细胞毒性%
100
80
60
40
20
0
-20
30:1
10:1
3:1
1:1
0.5:1
0.25:1
效应物:靶标比率
9G2短
ML1 Par
ML1 KO
K562
KG1a
细胞毒性%
100
80
60
40
20
0
-20
30:1
10:1
3:1
1:1
0.5:1
0.25:1
效应物:靶标比率

图30A

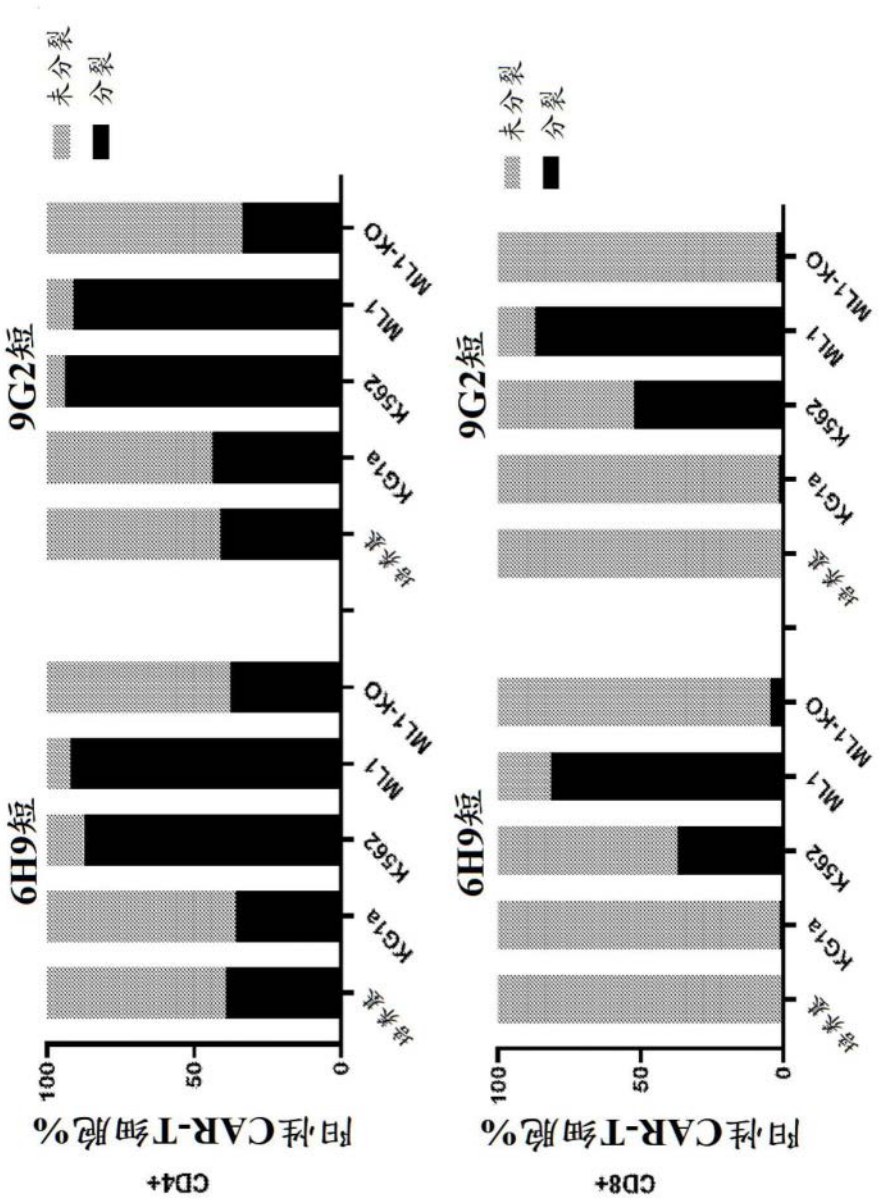

未分裂
分裂
9G2短
6H9短
靶来源
KG1a
K562
ML-1
ML-1-KO
阳性CAR-T细胞%
100
50
0
CD4+
CD8+

图30B

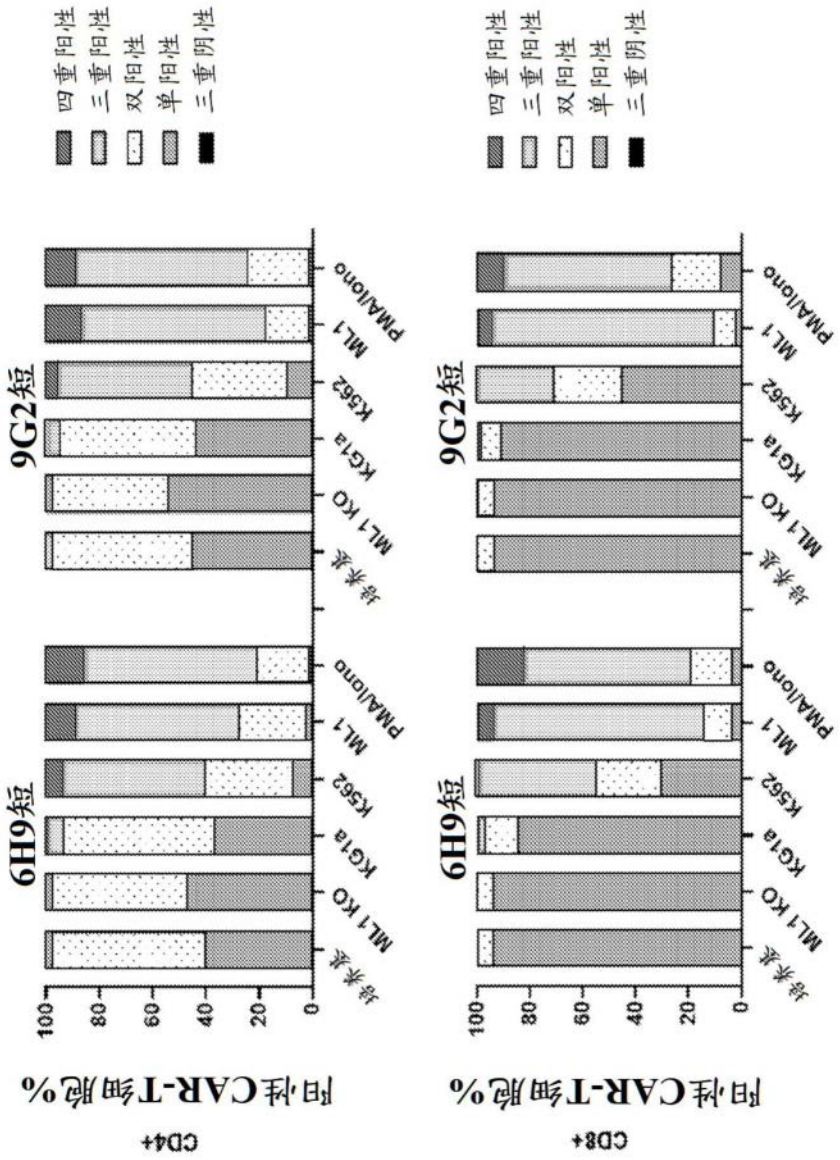

四重阳性
三重阳性
双阳性
单阳性
三重阴性
9G2短
6H9短
CD8+
CD4+
阳性CAR-T细胞%
100
80
60
40
20
0
培养基
ML-1 KO
KG1a
K562
ML-1
PMA/iono

图30C

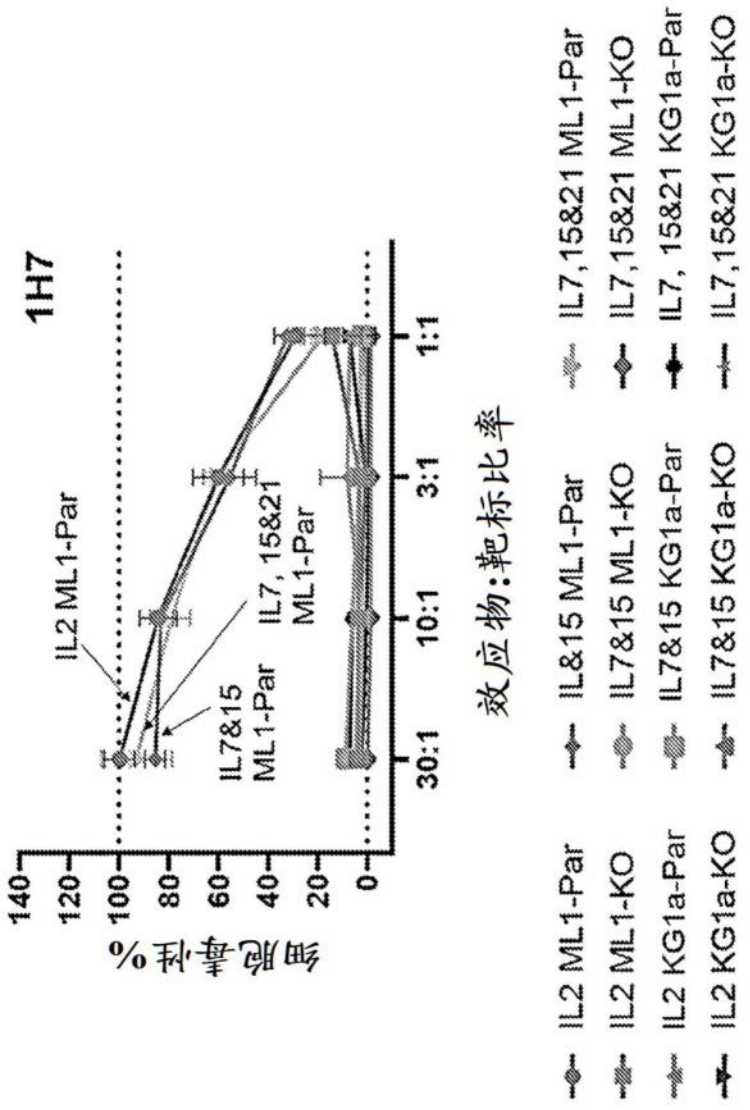

1H7
IL2 ML1-Par
IL7&15 ML1-Par
IL7, 15&21 ML1-Par
细胞毒性%
140
120
100
80
60
40
20
0
30:1
10:1
3:1
1:1
效应物:靶标比率
IL2 ML1-Par
IL2 ML1-KO
IL2 KG1a-Par
IL2 KG1a-KO
IL&15 ML1-Par
IL7&15 ML1-KO
IL7&15 KG1a-Par
IL7&15 KG1a-KO
IL7,15&21 ML1-Par
IL7,15&21 ML1-KO
IL7, 15&21 KG1a-Par
IL7,15&21 KG1a-KO

图31

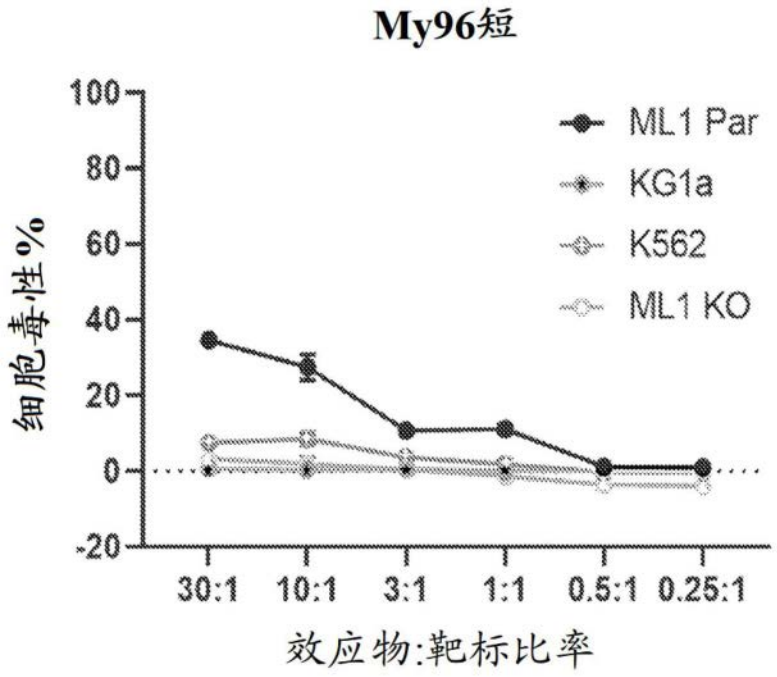

My96短
ML1 Par
KG1a
K562
ML1 KO
细胞毒性%
100
80
60
40
20
0
-20
30:1
10:1
3:1
1:1
0.5:1
0.25:1
效应物:靶标比率

图32A

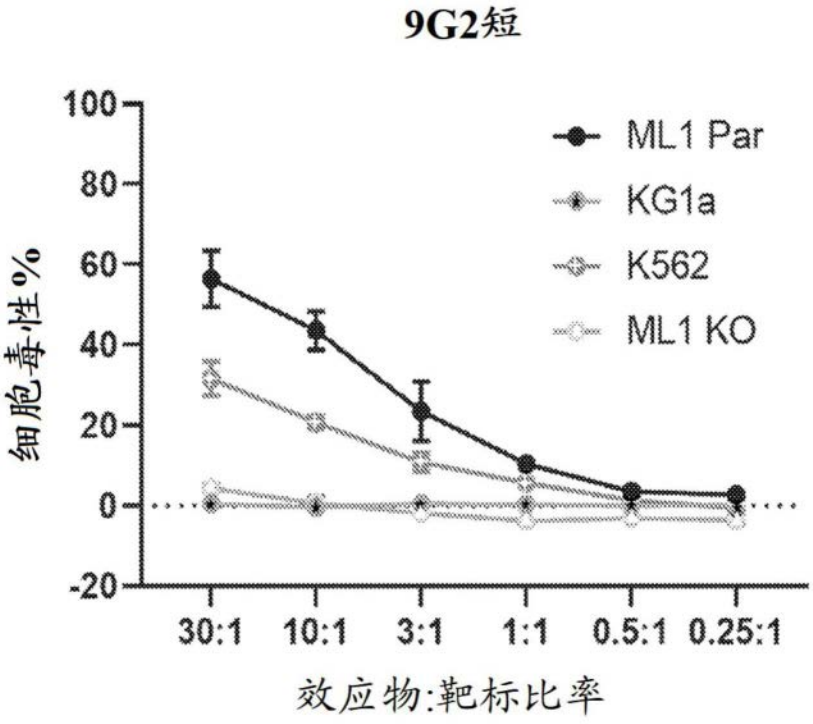

9G2短
ML1 Par
KG1a
K562
ML1 KO
细胞毒性%
100
80
60
40
20
0
-20
30:1
10:1
3:1
1:1
0.5:1
0.25:1
效应物:靶标比率

图32B

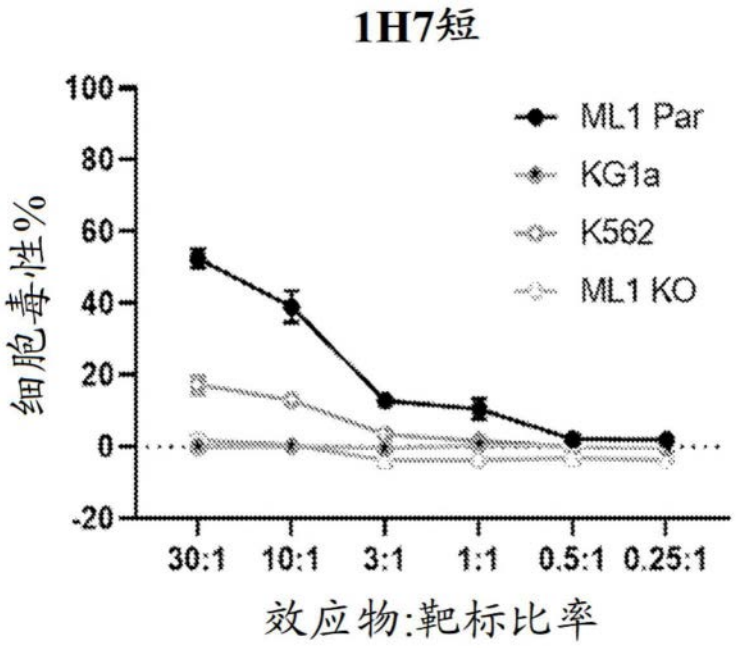

1H7短
细胞毒性%
100
80
60
40
20
0
-20
ML1 Par
KG1a
K562
ML1 KO
30:1
10:1
3:1
1:1
0.5:1
0.25:1
效应物:靶标比率

图32C

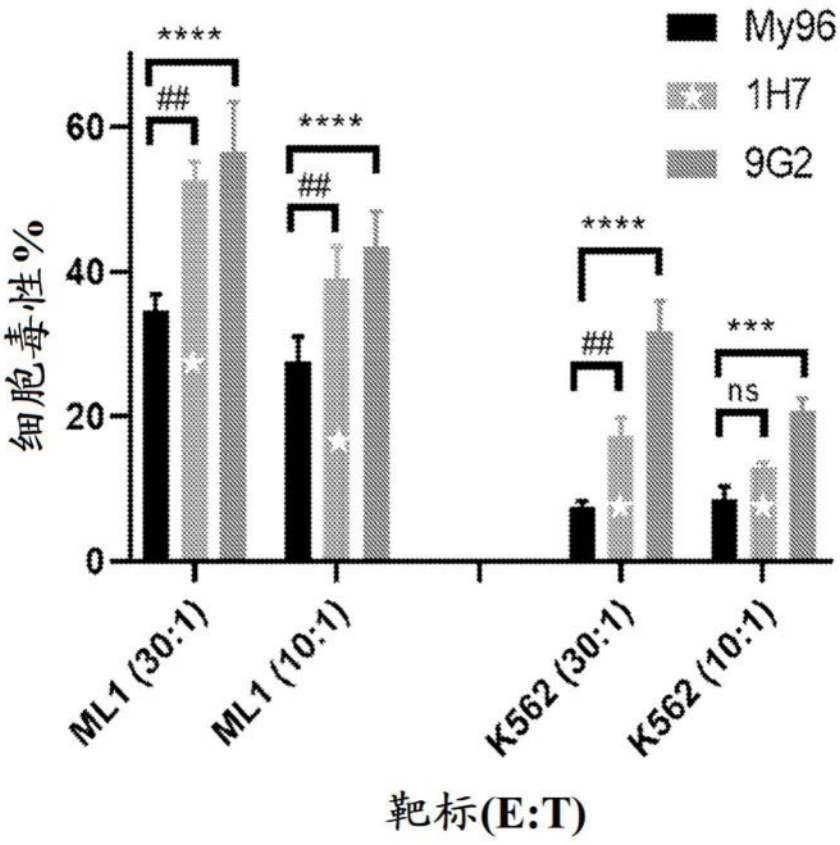

My96
1H7
9G2
细胞毒性%
60
40
20
0
****
##
****
##
****
##
***
ns
ML1 (30:1)
ML1 (10:1)
K562 (30:1)
K562 (10:1)
靶标(E:T)

图32D

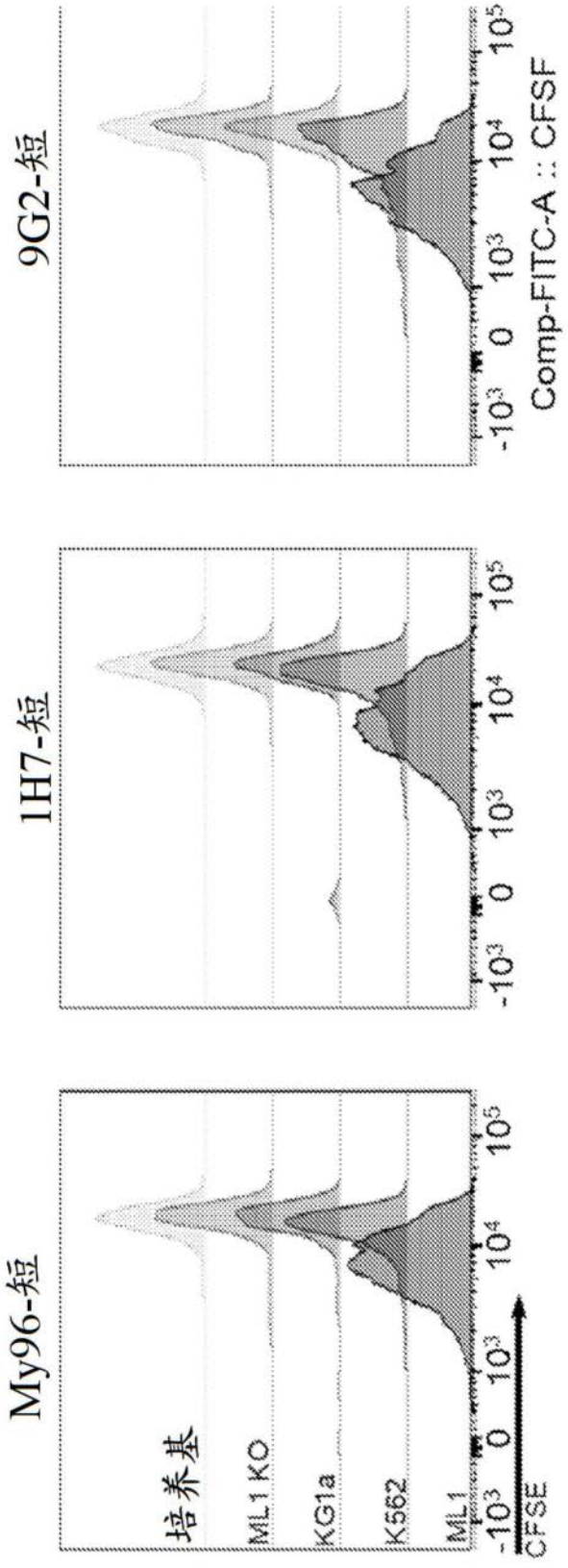

My96-短
1H7-短
9G2-短
培养基
ML1 KO
KG1a
K562
ML1
CFSE
Comp-FITC-A :: CFSF
-10^3
0
10^3
10^4
10^5

图33A

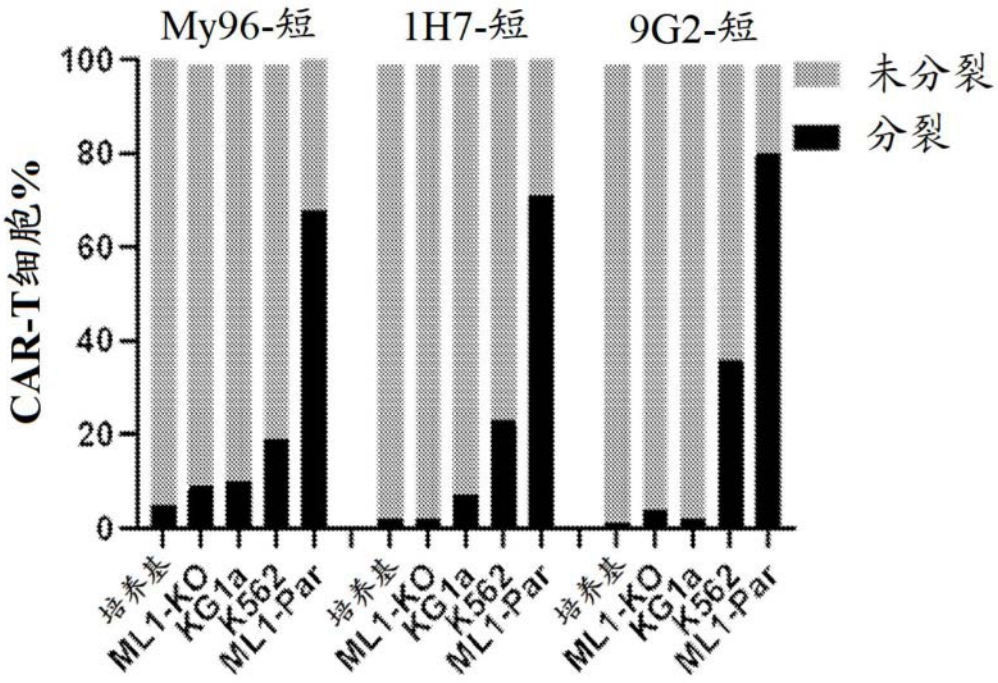

My96-短
1H7-短
9G2-短
未分裂
分裂
CAR-T细胞%
100
80
60
40
20
0
培养基
ML1-KO
KG1a
K562
ML1-Par

图33B

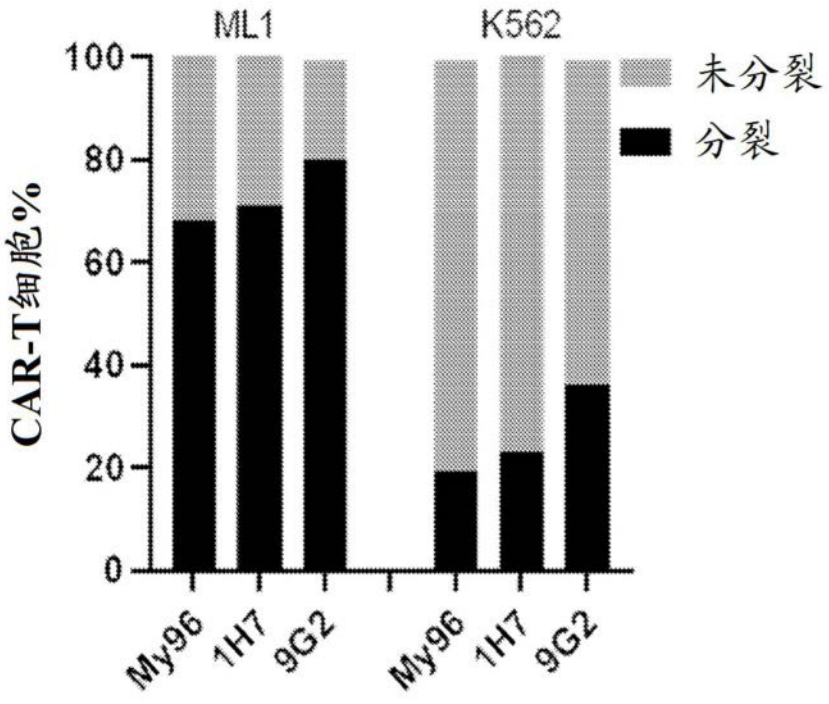

ML1
K562
未分裂
分裂
CAR-T细胞%
100
80
60
40
20
0
My96
1H7
9G2

图33C

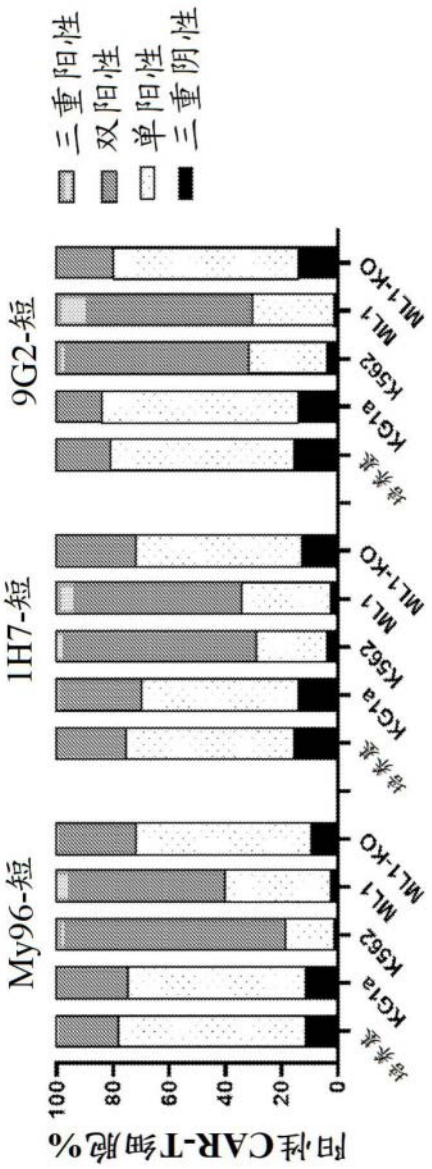

三重阳性
双阳性
单阳性
三重阴性
9G2-短
1H7-短
My96-短
靶来源
KG1a
K562
ML-1
ML-1-KO
阳性CAR-T细胞%
0
20
40
60
80
100

图34A

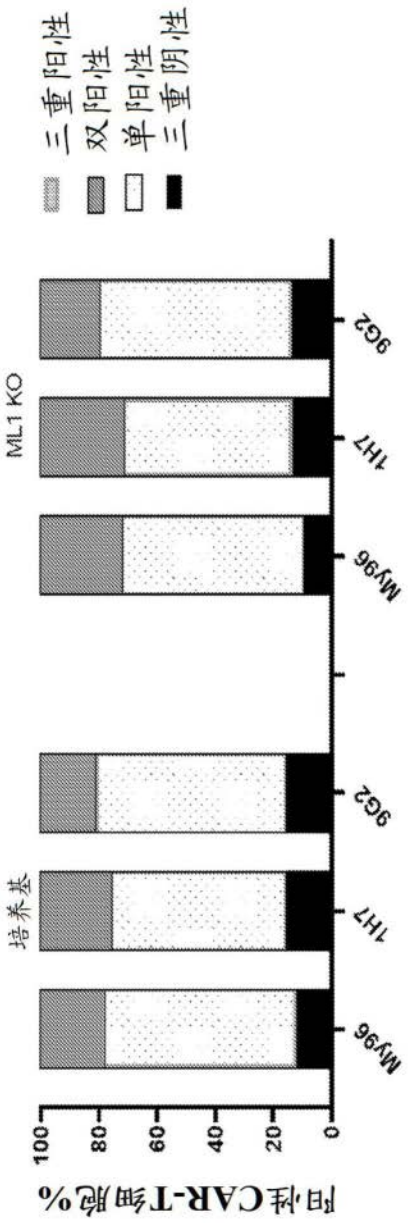

三重阳性
双阳性
单阳性
三重阴性
阳性CAR-T细胞%
100
80
60
40
20
0
培养基
ML1 KO
MY96
1H7
9G2
MY96
1H7
9G2

图34B

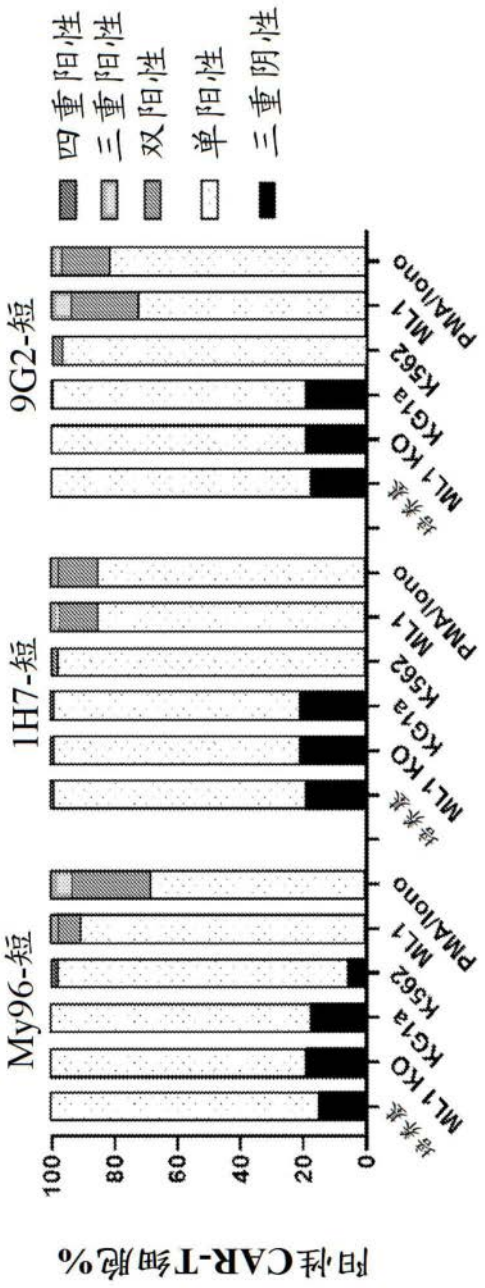

四重阳性
三重阳性
双阳性
单阳性
三重阴性
9G2-短
1H7-短
My96-短
靶未处
ML-1 KO
KG1a
K562
ML-1
PMA/iono
100
80
60
40
20
0
阳性CAR-T细胞%

图35A

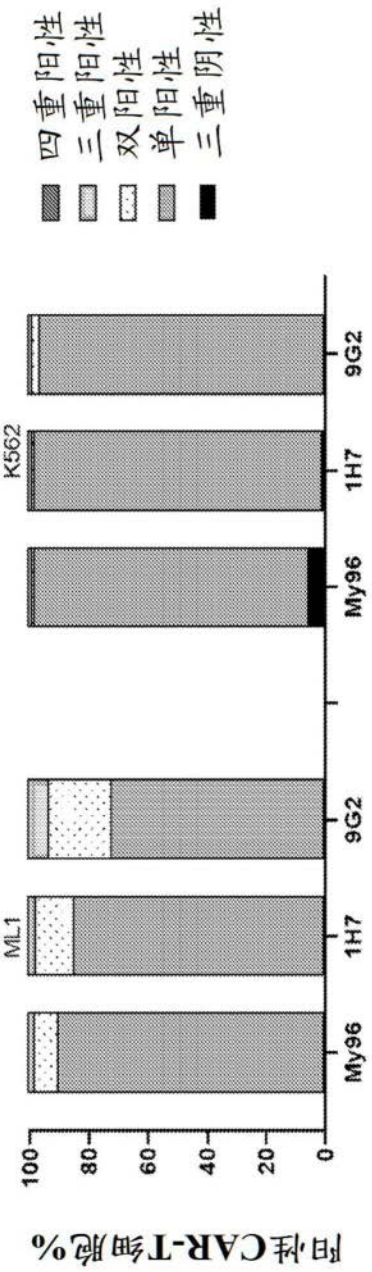

四重阳性
三重阳性
双阳性
单阳性
三重阴性
阳性CAR-T细胞%
100
80
60
40
20
0
ML1
K562
My96
1H7
9G2
My96
1H7
9G2

图35B

CD33/CD3双特异性抗体：

QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTY
ADKFQGRVTMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYVYFDYWGQGTSVTVS
SGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNSLAWYQQK
PGQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQQSAHFPITFGQGT
RLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARI
RSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAY
WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNY
PNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSN
RWVFGGGTKLTVLHHHHHH (SEQ ID NO: 220, similar to SEQ ID NO: 377 and 378)

呈VH-VL取向的scFv编码序列，针对用于CAR进行密码子优化：

编码起始甲硫氨酸的序列呈粗体，信号肽加下划线并且呈斜体，
G4Sx3连接子加下划线并且可变轻链呈斜体。

1H7 VHVL scFv编码序列：

ATG*CTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTG*
*ATCCCC*CAAGTACAACTTCAACAAAGTGGAGCCGAACTGGTAAAACCCGGAGCGTCTGTG
AAGATTAGTTGCAAGGCATCCGGTTACGCCTTCTCAAATTATTGGATGAACTGGGTAAAGC
AGCGGCCCGGAAAGGGTCTCGAGTGGATTGGGCAAATCAACCCAGGGGACGGGGATACG
AACTACAACGGTAAGTTCAAAGGCAAGGCTACGTTGACGGCTGATAAGAGCTCAAGCACC
GCTTACATGCAGTTGTCTTCTTTGACAAGTGAGGATAGTGCCGTTTACTTCTGCGCCCGAG
AGGACCGAGATTATTTTGATTATTGGGGCCAGGGAACAACTCTCACCGTCAGCTCCGGAG
GCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAGGATCT*GATATTCAGATGACCCAA*
ACTACGAGTTCCCTGTCTGCCAGCCTTGGCGACCGGGTCACAATTAGTTGCAGGGCTTCT
CAGGATATCAACTACTATTTGAACTGGTACCAGCAGAAACCTGATGGGACGGTCAAACTTC
TCATCTACTATTCATCCAGACTGCACAGTGGCGTACCGTCTAGATTCTCAGGAAGCGGCAG
TGGTACGGATTTTAGTCTTACCATTAGTAATCTGGAACAGGAGGACATCGCCACGTATTTTT
GCCAGCAGGATGACGCACTGCCCTATACCTTCGGCGGAGGCACTAAGTTGGAGATAAAA
(SEQ ID NO: 1)

6H9 VHVL scFv编码序列，经过密码子优化：

ATG*CTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTG*
*ATCCCC*GAAGTTATGCTCGTTGAAAGCGGTGGAGGTCTCGTCAAACCCGGTGGCAGTCTG
AAGTTGAGCTGTGCAGCTTCAGGTTTCACTTTCAGCAGCTACACAATGTCATGGGTTCGGC
AGACACCAGAGAAGCGCTTGGAATGGGTCGCTACGATTTCCGGCGATGGAGGCAACACCT
ATTATTCAGACTCAGTGAAAGGACGATTTACAATTTCACGGGACAACGCGAAAAATACGCTT
TACCTTCAAATGTCCTCACTTCGATCTGAAGATACCGCTCTTTACTATTGCGCTCGACAAGG
AACTGGAACGGATTACTTCGACTACTGGGGACAAGGCACCACTCTTACGGTCTCTTCTGGA
GGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAGGATCT*GATATACAGATGACACA*
GACCACATCATCCTTGTCTGCCAGTCTGGGCGACCGGGTAACTATCAGTTGCAGAGCGTC
TCAGGATATAAACATTTATCTCAATTGGTATCAACAGAAACCGGACGGTACAGTAAAGTTGC
TCATTTACTACACAAGCAGATTGCACAGTGGCGTGCCGAGTAGATTTTCTGGGTCAGGTAG
CGGAACTGATTACAGTTTGACCATCTCTAATTTGGAACAGGAGGATATTGCGACTTACTTTT
GTCAACAGGGAGATACACTTCCATGGACATTTGGCGGGGGGACCAAACTCGAAATTAAG
(SEQ ID NO: 2)

图36

9G2 VHVL scFv编码序列，经过密码子优化：

ATGCTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTG
ATCCCCGAGGTCAAGCTTGTCGAGTCAGAGGGAGGTTTGGTCCAGCCGGGTTCTTCTATG
AAACTCTCCTGCACAGCCAGTGGCTTTACATTTAGTGATTACTACATGAGTTGGGTGAGAC
AGGTGCCTGAGAAAGGGCTGGAGTGGGTAGCTTCCATTAACTACGACGGAGGTAGCACCT
ATTACTTGGACTCCTTGAAAAGCAGATTCATAATTTCCAGGGATAATACGAAAAACATACTT
TATCTTCAAATGTCCTCTTTGAAGAGCGAGGACACAGCCACATACTATTGCGCCAGGGATA
GAGGCGATGGTGATTATTTTGACTATTGGGGACAGGGCACAACACTCACGGTCAGCAGCG
GAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAGGATCTGATATACAAATGACT
CAGACAACGAGCAGTTTGTCCGCATCTCTTGGCGATCGAGTAACTATTAGCTGCAAGACAT
CCCAGGACATATATAATTATTTGAATTGGTATCAGCAGAAACCGGACGGAACTGTCAAACT
CCTCATTTATTATACCTCCAGGCTTCATAGTGGGGTTCCTTCCCGATTTAGTGGAGGAGGC
TCAGGTACGGACTACAGCCTGACGATTTCCAACCTTGAACAAGAAGATATAGCTACATACT
TCTGTCAGCAAGGTGACACCTTGCCCTGGACATTCGGTGGGGGTACAAAACTCGAAATAAA
G (SEQ ID NO: 3)

2D5 VHVL scFv编码序列：

ATGCTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTG
ATCCCCCAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGCGCGGAACTGGTGCGCCCGGGCGCGAGCG
TGACCCTGAGCTGCAAAGCGAGCGGCTATACCTTTACCGATTATGATATGCATTGGGTGAA
ACAGACCCCGGTGCATGGCCTGGAATGGATTGGCGCGATTGATCCGGAAACCGGCGGCA
CCGCGTATAACCAGAACTTTAAAGGCAAAGCGATTCTGACCGTGGATAAAAGCAGCCGCAT
TGCGTATATGGAACTGCGCAGCCTGACCAGCGAAGATAGCGCGGTGTTTTATTGCACCAG
CGATTATGATTATTTTGGCGTGTGGGGCACCGGCACCACCGTGACCGTGAGCAGCGGAGG
CGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAGGATCTGATATTGTGATGACCCAGA
GCCAGAAATTTATGAGCACCAGCGTGGGCGATCGCGTGAGCGTGACCTGCAAAGCGAGC
CAGAACGTGGGCACCAACGTGGTGTGGTATCATAAAAAACCGGGCCAGAGCCCGAAAGG
CCTGATTTATAGCGCGAGCGATCGCTATAGCGGCGTGCCGGATCGCTTTACCGGCAGCGG
CAGCGGCACCGATTTTACCCTGACCATTAACAACGTGCAGAGCGAAGATCTGGCGGAATA
TTTTTGCCAGCAGTATAACATTTATCCGTATACCTTTGGCGGCGGCACCAAACTGGAAATTA
AA (SEQ ID NO: 4)

5D12 VHVL scFv编码序列：

ATGCTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTG
ATCCCCCAAGTTCAGTTGCAACAATCAGGTGCTGAGGTGGTAAAGCCAGGTGCCAGTGTC
AAAATATCTTGCCGGGCGTCTGGTTATGCGTTCTCCAACTATTGGATGAACTGGGTAAAAC
AACGCCCAGGTAAGGGACTCGAGTGGATAGGACAAATATACCCAGGCAACTTCAACACAG
ACTACAATGGTCAATTCAAGGGAAAGGCTACTCTTACAGTCGATAAATCTTCAAACACGGCT
TACATGCAGTTGTCCTCCTTGACCTCCGAGGATTCAGCAGTCTATTTCTGTGCCCGATTCTT
TGATTTTGGCGCTTATTTTACGTTGGATTATTGGGGCCAAGGGACATCTGTCACAGTTTCCT
CCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAGGATCTGATATAAAGATG
ACTCAGTCACCCAGCAGTATATACGCTAGTCTGGGAGAAAGGGTCACGATAAATTGTAAGG
CTTCACAAGACATAAAAAGTTATCTTTCATGGTATCAACAGAAACCCTGGAAAAGCCCCAAG
ACCCTTATCTACTACGCTACGACTCTTGCAGATGGTGTACCAAGTCGGTTTTCCGGGAGCG
GCTCCGGGCAAGACTATTCTTTGACAATTTCCTCTTTGGAGTCCGATGATACCGCAACCTA
CTACTGCCTGCATCACGGTGAGTCACCATGGACATTTGGCGAAGGGACAAAGCTTGAAATA
AAG (SEQ ID NO: 5)

IgG4铰链编码序列-A

图36续

GAGTCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCCTTGCCCT (SEQ ID NO: 6)

IgG4铰链编码序列-B

GAGTCTAAGTACGGACCGCCTTGCCCACCGTGCCCA (SEQ ID NO: 7)

IgG4-int(DS)编码序列

GGCCAGCCTAGAGAACCCCAGGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAGGAAGAGATGACCAA
GAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGA
ATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACA
GCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACTCCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAA
GGCAACGTCTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAG
TCCCTGAGCCTGAGCCTGGGCAAG (SEQ ID NO: 8)

IgG4-长间隔子编码序列

GCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCACCAAAACCCAAGGACACCCTG
ATGATCAGCCGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGATCC
CGAGGTCCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCC
CAGAGAGGAACAGTTCCAAAGCACCTACCGGGTGGTGTCTGTGCTGACCGTGCTGCACCA
GGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCA
GCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTACACC
CTGCCTCCCTCCCAGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAG
GGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAGAACAA
CTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCCGGCT
GACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTCTTTAGCTGCAGCGTGATGCACG
AGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCTGGGCAAG (SEQ ID
NO: 9)

CD3ζ编码序列

CGGGTGAAGTTCAGCAGAAGCGCCGACGCCCCTGCCTACCAGCAGGGCCAGAATCAGCT
GTACAACGAGCTGAACCTGGGCAGAAGGGAAGAGTACGACGTCCTGGATAAGCGGAGAG
GCCGGGACCCTGAGATGGGCGGCAAGCCTCGGCGGAAGAACCCCCAGGAAGGCCTGTAT
AACGAACTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGA
GCGGAGGCGGGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTATCAGGGCCTGTCCACCGCCACCAAG
GATACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCAAGG (SEQ ID NO: 10)

CD3ζ蛋白质-A

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNE
LQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO:
11)

CD3ζ蛋白质-B

ELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY
NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (SEQ ID NO:
12)

4-1BB信号传导编码序列-A

AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAAC
TACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGA
ACTG (SEQ ID NO: 13)

图36续

4-1BB信号传导编码序列-B
GTGAAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTAC
AAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGAT
GTGAACTG (SEQ ID NO: 14)

4-1BB蛋白质-A
VKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (SEQ ID NO: 15)

4-1BB蛋白质-B
VKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGC (SEQ ID NO: 16)

CD28TM编码序列-A
ATGTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTCGGAGGCGTGCTGGCCTGCTACAGCCTGCTGGTCAC
CGTGGCCTTCATCATCTTTTGGGTG (SEQ ID NO: 17)

CD28TM编码序列-B
ATGTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTCGGAGGCGTGCTGGCCTGCTACAGCCTGCTGGTCAC
CGTGGCCTTCATCATCTTTTGG (SEQ ID NO: 18)

CD28TM编码序列-C
ATGTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGCGGGGTGCTGGCCTGCTACAGCCTGCTGGTGAC
AGTGGCCTTCATCATCTTTTGG (SEQ ID NO: 19)

CD28TM蛋白质-A
MFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFW (SEQ ID NO: 20)

CD28TM蛋白质-B
FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFW (SEQ ID NO: 21)

tCD19编码序列
ATGCCACCTCCAAGACTCCTCTTCTTCCTCCTCTTCCTGACACCAATGGAAGTCAGGCCTG
AGGAACCTCTAGTGGTGAAGGTGGAAGAGGGAGATAACGCTGTGTTACAGTGCCTCAAGG
GAACCTCAGATGGACCCACTCAGCAGCTGACCTGGTCTCGGGAGTCTCCGCTTAAACCCT
TCCTGAAACTCAGCCTTGGACTGCCAGGTCTGGGAATCCACATGAGGCCACTGGCTATCT
GGCTGTTCATCTTCAACGTCTCTCAACAGATGGGAGGCTTCTACCTGTGTCAGCCTGGACC
ACCTTCTGAGAAGGCATGGCAGCCTGGTTGGACAGTCAATGTGGAGGGTTCTGGTGAGCT
GTTCCGGTGGAATGTTTCGGACCTAGGTGGACTGGGATGTGGTCTGAAGAACAGGTCCTC
AGAGGGACCTAGCTCTCCTTCCGGGAAGCTCATGAGCCCCAAGCTGTATGTGTGGGCCAA
AGACCGCCCTGAGATCTGGGAGGGAGAGCCTCCGTGTGTCCCACCGAGGGACAGCCTGA
ACCAGAGCCTCAGCCAGGACCTCACCATGGCCCCTGGCTCCACACTCTGGCTGTCCTGTG
GGGTACCCCCTGACTCTGTGTCCAGGGGCCCCCTCTCCTGGACCCATGTGCACCCCAAG
GGGCCTAAGTCATTGCTGAGCCTAGAGCTGAAGGACGATCGCCCTGCCAGAGATATGTGG
GTAATGGAGACGGGTCTGTTGTTGCCCCGGGCCACAGCTCAAGACGCTGGAAAGTATTAT
TGTCACCGTGGCAACCTGACCATGTCATTCCACCTGGAGATCACTGCTCGGCCAGTACTAT
GGCACTGGCTGCTGAGGACTGGTGGCTGGAAGGTCTCAGCTGTGACTTTGGCTTATCTGA
TCTTCTGCCTGTGTTCCCTTGTGGGCATTCTTCATCTTCAAAGAGCCCTGGTCCTGAGGAG
GAAAAGATGA (SEQ ID NO: 22)

图36续

T2A编码序列
CTCGAGGGCGGCGGAGAGGGCAGAGGAAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAGGAGAA
TCCAGGCCCTAGG (SEQ ID NO: 23)

明脉扁刺蛾病毒2A(T2A)肽
GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (SEQ ID NO: 24)

猪捷申病毒-1 2a (P2A)肽
GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO: 25)

马A型鼻炎病毒(ERAV) 2A (E2A)肽
GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 26)

口蹄疫病毒2A (F2A) 肽
GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 27)

EF1启动子-A
GGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCCC
GAGAAGTTGGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGG
TAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAAC
CGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAAC
ACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACGCGCCCGCCGCCCTACCTGAGG
CCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTTCTGCCGCCTCCCGCCTGTGGTGCCTCCTGAAC
TGCGTCCGCCGTCTAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTCCGGCGCT
CCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCCTGACCCTGCTTGCTCA
ACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGATCCAAGCTGTGACCGGCG
CCTAC (SEQ ID NO: 28)

EF1启动子-B
GGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCCC
GAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGG
TAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAAC
CGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAAC
ACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACGCGCCCGCCGCCCTACCTGAGG
CCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTTCTGCCGCCTCCCGCCTGTGGTGCCTCCTGAAC
TGCGTCCGCCGTCTAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTCCGGCGCT
CCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCCTGACCCTGCTTGCTCA
ACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGATCCAAGCTGTGACCGGCG
CCTACG (SEQ ID NO: 29)

Psi
CTCGGCTTGCTGAAGCGCGCACGGCAAGAGGCGAGGGGCGGCGACTGGTGAGTACGCC
AAAAATTTTGACTAGCGGAGGCTAGAAGGAGAGAGATGGGTGCGAGAGCGTCAGT (SEQ
ID NO: 30)

RRE
GCAAAGAGAAGAGTGGTGCAGAGAGAAAAAAGAGCAGTGGGAATAGGAGCTTTGTTCCTT
GGGTTCTTGGGAGCAGCAGGAAGCACTATGGGCGCAGCGTCAATGACGCTGACGGTACA

图36续

GGCCAGACAATTATTGTCTGGTATAGTGCAGCAGCAGAACAATTTGCTGAGGGCTATTGAG
GCGCAACAGCATCTGTTGCAACTCACAGTCTGGGGCATCAAGCAGCTCCAGGCAAGAATC
CTGGCTGTGGAAAGATACCTAAAGGATCAACAGCTCCTGGGGATTTGGGGTTGCTCTGGA
AAACTCATTTGCACCACTGCTGTGCCTTGGATC (SEQ ID NO: 31)

图36续

Flap
TACAAATGGCAGTATTCATCCACAATTTTAAAAGAAAAGGGGGGATTGGGGGGTACAGTGC
AGGGGAAAGAATAGTAGACATAATAGCAACAGACATACAAACTAAAGAATTACAAAAACAAA
TTACAAAAATTCAAAATTTTCGGGTTTATTACAGGGACAGCAGAGATCCAGTTTGG (SEQ ID NO: 32)

GM-CSFR编码序列
ATGCTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTG
ATCCCC (SEQ ID NO: 33)

WPRE
ATCGATAATCAACCTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACTATGTT
GCTCCTTTTACGCTATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCG
TATGGCTTTCATTTTCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTG
GCCCGTTGTCAGGCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACCCCCACTGG
TTGGGGCATTGCCACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATT
GCCACGGCGGAACTCATCGCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTT
GGGCACTGACAATTCCGTGGTGTTGTCGGGGAAATCATCGTCCTTTCCTTGGCTGCTCGC
CTGTGTTGCCACCTGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAA
TCCAGCGGACCTTCCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCG
CCTTCGCCCTCAGACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCCTCCCCGCATCGAT (SEQ ID NO: 34)

delU3
GTACCTTTAAGACCAATGACTTACAAGGCAGCTGTAGATCTTAGCCACTTTTTAAAAGAAAA
GGGGGGACTGGAAGGGCTAATTCACTCCCAAAGAAGACAAGAT (SEQ ID NO: 35)

R
CTGCTTTTTGCCTGTACTGGGTCTCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTG
GCTAACTAGGGAACCCACTG (SEQ ID NO: 36)

U5
CTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCTTGAGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTG
ACTCTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTCAGTGTGGAAAATCTCT (SEQ ID NO: 37)

AmpR
ATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTT
TTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGA
GTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAG
AACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATT
GACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAG
TACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTG
CTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACC
GAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGG
GAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCA
ATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAAC
AATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTC
CGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCA

图36续

TTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGA
GTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAA
GCATTGGT (SEQ ID NO: 38)

CoE1起点

AAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTT
TTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTT
TTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTT
GCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATA
CCAAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCAC
CGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTC
GTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTG
AACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATA
CCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGT
ATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAA
CGCCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTG
TGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACG
GTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCTG
TGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCG
AGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAG (SEQ ID NO: 39)

SV40

GGTCGAGATCCGGTCGACCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACTCCGCCCATCCCGCCCC
TAACTCCGCCCAGTTCCGCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTATTTATGCA
GAGGCCGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGGAGGCTTTTTTGGA
GGCCTAGGCTTTTGCAAA (SEQ ID NO: 40)

CMV

ATCGATTGGCTCATGTCCAACATTACCGCCATGTTGACATTGATTATTGACTAGTTATTAATA
GTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTA
CGGTAAATGGCCCGCCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCCATTGACGTCAATAATGA
CGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTT
ACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATT
GACGTCAATGACGGTAAATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGAC
TTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTTG
GCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCC
CATTGACGTCAATGGGAGTTTGTTTTGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGT
AACAACTCCGCCCCATTGACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGAATTC (SEQ ID NO:
41)

糖基化位点

CAA

1H7-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链

GGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCC
CGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGG
GGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAG
AACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCA
GAACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACGCGCCCGCCGCCCTACC

图36续

TGAGGCCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTTCTGCCGCCTCCCGCCTGTGGTGCCTC
CTGAACTGCGTCCGCCGTCTAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTC
CGGCGCTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCCTGACCCTG
CTTGCTCAACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGATCCAAGCTGT
GACCGGCGCCTACGGCTAGCCACCATGCTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGA
ACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTGATCCCCCAAGTACAACTTCAACAAAGTGGAGCCGAA
CTGGTAAAACCCGGAGCGTCTGTGAAGATTAGTTGCAAGGCATCCGGTTACGCCTTCTCAA
ATTATTGGATGAACTGGGTAAAGCAGCGGCCCGGAAAGGGTCTCGAGTGGATTGGGCAAA
TCAACCCAGGGGACGGGGATACGAACTACAACGGTAAGTTCAAAGGCAAGGCTACGTTGA
CGGCTGATAAGAGCTCAAGCACCGCTTACATGCAGTTGTCTTCTTTGACAAGTGAGGATAG
TGCCGTTTACTTCTGCGCCCGAGAGGACCGAGATTATTTTGATTATTGGGGCCAGGGAACA
ACTCTCACCGTCAGCTCCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAG
GATCTGATATTCAGATGACCCAAACTACGAGTTCCCTGTCTGCCAGCCTTGGCGACCGGGT
CACAATTAGTTGCAGGGCTTCTCAGGATATCAACTACTATTTGAACTGGTACCAGCAGAAA
CCTGATGGGACGGTCAAACTTCTCATCTACTATTCATCCAGACTGCACAGTGGCGTACCGT
CTAGATTCTCAGGAAGCGGCAGTGGTACGGATTTTAGTCTTACCATTAGTAATCTGGAACA
GGAGGACATCGCCACGTATTTTTGCCAGCAGGATGACGCACTGCCCTATACCTTCGGCGG
AGGCACTAAGTTGGAGATAAAAGAGTCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCCTTGCCCTGG
CCAGCCTAGAGAACCCCAGGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAA
CCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAATG
GGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCG
ACGGCAGCTTCTTCCTGTACTCCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAAGGC
AACGTCTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCC
CTGAGCCTGAGCCTGGGCAAGATGTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTCGGAGGCGTGCTGGC
CTGCTACAGCCTGCTGGTCACCGTGGCCTTCATCATCTTTTGGGTGAAACGGGGCAGAAA
GAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAGAGGA
AGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGCGGGTG
AAGTTCAGCAGAAGCGCCGACGCCCCTGCCTACCAGCAGGGCCAGAATCAGCTGTACAAC
GAGCTGAACCTGGGCAGAAGGGAAGAGTACGACGTCCTGGATAAGCGGAGAGGCCGGGA
CCCTGAGATGGGCGGCAAGCCTCGGCGGAAGAACCCCCAGGAAGGCCTGTATAACGAAC
TGCAGAAAGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGG
CGGGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTATCAGGGCCTGTCCACCGCCACCAAGGATACCTA
CGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCAAGGCTCGAGGGCGGCGGAGAGGGCAGA
GGAAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAGGAGAATCCAGGCCCTAGGATGCCACCTCCA
AGACTCCTCTTCTTCCTCCTCTTCCTGACACCAATGGAAGTCAGGCCTGAGGAACCTCTA
GTGGTGAAGGTGGAAGAGGGAGATAACGCTGTGTTACAGTGCCTCAAGGGAACCTCAG
ATGGACCCACTCAGCAGCTGACCTGGTCTCGGGAGTCTCCGCTTAAACCCTTCCTGAAA
CTCAGCCTTGGACTGCCAGGTCTGGGAATCCACATGAGGCCACTGGCTATCTGGCTGTT
CATCTTCAACGTCTCTCAACAGATGGGAGGCTTCTACCTGTGTCAGCCTGGACCACCTTC
TGAGAAGGCATGGCAGCCTGGTTGGACAGTCAATGTGGAGGGTTCTGGTGAGCTGTTCC
GGTGGAATGTTTCGGACCTAGGTGGACTGGGATGTGGTCTGAAGAACAGGTCCTCAGAG
GGACCTAGCTCTCCTTCCGGGAAGCTCATGAGCCCCAAGCTGTATGTGTGGGCCAAAGA
CCGCCCTGAGATCTGGGAGGGAGAGCCTCCGTGTGTCCCACCGAGGGACAGCCTGAAC
CAGAGCCTCAGCCAGGACCTCACCATGGCCCCTGGCTCCACACTCTGGCTGTCCTGTGG
GGTACCCCCTGACTCTGTGTCCAGGGGCCCCCTCTCCTGGACCCATGTGCACCCCAAGG
GGCCTAAGTCATTGCTGAGCCTAGAGCTGAAGGACGATCGCCCTGCCAGAGATATGTGG
GTAATGGAGACGGGTCTGTTGTTGCCCCGGGCCACAGCTCAAGACGCTGGAAAGTATTA
TTGTCACCGTGGCAACCTGACCATGTCATTCCACCTGGAGATCACTGCTCGGCCAGTACT
ATGGCACTGGCTGCTGAGGACTGGTGGCTGGAAGGTCTCAGCTGTGACTTTGGCTTATCT

图36续

GATCTTCTGCCTGTGTTCCCTTGTGGGCATTCTTCATCTTCAAAGAGCCCTGGTCCTGAG GAGGAAAAGATGA (SEQ ID NO: 42)

在以上序列内，EF1a启动子是第一个粗体序列；编码GM-CSFR信号肽的序列是第一个加下划线的序列；编码1H7-HvLv的序列是第一个斜体序列；编码IgG4铰链S10P的序列是第二个粗体序列；编码IgG4-int(DS)的序列是第二个加下划线的序列；编码CD28tm的序列是第二个斜体序列；编码4-1BB信号传导序列的序列是第三个粗体序列；编码CD3z的序列是第三个加下划线的序列；编码T2A的序列是第三个斜体序列；并且tCD19全序列是以上序列中的第四个粗体部分。

1H7-长-41bb-3z-T-CD19t正链

GGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCC CGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGG GGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAG AACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCA GAACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACGCGCCCGCCGCCCTACC TGAGGCCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTTCTGCCGCCTCCCGCCTGTGGTGCCTC CTGAACTGCGTCCGCCGTCTAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTC CGGCGCTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCCTGACCCTG CTTGCTCAACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGATCCAAGCTGT GACCGGCGCCTACGGCTAGCCACCATGCTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGA ACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTGATCCCC*CAAGTACAACTTCAACAAAGTGGAGCCGAA CTGGTAAAACCCGGAGCGTCTGTGAAGATTAGTTGCAAGGCATCCGGTTACGCCTTCTCAA ATTATTGGATGAACTGGGTAAAGCAGCGGCCCGGAAAGGGTCTCGAGTGGATTGGGCAAA TCAACCCAGGGGACGGGGATACGAACTACAACGGTAAGTTCAAAGGCAAGGCTACGTTGA CGGCTGATAAGAGCTCAAGCACCGCTTACATGCAGTTGTCTTCTTTGACAAGTGAGGATAG TGCCGTTTACTTCTGCGCCCGAGAGGACCGAGATTATTTTGATTATTGGGGCCAGGGAACA ACTCTCACCGTCAGCTCCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAG GATCTGATATTCAGATGACCCAAACTACGAGTTCCCTGTCTGCCAGCCTTGGCGACCGGGT CACAATTAGTTGCAGGGCTTCTCAGGATATCAACTACTATTTGAACTGGTACCAGCAGAAA CCTGATGGGACGGTCAAACTTCTCATCTACTATTCATCCAGACTGCACAGTGGCGTACCGT CTAGATTCTCAGGAAGCGGCAGTGGTACGGATTTTAGTCTTACCATTAGTAATCTGGAACA GGAGGACATCGCCACGTATTTTTGCCAGCAGGATGACGCACTGCCCTATACCTTCGGCGG AGGCACTAAGTTGGAGATAAAA**GAGTCTAAGTACGGACCGCCTTGCCCACCGTGCCCA**G CACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCACCAAAACCCAAGGACACCCTGA TGATCAGCCGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGATCCC GAGGTCCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCC AGAGAGGAACAGTTCCAAAGCACCTACCGGGTGGTGTCTGTGCTGACCGTGCTGCACCAG GACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCAGC ATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTACACCCT GCCTCCCTCCCAGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGG GCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCTGAGAACAAC TACAAGACCACCCCTCCCGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCCGGCTG ACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTCTTTAGCTGCAGCGTGATGCACGA GGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCTGGGCAAG*ATG***TTCTG GGTGCTGGTGGTGGTGGGCGGGGTGCTGGCCTGCTACAGCCTGCTGGTGACAGTGGCC TTCATCATCTTTTGGGTG**AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATT TATGAGACCAGTACAAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAA

图36续

GAAGAAGGAGGATGTGAACTGCGGGTGAAGTTCAGCAGAAGCGCCGACGCCCCTGCCTA
CCAGCAGGGCCAGAATCAGCTGTACAACGAGCTGAACCTGGGCAGAAGGGAAGAGTACG
ACGTCCTGGATAAGCGGAGAGGCCGGGACCCTGAGATGGGCGGCAAGCCTCGGCGGAA
GAACCCCCAGGAAGGCCTGTATAACGAACTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAGGCCTACAG
CGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGGCGGGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTATCAG
GGCCTGTCCACCGCCACCAAGGATACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCC
AAGG**CTCGAGGGCGGCGGAGAGGGCAGAGGAAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAG**
GAGAATCCAGGCCCTAGGATGCCACCTCCAAGACTCCTCTTCTTCCTCCTCTTCCTGACAC
CAATGGAAGTCAGGCCTGAGGAACCTCTAGTGGTGAAGGTGGAAGAGGGAGATAACGCTG
TGTTACAGTGCCTCAAGGGAACCTCAGATGGACCCACTCAGCAGCTGACCTGGTCTCGGG
AGTCTCCGCTTAAACCCTTCCTGAAACTCAGCCTTGGACTGCCAGGTCTGGGAATCCACAT
GAGGCCACTGGCTATCTGGCTGTTCATCTTCAACGTCTCTCAACAGATGGGAGGCTTCTAC
CTGTGTCAGCCTGGACCACCTTCTGAGAAGGCATGGCAGCCTGGTTGGACAGTCAATGTG
GAGGGTTCTGGTGAGCTGTTCCGGTGGAATGTTTCGGACCTAGGTGGACTGGGATGTGGT
CTGAAGAACAGGTCCTCAGAGGGACCTAGCTCTCCTTCCGGGAAGCTCATGAGCCCCAAG
CTGTATGTGTGGGCCAAAGACCGCCCTGAGATCTGGGAGGGAGAGCCTCCGTGTGTCCC
ACCGAGGGACAGCCTGAACCAGAGCCTCAGCCAGGACCTCACCATGGCCCCTGGCTCCA
CACTCTGGCTGTCCTGTGGGGTACCCCCTGACTCTGTGTCCAGGGGCCCCCTCTCCTGGA
CCCATGTGCACCCCAAGGGGCCTAAGTCATTGCTGAGCCTAGAGCTGAAGGACGATCGCC
CTGCCAGAGATATGTGGGTAATGGAGACGGGTCTGTTGTTGCCCCGGGCCACAGCTCAAG
ACGCTGGAAAGTATTATTGTCACCGTGGCAACCTGACCATGTCATTCCACCTGGAGATCAC
TGCTCGGCCAGTACTATGGCACTGGCTGCTGAGGACTGGTGGCTGGAAGGTCTCAGCTGT
GACTTTGGCTTATCTGATCTTCTGCCTGTGTTCCCTTGTGGGCATTCTTCATCTTCAAAGAG
CCCTGGTCCTGAGGAGGAAAAGATGA (SEQ ID NO: 43)

在以上序列内，EF1p是第一个粗体序列；编码GM-CSFR信号肽的序列是第一个加下划线的序列；编码1H7_HvLv的序列是第一个斜体序列；编码IgG4铰链S10P的序列是第二个粗体序列；编码IgG4-长(2NQ)的序列是第二个加下划线的序列；编码糖基化位点的序列是第二个斜体序列；编码CD28TM的序列是第三个粗体序列；编码4-1BB的序列是第三个加下划线的序列；编码CD3z的序列是第三个斜体序列；编码T2A的序列是第四个粗体的序列；并且tCD19全序列是以上序列中的第四个加下划线的序列部分。

1H7-sh-41bb-3z-T-CD19t正链

GGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCC
CGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGG
GGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAG
AACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCA
GAACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACGCGCCCGCCGCCCTACC
TGAGGCCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTTCTGCCGCCTCCCGCCTGTGGTGCCTC
CTGAACTGCGTCCGCCGTCTAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTC
CGGCGCTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCCTGACCCTG
CTTGCTCAACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGATCCAAGCTGT
GACCGGCGCCTACGGCTAGCCACCATGCTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGA
ACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTGATCCCC*CAAGTACAACTTCAACAAAGTGGAGCCGAA*
CTGGTAAAACCCGGAGCGTCTGTGAAGATTAGTTGCAAGGCATCCGGTTACGCCTTCTCAA
ATTATTGGATGAACTGGGTAAAGCAGCGGCCCGGAAAGGGTCTCGAGTGGATTGGGCAAA
TCAACCCAGGGGACGGGGATACGAACTACAACGGTAAGTTCAAAGGCAAGGCTACGTTGA

图36续

CGGCTGATAAGAGCTCAAGCACCGCTTACATGCAGTTGTCTTCTTTGACAAGTGAGGATAG
TGCCGTTTACTTCTGCGCCCGAGAGGACCGAGATTATTTTGATTATTGGGGCCAGGGAACA
ACTCTCACCGTCAGCTCCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAG
GATCTGATATTCAGATGACCCAAACTACGAGTTCCCTGTCTGCCAGCCTTGGCGACCGGGT
CACAATTAGTTGCAGGGCTTCTCAGGATATCAACTACTATTTGAACTGGTACCAGCAGAAA
CCTGATGGGACGGTCAAACTTCTCATCTACTATTCATCCAGACTGCACAGTGGCGTACCGT
CTAGATTCTCAGGAAGCGGCAGTGGTACGGATTTTAGTCTTACCATTAGTAATCTGGAACA
GGAGGACATCGCCACGTATTTTTGCCAGCAGGATGACGCACTGCCCTATACCTTCGGCGG
*AGGCACTAAGTTGGAGATAAAA***GAGTCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCCTTGCCCT**AT
GTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTCGGAGGCGTGCTGGCCTGCTACAGCCTGCTGGTCACCG
TGGCCTTCATCATCTTTTGGGTG*AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAA*
CCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAG
*AAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG***CGGGTGAAGTTCAGCAGAAGCGCCGACGCCCCT**
GCCTACCAGCAGGGCCAGAATCAGCTGTACAACGAGCTGAACCTGGGCAGAAGGGAAG
AGTACGACGTCCTGGATAAGCGGAGAGGCCGGGACCCTGAGATGGGCGGCAAGCCTCG
GCGGAAGAACCCCCAGGAAGGCCTGTATAACGAACTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAG
GCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGGCGGGGCAAGGGCCACGACGGC
CTGTATCAGGGCCTGTCCACCGCCACCAAGGATACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGC
CCTGCCCCCAAGGCTCGAGGGCGGCGGAGAGGGCAGAGGAAGTCTTCTAACATGCGGTG
ACGTGGAGGAGAATCCAGGCCCTAGG*ATGCCACCTCCAAGACTCCTCTTCTTCCTCCTCTT*
CCTGACACCAATGGAAGTCAGGCCTGAGGAACCTCTAGTGGTGAAGGTGGAAGAGGGAG
ATAACGCTGTGTTACAGTGCCTCAAGGGAACCTCAGATGGACCCACTCAGCAGCTGACCT
GGTCTCGGGAGTCTCCGCTTAAACCCTTCCTGAAACTCAGCCTTGGACTGCCAGGTCTGG
GAATCCACATGAGGCCACTGGCTATCTGGCTGTTCATCTTCAACGTCTCTCAACAGATGGG
AGGCTTCTACCTGTGTCAGCCTGGACCACCTTCTGAGAAGGCATGGCAGCCTGGTTGGAC
AGTCAATGTGGAGGGTTCTGGTGAGCTGTTCCGGTGGAATGTTTCGGACCTAGGTGGACT
GGGATGTGGTCTGAAGAACAGGTCCTCAGAGGGACCTAGCTCTCCTTCCGGGAAGCTCAT
GAGCCCCAAGCTGTATGTGTGGGCCAAAGACCGCCCTGAGATCTGGGAGGGAGAGCCTC
CGTGTGTCCCACCGAGGGACAGCCTGAACCAGAGCCTCAGCCAGGACCTCACCATGGCC
CCTGGCTCCACACTCTGGCTGTCCTGTGGGGTACCCCCTGACTCTGTGTCCAGGGGCCCC
CTCTCCTGGACCCATGTGCACCCCAAGGGGCCTAAGTCATTGCTGAGCCTAGAGCTGAAG
GACGATCGCCCTGCCAGAGATATGTGGGTAATGGAGACGGGTCTGTTGTTGCCCCGGGC
CACAGCTCAAGACGCTGGAAAGTATTATTGTCACCGTGGCAACCTGACCATGTCATTCCAC
CTGGAGATCACTGCTCGGCCAGTACTATGGCACTGGCTGCTGAGGACTGGTGGCTGGAAG
GTCTCAGCTGTGACTTTGGCTTATCTGATCTTCTGCCTGTGTTCCCTTGTGGGCATTCTTCA
TCTTCAAAGAGCCCTGGTCCTGAGGAGGAAAAGATGA (SEQ ID NO: 44)

在以上序列内，EF1a启动子是第一个粗体序列；编码GM-CSFR信号肽的序列是第一个加下划线的序列；编码1H7_HvLv的序列是第一个斜体序列；编码IgG4铰链S10P的序列是第二个粗体序列；编码CD28-TM的序列是第二个加下划线的序列；编码4-1BB的序列是第二个斜体序列；编码CD3Z的序列是第三个粗体序列；编码T2A的序列是第三个加下划线的序列；并且tCD19全序列是以上序列中的第三个斜体序列部分。

6H9-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链

GGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCC
CGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGG
GGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAG
AACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCA

图36续

GAACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACGCGCCCGCCGCCCTACC
TGAGGCCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTTCTGCCGCCTCCCGCCTGTGGTGCCTC
CTGAACTGCGTCCGCCGTCTAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTC
CGGCGCTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCCTGACCCTG
CTTGCTCAACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGATCCAAGCTGT
GACCGGCGCCTACGGCTAGCCACCATGCTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGA
ACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTGATCCCCGAAGTTATGCTCGTTGAAAGCGGTGGAGG
TCTCGTCAAACCCGGTGGCAGTCTGAAGTTGAGCTGTGCAGCTTCAGGTTTCACTTTCAGC
AGCTACACAATGTCATGGGTTCGGCAGACACCAGAGAAGCGCTTGGAATGGGTCGCTACG
ATTTCCGGCGATGGAGGCAACACCTATTATTCAGACTCAGTGAAAGGACGATTTACAATTT
CACGGGACAACGCGAAAAATACGCTTTACCTTCAAATGTCCTCACTTCGATCTGAAGATAC
CGCTCTTTACTATTGCGCTCGACAAGGAACTGGAACGGATTACTTCGACTACTGGGGACAA
GGCACCACTCTTACGGTCTCTTCTGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGG
AGGAGGATCTGATATACAGATGACACAGACCACATCATCCTTGTCTGCCAGTCTGGGCGAC
CGGGTAACTATCAGTTGCAGAGCGTCTCAGGATATAAACATTTATCTCAATTGGTATCAACA
GAAACCGGACGGTACAGTAAAGTTGCTCATTTACTACACAAGCAGATTGCACAGTGGCGTG
CCGAGTAGATTTTCTGGGTCAGGTAGCGGAACTGATTACAGTTTGACCATCTCTAATTTGG
AACAGGAGGATATTGCGACTTACTTTTGTCAACAGGGAGATACACTTCCATGGACATTTGG
CGGGGGGACCAAACTCGAAATTAAGGAGTCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCCTTGCC
CTGGCCAGCCTAGAGAACCCCAGGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAGGAAGAGATGACCA
AGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGG
AATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGAC
AGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACTCCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGA
AGGCAACGTCTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA
GTCCCTGAGCCTGAGCCTGGGCAAGATGTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTCGGAGGCGTGC
TGGCCTGCTACAGCCTGCTGGTCACCGTGGCCTTCATCATCTTTTGGGTGAAACGGGGCA
GAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGCG
GGTGAAGTTCAGCAGAAGCGCCGACGCCCCTGCCTACCAGCAGGGCCAGAATCAGCTGT
ACAACGAGCTGAACCTGGGCAGAAGGGAAGAGTACGACGTCCTGGATAAGCGGAGAGGC
CGGGACCCTGAGATGGGCGGCAAGCCTCGGCGGAAGAACCCCCAGGAAGGCCTGTATAA
CGAACTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGC
GGAGGCGGGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTATCAGGGCCTGTCCACCGCCACCAAGGAT
ACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCAAGGCTCGAGGGCGGCGGAGAGG
GCAGAGGAAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAGGAGAATCCAGGCCCTAGGATGCCA
CCTCCAAGACTCCTCTTCTTCCTCCTCTTCCTGACACCAATGGAAGTCAGGCCTGAGGAA
CCTCTAGTGGTGAAGGTGGAAGAGGGAGATAACGCTGTGTTACAGTGCCTCAAGGGAAC
CTCAGATGGACCCACTCAGCAGCTGACCTGGTCTCGGGAGTCTCCGCTTAAACCCTTCCT
GAAACTCAGCCTTGGACTGCCAGGTCTGGGAATCCACATGAGGCCACTGGCTATCTGGC
TGTTCATCTTCAACGTCTCTCAACAGATGGGAGGCTTCTACCTGTGTCAGCCTGGACCAC
CTTCTGAGAAGGCATGGCAGCCTGGTTGGACAGTCAATGTGGAGGGTTCTGGTGAGCTG
TTCCGGTGGAATGTTTCGGACCTAGGTGGACTGGGATGTGGTCTGAAGAACAGGTCCTC
AGAGGGACCTAGCTCTCCTTCCGGGAAGCTCATGAGCCCCAAGCTGTATGTGTGGGCCA
AAGACCGCCCTGAGATCTGGGAGGGAGAGCCTCCGTGTGTCCCACCGAGGGACAGCCT
GAACCAGAGCCTCAGCCAGGACCTCACCATGGCCCCTGGCTCCACACTCTGGCTGTCCT
GTGGGGTACCCCCTGACTCTGTGTCCAGGGGCCCCCTCTCCTGGACCCATGTGCACCCC
AAGGGGCCTAAGTCATTGCTGAGCCTAGAGCTGAAGGACGATCGCCCTGCCAGAGATAT
GTGGGTAATGGAGACGGGTCTGTTGTTGCCCCGGGCCACAGCTCAAGACGCTGGAAAGT
ATTATTGTCACCGTGGCAACCTGACCATGTCATTCCACCTGGAGATCACTGCTCGGCCAG

图36续

TACTATGGCACTGGCTGCTGAGGACTGGTGGCTGGAAGGTCTCAGCTGTGACTTTGGCTT ATCTGATCTTCTGCCTGTGTTCCCTTGTGGGCATTCTTCATCTTCAAAGAGCCCTGGTCCT GAGGAGGAAAAGATGA (SEQ ID NO: 45)

在以上序列内，EF1启动子是第一个粗体序列；编码GM-CSFR信号肽的序列是第一个加下划线的序列；编码6H9_HvLv的序列是第一个斜体序列；编码IgG4铰链S10P的序列是第二个粗体序列；编码IgG4-int(DS)的序列是第二个加下划线的序列；编码CD28tm的序列是第二个斜体序列；编码4-1BB信号传导序列的序列是第三个粗体序列；编码CD3z的序列是第三个加下划线的序列；编码T2A的序列是第三个斜体序列；并且tCD19全序列是以上序列中的第四个粗体部分。

9G2-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链

GGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCC CGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGG GGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAG AACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCA GAACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACGCGCCCGCCGCCCTACC TGAGGCCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTTCTGCCGCCTCCCGCCTGTGGTGCCTC CTGAACTGCGTCCGCCGTCTAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTC CGGCGCTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCCTGACCCTG CTTGCTCAACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGATCCAAGCTGT GACCGGCGCCTACGGCTAGCCACC<u>ATGCTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGA</u>

<u>ACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTGATCCCC</u>*GAGGTCAAGCTTGTCGAGTCAGAGGGAGG*

*TTTGGTCCAGCCGGGTTCTTCTATGAAACTCTCCTGCACAGCCAGTGGCTTTACATTTAGT GATTACTACATGAGTTGGGTGAGACAGGTGCCTGAGAAAGGGCTGGAGTGGGTAGCTTCC ATTAACTACGACGGAGGTAGCACCTATTACTTGGACTCCTTGAAAAGCAGATTCATAATTTC CAGGGATAATACGAAAAACATACTTTATCTTCAAATGTCCTCTTTGAAGAGCGAGGACACAG CCACATACTATTGCGCCAGGGATAGAGGCGATGGTGATTATTTTGACTATTGGGGACAGG GCACAACACTCACGGTCAGCAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGG AGGAGGATCTGATATACAAATGACTCAGACAACGAGCAGTTTGTCCGCATCTCTTGGCGAT CGAGTAACTATTAGCTGCAAGACATCCCAGGACATATATAATTATTTGAATTGGTATCAGCA GAAACCGGACGGAACTGTCAAACTCCTCATTTATTATACCTCCAGGCTTCATAGTGGGGTT CCTTCCCGATTTAGTGGAGGAGGCTCAGGTACGGACTACAGCCTGACGATTTCCAACCTT GAACAAGAAGATATAGCTACATACTTCTGTCAGCAAGGTGACACCTTGCCCTGGACATTCG GTGGGGGTACAAAACTCGAAATAAAG***GAGTCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCCTTGCC CT***<u>GGCCAGCCTAGAGAACCCCAGGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAGGAAGAGATGACCA AGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGG AATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGAC AGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACTCCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGA AGGCAACGTCTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCTGGGCAAG</u>*ATGTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTCGGAGGCGTGC*

*TGGCCTGCTACAGCCTGCTGGTCACCGTGGCCTTCATCATCTTTTGGGTG***AAACGGGGCA GAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAG AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG**<u>CG GGTGAAGTTCAGCAGAAGCGCCGACGCCCCTGCCTACCAGCAGGGCCAGAATCAGCTGT ACAACGAGCTGAACCTGGGCAGAAGGGAAGAGTACGACGTCCTGGATAAGCGGAGAGGC CGGGACCCTGAGATGGGCGGCAAGCCTCGGCGGAAGAACCCCCAGGAAGGCCTGTATAA CGAACTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGC</u>

图36续

GGAGGCGGGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTATCAGGGCCTGTCCACCGCCACCAAGGAT
ACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCAAGGCTCGAGGGCGGCGGAGAGG
GCAGAGGAAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAGGAGAATCCAGGCCCTAGGATGCCA
CCTCCAAGACTCCTCTTCTTCCTCCTCTTCCTGACACCAATGGAAGTCAGGCCTGAGGAA
CCTCTAGTGGTGAAGGTGGAAGAGGGAGATAACGCTGTGTTACAGTGCCTCAAGGGAAC
CTCAGATGGACCCACTCAGCAGCTGACCTGGTCTCGGGAGTCTCCGCTTAAACCCTTCCT
GAAACTCAGCCTTGGACTGCCAGGTCTGGGAATCCACATGAGGCCACTGGCTATCTGGC
TGTTCATCTTCAACGTCTCTCAACAGATGGGAGGCTTCTACCTGTGTCAGCCTGGACCAC
CTTCTGAGAAGGCATGGCAGCCTGGTTGGACAGTCAATGTGGAGGGTTCTGGTGAGCTG
TTCCGGTGGAATGTTTCGGACCTAGGTGGACTGGGATGTGGTCTGAAGAACAGGTCCTC
AGAGGGACCTAGCTCTCCTTCCGGGAAGCTCATGAGCCCCAAGCTGTATGTGTGGGCCA
AAGACCGCCCTGAGATCTGGGAGGGAGAGCCTCCGTGTGTCCCACCGAGGGACAGCCT
GAACCAGAGCCTCAGCCAGGACCTCACCATGGCCCCTGGCTCCACACTCTGGCTGTCCT
GTGGGGTACCCCCTGACTCTGTGTCCAGGGGCCCCCTCTCCTGGACCCATGTGCACCCC
AAGGGGCCTAAGTCATTGCTGAGCCTAGAGCTGAAGGACGATCGCCCTGCCAGAGATAT
GTGGGTAATGGAGACGGGTCTGTTGTTGCCCCGGGCCACAGCTCAAGACGCTGGAAAGT
ATTATTGTCACCGTGGCAACCTGACCATGTCATTCCACCTGGAGATCACTGCTCGGCCAG
TACTATGGCACTGGCTGCTGAGGACTGGTGGCTGGAAGGTCTCAGCTGTGACTTTGGCTT
ATCTGATCTTCTGCCTGTGTTCCCTTGTGGGCATTCTTCATCTTCAAAGAGCCCTGGTCCT
GAGGAGGAAAAGATGA (SEQ ID NO: 46)

在以上序列内，EF1启动子是第一个粗体序列；编码GM-CSFR信号肽的序列是第一个加下划线的序列；编码9G2_HvLv的序列是第一个斜体序列；编码IgG4铰链S10P的序列是第二个粗体序列；编码IgG4-int(DS)的序列是第二个加下划线的序列；编码CD28tm的序列是第二个斜体序列；编码4-1BB信号传导序列的序列是第三个粗体序列；编码CD3z的序列是第三个加下划线的序列；编码T2A的序列是第三个斜体序列；并且tCD19全序列是以上序列中的第四个粗体序列部分。

5D12-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链

GGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCC
CGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGG
GGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAG
AACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCA
GAACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACGCGCCCGCCGCCCTACC
TGAGGCCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTTCTGCCGCCTCCCGCCTGTGGTGCCTC
CTGAACTGCGTCCGCCGTCTAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTC
CGGCGCTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCCTGACCCTG
CTTGCTCAACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGATCCAAGCTGT
GACCGGCGCCTACGGCTAGCCACCATGCTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGA
ACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTGATCCCCCAAGTTCAGTTGCAACAATCAGGTGCTGAG
GTGGTAAAGCCAGGTGCCAGTGTCAAAATATCTTGCCGGGCGTCTGGTTATGCGTTCTCCA
ACTATTGGATGAACTGGGTAAAACAACGCCCAGGTAAGGGACTCGAGTGGATAGGACAAA
TATACCCAGGCAACTTCAACACAGACTACAATGGTCAATTCAAGGGAAAGGCTACTCTTAC
AGTCGATAAATCTTCAAACACGGCTTACATGCAGTTGTCCTCCTTGACCTCCGAGGATTCA
GCAGTCTATTTCTGTGCCCGATTCTTTGATTTTGGCGCTTATTTTACGTTGGATTATTGGGG
CCAAGGGACATCTGTCACAGTTTCCTCCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTG
GAGGAGGAGGATCTGATATAAAGATGACTCAGTCACCCAGCAGTATATACGCTAGTCTGG
GAGAAAGGGTCACGATAAATTGTAAGGCTTCACAAGACATAAAAAGTTATCTTTCATGGTAT

图36续

CAACAGAAACCCTGGAAAAGCCCCAAGACCCTTATCTACTACGCTACGACTCTTGCAGATG
GTGTACCAAGTCGGTTTTCCGGGAGCGGCTCCGGGCAAGACTATTCTTTGACAATTTCCTC
TTTGGAGTCCGATGATACCGCAACCTACTACTGCCTGCATCACGGTGAGTCACCATGGACA
*TTTGGCGAAGGGACAAAGCTTGAAATAAAG***GAGTCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCCT**
TGCCCTGGCCAGCCTAGAGAACCCCAGGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAGGAAGAGAT
GACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGATATCGC
CGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGC
TGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACTCCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGG
CAGGAAGGCAACGTCTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACC
CAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCTGGGCAAG*ATGTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTCGGAGG*
*CGTGCTGGCCTGCTACAGCCTGCTGGTCACCGTGGCCTTCATCATCTTTTGGGTG***AAACG**
GGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTAC
TCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAA
CTGCGGGTGAAGTTCAGCAGAAGCGCCGACGCCCCTGCCTACCAGCAGGGCCAGAATCA
GCTGTACAACGAGCTGAACCTGGGCAGAAGGGAAGAGTACGACGTCCTGGATAAGCGGA
GAGGCCGGGACCCTGAGATGGGCGGCAAGCCTCGGCGGAAGAACCCCCAGGAAGGCCT
GTATAACGAACTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGG
CGAGCGGAGGCGGGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTATCAGGGCCTGTCCACCGCCACC
AAGGATACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCAAGG*CTCGAGGGCGGCGG*
*AGAGGGCAGAGGAAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAGGAGAATCCAGGCCCTAGG***A**
TGCCACCTCCAAGACTCCTCTTCTTCCTCCTCTTCCTGACACCAATGGAAGTCAGGCCTG
AGGAACCTCTAGTGGTGAAGGTGGAAGAGGGAGATAACGCTGTGTTACAGTGCCTCAAG
GGAACCTCAGATGGACCCACTCAGCAGCTGACCTGGTCTCGGGAGTCTCCGCTTAAACC
CTTCCTGAAACTCAGCCTTGGACTGCCAGGTCTGGGAATCCACATGAGGCCACTGGCTA
TCTGGCTGTTCATCTTCAACGTCTCTCAACAGATGGGAGGCTTCTACCTGTGTCAGCCTG
GACCACCTTCTGAGAAGGCATGGCAGCCTGGTTGGACAGTCAATGTGGAGGGTTCTGGT
GAGCTGTTCCGGTGGAATGTTTCGGACCTAGGTGGACTGGGATGTGGTCTGAAGAACAG
GTCCTCAGAGGGACCTAGCTCTCCTTCCGGGAAGCTCATGAGCCCCAAGCTGTATGTGT
GGGCCAAAGACCGCCCTGAGATCTGGGAGGGAGAGCCTCCGTGTGTCCCACCGAGGGA
CAGCCTGAACCAGAGCCTCAGCCAGGACCTCACCATGGCCCCTGGCTCCACACTCTGGC
TGTCCTGTGGGGTACCCCCTGACTCTGTGTCCAGGGGCCCCCTCTCCTGGACCCATGTG
CACCCCAAGGGGCCTAAGTCATTGCTGAGCCTAGAGCTGAAGGACGATCGCCCTGCCA
GAGATATGTGGGTAATGGAGACGGGTCTGTTGTTGCCCCGGGCCACAGCTCAAGACGCT
GGAAAGTATTATTGTCACCGTGGCAACCTGACCATGTCATTCCACCTGGAGATCACTGCT
CGGCCAGTACTATGGCACTGGCTGCTGAGGACTGGTGGCTGGAAGGTCTCAGCTGTGAC
TTTGGCTTATCTGATCTTCTGCCTGTGTTCCCTTGTGGGCATTCTTCATCTTCAAAGAGCC
CTGGTCCTGAGGAGGAAAAGATGA (SEQ ID NO: 47)

在以上序列内，EF1启动子是第一个粗体序列；编码GM-CSFR信号肽的序列是第一个加下划线的序列；编码5D12_HvLv的序列是第一个斜体序列；编码IgG4铰链S10P的序列是第二个粗体序列；编码IgG4-int(DS)的序列是第二个加下划线的序列；编码CD28tm的序列是第二个斜体序列；编码4-1BB信号传导序列的序列是第三个粗体序列；编码CD3z的序列是第三个加下划线的序列；编码T2A的序列是第三个斜体序列；并且tCD19全序列是以上序列中的第四个粗体序列部分。

CD33:CD22 4D蛋白质(CD33信号肽以粗体斜体显示；6-组氨酸标签加下划线；3x甘氨酸连接子以斜体、粗体及下划线显示；CD33细胞外结构域是正常字体；CD22细胞外结构域中

图36续

含有定义为Ig样C2型3、Ig样C2型4、Ig样C2型5、Ig样C2型6的CD22结构域的部分以粗体显示； CD33跨膜结构域加双下划线；并且CD33细胞内结构域以斜体显示):

MPLLLLLPLLWAGALAMHHHHHH***GGG***DPNFWLQVQESVTVQEGLCVLVPCTFFHPIPYYDK
NSPVHGYWFREGAIISRDSPVATNKLDQEVQEETQGRFRLLGDPSRNNCSLSIVDARRRDNGS
YFFRMERGSTKYSYKSPQLSVHVTDLTHRPKILIPGTLEPGHSKNLTCSVSWACEQGTPPIFSW
LSAAPTSLGPRTTHSSVLIITPRPQDHGTNLTCQVKFAGAGVTTERTIQLNVTYVPQNPTTGIFP
GDGSGKQETRAGVVH**PEPSTVQILHSPAVEGSQVEFLCMSLANPLPTNYTWYHNGKEMQGR
TEEKVHIPKILPWHAGTYSCVAENILGTGQRGPGAELDVQYPPKKVTTVIQNPMPIREGDTVTL
SCNYNSSNPSVTRYEWKPHGAWEEPSLGVLKIQNVGWDNTTIACAACNSWCSWASPVALN
VQYAPRDVRVRKIKPLSEIHSGNSVSLQCDFSSSHPKEVQFFWEKNGRLLGKESQLNFDSISP
EDAGSYSCWVNNSIGQTASKAWTLEVLYAPRRLRVSMSPGDQVMEGKSATLTCESDANPPV
SHYTWFDWNNQSLPYHSQKLRLEPVKVQHSGAYWCQGTNSVGKGRSPLSTLTVYYSPETG**
AIGGAGVTALLALCLCLIFFIV*KTHRRKAARTAVGRNDTHPTTGSASPKHQKKSKLHGPTETSSC
SGAAPTVEMDEELHYASLNFHGMNPSKDTSTEYSEVRTQ* (SEQ ID NO: 105)

CD33:CD22 4D核苷酸(*CD33信号肽以粗体斜体显示*；6-组氨酸标签加下划线；3x甘氨酸连接子以斜体、粗体及下划线显示； CD33细胞外结构域是正常字体；**CD22细胞外结构域中含有定义为Ig样C2型3、Ig样C2型4、Ig样C2型5、Ig样C2型6的CD22结构域的部分以粗体显示；** CD33跨膜结构域加双下划线；并且CD33细胞内结构域以斜体显示):

ATGCCTCTGCTGCTACTGCTACCTCTGCTGTGGGCTGGAGCCCTGGCTATGCATCATCAC
CACCATCAC***GGCGGCGGC***GATCCAAATTTCTGGCTGCAAGTGCAGGAGTCAGTGACGGTA
CAGGAGGGTTTGTGCGTCCTCGTGCCCTGCACTTTCTTCCATCCCATACCCTACTACGACA
AGAACTCCCCAGTTCATGGTTACTGGTTCCGGGAAGGAGCCATTATATCCAGGGACTCTCC
AGTGGCCACAAACAAGCTAGATCAAGAAGTACAGGAGGAGACTCAGGGCAGATTCCGCCT
CCTTGGGGATCCCAGTAGGAACAACTGCTCCCTGAGCATCGTAGACGCCAGGAGGAGGG
ATAATGGTTCATACTTCTTTCGGATGGAGAGAGGAAGTACCAAATACAGTTACAAATCTCCC
CAGCTCTCTGTGCATGTGACAGACTTGACCCACAGGCCCAAAATCCTCATCCCTGGCACTC
TAGAACCCGGCCACTCCAAAAACCTGACCTGCTCTGTGTCCTGGGCCTGTGAGCAGGGAA
CACCCCCGATCTTCTCCTGGTTGTCAGCTGCCCCCACCTCCCTGGGCCCCAGGACTACTC
ACTCCTCGGTGCTCATAATCACCCCACGGCCCCAGGACCACGGCACCAACCTGACCTGTC
AGGTGAAGTTCGCTGGAGCTGGTGTGACTACGGAGAGAACCATCCAGCTGAACGTCACCT
ATGTTCCACAGAACCCAACAACTGGTATCTTTCCAGGAGATGGCTCAGGGAAACAAGAGAC
CAGAGCAGGAGTGGTTCAT**CCGGAACCTTCCACGGTTCAGATCCTCCACTCACCGGCTGT
GGAGGGAAGTCAAGTCGAGTTTCTTTGCATGTCACTGGCCAATCCTCTTCCAACAAATTA
CACGTGGTACCACAATGGGAAAGAAATGCAGGGAAGGACAGAGGAGAAAGTCCACATC
CCAAAGATCCTCCCTTGGCACGCTGGGACTTATTCCTGTGTGGCAGAAAACATTCTTGGT
ACTGGACAGAGGGGCCCTGGAGCTGAGCTGGATGTCCAGTATCCTCCCAAGAAGGTGA
CCACAGTGATTCAAAACCCCATGCCGATTCGAGAAGGAGACACAGTGACCCTTTCCTGT
AACTACAATTCCAGTAACCCCAGTGTTACCCGGTATGAATGGAAACCCCATGGCGCCTG
GGAGGAGCCATCGCTTGGGGTGCTGAAGATCCAAAACGTTGGCTGGGACAACACAACC
ATCGCCTGCGCAGCTTGTAATAGTTGGTGCTCGTGGGCCTCCCCTGTCGCCCTGAATGTC
CAGTATGCCCCCCGAGACGTGAGGGTCCGGAAAATCAAGCCCCTTTCCGAGATTCACTC
TGGAAACTCGGTCAGCCTCCAATGTGACTTCTCAAGCAGCCACCCCAAAGAAGTCCAGT
TCTTCTGGGAGAAAAATGGCAGGCTTCTGGGGAAAGAAAGCCAGCTGAATTTTGACTCC
ATCTCCCCAGAAGATGCTGGGAGTTACAGCTGCTGGGTGAACAACTCCATAGGACAGAC
AGCGTCCAAGGCCTGGACACTTGAAGTGCTGTATGCACCCAGGAGGCTGCGTGTGTCCA

图36续

TGAGCCCAGGGGACCAAGTGATGGAGGGGAAGAGTGCAACCCTGACCTGTGAGAGCGA
CGCCAACCCTCCCGTCTCCCACTACACCTGGTTTGACTGGAATAACCAAAGCCTCCCCTA
CCACAGCCAGAAGCTGAGATTGGAGCCGGTGAAGGTCCAGCACTCGGGTGCCTACTGG
TGCCAGGGGACCAACAGTGTGGGCAAGGGCCGTTCGCCTCTCAGCACCCTCACCGTCTA
CTATAGCCCGGAGACCGGGGCCATTGGAGGAGCTGGTGTTACAGCCCTGCTCGCTCTTT
GTCTCTGCCTCATCTTCTTCATAGTGAAGACCCACAGGAGGAAAGCAGCCAGGACAGCAG
TGGGCAGGAATGACACCCACCCTACCACAGGGTCAGCCTCCCCGAAACACCAGAAGAAGT
CCAAGTTACATGGCCCCACTGAAACCTCAAGCTGTTCAGGTGCCGCCCCTACTGTGGAGA
TGGATGAGGAGCTGCATTATGCTTCCCTCAACTTTCATGGGATGAATCCTTCCAAGGACAC
CTCCACCGAATACTCAGAGGTCAGGACCCAG (SEQ ID NO: 106)

CD33:CD22 2D蛋白质(CD33信号肽以粗体斜体显示；6-组氨酸标签加下划线；3x甘氨酸连接子以斜体、粗体及下划线显示；CD33细胞外结构域是正常字体；CD22细胞外结构域中含有定义为Ig样C2型5、Ig样C2型6的CD22结构域的部分以粗体显示；CD33跨膜结构域加双下划线；并且CD33细胞内结构域以斜体显示):

MPLLLLLPLLWAGALAMHHHHHH***GGG***DPNFWLQVQESVTVQEGLCVLVPCTFFHPIPYYDK
NSPVHGYWFREGAIISRDSPVATNKLDQEVQEETQGRFRLLGDPSRNNCSLSIVDARRRDNGS
YFFRMERGSTKYSYKSPQLSVHVTDLTHRPKILIPGTLEPGHSKNLTCSVSWACEQGTPPIFSW
LSAAPTSLGPRTTHSSVLIITPRPQDHGTNLTCQVKFAGAGVTTERTIQLNVTYVPQNPTTGIFP
GDGSGKQETRAGVVH**PRDVRVRKIKPLSEIHSGNSVSLQCDFSSSHPKEVQFFWEKNGRLLG
KESQLNFDSISPEDAGSYSCWVNNSIGQTASKAWTLEVLYAPRRLRVSMSPGDQVMEGKSA
TLTCESDANPPVSHYTWFDWNNQSLPYHSQKLRLEPVKVQHSGAYWCQGTNSVGKGRSPL
STLTVYYSPET**GAIGGAGVTALLALCLCLIFFIV*KTHRRKAARTAVGRNDTHPTTGSASPKHQKK
SKLHGPTETSSCSGAAPTVEMDEELHYASLNFHGMNPSKDTSTEYSEVRTQ* (SEQ ID NO:
107)

CD33:CD22 2D核苷酸(CD33信号肽以粗体斜体显示；6-组氨酸标签加下划线；3x甘氨酸连接子以斜体、粗体及下划线显示；CD33细胞外结构域是正常字体；CD22细胞外结构域中含有定义为Ig样C2型5、Ig样C2型6的CD22结构域的部分以粗体显示；CD33跨膜结构域加双下划线；并且CD33细胞内结构域以斜体显示):

ATGCCTCTGCTGCTACTGCTACCTCTGCTGTGGGCTGGAGCCCTGGCTATGCATCATCAC
CACCATCAC***GGCGGCGGC***GATCCAAATTTCTGGCTGCAAGTGCAGGAGTCAGTGACGGTA
CAGGAGGGTTTGTGCGTCCTCGTGCCCTGCACTTTCTTCCATCCCATACCCTACTACGACA
AGAACTCCCCAGTTCATGGTTACTGGTTCCGGGAAGGAGCCATTATATCCAGGGACTCTCC
AGTGGCCACAAACAAGCTAGATCAAGAAGTACAGGAGGAGACTCAGGGCAGATTCCGCCT
CCTTGGGGATCCCAGTAGGAACAACTGCTCCCTGAGCATCGTAGACGCCAGGAGGAGGG
ATAATGGTTCATACTTCTTTCGGATGGAGAGAGGAAGTACCAAATACAGTTACAAATCTCCC
CAGCTCTCTGTGCATGTGACAGACTTGACCCACAGGCCCAAAATCCTCATCCCTGGCACTC
TAGAACCCGGCCACTCCAAAAACCTGACCTGCTCTGTGTCCTGGGCCTGTGAGCAGGGAA
CACCCCCGATCTTCTCCTGGTTGTCAGCTGCCCCCACCTCCCTGGGCCCCAGGACTACTC
ACTCCTCGGTGCTCATAATCACCCCACGGCCCCAGGACCACGGCACCAACCTGACCTGTC
AGGTGAAGTTCGCTGGAGCTGGTGTGACTACGGAGAGAACCATCCAGCTGAACGTCACCT
ATGTTCCACAGAACCCAACAACTGGTATCTTTCCAGGAGATGGCTCAGGGAAACAAGAGAC
CAGAGCAGGAGTGGTTCAT**CCCCGAGACGTGAGGGTCCGGAAAATCAAGCCCCTTTCCG
AGATTCACTCTGGAAACTCGGTCAGCCTCCAATGTGACTTCTCAAGCAGCCACCCCAAA
GAAGTCCAGTTCTTCTGGGAGAAAAATGGCAGGCTTCTGGGGAAAGAAAGCCAGCTGAA
TTTTGACTCCATCTCCCCAGAAGATGCTGGGAGTTACAGCTGCTGGGTGAACAACTCCAT**

图36续

AGGACAGACAGCGTCCAAGGCCTGGACACTTGAAGTGCTGTATGCACCCAGGAGGCTG
CGTGTGTCCATGAGCCCAGGGGACCAAGTGATGGAGGGGAAGAGTGCAACCCTGACCT
GTGAGAGCGACGCCAACCCTCCCGTCTCCCACTACACCTGGTTTGACTGGAATAACCAA
AGCCTCCCCTACCACAGCCAGAAGCTGAGATTGGAGCCGGTGAAGGTCCAGCACTCGG
GTGCCTACTGGTGCCAGGGGACCAACAGTGTGGGCAAGGGCCGTTCGCCTCTCAGCAC
CCTCACCGTCTACTATAGCCCGGAGACCGGGGGCCATTGGAGGAGCTGGTGTTACAGCCC
TGCTCGCTCTTTGTCTCTGCCTCATCTTCTTCATAGTG*AAGACCCACAGGAGGAAAGCAGC*
CAGGACAGCAGTGGGCAGGAATGACACCCACCCTACCACAGGGTCAGCCTCCCCGAAAC
ACCAGAAGAAGTCCAAGTTACATGGCCCCACTGAAACCTCAAGCTGTTCAGGTGCCGCCC
CTACTGTGGAGATGGATGAGGAGCTGCATTATGCTTCCCTCAACTTTCATGGGATGAATCC
TTCCAAGGACACCTCCACCGAATACTCAGAGGTCAGGACCCAG (SEQ ID NO: 108)

CD33 V型构建体(外显子3和4缺失)蛋白质(CD33信号肽以粗体斜体显示；6-组氨酸标签加下划线；3x甘氨酸连接子以斜体、粗体及下划线显示；缺少CD33氨基酸140-232的CD33细胞外结构域是正常字体；CD33跨膜结构域加双下划线；并且CD33细胞内结构域以斜体显示):

MPLLLLLPLLWAGALAMHHHHHH***GGG***DPNFWLQVQESVTVQEGLCVLVPCTFFHPIPYYDK
NSPVHGYWFREGAIISRDSPVATNKLDQEVQEETQGRFRLLGDPSRNNCSLSIVDARRRDNGS
YFFRMERGSTKYSYKSPQLSVHVTYVPQNPTTGIFPGDGSGKQETRAGVVH*GAIGGAGVTALL*
*ALCLCLIFFIV**KTHRRKAARTAVGRNDTHPTTGSASPKHQKKSKLHGPTETSSCSGAAPTVEMD***
EELHYASLNFHGMNPSKDTSTEYSEVRTQ (SEQ ID NO: 109)

CD33 V型构建体(外显子3和4缺失)核苷酸(CD33信号肽以粗体斜体显示；6-组氨酸标签加下划线；3x甘氨酸连接子以斜体、粗体及下划线显示；缺少CD33氨基酸140-232的CD33细胞外结构域是正常字体；CD33跨膜结构域加双下划线；并且CD33细胞内结构域以斜体显示):

ATGCCTCTGCTGCTACTGCTACCTCTGCTGTGGGCTGGAGCCCTGGCTATGCATCATCAC
CACCATCAC***GGCGGCGGC***GATCCAAATTTCTGGCTGCAAGTGCAGGAGTCAGTGACGGTA
CAGGAGGGTTTGTGCGTCCTCGTGCCCTGCACTTTCTTCCATCCCATACCCTACTACGACA
AGAACTCCCCAGTTCATGGTTACTGGTTCCGGGAAGGAGCCATTATATCCAGGGACTCTCC
AGTGGCCACAAACAAGCTAGATCAAGAAGTACAGGAGGAGACTCAGGGCAGATTCCGCCT
CCTTGGGGATCCCAGTAGGAACAACTGCTCCCTGAGCATCGTAGACGCCAGGAGGAGGG
ATAATGGTTCATACTTCTTTCGGATGGAGAGAGGAAGTACCAAATACAGTTACAAATCTCCC
CAGCTCTCTGTGCATGTGACATATGTTCCACAGAACCCAACAACTGGTATCTTTCCAGGAG
ATGGCTCAGGGAAACAAGAGACCAGAGCAGGAGTGGTTCAT*GGGGCCATTGGAGGAGCT*
*GGTGTTACAGCCCTGCTCGCTCTTTGTCTCTGCCTCATCTTCTTCATAGTG**AAGACCCACA***
GGAGGAAAGCAGCCAGGACAGCAGTGGGCAGGAATGACACCCACCCTACCACAGGGTCA
GCCTCCCCGAAACACCAGAAGAAGTCCAAGTTACATGGCCCCACTGAAACCTCAAGCTGTT
CAGGTGCCGCCCCTACTGTGGAGATGGATGAGGAGCTGCATTATGCTTCCCTCAACTTTCA
TGGGATGAATCCTTCCAAGGACACCTCCACCGAATACTCAGAGGTCAGGACCCAG(SEQ ID NO: 110)

CD33信号肽: MPLLLLLPLLWAGALAM (SEQ ID NO: 111)

CD33信号肽编码序列:
ATGCCTCTGCTGCTACTGCTACCTCTGCTGTGGGCTGGAGCCCTGGCTATG (SEQ ID NO: 112)

6-组氨酸标签编码序列: CATCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO: 113)

图36续

3x甘氨酸连接子: GGG

3x甘氨酸连接子编码序列: GGCGGCGGC

CD33细胞外结构域:
DPNFWLQVQESVTVQEGLCVLVPCTFFHPIPYYDKNSPVHGYWFREGAIISRDSPVATNKLDQ
EVQEETQGRFRLLGDPSRNNCSLSIVDARRRDNGSYFFRMERGSTKYSYKSPQLSVHVTDLT
HRPKILIPGTLEPGHSKNLTCSVSWACEQGTPPIFSWLSAAPTSLGPRTTHSSVLIITPRPQDHG
TNLTCQVKFAGAGVTTERTIQLNVTYVPQNPTTGIFPGDGSGKQETRAGVVH (SEQ ID NO:
114)

CD33细胞外结构域编码序列:
GATCCAAATTTCTGGCTGCAAGTGCAGGAGTCAGTGACGGTACAGGAGGGTTTGTGCGTC
CTCGTGCCCTGCACTTTCTTCCATCCCATACCCTACTACGACAAGAACTCCCCAGTTCATG
GTTACTGGTTCCGGGAAGGAGCCATTATATCCAGGGACTCTCCAGTGGCCACAAACAAGC
TAGATCAAGAAGTACAGGAGGAGACTCAGGGCAGATTCCGCCTCCTTGGGGATCCCAGTA
GGAACAACTGCTCCCTGAGCATCGTAGACGCCAGGAGGAGGGATAATGGTTCATACTTCT
TTCGGATGGAGAGAGGAAGTACCAAATACAGTTACAAATCTCCCCAGCTCTCTGTGCATGT
GACAGACTTGACCCACAGGCCCAAAATCCTCATCCCTGGCACTCTAGAACCCGGCCACTC
CAAAAACCTGACCTGCTCTGTGTCCTGGGCCTGTGAGCAGGGAACACCCCCGATCTTCTC
CTGGTTGTCAGCTGCCCCCACCTCCCTGGGCCCCAGGACTACTCACTCCTCGGTGCTCAT
AATCACCCCACGGCCCCAGGACCACGGCACCAACCTGACCTGTCAGGTGAAGTTCGCTGG
AGCTGGTGTGACTACGGAGAGAACCATCCAGCTGAACGTCACCTATGTTCCACAGAACCC
AACAACTGGTATCTTTCCAGGAGATGGCTCAGGGAAACAAGAGACCAGAGCAGGAGTGGT
TCAT (SEQ ID NO: 115)

缺少CD33氨基酸140-232的CD33细胞外结构域:
DPNFWLQVQESVTVQEGLCVLVPCTFFHPIPYYDKNSPVHGYWFREGAIISRDSPVATNKLDQ
EVQEETQGRFRLLGDPSRNNCSLSIVDARRRDNGSYFFRMERGSTKYSYKSPQLSVHVTYVP
QNPTTGIFPGDGSGKQETRAGVVH (SEQ ID NO: 116)

缺少CD33氨基酸140-232的CD33细胞外结构域的编码序列:
GATCCAAATTTCTGGCTGCAAGTGCAGGAGTCAGTGACGGTACAGGAGGGTTTGTGCGTC
CTCGTGCCCTGCACTTTCTTCCATCCCATACCCTACTACGACAAGAACTCCCCAGTTCATG
GTTACTGGTTCCGGGAAGGAGCCATTATATCCAGGGACTCTCCAGTGGCCACAAACAAGC
TAGATCAAGAAGTACAGGAGGAGACTCAGGGCAGATTCCGCCTCCTTGGGGATCCCAGTA
GGAACAACTGCTCCCTGAGCATCGTAGACGCCAGGAGGAGGGATAATGGTTCATACTTCT
TTCGGATGGAGAGAGGAAGTACCAAATACAGTTACAAATCTCCCCAGCTCTCTGTGCATGT
GACATATGTTCCACAGAACCCAACAACTGGTATCTTTCCAGGAGATGGCTCAGGGAAACAA
GAGACCAGAGCAGGAGTGGTTCAT (SEQ ID NO: 117)

CD33跨膜结构域: GAIGGAGVTALLALCLCLIFFIV (SEQ ID NO: 118)

CD33跨膜结构域编码序列:
GGGGCCATTGGAGGAGCTGGTGTTACAGCCCTGCTCGCTCTTTGTCTCTGCCTCATCTTCT
TCATAGTG (SEQ ID NO: 119)

图36续

CD33细胞内结构域:
KTHRRKAARTAVGRNDTHPTTGSASPKHQKKSKLHGPTETSSCSGAAPTVEMDEELHYASLN FHGMNPSKDTSTEYSEVRTQ (SEQ ID NO: 120)

CD33细胞内结构域编码序列:
AAGACCCACAGGAGGAAAGCAGCCAGGACAGCAGTGGGCAGGAATGACACCCACCCTAC CACAGGGTCAGCCTCCCCGAAACACCAGAAGAAGTCCAAGTTACATGGCCCCACTGAAAC CTCAAGCTGTTCAGGTGCCGCCCCTACTGTGGAGATGGATGAGGAGCTGCATTATGCTTC CCTCAACTTTCATGGGATGAATCCTTCCAAGGACACCTCCACCGAATACTCAGAGGTCAGG ACCCAG (SEQ ID NO: 121)

CD22细胞外结构域中含有定义为Ig样C2型3、Ig样C2型4、Ig样C2型5、Ig样C2型6的CD22结构域的部分:
PEPSTVQILHSPAVEGSQVEFLCMSLANPLPTNYTWYHNGKEMQGRTEEKVHIPKILPWHAGT YSCVAENILGTGQRGPGAELDVQYPPKKVTTVIQNPMPIREGDTVTLSCNYNSSNPSVTRYEW KPHGAWEEPSLGVLKIQNVGWDNTTIACAACNSWCSWASPVALNVQYAPRDVRVRKIKPLSEI HSGNSVSLQCDFSSSHPKEVQFFWEKNGRLLGKESQLNFDSISPEDAGSYSCWVNNSIGQTA SKAWTLEVLYAPRRLRVSMSPGDQVMEGKSATLTCESDANPPVSHYTWFDWNNQSLPYHSQ KLRLEPVKVQHSGAYWCQGTNSVGKGRSPLSTLTVYYSPET (SEQ ID NO: 122)

CD22细胞外结构域中含有定义为Ig样C2型3、Ig样C2型4、Ig样C2型5、Ig样C2型6的CD22结构域的部分的编码序列:
CCGGAACCTTCCACGGTTCAGATCCTCCACTCACCGGCTGTGGAGGGAAGTCAAGTCGAG TTTCTTTGCATGTCACTGGCCAATCCTCTTCCAACAAATTACACGTGGTACCACAATGGGAA AGAAATGCAGGGAAGGACAGAGGAGAAAGTCCACATCCCAAAGATCCTCCCTTGGCACGC TGGGACTTATTCCTGTGTGGCAGAAAACATTCTTGGTACTGGACAGAGGGGCCCTGGAGC TGAGCTGGATGTCCAGTATCCTCCCAAGAAGGTGACCACAGTGATTCAAAACCCCATGCC GATTCGAGAAGGAGACACAGTGACCCTTTCCTGTAACTACAATTCCAGTAACCCCAGTGTT ACCCGGTATGAATGGAAACCCCATGGCGCCTGGGAGGAGCCATCGCTTGGGGTGCTGAA GATCCAAAACGTTGGCTGGGACAACACAACCATCGCCTGCGCAGCTTGTAATAGTTGGTG CTCGTGGGCCTCCCCTGTCGCCCTGAATGTCCAGTATGCCCCCCGAGACGTGAGGGTCC GGAAAATCAAGCCCCTTTCCGAGATTCACTCTGGAAACTCGGTCAGCCTCCAATGTGACTT CTCAAGCAGCCACCCCAAAGAAGTCCAGTTCTTCTGGGAGAAAAATGGCAGGCTTCTGGG GAAAGAAAGCCAGCTGAATTTTGACTCCATCTCCCCAGAAGATGCTGGGAGTTACAGCTGC TGGGTGAACAACTCCATAGGACAGACAGCGTCCAAGGCCTGGACACTTGAAGTGCTGTAT GCACCCAGGAGGCTGCGTGTGTCCATGAGCCCAGGGGACCAAGTGATGGAGGGGAAGAG TGCAACCCTGACCTGTGAGAGCGACGCCAACCCTCCCGTCTCCCACTACACCTGGTTTGA CTGGAATAACCAAAGCCTCCCCTACCACAGCCAGAAGCTGAGATTGGAGCCGGTGAAGGT CCAGCACTCGGGTGCCTACTGGTGCCAGGGGACCAACAGTGTGGGCAAGGGCCGTTCGC CTCTCAGCACCCTCACCGTCTACTATAGCCCGGAGACC (SEQ ID NO: 123)

CD22细胞外结构域中含有定义为Ig样C2型5、Ig样C2型6的CD22结构域的部分:
PRDVRVRKIKPLSEIHSGNSVSLQCDFSSSHPKEVQFFWEKNGRLLGKESQLNFDSISPEDAG SYSCWVNNSIGQTASKAWTLEVLYAPRRLRVSMSPGDQVMEGKSATLTCESDANPPVSHYT WFDWNNQSLPYHSQKLRLEPVKVQHSGAYWCQGTNSVGKGRSPLSTLTVYYSPET (SEQ ID NO: 124)

图36续

CD22细胞外结构域中含有定义为Ig样C2型5、Ig样C2型6的CD22结构域的部分的编码序列：

CCCCGAGACGTGAGGGTCCGGAAAATCAAGCCCCTTTCCGAGATTCACTCTGGAAACTCG
GTCAGCCTCCAATGTGACTTCTCAAGCAGCCACCCCAAAGAAGTCCAGTTCTTCTGGGAGA
AAAATGGCAGGCTTCTGGGGAAAGAAAGCCAGCTGAATTTTGACTCCATCTCCCCAGAAGA
TGCTGGGAGTTACAGCTGCTGGGTGAACAACTCCATAGGACAGACAGCGTCCAAGGCCTG
GACACTTGAAGTGCTGTATGCACCCAGGAGGCTGCGTGTGTCCATGAGCCCAGGGGACCA
AGTGATGGAGGGGAAGAGTGCAACCCTGACCTGTGAGAGCGACGCCAACCCTCCCGTCT
CCCACTACACCTGGTTTGACTGGAATAACCAAAGCCTCCCCTACCACAGCCAGAAGCTGA
GATTGGAGCCGGTGAAGGTCCAGCACTCGGGTGCCTACTGGTGCCAGGGGACCAACAGT
GTGGGCAAGGGCCGTTCGCCTCTCAGCACCCTCACCGTCTACTATAGCCCGGAGACC
(SEQ ID NO: 125)

scFv编码序列，针对用于CAR进行密码子优化：

编码起始甲硫氨酸的序列呈粗体，信号肽加下划线并且呈斜体，G4Sx3连接子加下划线并且可变重链呈斜体。变体之间的突变在可变重链内以粗体斜体显示。

1H7 VLVH scFv编码序列：

ATG*CTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTG*
*ATCCCC*GATATTCAGATGACCCAAACTACGAGTTCCCTGTCTGCCAGCCTTGGCGACCGG
GTCACAATTAGTTGCAGGGCTTCTCAGGATATCAACTACTATTTGAACTGGTACCAGCAGA
AACCTGATGGGACGGTCAAACTTCTCATCTACTATTCATCCAGACTGCACAGTGGCGTACC
GTCTAGATTCTCAGGAAGCGGCAGTGGTACGGATTTTAGTCTTACCATTAGTAATCTGGAA
CAGGAGGACATCGCCACGTATTTTTGCCAGCAGGATGACGCACTGCCCTATACCTTCGGC
GGAGGCACTAAGTTGGAGATAAAA*GGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGG*
*AGGAGGATCT**CAAGTACAACTTCAACAAAGTGGAGCCGAACTGGTAAAACCCGGAGCGTC***
TGTGAAGATTAGTTGCAAGGCATCCGGTTACGCCTTCTCAAATTATTGGATGAACTGGGTA
AAGCAGCGGCCCGGAAAGGGTCTCGAGTGGATTGGGCAAATCAACCCAGGGGACGGGGA
TACGAACTACAACGGTAAGTTCAAAGGCAAGGCTACGTTGACGGCTGATAAGAGCTCAAG
CACCGCTTACATGCAGTTGTCTTCTTTGACAAGTGAGGATAGTGCCGTTTACTTCTGCGCC
CGAGAGGACCGAGATTATTTTGATTATTGGGGCCAGGGAACAACTCTCACCGTCAGCTCC
(SEQ ID NO: 126)

3A5变体1 VHVL scFv编码序列：

ATG*CTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTG*
*ATCCCC**CAGGTGCAACTCCAGCAGTCCGGCGCCGAGCTGGTCAGGCCAGGTGCATCCGT***
AACTCTGTCATGTAAGGCGTCCGGATACACCTTCACGGACTACGAAATGCATTGGATAAAA
CAAACTCCAGTTCATGGGTTGGAGTGGATTGGCTCCATAGACCCGGAAACGGGAGTAACG
GCGTATAACCAGAAATTCACGGGGAAAGCGATAGTAACGGCAGACAAGTCTAGTAGCACT
GCCTACATGGAACTTAGAAGTCTCACAAGTGAAGACAGCGCGGTATATTATTGCACCTCCG
***ATTATGGATACTTT**GAC**GTTTGGGGTACGGGCACGACAGTGACTGTTAGTTCT*GGAGGCG
GAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAGGATCTGATGTTGTAATGACGCAGTCT
CAAAAGTTTATGTCAACGTCTGTTGGTGATCGCGTTAGCATTACCTGCAAAGCATCTCAAAG
TGTAGGATCTGATGTGGCATGGTACCAGCAACGGCCTGGACGCTGTCCTAAAGCGCTGAT
TTATCTTGCTTCTAACCGGCATACGGGGGTCCCAGACAGGTTTACTGGGTCTGGATCTGGA
ACGGACTTTACACTGACCATATCAAACGTTCAGTCAGAGGACCTGGCCGAGTATTTCTGTC

图36续

AACAATATAACATATACCCCTATACCTTCGGTGGAGGAACTAAATTGGAGATAAAG (SEQ ID NO: 127)

3A5变体1 VLVH scFv编码序列：

ATGCTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTGATCCCCGATGTTGTAATGACGCAGTCTCAAAAGTTTATGTCAACGTCTGTTGGTGATCGCGTTAGCATTACCTGCAAAGCATCTCAAAGTGTAGGATCTGATGTGGCATGGTACCAGCAACGGCCTGGACGCTGTCCTAAAGCGCTGATTTATCTTGCTTCTAACCGGCATACGGGGGTCCCAGACAGGTTTACTGGGTCTGGATCTGGAACGGACTTTACACTGACCATATCAAACGTTCAGTCAGAGGACCTGGCCGAGTATTTCTGTCAACAATATAACATATACCCCTATACCTTCGGTGGAGGAACTAAATTGGAGATAAAGGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAGGATCTCAGGTGCAACTCCAGCAGTCCGGCGCCGAGCTGGTCAGGCCAGGTGCATCCGTAACTCTGTCATGTAAGGCGTCCGGATACACCTTCACGGACTACGAAATGCATTGGATAAAACAAACTCCAGTTCATGGGTTGGAGTGGATTGGCTCCATAGACCCGGAAACGGGAGTAACGGCGTATAACCAGAAATTCACGGGGAAAGCGATAGTAACGGCAGACAAGTCTAGTAGCACTGCCTACATGGAACTTAGAAGTCTCACAAGTGAAGACAGCGCGGTATATTATTGCACCTCCGATTATGGATACTTT**GAC**GTTTGGGGTACGGGCACGACAGTGACTGTTAGTTCT (SEQ ID NO: 128)

3A5变体2 VHVL scFv编码序列：

ATGCTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTGATCCCCCAGGTGCAACTCCAGCAGTCCGGCGCCGAGCTGGTCAGGCCAGGTGCATCCGTAACTCTGTCATGTAAGGCGTCCGGATACACCTTCACGGACTACGAAATGCATTGGATAAAACAAACTCCAGTTCATGGGTTGGAGTGGATTGGCTCCATAGACCCGGAAACGGGAGTAACGGCGTATAACCAGAAATTCACGGGGAAAGCGATAGTAACGGCAGACAAGTCTAGTAGCACTGCCTACATGGAACTTAGAAGTCTCACAAGTGAAGACAGCGCGGTATATTATTGCACCTCCGATTATGGATACTTT**AAC**GTTTGGGGTACGGGCACGACAGTGACTGTTAGTTCTGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAGGATCTGATGTTGTAATGACGCAGTCTCAAAAGTTTATGTCAACGTCTGTTGGTGATCGCGTTAGCATTACCTGCAAAGCATCTCAAAGTGTAGGATCTGATGTGGCATGGTACCAGCAACGGCCTGGACGCTGTCCTAAAGCGCTGATTTATCTTGCTTCTAACCGGCATACGGGGGTCCCAGACAGGTTTACTGGGTCTGGATCTGGAACGGACTTTACACTGACCATATCAAACGTTCAGTCAGAGGACCTGGCCGAGTATTTCTGTCAACAATATAACATATACCCCTATACCTTCGGTGGAGGAACTAAATTGGAGATAAAG (SEQ ID NO: 129)

3A5变体2 VLVH scFv编码序列：

ATGCTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTGATCCCCGATGTTGTAATGACGCAGTCTCAAAAGTTTATGTCAACGTCTGTTGGTGATCGCGTTAGCATTACCTGCAAAGCATCTCAAAGTGTAGGATCTGATGTGGCATGGTACCAGCAACGGCCTGGACGCTGTCCTAAAGCGCTGATTTATCTTGCTTCTAACCGGCATACGGGGGTCCCAGACAGGTTTACTGGGTCTGGATCTGGAACGGACTTTACACTGACCATATCAAACGTTCAGTCAGAGGACCTGGCCGAGTATTTCTGTCAACAATATAACATATACCCCTATACCTTCGGTGGAGGAACTAAATTGGAGATAAAGGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAGGATCTCAGGTGCAACTCCAGCAGTCCGGCGCCGAGCTGGTCAGGCCAGGTGCATCCGTAACTCTGTCATGTAAGGCGTCCGGATACACCTTCACGGACTACGAAATGCATTGGATAAAACAAACTCCAGTTCATGGGTTGGAGTGGATTGGCTCCATAGACCCGGAAACGGGAGTAACGGCGTATAACCAGAAATTCACGGGGAAAGCGATAGTAACGGCAGACAAGTCTAGTAGCACTGCCTACATGGAACTTAGAAGTCTCACAAGTGAAGACAGCGCGGTATATTATTGCACCT

图36续

*CCGATTATGGATACTTT**AAC**GTTTGGGGTACGGGCACGACAGTGACTGTTAGTTCT* (SEQ ID NO: 130)

9G2 VLVH scFv编码序列：

ATG*CTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTG ATCCCC*GATATACAAATGACTCAGACAACGAGCAGTTTGTCCGCATCTCTTGGCGATCGAG TAACTATTAGCTGCAAGACATCCCAGGACATATATAATTATTTGAATTGGTATCAGCAGAAA CCGGACGGAACTGTCAAACTCCTCATTTATTATACCTCCAGGCTTCATAGTGGGGTTCCTT CCCGATTTAGTGGAGGAGGCTCAGGTACGGACTACAGCCTGACGATTTCCAACCTTGAAC AAGAAGATATAGCTACATACTTCTGTCAGCAAGGTGACACCTTGCCCTGGACATTCGGTGG GGGTACAAAACTCGAAATAAAG*GGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAG GAGGATCT**GAGGTCAAGCTTGTCGAGTCAGAGGGAGGTTTGGTCCAGCCGGGTTCTTCTA TGAAACTCTCCTGCACAGCCAGTGGCTTTACATTTAGTGATTACTACATGAGTTGGGTGAG ACAGGTGCCTGAGAAAGGGCTGGAGTGGGTAGCTTCCATTAACTACGACGGAGGTAGCAC CTATTACTTGGACTCCTTGAAAAGCAGATTCATAATTTCCAGGGATAATACGAAAAACATAC TTTATCTTCAAATGTCCTCTTTGAAGAGCGAGGACACAGCCACATACTATTGCGCCAGGGA TAGAGGCGATGGTGATTATTTTGACTATTGGGGACAGGGCACAACACTCACGGTCAGCAG C* (SEQ ID NO: 131)

7D5变体1 VHVL scFv编码序列：

ATG*CTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTG ATCCCCCAGGTTCAACTTAAAGAGAGCGGCCCCGGCCTGGTCGCACCCTCTCAGTCTCTC TCCATCACATGCACTGTGAGCGGGTTTTCACTCACAAGCTACAACATTAACTGGATAAGAC AACCACCGGGAAAAGGATTGGAATGGTTGGGTGTGATATGGACCGGTGGAGACACGAACT ATAACTCCGCCTTTATGAGTAGGCTTAGTATATCCAAAGACAATTCAAAGAGTCAACTGTTC CTGAAGATGAATAGCCTCCAGACGGACGACACGGCCATCTACTACTGCGTTCGGGACGGG ACTGGCACTGGGGAC**TAT**TTTGACTACTGGGGGCAAGGTACGACTCTGACGGTGTCAAGC GGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAGGATCT*GATATTCAGATGAC CCAAACGACTTCATCATTGAGTGCCTCCCTTGGGGATCGAGTTACGATTTCATGCAGGGCC AGCCAAGATATTTTCAATTACCTGAATTGGTATCAGCAGAAGCCTGACGGTACAGTCAAACT TTTGATCTATTACGCCAGTAGATTGCACAGCGGCGTACCAAGTCGATTTAGCGGGAGCGG AAGTGGCACAGACTACTCCCTTACAATTCATAACCTGGAACAGGAGGACATAGCTACCTAT TTCTGTCAACAAGGGGACACGCTGCCTTACACGTTTGGCGGAGGCACTAAACTTGAAATAA AG* (SEQ ID NO: 132)

7D5变体2 VHVL scFv编码序列：

ATG*CTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTG ATCCCCCAGGTTCAACTTAAAGAGAGCGGCCCCGGCCTGGTCGCACCCTCTCAGTCTCTC TCCATCACATGCACTGTGAGCGGGTTTTCACTCACAAGCTACAACATTAACTGGATAAGAC AACCACCGGGAAAAGGATTGGAATGGTTGGGTGTGATATGGACCGGTGGAGACACGAACT ATAACTCCGCCTTTATGAGTAGGCTTAGTATATCCAAAGACAATTCAAAGAGTCAACTGTTC CTGAAGATGAATAGCCTCCAGACGGACGACACGGCCATCTACTACTGCGTTCGGGACGGG ACTGGCACTGGGGAC**CAT**TTTGACTACTGGGGGCAAGGTACGACTCTGACGGTGTCAAGC GGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAGGATCT*GATATTCAGATGAC CCAAACGACTTCATCATTGAGTGCCTCCCTTGGGGATCGAGTTACGATTTCATGCAGGGCC AGCCAAGATATTTTCAATTACCTGAATTGGTATCAGCAGAAGCCTGACGGTACAGTCAAACT TTTGATCTATTACGCCAGTAGATTGCACAGCGGCGTACCAAGTCGATTTAGCGGGAGCGG AAGTGGCACAGACTACTCCCTTACAATTCATAACCTGGAACAGGAGGACATAGCTACCTAT

图36续

TTCTGTCAACAAGGGGACACGCTGCCTTACACGTTTGGCGGAGGCACTAAACTTGAAATAA
AG (SEQ ID NO: 133)

信号肽编码序列:
CTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTGATC
CCC (SEQ ID NO: 134)

G4Sx3连接子编码序列:
GGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAGGATCT (SEQ ID NO: 135)

1H7可变轻链编码序列:
GATATTCAGATGACCCAAACTACGAGTTCCCTGTCTGCCAGCCTTGGCGACCGGGTCACA
ATTAGTTGCAGGGCTTCTCAGGATATCAACTACTATTTGAACTGGTACCAGCAGAAACCTG
ATGGGACGGTCAAACTTCTCATCTACTATTCATCCAGACTGCACAGTGGCGTACCGTCTAG
ATTCTCAGGAAGCGGCAGTGGTACGGATTTTAGTCTTACCATTAGTAATCTGGAACAGGAG
GACATCGCCACGTATTTTTGCCAGCAGGATGACGCACTGCCCTATACCTTCGGCGGAGGC
ACTAAGTTGGAGATAAAA (SEQ ID NO: 136)

1H7可变重链编码序列:
CAAGTACAACTTCAACAAAGTGGAGCCGAACTGGTAAAACCCGGAGCGTCTGTGAAGATTA
GTTGCAAGGCATCCGGTTACGCCTTCTCAAATTATTGGATGAACTGGGTAAAGCAGCGGCC
CGGAAAGGGTCTCGAGTGGATTGGGCAAATCAACCCAGGGGACGGGGATACGAACTACA
ACGGTAAGTTCAAAGGCAAGGCTACGTTGACGGCTGATAAGAGCTCAAGCACCGCTTACA
TGCAGTTGTCTTCTTTGACAAGTGAGGATAGTGCCGTTTACTTCTGCGCCCGAGAGGACCG
AGATTATTTTGATTATTGGGGCCAGGGAACAACTCTCACCGTCAGCTCC (SEQ ID NO: 137)

3A5变体1和变体2可变轻链编码序列:
GATGTTGTAATGACGCAGTCTCAAAAGTTTATGTCAACGTCTGTTGGTGATCGCGTTAGCAT
TACCTGCAAAGCATCTCAAAGTGTAGGATCTGATGTGGCATGGTACCAGCAACGGCCTGG
ACGCTGTCCTAAAGCGCTGATTTATCTTGCTTCTAACCGGCATACGGGGGTCCCAGACAG
GTTTACTGGGTCTGGATCTGGAACGGACTTTACACTGACCATATCAAACGTTCAGTCAGAG
GACCTGGCCGAGTATTTCTGTCAACAATATAACATATACCCCTATACCTTCGGTGGAGGAA
CTAAATTGGAGATAAAG (SEQ ID NO: 138)

3A5变体1可变重链编码序列:
CAGGTGCAACTCCAGCAGTCCGGCGCCGAGCTGGTCAGGCCAGGTGCATCCGTAACTCT
GTCATGTAAGGCGTCCGGATACACCTTCACGGACTACGAAATGCATTGGATAAAACAAACT
CCAGTTCATGGGTTGGAGTGGATTGGCTCCATAGACCCGGAAACGGGAGTAACGGCGTAT
AACCAGAAATTCACGGGGAAAGCGATAGTAACGGCAGACAAGTCTAGTAGCACTGCCTAC
ATGGAACTTAGAAGTCTCACAAGTGAAGACAGCGCGGTATATTATTGCACCTCCGATTATG
GATACTTT***GAC***GTTTGGGGTACGGGCACGACAGTGACTGTTAGTTCT (SEQ ID NO: 139)

3A5变体2可变重链编码序列:
CAGGTGCAACTCCAGCAGTCCGGCGCCGAGCTGGTCAGGCCAGGTGCATCCGTAACTCT
GTCATGTAAGGCGTCCGGATACACCTTCACGGACTACGAAATGCATTGGATAAAACAAACT
CCAGTTCATGGGTTGGAGTGGATTGGCTCCATAGACCCGGAAACGGGAGTAACGGCGTAT
AACCAGAAATTCACGGGGAAAGCGATAGTAACGGCAGACAAGTCTAGTAGCACTGCCTAC
ATGGAACTTAGAAGTCTCACAAGTGAAGACAGCGCGGTATATTATTGCACCTCCGATTATG
GATACTTT***AAC***GTTTGGGGTACGGGCACGACAGTGACTGTTAGTTCT (SEQ ID NO: 140)

图36续

9G2可变轻链编码序列：

GATATACAAATGACTCAGACAACGAGCAGTTTGTCCGCATCTCTTGGCGATCGAGTAACTA
TTAGCTGCAAGACATCCCAGGACATATATAATTATTTGAATTGGTATCAGCAGAAACCGGAC
GGAACTGTCAAACTCCTCATTTATTATACCTCCAGGCTTCATAGTGGGGTTCCTTCCCGATT
TAGTGGAGGAGGCTCAGGTACGGACTACAGCCTGACGATTTCCAACCTTGAACAAGAAGA
TATAGCTACATACTTCTGTCAGCAAGGTGACACCTTGCCCTGGACATTCGGTGGGGGTACA
AAACTCGAAATAAAG (SEQ ID NO: 141)

9G2可变重链编码序列：

GAGGTCAAGCTTGTCGAGTCAGAGGGAGGTTTGGTCCAGCCGGGTTCTTCTATGAAACTC
TCCTGCACAGCCAGTGGCTTTACATTTAGTGATTACTACATGAGTTGGGTGAGACAGGTGC
CTGAGAAAGGGCTGGAGTGGGTAGCTTCCATTAACTACGACGGAGGTAGCACCTATTACTT
GGACTCCTTGAAAAGCAGATTCATAATTTCCAGGGATAATACGAAAAACATACTTTATCTTC
AAATGTCCTCTTTGAAGAGCGAGGACACAGCCACATACTATTGCGCCAGGGATAGAGGCG
ATGGTGATTATTTTGACTATTGGGGACAGGGCACAACACTCACGGTCAGCAGC (SEQ ID
NO: 142)

7D5变体1和变体2可变轻链编码序列：

GATATTCAGATGACCCAAACGACTTCATCATTGAGTGCCTCCCTTGGGGATCGAGTTACGA
TTTCATGCAGGGCCAGCCAAGATATTTTCAATTACCTGAATTGGTATCAGCAGAAGCCTGA
CGGTACAGTCAAACTTTTGATCTATTACGCCAGTAGATTGCACAGCGGCGTACCAAGTCGA
TTTAGCGGGAGCGGAAGTGGCACAGACTACTCCCTTACAATTCATAACCTGGAACAGGAG
GACATAGCTACCTATTTCTGTCAACAAGGGGACACGCTGCCTTACACGTTTGGCGGAGGC
ACTAAACTTGAAATAAAG (SEQ ID NO: 143)

7D5变体1可变重链编码序列：

CAGGTTCAACTTAAAGAGAGCGGCCCCGGCCTGGTCGCACCCTCTCAGTCTCTCTCCATC
ACATGCACTGTGAGCGGGTTTTCACTCACAAGCTACAACATTAACTGGATAAGACAACCAC
CGGGAAAAGGATTGGAATGGTTGGGTGTGATATGGACCGGTGGAGACACGAACTATAACT
CCGCCTTTATGAGTAGGCTTAGTATATCCAAAGACAATTCAAAGAGTCAACTGTTCCTGAAG
ATGAATAGCCTCCAGACGGACGACACGGCCATCTACTACTGCGTTCGGGACGGGACTGGC
ACTGGGGAC***TAT***TTTGACTACTGGGGGCAAGGTACGACTCTGACGGTGTCAAGC (SEQ ID
NO: 144)

7D5变体2可变重链编码序列：

CAGGTTCAACTTAAAGAGAGCGGCCCCGGCCTGGTCGCACCCTCTCAGTCTCTCTCCATC
ACATGCACTGTGAGCGGGTTTTCACTCACAAGCTACAACATTAACTGGATAAGACAACCAC
CGGGAAAAGGATTGGAATGGTTGGGTGTGATATGGACCGGTGGAGACACGAACTATAACT
CCGCCTTTATGAGTAGGCTTAGTATATCCAAAGACAATTCAAAGAGTCAACTGTTCCTGAAG
ATGAATAGCCTCCAGACGGACGACACGGCCATCTACTACTGCGTTCGGGACGGGACTGGC
ACTGGGGAC***CAT***TTTGACTACTGGGGGCAAGGTACGACTCTGACGGTGTCAAGC (SEQ ID
NO: 145)

5D12-LvHv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链：

GGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCC
CGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGG
GGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAG
AACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCA

图36续

GAACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACGCGCCCGCCGCCCTACC
TGAGGCCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTTCTGCCGCCTCCCGCCTGTGGTGCCTC
CTGAACTGCGTCCGCCGTCTAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTC
CGGCGCTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCCTGACCCTG
CTTGCTCAACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGATCCAAGCTGT
GACCGGCGCCTACGGCTAGCCACCATGCTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGA
ACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTGATCCCCGATATAAAGATGACTCAGTCACCCAGCAGT
ATATACGCTAGTCTGGGAGAAAGGGTCACGATAAATTGTAAGGCTTCACAAGACATAAAAA
GTTATCTTTCATGGTATCAACAGAAACCCTGGAAAAGCCCCAAGACCCTTATCTACTACGCT
ACGACTCTTGCAGATGGTGTACCAAGTCGGTTTTCCGGGAGCGGCTCCGGGCAAGACTAT
TCTTTGACAATTTCCTCTTTGGAGTCCGATGATACCGCAACCTACTACTGCCTGCATCACG
GTGAGTCACCATGGACATTTGGCGAAGGGACAAAGCTTGAAATAAAGGGAGGCGGAGGAT
CTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAGGATCTCAAGTTCAGTTGCAACAATCAGGTGCT
GAGGTGGTAAAGCCAGGTGCCAGTGTCAAAATATCTTGCCGGGCGTCTGGTTATGCGTTC
TCCAACTATTGGATGAACTGGGTAAAACAACGCCCAGGTAAGGGACTCGAGTGGATAGGA
CAAATATACCCAGGCAACTTCAACACAGACTACAATGGTCAATTCAAGGGAAAGGCTACTC
TTACAGTCGATAAATCTTCAAACACGGCTTACATGCAGTTGTCCTCCTTGACCTCCGAGGAT
TCAGCAGTCTATTTCTGTGCCCGATTCTTTGATTTTGGCGCTTATTTTACGTTGGATTATTG
GGGCCAAGGGACATCTGTCACAGTTTCCTCCGAGTCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCC
CTTGCCCTGGCCAGCCTAGAGAACCCCAGGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAGGAAGAGA
TGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGATATCG
CCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTG
CTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACTCCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTG
GCAGGAAGGCAACGTCTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACAC
CCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCTGGGCAAGATGTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTCGGAG
GCGTGCTGGCCTGCTACAGCCTGCTGGTCACCGTGGCCTTCATCATCTTTTGGGTGAAAC
GGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTA
CTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGA
ACTGCGGGTGAAGTTCAGCAGAAGCGCCGACGCCCCTGCCTACCAGCAGGGCCAGAATC
AGCTGTACAACGAGCTGAACCTGGGCAGAAGGGAAGAGTACGACGTCCTGGATAAGCGG
AGAGGCCGGGACCCTGAGATGGGCGGCAAGCCTCGGCGGAAGAACCCCCAGGAAGGCC
TGTATAACGAACTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGG
GCGAGCGGAGGCGGGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTATCAGGGCCTGTCCACCGCCAC
CAAGGATACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCAAGGCTCGAGGGCGGCG
GAGAGGGCAGAGGAAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAGGAGAATCCAGGCCCTAGG
ATGCCACCTCCAAGACTCCTCTTCTTCCTCCTCTTCCTGACACCAATGGAAGTCAGGCCT
GAGGAACCTCTAGTGGTGAAGGTGGAAGAGGGAGATAACGCTGTGTTACAGTGCCTCAA
GGGAACCTCAGATGGACCCACTCAGCAGCTGACCTGGTCTCGGGAGTCTCCGCTTAAAC
CCTTCCTGAAACTCAGCCTTGGACTGCCAGGTCTGGGAATCCACATGAGGCCACTGGCT
ATCTGGCTGTTCATCTTCAACGTCTCTCAACAGATGGGAGGCTTCTACCTGTGTCAGCCT
GGACCACCTTCTGAGAAGGCATGGCAGCCTGGTTGGACAGTCAATGTGGAGGGTTCTGG
TGAGCTGTTCCGGTGGAATGTTTCGGACCTAGGTGGACTGGGATGTGGTCTGAAGAACA
GGTCCTCAGAGGGACCTAGCTCTCCTTCCGGGAAGCTCATGAGCCCCAAGCTGTATGTG
TGGGCCAAAGACCGCCCTGAGATCTGGGAGGGAGAGCCTCCGTGTGTCCCACCGAGGG
ACAGCCTGAACCAGAGCCTCAGCCAGGACCTCACCATGGCCCCTGGCTCCACACTCTGG
CTGTCCTGTGGGGTACCCCCTGACTCTGTGTCCAGGGGCCCCCTCTCCTGGACCCATGT
GCACCCCAAGGGGCCTAAGTCATTGCTGAGCCTAGAGCTGAAGGACGATCGCCCTGCC
AGAGATATGTGGGTAATGGAGACGGGTCTGTTGTTGCCCCGGGCCACAGCTCAAGACGC
TGGAAAGTATTATTGTCACCGTGGCAACCTGACCATGTCATTCCACCTGGAGATCACTGC

图36续

TCGGCCAGTACTATGGCACTGGCTGCTGAGGACTGGTGGCTGGAAGGTCTCAGCTGTGA
CTTTGGCTTATCTGATCTTCTGCCTGTGTTCCCTTGTGGGCATTCTTCATCTTCAAAGAGC
CCTGGTCCTGAGGAGGAAAAGATGA (SEQ ID NO: 325)

在以上序列内，EF1启动子是第一个粗体序列；编码GM-CSFR信号肽的序列是第一个加下划线的序列；编码5D12_LvHv的序列是第一个斜体序列；编码IgG4铰链S10P的序列是第二个粗体序列；编码IgG4-int(DS)的序列是第二个加下划线的序列；编码CD28tm的序列是第二个斜体序列；编码4-1BB信号传导序列的序列是第三个粗体序列；编码CD3z的序列是第三个加下划线的序列；编码T2A的序列是第三个斜体序列；并且tCD19全序列是以上序列中的第四个粗体部分。

图36续

3A5v1-HvLv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链:

GGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCC
CGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGG
GGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAG
AACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCA
GAACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACGCGCCCGCCGCCCTACC
TGAGGCCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTTCTGCCGCCTCCCGCCTGTGGTGCCTC
CTGAACTGCGTCCGCCGTCTAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTC
CGGCGCTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCCTGACCCTG
CTTGCTCAACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGATCCAAGCTGT
GACCGGCGCCTACGGCTAGCCACCATGCTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGA
ACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTGATCCCC*CAGGTGCAACTCCAGCAGTCCGGCGCCGA*
GCTGGTCAGGCCAGGTGCATCCGTAACTCTGTCATGTAAGGCGTCCGGATACACCTTCAC
GGACTACGAAATGCATTGGATAAAACAAACTCCAGTTCATGGGTTGGAGTGGATTGGCTCC
ATAGACCCGGAAACGGGAGTAACGGCGTATAACCAGAAATTCACGGGGAAAGCGATAGTA
ACGGCAGACAAGTCTAGTAGCACTGCCTACATGGAACTTAGAAGTCTCACAAGTGAAGACA
GCGCGGTATATTATTGCACCTCCGATTATGGATACTTTGACGTTTGGGGTACGGGCACGAC
AGTGACTGTTAGTTCTGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAGGAT
CTGATGTTGTAATGACGCAGTCTCAAAAGTTTATGTCAACGTCTGTTGGTGATCGCGTTAG
CATTACCTGCAAAGCATCTCAAAGTGTAGGATCTGATGTGGCATGGTACCAGCAACGGCCT
GGACGCTGTCCTAAAGCGCTGATTTATCTTGCTTCTAACCGGCATACGGGGGTCCCAGAC
AGGTTTACTGGGTCTGGATCTGGAACGGACTTTACACTGACCATATCAAACGTTCAGTCAG
AGGACCTGGCCGAGTATTTCTGTCAACAATATAACATATACCCCTATACCTTCGGTGGAGG
*AACTAAATTGGAGATAAAG***GAGTCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCCTTGCCCT**GGCCA
GCCTAGAGAACCCCAGGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAACCA
GGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAATGGGA
GAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACG
GCAGCTTCTTCCTGTACTCCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAAGGCAAC
GTCTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTG
AGCCTGAGCCTGGGCAAG*ATGTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTCGGAGGCGTGCTGGCCTG*
*CTACAGCCTGCTGGTCACCGTGGCCTTCATCATCTTTTGGGTG***AAACGGGGCAGAAAGAA**
ACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAGAGGAAGA
TGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGCGGGTGAAGT
TCAGCAGAAGCGCCGACGCCCCTGCCTACCAGCAGGGCCAGAATCAGCTGTACAACGAG
CTGAACCTGGGCAGAAGGGAAGAGTACGACGTCCTGGATAAGCGGAGAGGCCGGGACCC
TGAGATGGGCGGCAAGCCTCGGCGGAAGAACCCCCAGGAAGGCCTGTATAACGAACTGC
AGAAAGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGGCG
GGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTATCAGGGCCTGTCCACCGCCACCAAGGATACCTACG
ACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCAAGG*CTCGAGGGCGGCGGAGAGGGCAGAGG*
*AAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAGGAGAATCCAGGCCCTAGG***ATGCCACCTCCAAG**
ACTCCTCTTCTTCCTCCTCTTCCTGACACCAATGGAAGTCAGGCCTGAGGAACCTCTAGT
GGTGAAGGTGGAAGAGGGAGATAACGCTGTGTTACAGTGCCTCAAGGGAACCTCAGAT
GGACCCACTCAGCAGCTGACCTGGTCTCGGGAGTCTCCGCTTAAACCCTTCCTGAAACT
CAGCCTTGGACTGCCAGGTCTGGGAATCCACATGAGGCCACTGGCTATCTGGCTGTTCA
TCTTCAACGTCTCTCAACAGATGGGAGGCTTCTACCTGTGTCAGCCTGGACCACCTTCTG
AGAAGGCATGGCAGCCTGGTTGGACAGTCAATGTGGAGGGTTCTGGTGAGCTGTTCCGG
TGGAATGTTTCGGACCTAGGTGGACTGGGATGTGGTCTGAAGAACAGGTCCTCAGAGGG
ACCTAGCTCTCCTTCCGGGAAGCTCATGAGCCCCAAGCTGTATGTGTGGGCCAAAGACC
GCCCTGAGATCTGGGAGGGAGAGCCTCCGTGTGTCCCACCGAGGGACAGCCTGAACCA

图36续

GAGCCTCAGCCAGGACCTCACCATGGCCCCTGGCTCCACACTCTGGCTGTCCTGTGGGG
TACCCCCTGACTCTGTGTCCAGGGGCCCCCTCTCCTGGACCCATGTGCACCCCAAGGGG
CCTAAGTCATTGCTGAGCCTAGAGCTGAAGGACGATCGCCCTGCCAGAGATATGTGGGT
AATGGAGACGGGTCTGTTGTTGCCCCGGGCCACAGCTCAAGACGCTGGAAAGTATTATT
GTCACCGTGGCAACCTGACCATGTCATTCCACCTGGAGATCACTGCTCGGCCAGTACTAT
GGCACTGGCTGCTGAGGACTGGTGGCTGGAAGGTCTCAGCTGTGACTTTGGCTTATCTG
ATCTTCTGCCTGTGTTCCCTTGTGGGCATTCTTCATCTTCAAAGAGCCCTGGTCCTGAGGA
GGAAAAGATGA (SEQ ID NO: 326)

在以上序列内，EF1启动子是第一个粗体序列；编码GM-CSFR信号肽的序列是第一个加下划线的序列；编码5D12_LvHv的序列是第一个斜体序列；编码IgG4铰链S10P的序列是第二个粗体序列；编码IgG4-int(DS)的序列是第二个加下划线的序列；编码CD28tm的序列是第二个斜体序列；编码4-1BB信号传导序列的序列是第三个粗体序列；编码CD3z的序列是第三个加下划线的序列；编码T2A的序列是第三个斜体序列；并且tCD19全序列是以上序列中的第四个粗体部分。

3A5v2-HvLv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链：

GGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCC
CGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGG
GGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAG
AACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCA
GAACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACGCGCCCGCCGCCCTACC
TGAGGCCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTTCTGCCGCCTCCCGCCTGTGGTGCCTC
CTGAACTGCGTCCGCCGTCTAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTC
CGGCGCTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCCTGACCCTG
CTTGCTCAACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGATCCAAGCTGT
GACCGGCGCCTACGGCTAGCCACC<u>ATGCTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGA</u>
<u>ACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTGATCCCC</u>*CAGGTGCAACTCCAGCAGTCCGGCGCCGA*
GCTGGTCAGGCCAGGTGCATCCGTAACTCTGTCATGTAAGGCGTCCGGATACACCTTCAC
GGACTACGAAATGCATTGGATAAAACAAACTCCAGTTCATGGGTTGGAGTGGATTGGCTCC
ATAGACCCGGAAACGGGAGTAACGGCGTATAACCAGAAATTCACGGGGAAAGCGATAGTA
ACGGCAGACAAGTCTAGTAGCACTGCCTACATGGAACTTAGAAGTCTCACAAGTGAAGACA
GCGCGGTATATTATTGCACCTCCGATTATGGATACTTTAACGTTTGGGGTACGGGCACGAC
AGTGACTGTTAGTTCTGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAGGAT
CTGATGTTGTAATGACGCAGTCTCAAAAGTTTATGTCAACGTCTGTTGGTGATCGCGTTAG
CATTACCTGCAAAGCATCTCAAAGTGTAGGATCTGATGTGGCATGGTACCAGCAACGGCCT
GGACGCTGTCCTAAAGCGCTGATTTATCTTGCTTCTAACCGGCATACGGGGGTCCCAGAC
AGGTTTACTGGGTCTGGATCTGGAACGGACTTTACACTGACCATATCAAACGTTCAGTCAG
AGGACCTGGCCGAGTATTTCTGTCAACAATATAACATATACCCCTATACCTTCGGTGGAGG
*AACTAAATTGGAGATAAAG***GAGTCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCCTTGCCCT**<u>GGCCA</u>
<u>GCCTAGAGAACCCCAGGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAACCA</u>
<u>GGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAATGGGA</u>
<u>GAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACG</u>
<u>GCAGCTTCTTCCTGTACTCCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAAGGCAAC</u>
<u>GTCTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTG</u>
<u>AGCCTGAGCCTGGGCAAG</u>*ATGTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTCGGAGGCGTGCTGGCCTG*
*CTACAGCCTGCTGGTCACCGTGGCCTTCATCATCTTTTGGGTG***AAACGGGGCAGAAAGAA**
ACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAGAGGAAGA

图36续

TGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGCGGGTGAAGT
TCAGCAGAAGCGCCGACGCCCCTGCCTACCAGCAGGGCCAGAATCAGCTGTACAACGAG
CTGAACCTGGGCAGAAGGGAAGAGTACGACGTCCTGGATAAGCGGAGAGGCCGGGACCC
TGAGATGGGCGGCAAGCCTCGGCGGAAGAACCCCCAGGAAGGCCTGTATAACGAACTGC
AGAAAGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGGCG
GGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTATCAGGGCCTGTCCACCGCCACCAAGGATACCTACG
ACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCAAGG*CTCGAGGGCGGCGGAGAGGGCAGAGG*
*AAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAGGAGAATCCAGGCCCTAGG*ATGCCACCTCCAAG
ACTCCTCTTCTTCCTCCTCTTCCTGACACCAATGGAAGTCAGGCCTGAGGAACCTCTAGT
GGTGAAGGTGGAAGAGGGAGATAACGCTGTGTTACAGTGCCTCAAGGGAACCTCAGAT
GGACCCACTCAGCAGCTGACCTGGTCTCGGGAGTCTCCGCTTAAACCCTTCCTGAAACT
CAGCCTTGGACTGCCAGGTCTGGGAATCCACATGAGGCCACTGGCTATCTGGCTGTTCA
TCTTCAACGTCTCTCAACAGATGGGAGGCTTCTACCTGTGTCAGCCTGGACCACCTTCTG
AGAAGGCATGGCAGCCTGGTTGGACAGTCAATGTGGAGGGTTCTGGTGAGCTGTTCCGG
TGGAATGTTTCGGACCTAGGTGGACTGGGATGTGGTCTGAAGAACAGGTCCTCAGAGGG
ACCTAGCTCTCCTTCCGGGAAGCTCATGAGCCCCAAGCTGTATGTGTGGGCCAAAGACC
GCCCTGAGATCTGGGAGGGAGAGCCTCCGTGTGTCCCACCGAGGGACAGCCTGAACCA
GAGCCTCAGCCAGGACCTCACCATGGCCCCTGGCTCCACACTCTGGCTGTCCTGTGGGG
TACCCCCTGACTCTGTGTCCAGGGGCCCCCTCTCCTGGACCCATGTGCACCCCAAGGGG
CCTAAGTCATTGCTGAGCCTAGAGCTGAAGGACGATCGCCCTGCCAGAGATATGTGGGT
AATGGAGACGGGTCTGTTGTTGCCCCGGGCCACAGCTCAAGACGCTGGAAAGTATTATT
GTCACCGTGGCAACCTGACCATGTCATTCCACCTGGAGATCACTGCTCGGCCAGTACTAT
GGCACTGGCTGCTGAGGACTGGTGGCTGGAAGGTCTCAGCTGTGACTTTGGCTTATCTG
ATCTTCTGCCTGTGTTCCCTTGTGGGCATTCTTCATCTTCAAAGAGCCCTGGTCCTGAGGA
GGAAAAGATGA (SEQ ID NO: 327)

在以上序列内，EF1启动子是第一个粗体序列；编码GM-CSFR信号肽的序列是第一个加下划线的序列；编码5D12_LvHv的序列是第一个斜体序列；编码IgG4铰链S10P的序列是第二个粗体序列；编码IgG4-int(DS)的序列是第二个加下划线的序列；编码CD28tm的序列是第二个斜体序列；编码4-1BB信号传导序列的序列是第三个粗体序列；编码CD3z的序列是第三个加下划线的序列；编码T2A的序列是第三个斜体序列；并且tCD19全序列是以上序列中的第四个粗体部分。

3A5v1-LvHv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链：

GGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCC
CGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGG
GGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAG
AACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCA
GAACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACGCGCCCGCCGCCCTACC
TGAGGCCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTTCTGCCGCCTCCCGCCTGTGGTGCCTC
CTGAACTGCGTCCGCCGTCTAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTC
CGGCGCTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCCTGACCCTG
CTTGCTCAACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGATCCAAGCTGT
GACCGGCGCCTAC*GGCTAGCCACC*ATGCTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGA
*ACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTGATCCCC**GATGTTGTAATGACGCAGTCTCAAAAGTTT***
ATGTCAACGTCTGTTGGTGATCGCGTTAGCATTACCTGCAAAGCATCTCAAAGTGTAGGAT
CTGATGTGGCATGGTACCAGCAACGGCCTGGACGCTGTCCTAAAGCGCTGATTTATCTTG
CTTCTAACCGGCATACGGGGGTCCCAGACAGGTTTACTGGGTCTGGATCTGGAACGGACT

图36续

TTACACTGACCATATCAAACGTTCAGTCAGAGGACCTGGCCGAGTATTTCTGTCAACAATAT
AACATATACCCCTATACCTTCGGTGGAGGAACTAAATTGGAGATAAAGGGAGGCGGAGGA
TCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAGGATCTCAGGTGCAACTCCAGCAGTCCGGCGC
CGAGCTGGTCAGGCCAGGTGCATCCGTAACTCTGTCATGTAAGGCGTCCGGATACACCTT
CACGGACTACGAAATGCATTGGATAAAACAAACTCCAGTTCATGGGTTGGAGTGGATTGGC
TCCATAGACCCGGAAACGGGAGTAACGGCGTATAACCAGAAATTCACGGGGAAAGCGATA
GTAACGGCAGACAAGTCTAGTAGCACTGCCTACATGGAACTTAGAAGTCTCACAAGTGAAG
ACAGCGCGGTATATTATTGCACCTCCGATTATGGATACTTTGACGTTTGGGGTACGGGCAC
*GACAGTGACTGTTAGTTCT***GAGTCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCCTTGCCCT**GGCCA
GCCTAGAGAACCCCAGGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAACCA
GGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAATGGGA
GAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACG
GCAGCTTCTTCCTGTACTCCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAAGGCAAC
GTCTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTG
AGCCTGAGCCTGGGCAAG*ATGTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTCGGAGGCGTGCTGGCCTG*
*CTACAGCCTGCTGGTCACCGTGGCCTTCATCATCTTTTGGGTG***AAACGGGGCAGAAAGAA**
ACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAGAGGAAGA
TGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGCGGGTGAAGT
TCAGCAGAAGCGCCGACGCCCCTGCCTACCAGCAGGGCCAGAATCAGCTGTACAACGAG
CTGAACCTGGGCAGAAGGGAAGAGTACGACGTCCTGGATAAGCGGAGAGGCCGGGACCC
TGAGATGGGCGGCAAGCCTCGGCGGAAGAACCCCCAGGAAGGCCTGTATAACGAACTGC
AGAAAGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGGCG
GGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTATCAGGGCCTGTCCACCGCCACCAAGGATACCTACG
ACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCAAGG*CTCGAGGGCGGCGGAGAGGGCAGAGG*
*AAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAGGAGAATCCAGGCCCTAGG***ATGCCACCTCCAAG**
ACTCCTCTTCTTCCTCCTCTTCCTGACACCAATGGAAGTCAGGCCTGAGGAACCTCTAGT
GGTGAAGGTGGAAGAGGGAGATAACGCTGTGTTACAGTGCCTCAAGGGAACCTCAGAT
GGACCCACTCAGCAGCTGACCTGGTCTCGGGAGTCTCCGCTTAAACCCTTCCTGAAACT
CAGCCTTGGACTGCCAGGTCTGGGAATCCACATGAGGCCACTGGCTATCTGGCTGTTCA
TCTTCAACGTCTCTCAACAGATGGGAGGCTTCTACCTGTGTCAGCCTGGACCACCTTCTG
AGAAGGCATGGCAGCCTGGTTGGACAGTCAATGTGGAGGGTTCTGGTGAGCTGTTCCGG
TGGAATGTTTCGGACCTAGGTGGACTGGGATGTGGTCTGAAGAACAGGTCCTCAGAGGG
ACCTAGCTCTCCTTCCGGGAAGCTCATGAGCCCCAAGCTGTATGTGTGGGCCAAAGACC
GCCCTGAGATCTGGGAGGGAGAGCCTCCGTGTGTCCCACCGAGGGACAGCCTGAACCA
GAGCCTCAGCCAGGACCTCACCATGGCCCCTGGCTCCACACTCTGGCTGTCCTGTGGGG
TACCCCCTGACTCTGTGTCCAGGGGCCCCCTCTCCTGGACCCATGTGCACCCCAAGGGG
CCTAAGTCATTGCTGAGCCTAGAGCTGAAGGACGATCGCCCTGCCAGAGATATGTGGGT
AATGGAGACGGGTCTGTTGTTGCCCCGGGCCACAGCTCAAGACGCTGGAAAGTATTATT
GTCACCGTGGCAACCTGACCATGTCATTCCACCTGGAGATCACTGCTCGGCCAGTACTAT
GGCACTGGCTGCTGAGGACTGGTGGCTGGAAGGTCTCAGCTGTGACTTTGGCTTATCTG
ATCTTCTGCCTGTGTTCCCTTGTGGGCATTCTTCATCTTCAAAGAGCCCTGGTCCTGAGGA
GGAAAAGATGA (SEQ ID NO: 328)

在以上序列内，EF1启动子是第一个粗体序列；编码GM-CSFR信号肽的序列是第一个加下划线的序列；编码5D12_LvHv的序列是第一个斜体序列；编码IgG4铰链S10P的序列是第二个粗体序列；编码IgG4-int(DS)的序列是第二个加下划线的序列；编码CD28tm的序列是第二个斜体序列；编码4-1BB信号传导序列的序列是第三个粗体序列；编码CD3z的序列是第三个加下划线的序列；编码T2A的序列是第三个斜体序列；并且tCD19

图36续

全序列是以上序列中的第四个粗体部分。

3A5v2-LvHv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链:

GGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCC
CGAGAAGTTGGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGG
GGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAG
AACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCA
GAACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACGCGCCCGCCGCCCTACC
TGAGGCCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTTCTGCCGCCTCCCGCCTGTGGTGCCTC
CTGAACTGCGTCCGCCGTCTAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTC
CGGCGCTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCCTGACCCTG
CTTGCTCAACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGATCCAAGCTGT
GACCGGCGCCTACGGCTAGCCACCATGCTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGA
ACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTGATCCCCGATGTTGTAATGACGCAGTCTCAAAAGTTT
ATGTCAACGTCTGTTGGTGATCGCGTTAGCATTACCTGCAAAGCATCTCAAAGTGTAGGAT
CTGATGTGGCATGGTACCAGCAACGGCCTGGACGCTGTCCTAAAGCGCTGATTTATCTTG
CTTCTAACCGGCATACGGGGGTCCCAGACAGGTTTACTGGGTCTGGATCTGGAACGGACT
TTACACTGACCATATCAAACGTTCAGTCAGAGGACCTGGCCGAGTATTTCTGTCAACAATAT
AACATATACCCCTATACCTTCGGTGGAGGAACTAAATTGGAGATAAAGGGAGGCGGAGGA
TCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAGGATCTCAGGTGCAACTCCAGCAGTCCGGCGC
CGAGCTGGTCAGGCCAGGTGCATCCGTAACTCTGTCATGTAAGGCGTCCGGATACACCTT
CACGGACTACGAAATGCATTGGATAAAACAAACTCCAGTTCATGGGTTGGAGTGGATTGGC
TCCATAGACCCGGAAACGGGAGTAACGGCGTATAACCAGAAATTCACGGGGAAAGCGATA
GTAACGGCAGACAAGTCTAGTAGCACTGCCTACATGGAACTTAGAAGTCTCACAAGTGAAG
ACAGCGCGGTATATTATTGCACCTCCGATTATGGATACTTTAACGTTTGGGGTACGGGCAC
GACAGTGACTGTTAGTTCTGAGTCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCCTTGCCCTGGCCA
GCCTAGAGAACCCCAGGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAACCA
GGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAATGGGA
GAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACG
GCAGCTTCTTCCTGTACTCCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAAGGCAAC
GTCTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTG
AGCCTGAGCCTGGGCAAGATGTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTCGGAGGCGTGCTGGCCTG
CTACAGCCTGCTGGTCACCGTGGCCTTCATCATCTTTTGGGTGAAACGGGGCAGAAAGAA
ACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAGAGGAAGA
TGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGCGGGTGAAGT
TCAGCAGAAGCGCCGACGCCCCTGCCTACCAGCAGGGCCAGAATCAGCTGTACAACGAG
CTGAACCTGGGCAGAAGGGAAGAGTACGACGTCCTGGATAAGCGGAGAGGCCGGGACCC
TGAGATGGGCGGCAAGCCTCGGCGGAAGAACCCCCAGGAAGGCCTGTATAACGAACTGC
AGAAAGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGGCG
GGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTATCAGGGCCTGTCCACCGCCACCAAGGATACCTACG
ACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCAAGGCTCGAGGGCGGCGGAGAGGGCAGAGG
AAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAGGAGAATCCAGGCCCTAGGATGCCACCTCCAAG
ACTCCTCTTCTTCCTCCTCTTCCTGACACCAATGGAAGTCAGGCCTGAGGAACCTCTAGT
GGTGAAGGTGGAAGAGGGAGATAACGCTGTGTTACAGTGCCTCAAGGGAACCTCAGAT
GGACCCACTCAGCAGCTGACCTGGTCTCGGGAGTCTCCGCTTAAACCCTTCCTGAAACT
CAGCCTTGGACTGCCAGGTCTGGGAATCCACATGAGGCCACTGGCTATCTGGCTGTTCA
TCTTCAACGTCTCTCAACAGATGGGAGGCTTCTACCTGTGTCAGCCTGGACCACCTTCTG
AGAAGGCATGGCAGCCTGGTTGGACAGTCAATGTGGAGGGTTCTGGTGAGCTGTTCCGG
TGGAATGTTTCGGACCTAGGTGGACTGGGATGTGGTCTGAAGAACAGGTCCTCAGAGGG

图36续

ACCTAGCTCTCCTTCCGGGAAGCTCATGAGCCCCAAGCTGTATGTGTGGGCCAAAGACC
GCCCTGAGATCTGGGAGGGAGAGCCTCCGTGTGTCCCACCGAGGGACAGCCTGAACCA
GAGCCTCAGCCAGGACCTCACCATGGCCCCTGGCTCCACACTCTGGCTGTCCTGTGGGG
TACCCCCTGACTCTGTGTCCAGGGGCCCCCTCTCCTGGACCCATGTGCACCCCAAGGGG
CCTAAGTCATTGCTGAGCCTAGAGCTGAAGGACGATCGCCCTGCCAGAGATATGTGGGT
AATGGAGACGGGTCTGTTGTTGCCCCGGGCCACAGCTCAAGACGCTGGAAAGTATTATT
GTCACCGTGGCAACCTGACCATGTCATTCCACCTGGAGATCACTGCTCGGCCAGTACTAT
GGCACTGGCTGCTGAGGACTGGTGGCTGGAAGGTCTCAGCTGTGACTTTGGCTTATCTG
ATCTTCTGCCTGTGTTCCCTTGTGGGCATTCTTCATCTTCAAAGAGCCCTGGTCCTGAGGA
GGAAAAGATGA (SEQ ID NO: 329)

在以上序列内，EF1启动子是第一个粗体序列；编码GM-CSFR信号肽的序列是第一个加下划线的序列；编码5D12_LvHv的序列是第一个斜体序列；编码IgG4铰链S10P的序列是第二个粗体序列；编码IgG4-int(DS)的序列是第二个加下划线的序列；编码CD28tm的序列是第二个斜体序列；编码4-1BB信号传导序列的序列是第三个粗体序列；编码CD3z的序列是第三个加下划线的序列；编码T2A的序列是第三个斜体序列；并且tCD19全序列是以上序列中的第四个粗体部分。

1H7-LvHv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链：

GGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCC
CGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGG
GGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAG
AACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCA
GAACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACGCGCCCGCCGCCCTACC
TGAGGCCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTTCTGCCGCCTCCCGCCTGTGGTGCCTC
CTGAACTGCGTCCGCCGTCTAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTC
CGGCGCTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCCTGACCCTG
CTTGCTCAACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGATCCAAGCTGT
GACCGGCGCCTACGGCTAGCCACC<u>ATGCTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGA</u>
<u>ACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTGATCCCC</u>*GATATTCAGATGACCCAAACTACGAGTTCC*
CTGTCTGCCAGCCTTGGCGACCGGGTCACAATTAGTTGCAGGGCTTCTCAGGATATCAACT
ACTATTTGAACTGGTACCAGCAGAAACCTGATGGGACGGTCAAACTTCTCATCTACTATTCA
TCCAGACTGCACAGTGGCGTACCGTCTAGATTCTCAGGAAGCGGCAGTGGTACGGATTTT
AGTCTTACCATTAGTAATCTGGAACAGGAGGACATCGCCACGTATTTTTGCCAGCAGGATG
ACGCACTGCCCTATACCTTCGGCGGAGGCACTAAGTTGGAGATAAAAGGAGGCGGAGGAT
CTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAGGATCTCAAGTACAACTTCAACAAAGTGGAGCC
GAACTGGTAAAACCCGGAGCGTCTGTGAAGATTAGTTGCAAGGCATCCGGTTACGCCTTCT
CAAATTATTGGATGAACTGGGTAAAGCAGCGGCCCGGAAAGGGTCTCGAGTGGATTGGGC
AAATCAACCCAGGGGACGGGGATACGAACTACAACGGTAAGTTCAAAGGCAAGGCTACGT
TGACGGCTGATAAGAGCTCAAGCACCGCTTACATGCAGTTGTCTTCTTTGACAAGTGAGGA
TAGTGCCGTTTACTTCTGCGCCCGAGAGGACCGAGATTATTTTGATTATTGGGGCCAGGGA
*ACAACTCTCACCGTCAGCTCC***GAGTCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCCTTGCCCT**<u>GGC</u>
<u>CAGCCTAGAGAACCCCAGGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAAC</u>
<u>CAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAATGG</u>
<u>GAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGA</u>
<u>CGGCAGCTTCTTCCTGTACTCCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAAGGCA</u>
<u>ACGTCTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCC</u>
<u>TGAGCCTGAGCCTGGGCAAG</u>*ATGTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTCGGAGGCGTGCTGGCC*

图36续

*TGCTACAGCCTGCTGGTCACCGTGGCCTTCATCATCTTTTGGGTG*AAACGGGGCAGAAAG
AAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAGAGGAA
GATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGCGGGTGAA
GTTCAGCAGAAGCGCCGACGCCCCTGCCTACCAGCAGGGCCAGAATCAGCTGTACAACG
AGCTGAACCTGGGCAGAAGGGAAGAGTACGACGTCCTGGATAAGCGGAGAGGCCGGGAC
CCTGAGATGGGCGGCAAGCCTCGGCGGAAGAACCCCCAGGAAGGCCTGTATAACGAACT
GCAGAAAGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCGGAGGC
GGGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTATCAGGGCCTGTCCACCGCCACCAAGGATACCTAC
GACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCAAGG*CTCGAGGGCGGCGGAGAGGGCAGAG*
*GAAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAGGAGAATCCAGGCCCTAGG*ATGCCACCTCCAA
GACTCCTCTTCTTCCTCCTCTTCCTGACACCAATGGAAGTCAGGCCTGAGGAACCTCTAG
TGGTGAAGGTGGAAGAGGGAGATAACGCTGTGTTACAGTGCCTCAAGGGAACCTCAGAT
GGACCCACTCAGCAGCTGACCTGGTCTCGGGAGTCTCCGCTTAAACCCTTCCTGAAACT
CAGCCTTGGACTGCCAGGTCTGGGAATCCACATGAGGCCACTGGCTATCTGGCTGTTCA
TCTTCAACGTCTCTCAACAGATGGGAGGCTTCTACCTGTGTCAGCCTGGACCACCTTCTG
AGAAGGCATGGCAGCCTGGTTGGACAGTCAATGTGGAGGGTTCTGGTGAGCTGTTCCGG
TGGAATGTTTCGGACCTAGGTGGACTGGGATGTGGTCTGAAGAACAGGTCCTCAGAGGG
ACCTAGCTCTCCTTCCGGGAAGCTCATGAGCCCCAAGCTGTATGTGTGGGCCAAAGACC
GCCCTGAGATCTGGGAGGGAGAGCCTCCGTGTGTCCCACCGAGGGACAGCCTGAACCA
GAGCCTCAGCCAGGACCTCACCATGGCCCCTGGCTCCACACTCTGGCTGTCCTGTGGGG
TACCCCCTGACTCTGTGTCCAGGGGCCCCCTCTCCTGGACCCATGTGCACCCCAAGGGG
CCTAAGTCATTGCTGAGCCTAGAGCTGAAGGACGATCGCCCTGCCAGAGATATGTGGGT
AATGGAGACGGGTCTGTTGTTGCCCCGGGCCACAGCTCAAGACGCTGGAAAGTATTATT
GTCACCGTGGCAACCTGACCATGTCATTCCACCTGGAGATCACTGCTCGGCCAGTACTAT
GGCACTGGCTGCTGAGGACTGGTGGCTGGAAGGTCTCAGCTGTGACTTTGGCTTATCTG
ATCTTCTGCCTGTGTTCCCTTGTGGGCATTCTTCATCTTCAAAGAGCCCTGGTCCTGAGGA
GGAAAAGATGA (SEQ ID NO: 330)

在以上序列内，EF1启动子是第一个粗体序列；编码GM-CSFR信号肽的序列是第一个加下划线的序列；编码5D12_LvHv的序列是第一个斜体序列；编码IgG4铰链S10P的序列是第二个粗体序列；编码IgG4-int(DS)的序列是第二个加下划线的序列；编码CD28tm的序列是第二个斜体序列；编码4-1BB信号传导序列的序列是第三个粗体序列；编码CD3z的序列是第三个加下划线的序列；编码T2A的序列是第三个斜体序列；并且tCD19全序列是以上序列中的第四个粗体部分。

9G2-LvHv-intDS-41bb-3z-T-CD19t正链：

GGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACAGTCCC
CGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGG
GGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAG
AACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCA
GAACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACGCGCCCGCCGCCCTACC
TGAGGCCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTTCTGCCGCCTCCCGCCTGTGGTGCCTC
CTGAACTGCGTCCGCCGTCTAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTC
CGGCGCTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCCTGACCCTG
CTTGCTCAACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGATCCAAGCTGT
GACCGGCGCCTAC*GGCTAGCCACC*ATGCTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGA
ACTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTGATCCCC*GATATACAAATGACTCAGACAACGAGCAGT*
TTGTCCGCATCTCTTGGCGATCGAGTAACTATTAGCTGCAAGACATCCCAGGACATATATA

图36续

ATTATTTGAATTGGTATCAGCAGAAACCGGACGGAACTGTCAAACTCCTCATTTATTATACC
TCCAGGCTTCATAGTGGGGTTCCTTCCCGATTTAGTGGAGGAGGCTCAGGTACGGACTAC
AGCCTGACGATTTCCAACCTTGAACAAGAAGATATAGCTACATACTTCTGTCAGCAAGGTG
ACACCTTGCCCTGGACATTCGGTGGGGGTACAAAACTCGAAATAAAGGGAGGCGGAGGAT
CTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAGGATCTGAGGTCAAGCTTGTCGAGTCAGAGGGA
GGTTTGGTCCAGCCGGGTTCTTCTATGAAACTCTCCTGCACAGCCAGTGGCTTTACATTTA
GTGATTACTACATGAGTTGGGTGAGACAGGTGCCTGAGAAAGGGCTGGAGTGGGTAGCTT
CCATTAACTACGACGGAGGTAGCACCTATTACTTGGACTCCTTGAAAAGCAGATTCATAATT
TCCAGGGATAATACGAAAAACATACTTTATCTTCAAATGTCCTCTTTGAAGAGCGAGGACAC
AGCCACATACTATTGCGCCAGGGATAGAGGCGATGGTGATTATTTTGACTATTGGGGACAG
*GGCACAACACTCACGGTCAGCAGC***GAGTCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCCTTGCCC**
TGGCCAGCCTAGAGAACCCCAGGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAGGAAGAGATGACCAA
GAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGATATCGCCGTGGA
ATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACA
GCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACTCCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAA
GGCAACGTCTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAG
TCCCTGAGCCTGAGCCTGGGCAAG*ATGTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTCGGAGGCGTGCT*
*GGCCTGCTACAGCCTGCTGGTCACCGTGGCCTTCATCATCTTTTGGGTG***AAACGGGGCAG**
AAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAGA
GGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGCGG
GTGAAGTTCAGCAGAAGCGCCGACGCCCCTGCCTACCAGCAGGGCCAGAATCAGCTGTA
CAACGAGCTGAACCTGGGCAGAAGGGAAGAGTACGACGTCCTGGATAAGCGGAGAGGCC
GGGACCCTGAGATGGGCGGCAAGCCTCGGCGGAAGAACCCCCAGGAAGGCCTGTATAAC
GAACTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGCG
GAGGCGGGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTATCAGGGCCTGTCCACCGCCACCAAGGATA
CCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCAAGG*CTCGAGGGCGGCGGAGAGGG*
*CAGAGGAAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAGGAGAATCCAGGCCCTAGG***ATGCCACC**
TCCAAGACTCCTCTTCTTCCTCCTCTTCCTGACACCAATGGAAGTCAGGCCTGAGGAACC
TCTAGTGGTGAAGGTGGAAGAGGGAGATAACGCTGTGTTACAGTGCCTCAAGGGAACCT
CAGATGGACCCACTCAGCAGCTGACCTGGTCTCGGGAGTCTCCGCTTAAACCCTTCCTG
AAACTCAGCCTTGGACTGCCAGGTCTGGGAATCCACATGAGGCCACTGGCTATCTGGCT
GTTCATCTTCAACGTCTCTCAACAGATGGGAGGCTTCTACCTGTGTCAGCCTGGACCACC
TTCTGAGAAGGCATGGCAGCCTGGTTGGACAGTCAATGTGGAGGGTTCTGGTGAGCTGT
TCCGGTGGAATGTTTCGGACCTAGGTGGACTGGGATGTGGTCTGAAGAACAGGTCCTCA
GAGGGACCTAGCTCTCCTTCCGGGAAGCTCATGAGCCCCAAGCTGTATGTGTGGGCCAA
AGACCGCCCTGAGATCTGGGAGGGAGAGCCTCCGTGTGTCCCACCGAGGGACAGCCTG
AACCAGAGCCTCAGCCAGGACCTCACCATGGCCCCTGGCTCCACACTCTGGCTGTCCTG
TGGGGTACCCCCTGACTCTGTGTCCAGGGGCCCCCTCTCCTGGACCCATGTGCACCCCA
AGGGGCCTAAGTCATTGCTGAGCCTAGAGCTGAAGGACGATCGCCCTGCCAGAGATATG
TGGGTAATGGAGACGGGTCTGTTGTTGCCCCGGGCCACAGCTCAAGACGCTGGAAAGTA
TTATTGTCACCGTGGCAACCTGACCATGTCATTCCACCTGGAGATCACTGCTCGGCCAGT
ACTATGGCACTGGCTGCTGAGGACTGGTGGCTGGAAGGTCTCAGCTGTGACTTTGGCTT
ATCTGATCTTCTGCCTGTGTTCCCTTGTGGGCATTCTTCATCTTCAAAGAGCCCTGGTCCT
GAGGAGGAAAAGATGA (SEQ ID NO: 331)

在以上序列内，EF1启动子是第一个粗体序列；编码GM-CSFR信号肽的序列是第一个加下划线的序列；编码5D12_LvHv的序列是第一个斜体序列；编码IgG4铰链S10P的序列是第二个粗体序列；编码IgG4-int(DS)的序列是第二个加下划线的序列；编码CD28tm的序列是第二个斜体序列；编码4-1BB

图36续

信号传导序列的序列是第三个粗体序列；编码CD3z的序列是第三个加下划线的序列；编码T2A的序列是第三个斜体序列；并且tCD19全序列是以上序列中的第四个粗体部分。

1H7 scFv VH-VL取向(IgK信号肽以粗体斜体显示；VH加下划线；G_4Sx3连接子以斜体显示；VL是正常字体):

METDTLLLWVLLLWVPGSTGQVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYAFSNYWMNWVKQRPGKGLEWIGQINPGDGDTNYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDRDYFDYWGQGTTLTVSS*GGGGSGGGGSGGGGS*DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDINYYLNWYQQKPDGTVKLLIYYSSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFSLTISNLEQEDIATYFCQQDDALPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 332)

1H7 scFv VL-VH取向(IgK信号肽以粗体斜体显示；VL是正常字体；G_4Sx3连接子以斜体显示；VH加下划线):

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDINYYLNWYQQKPDGTVKLLIYYSSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFSLTISNLEQEDIATYFCQQDDALPYTFGGGTKLEIK*GGGGSGGGGSGGGGS*QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYAFSNYWMNWVKQRPGKGLEWIGQINPGDGDTNYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREDRDYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 333)

9G2 scFv VH-VL取向(IgK信号肽以粗体斜体显示；VH加下划线；G_4Sx3连接子以斜体显示；VL是正常字体):

METDTLLLWVLLLWVPGSTGEVKLVESEGGLVQPGSSMKLSCTASGFTFSDYYMSWVRQVPEKGLEWVASINYDGGSTYYLDSLKSRFIISRDNTKNILYLQMSSLKSEDTATYYCARDRGDGDYFDYWGQGTTLTVSS*GGGGSGGGGSGGGGS*DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCKTSQDIYNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGGGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGDTLPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 334)

9G2 scFv VL-VH取向(IgK信号肽以粗体斜体显示；VL是正常字体；G_4Sx3连接子以斜体显示；VH加下划线):

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCKTSQDIYNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGGGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGDTLPWTFGGGTKLEIK*GGGGSGGGGSGGGGS*EVKLVESEGGLVQPGSSMKLSCTASGFTFSDYYMSWVRQVPEKGLEWVASINYDGGSTYYLDSLKSRFIISRDNTKNILYLQMSSLKSEDTATYYCARDRGDGDYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 335)

5D12 scFv VH-VL取向(IgK信号肽以粗体斜体显示；VH加下划线；G_4Sx3连接子以斜体显示；VL是正常字体):

METDTLLLWVLLLWVPGSTGQVQLQQSGAEVVKPGASVKISCRASGYAFSNYWMNWVKQRPGKGLEWIGQIYPGNFNTDYNGQFKGKATLTVDKSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARFFDFGAYFTLDYWGQGTSVTVSS*GGGGSGGGGSGGGGS*DIKMTQSPSSIYASLGERVTINCKASQDIKSYLSWYQQKPWKSPKTLIYYATTLADGVPSRFSGSGSGQDYSLTISSLESDDTATYYCLHHGESPWTFGEGTKLEIK (SEQ ID NO: 336)

5D12 scFv VL-VH取向(IgK信号肽以粗体斜体显示；VL是正常字体；G_4Sx3连接子以斜体显示；VH加下划线):

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDIKMTQSPSSIYASLGERVTINCKASQDIKSYLSWYQQKPWKSPKTLIYYATTLADGVPSRFSGSGSGQDYSLTISSLESDDTATYYCLHHGESPWTFGEGTKLEIK

图36续

*GGGGSGGGGSGGGGS*QVQLQQSGAEVVKPGASVKISCRASGYAFSNYWMNWVKQRPGKG
LEWIGQIYPGNFNTDYNGQFKGKATLTVDKSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARFFDFGAYFTL
DYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 337)

3A5变体1 scFv VH-VL取向(IgK信号肽以粗体斜体显示； VH加下划线；
G_4Sx3连接子以斜体显示； VL是正常字体):
METDTLLLWVLLLWVPGSTGQVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYTFTDYEMHWIKQTPV
HGLEWIGSIDPETGVTAYNQKFTGKAIVTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCTSDYGYFDV
WGTGTTVTVSS*GGGGSGGGGSGGGGS*DVVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQSVGSDVA
WYQQRPGRCPKALIYLASNRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNIYPYT
FGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 338)

3A5变体1 scFv VL-VH取向(IgK信号肽以粗体斜体显示； VL是正常字体； G_4Sx3连接子以斜体显示； VH加下划线):
METDTLLLWVLLLWVPGSTGDVVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQSVGSDVAWYQQRPG
RCPKALIYLASNRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNIYPYTFGGGTKLEI
K*GGGGSGGGGSGGGGS*QVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYTFTDYEMHWIKQTPVHG
LEWIGSIDPETGVTAYNQKFTGKAIVTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCTSDYGYFDVWGT
GTTVTVSS (SEQ ID NO: 339)

3A5变体2 scFv VH-VL取向(IgK信号肽以粗体斜体显示； VH加下划线；
G_4Sx3连接子以斜体显示； VL是正常字体):
METDTLLLWVLLLWVPGSTGQVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYTFTDYEMHWIKQTPV
HGLEWIGSIDPETGVTAYNQKFTGKAIVTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCTSDYGYFNV
WGTGTTVTVSS*GGGGSGGGGSGGGGS*DVVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQSVGSDVA
WYQQRPGRCPKALIYLASNRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNIYPYT
FGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 340)

3A5变体2 scFv VL-VH取向(IgK信号肽以粗体斜体显示； VL是正常字体；
G_4Sx3连接子以斜体显示； VH加下划线):
METDTLLLWVLLLWVPGSTGDVVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQSVGSDVAWYQQRPG
RCPKALIYLASNRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNIYPYTFGGGTKLEI
K*GGGGSGGGGSGGGGS*QVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYTFTDYEMHWIKQTPVHG
LEWIGSIDPETGVTAYNQKFTGKAIVTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCTSDYGYFNVWGT
GTTVTVSS (SEQ ID NO: 341)

人CD33全长DNA编码序列(用于基于细胞的免疫原；人CD33信号肽的编码序列加下划线):
ATGCCGCTGCTGCTACTGCTGCCCCTGCTGTGGGCAGGGGCCCTGGCTATGGATCCAAAT
TTCTGGCTGCAAGTGCAGGAGTCAGTGACGGTACAGGAGGGTTTGTGCGTCCTCGTGCCC
TGCACTTTCTTCCATCCCATACCCTACTACGACAAGAACTCCCCAGTTCATGGTTACTGGTT
CCGGGAAGGAGCCATTATATCCAGGGACTCTCCAGTGGCCACAAACAAGCTAGATCAAGA
AGTACAGGAGGAGACTCAGGGCAGATTCCGCCTCCTTGGGGATCCCAGTAGGAACAACTG
CTCCCTGAGCATCGTAGACGCCAGGAGGAGGGATAATGGTTCATACTTCTTTCGGATGGA
GAGAGGAAGTACCAAATACAGTTACAAATCTCCCCAGCTCTCTGTGCATGTGACAGACTTG
ACCCACAGGCCCAAAATCCTCATCCCTGGCACTCTAGAACCCGGCCACTCCAAAAACCTG
ACCTGCTCTGTGTCCTGGGCCTGTGAGCAGGGAACACCCCCGATCTTCTCCTGGTTGTCA
GCTGCCCCCACCTCCCTGGGCCCCAGGACTACTCACTCCTCGGTGCTCATAATCACCCCA
CGGCCCCAGGACCACGGCACCAACCTGACCTGTCAGGTGAAGTTCGCTGGAGCTGGTGT

图36续

GACTACGGAGAGAACCATCCAGCTCAACGTCACCTATGTTCCACAGAACCCAACAACTGGT
ATCTTTCCAGGAGATGGCTCAGGGAAACAAGAGACCAGAGCAGGAGTGGTTCATGGGGCC
ATTGGAGGAGCTGGTGTTACAGCCCTGCTCGCTCTTTGTCTCTGCCTCATCTTCTTCATAG
TGAAGACCCACAGGAGGAAAGCAGCCAGGACAGCAGTGGGCAGGAATGACACCCACCCT
ACCACAGGGTCAGCCTCCCCGAAACACCAGAAGAAGTCCAAGTTACATGGCCCCACTGAA
ACCTCAAGCTGTTCAGGTGCCGCCCCTACTGTGGAGATGGATGAGGAGCTGCATTATGCT
TCCCTCAACTTTCATGGGATGAATCCTTCCAAGGACACCTCCACCGAATACTCAGAGGTCA
GGACCCAG (SEQ ID NO: 342)

人CD33全长蛋白质(用于基于细胞的免疫原):
MPLLLLLPLLWAGALAMDPNFWLQVQESVTVQEGLCVLVPCTFFHPIPYYDKNSPVHGYWFRE
GAIISRDSPVATNKLDQEVQEETQGRFRLLGDPSRNNCSLSIVDARRRDNGSYFFRMERGSTK
YSYKSPQLSVHVTDLTHRPKILIPGTLEPGHSKNLTCSVSWACEQGTPPIFSWLSAAPTSLGPR
TTHSSVLIITPRPQDHGTNLTCQVKFAGAGVTTERTIQLNVTYVPQNPTTGIFPGDGSGKQETR
AGVVHGAIGGAGVTALLALCLCLIFFIVKTHRRKAARTAVGRNDTHPTTGSASPKHQKKSKLHG
PTETSSCSGAAPTVEMDEELHYASLNFHGMNPSKDTSTEYSEVRTQ* (SEQ ID NO: 343)

9G2和/或6H9的轻链信号肽: MMSSAQFLGLLLLCFQGTRC (SEQ ID NO: 344)

3A5v1、3A5v2和/或2D5的轻链信号肽: MESQTQVFVYMLLWLSGVDG (SEQ ID NO: 345)

7D5v1和/或7D5v2的轻链信号肽: MSSAQFLGLLLLCFQGTRC (SEQ ID NO: 346)

11D5的轻链信号肽: MRFSAQLLGLLVLWIPESTA (SEQ ID NO: 347)

6H9的重链信号肽: MNFGLSLIFLVLILKGVQC (SEQ ID NO: 348)

3A5v1和/或3A5v2的重链信号肽: MEWSWVFLFLLSVIAGVQS (SEQ ID NO: 349)

7D5v1和/或7D5v2的重链信号肽: MAVLALLLCLVAFPSCTLS (SEQ ID NO: 350)

2D5的重链信号肽: MEWSWVCLFLLSVIAGVQS (SEQ ID NO: 351)

11D5的重链信号肽: MESNWILPFILSVTSGVYS (SEQ ID NO: 352)

13E11的重链信号肽: MEWCWVFLFLLSVTAGVHS (SEQ ID NO: 353)

My96编码序列:
GAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGGAAGCCTGGCCGTGTCTCCTGGCGAGCGCGTGAC
AATGAGCTGCAAGAGCAGCCAGAGCGTGTTCTTCAGCAGCTCCCAGAAGAACTACCTGGC
CTGGTATCAGCAGATCCCCGGCCAGAGCCCCAGACTGCTGATCTACTGGGCCAGCACCAG
AGAAAGCGGCGTGCCCGATAGATTCACCGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGA
CAATCAGCAGCGTGCAGCCCGAGGACCTGGCCATCTACTACTGCCACCAGTACCTGAGCA
GCCGGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAGAGAGGCGGCGGAGGCTCTGGC

图36续

GGAGGCGGATCTAGTGGCGGAGGATCTCAGGTGCAGCTGCAGCAGCCTGGCGCCGAGGT
CGTGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGATGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAG
CTACTACATCCACTGGATCAAGCAGACCCCTGGACAGGGCCTGGAATGGGTGGGAGTGAT
CTACCCCGGCAACGACGACATCAGCTACAACCAGAAGTTCCAGGGCAAGGCCACCCTGAC
CGCCGACAAGTCTAGCACCACCGCCTACATGCAGCTGTCCAGCCTGACCAGCGAGGACA
GCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGAAGTGCGGCTGCGGTACTTCGATGTGTGGGGCCAG
GGAACCACCGTGACCGTGTCATCT (SEQ ID NO: 354)

My96_int_41BB_3z_TCD19编码序列:

GTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTTAAGCC
TCAATAAAGCTTGCCTTGAGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTGACTCTGGT
AACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTCAGTGTGGAAAATCTCTAGCAGTGGCGCCCGAA
CAGGGACTTGAAAGCGAAAGGGAAACCAGAGGAGCTCTCTCGACGCAGGACTCGGCTTG
CTGAAGCGCGCACGGCAAGAGGCGAGGGGCGGCGACTGGTGAGTACGCCAAAAATTTTG
ACTAGCGGAGGCTAGAAGGAGAGAGATGGGTGCGAGAGCGTCAGTATTAAGCGGGGGAG
AATTAGATCGATGGGAAAAAATTCGGTTAAGGCCAGGGGGAAAGAAAAAATATAAATTAAA
ACATATAGTATGGGCAAGCAGGGAGCTAGAACGATTCGCAGTTAATCCTGGCCTGTTAGAA
ACATCAGAAGGCTGTAGACAAATACTGGGACAGCTACAACCATCCCTTCAGACAGGATCAG
AAGAACTTAGATCATTATATAATACAGTAGCAACCCTCTATTGTGTGCATCAAAGGATAGAG
ATAAAAGACACCAAGGAAGCTTTAGACAAGATAGAGGAAGAGCAAAACAAAAGTAAGAAAA
AAGCACAGCAAGCAGCAGCTGACACAGGACACAGCAATCAGGTCAGCCAAAATTACCCTA
TAGTGCAGAACATCCAGGGGCAAATGGTACATCAGGCCATATCACCTAGAACTTTAAATGC
ATGGGTAAAAGTAGTAGAAGAGAAGGCTTTCAGCCCAGAAGTGATACCCATGTTTTCAGCA
TTATCAGAAGGAGCCACCCCACAAGATTTAAACACCATGCTAAACACAGTGGGGGGACATC
AAGCAGCCATGCAAATGTTAAAAGAGACCATCAATGAGGAAGCTGCAGGCAAAGAGAAGA
GTGGTGCAGAGAGAAAAAAGAGCAGTGGGAATAGGAGCTTTGTTCCTTGGGTTCTTGGGA
GCAGCAGGAAGCACTATGGGCGCAGCGTCAATGACGCTGACGGTACAGGCCAGACAATTA
TTGTCTGGTATAGTGCAGCAGCAGAACAATTTGCTGAGGGCTATTGAGGCGCAACAGCATC
TGTTGCAACTCACAGTCTGGGGCATCAAGCAGCTCCAGGCAAGAATCCTGGCTGTGGAAA
GATACCTAAAGGATCAACAGCTCCTGGGGATTTGGGGTTGCTCTGGAAAACTCATTTGCAC
CACTGCTGTGCCTTGGATCTACAAATGGCAGTATTCATCCACAATTTTAAAAGAAAAGGGG
GGATTGGGGGGTACAGTGCAGGGGAAAGAATAGTAGACATAATAGCAACAGACATACAAA
CTAAAGAATTACAAAAACAAATTACAAAAATTCAAAATTTTCGGGTTTATTACAGGGACAGCA
GAGATCCAGTTTGGGGATCAATTGCATGAAGAATCTGCTTAGGGTTAGGCGTTTTGCGCTG
CTTCGCGAGGATCTGCGATCGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCA
CAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGG
CGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGG
GGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCG
CCAGAACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACGCGCCCGCCGCCCTA
CCTGAGGCCGCCATCCACGCCGGTTGAGTCGCGTTCTGCCGCCTCCCGCCTGTGGTGCC
TCCTGAACTGCGTCCGCCGTCTAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGT
CCGGCGCTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCCTGACCCTG
CTTGCTCAACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGATCCAAGCTGTG
ACCGGCGCCTACGGCTAGCCACCATGCTGCTGCTCGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAA
CTGCCCCACCCTGCCTTTCTGCTGATCCCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGGAAGC
CTGGCCGTGTCTCCTGGCGAGCGCGTGACAATGAGCTGCAAGAGCAGCCAGAGCGTGTT
CTTCAGCAGCTCCCAGAAGAACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGATCCCCGGCCAGAGCCC
CAGACTGCTGATCTACTGGGCCAGCACCAGAGAAAGCGGCGTGCCCGATAGATTCACCGG
CAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCGTGCAGCCCGAGGACCTGG

图36续

CCATCTACTACTGCCACCAGTACCTGAGCAGCCGGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGG
AAATCAAGAGAGGCGGCGGAGGCTCTGGCGGAGGCGGATCTAGTGGCGGAGGATCTCAG
GTGCAGCTGCAGCAGCCTGGCGCCGAGGTCGTGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGATGTC
CTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACTACATCCACTGGATCAAGCAGACCCC
TGGACAGGGCCTGGAATGGGTGGGAGTGATCTACCCCGGCAACGACGACATCAGCTACA
ACCAGAAGTTCCAGGGCAAGGCCACCCTGACCGCCGACAAGTCTAGCACCACCGCCTACA
TGCAGCTGTCCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGAAGTG
CGGCTGCGGTACTTCGATGTGTGGGGCCAGGGAACCACCGTGACCGTGTCATCTGAGTCT
AAGTACGGACCGCCCTGCCCCCCTTGCCCTATGTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTCGGAGG
CGTGCTGGCCTGCTACAGCCTGCTGGTCACCGTGGCCTTCATCATCTTTTGGGTGAAACG
GGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTC
AAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTGC
GGGTGAAGTTCAGCAGAAGCGCCGACGCCCCTGCCTACCAGCAGGGCCAGAATCAGCTG
TACAACGAGCTGAACCTGGGCAGAAGGGAAGAGTACGACGTCCTGGATAAGCGGAGAGG
CCGGGACCCTGAGATGGGCGGCAAGCCTCGGCGGAAGAACCCCCAGGAAGGCCTGTATA
ACGAACTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAG
CGGAGGCGGGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTATCAGGGCCTGTCCACCGCCACCAAGG
ATACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCAAGGCTCGAGGGCGGCGGAGAG
GGCAGAGGAAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAGGAGAATCCAGGCCCTAGGATGCCA
CCTCCAAGACTCCTCTTCTTCCTCCTCTTCCTGACACCAATGGAAGTCAGGCCTGAGGAAC
CTCTAGTGGTGAAGGTGGAAGAGGGAGATAACGCTGTGTTACAGTGCCTCAAGGGAACCT
CAGATGGACCCACTCAGCAGCTGACCTGGTCTCGGGAGTCTCCGCTTAAACCCTTCCTGA
AACTCAGCCTTGGACTGCCAGGTCTGGGAATCCACATGAGGCCACTGGCTATCTGGCTGT
TCATCTTCAACGTCTCTCAACAGATGGGAGGCTTCTACCTGTGTCAGCCTGGACCACCTTC
TGAGAAGGCATGGCAGCCTGGTTGGACAGTCAATGTGGAGGGTTCTGGTGAGCTGTTCCG
GTGGAATGTTTCGGACCTAGGTGGACTGGGATGTGGTCTGAAGAACAGGTCCTCAGAGGG
ACCTAGCTCTCCTTCCGGGAAGCTCATGAGCCCCAAGCTGTATGTGTGGGCCAAAGACCG
CCCTGAGATCTGGGAGGGAGAGCCTCCGTGTGTCCCACCGAGGGACAGCCTGAACCAGA
GCCTCAGCCAGGACCTCACCATGGCCCCTGGCTCCACACTCTGGCTGTCCTGTGGGGTAC
CCCCTGACTCTGTGTCCAGGGGCCCCCTCTCCTGGACCCATGTGCACCCCAAGGGGCCTA
AGTCATTGCTGAGCCTAGAGCTGAAGGACGATCGCCCTGCCAGAGATATGTGGGTAATGG
AGACGGGTCTGTTGTTGCCCCGGGCCACAGCTCAAGACGCTGGAAAGTATTATTGTCACC
GTGGCAACCTGACCATGTCATTCCACCTGGAGATCACTGCTCGGCCAGTACTATGGCACT
GGCTGCTGAGGACTGGTGGCTGGAAGGTCTCAGCTGTGACTTTGGCTTATCTGATCTTCT
GCCTGTGTTCCCTTGTGGGCATTCTTCATCTTCAAAGAGCCCTGGTCCTGAGGAGGAAAAG
ATGAGCGGCCGCTCTAGACCCGGGCTGCAGGAATTCGATATCAAGCTTATCGATAATCAAC
CTCTGGATTACAAAATTTGTGAAAGATTGACTGGTATTCTTAACTATGTTGCTCCTTTTACGC
TATGTGGATACGCTGCTTTAATGCCTTTGTATCATGCTATTGCTTCCCGTATGGCTTTCATTT
TCTCCTCCTTGTATAAATCCTGGTTGCTGTCTCTTTATGAGGAGTTGTGGCCCGTTGTCAG
GCAACGTGGCGTGGTGTGCACTGTGTTTGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCATTGC
CACCACCTGTCAGCTCCTTTCCGGGACTTTCGCTTTCCCCCTCCCTATTGCCACGGCGGAA
CTCATCGCCGCCTGCCTTGCCCGCTGCTGGACAGGGGCTCGGCTGTTGGGCACTGACAA
TTCCGTGGTGTTGTCGGGGAAATCATCGTCCTTTCCTTGGCTGCTCGCCTGTGTTGCCACC
TGGATTCTGCGCGGGACGTCCTTCTGCTACGTCCCTTCGGCCCTCAATCCAGCGGACCTT
CCTTCCCGCGGCCTGCTGCCGGCTCTGCGGCCTCTTCCGCGTCTTCGCCTTCGCCCTCAG
ACGAGTCGGATCTCCCTTTGGGCCGCCTCCCCGCATCGATACCGTCGACTAGCCGTACCT
TTAAGACCAATGACTTACAAGGCAGCTGTAGATCTTAGCCACTTTTTAAAAGAAAAGGGGG
GACTGGAAGGGCTAATTCACTCCCAAAGAAGACAAGATCTGCTTTTTGCCTGTACTGGGTC
TCTCTGGTTAGACCAGATCTGAGCCTGGGAGCTCTCTGGCTAACTAGGGAACCCACTGCTT

图36续

AAGCCTCAATAAAGCTTGCCTTGAGTGCTTCAAGTAGTGTGTGCCCGTCTGTTGTGTGACT
CTGGTAACTAGAGATCCCTCAGACCCTTTTAGTCAGTGTGGAAAATCTCTAGCAGAATTCG
ATATCAAGCTTATCGATACCGTCGACCTCGAGGGGGGGCCCGGTACCCAATTCGCCCTAT
AGTGAGTCGTATTACAATTCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCTG
GCGTTACCCAACTTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGA
AGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGAAATT
GTAAGCGTTAATATTTTGTTAAAATTCGCGTTAAATTTTTGTTAAATCAGCTCATTTTTTAACC
AATAGGCCGAAATCGGCAAAATCCCTTATAAATCAAAAGAATAGACCGAGATAGGGTTGAG
TGTTGTTCCAGTTTGGAACAAGAGTCCACTATTAAAGAACGTGGACTCCAACGTCAAAGGG
CGAAAAACCGTCTATCAGGGCGATGGCCCACTACGTGAACCATCACCCTAATCAAGTTTTT
TGGGGTCGAGGTGCCGTAAAGCACTAAATCGGAACCCTAAAGGGAGCCCCCGATTTAGAG
CTTGACGGGGAAAGCCGGCGAACGTGGCGAGAAAGGAAGGGAAGAAAGCGAAAGGAGC
GGGCGCTAGGGCGCTGGCAAGTGTAGCGGTCACGCTGCGCGTAACCACCACACCCGCCG
CGCTTAATGCGCCGCTACAGGGCGCGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGA
ACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCC
TGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGC
CCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGA
AAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAA
CAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTT
AAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGT
CGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATC
TTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACAC
TGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCAC
AACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATA
CCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTA
TTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGG
ATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAA
ATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTA
AGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAA
ATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGT
TTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAG
ATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTC
AGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCT
GCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACC
AACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTTCTTCTAG
TGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCT
GCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGA
CTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCA
CACAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTAT
GAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGG
GTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGT
CCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGG
CGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGG
CCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGC
CTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGA
GCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATT
CATTAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCA
ATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCG
TATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGATT

图36续

ACGCCAAGCTCGAAATTAACCCTCACTAAAGGGAACAAAAGCTGGAGCTCCACCGCGGTG
GCGGCCTCGAGGTCGAGATCCGGTCGACCAGCAACCATAGTCCCGCCCCTAACTCCGCC
CATCCCGCCCCTAACTCCGCCCAGTTCCGCCCATTCTCCGCCCCATGGCTGACTAATTTTT
TTTATTTATGCAGAGGCCGAGGCCGCCTCGGCCTCTGAGCTATTCCAGAAGTAGTGAGGA
GGCTTTTTTGGAGGCCTAGGCTTTTGCAAAAAGCTTCGACGGTATCGATTGGCTCATGTCC
AACATTACCGCCATGTTGACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGT
CATTAGTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCC
TGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTA
ACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACT
TGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTACGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAA
ATGGCCCGCCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTATGGGACTTTCCTACTTGGCAGTAC
ATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGGC
GTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCATTGACGTCAATGGGA
GTTTGTTTTGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGTAACAACTCCGCCCCATT
GACGCAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGAATTCGGAGTGGCGAGCCCTCAGATCCTGCA
TATAAGCAGCTGCTTTTTGCCTGTACTGGGTCTCTCTG (SEQ ID NO: 355)

V型定向的CD33/CD3 BsAb (RC1)(Igk前导序列以斜体显示；CD33 scFv以粗体显示；连接子以斜体和下划线显示；CD3 scFv是正常文本；并且His标签加下划线):

*METDTLLLWVLLLWVPGSTG***QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFTNYGMNWVKQA**
PGQGLEWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWS
WSDGYYVYFDYWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINC
KSSQSVLDSSTNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQ
PEDSATYYCQQSAHFPITFGQGTRLEIK*SGGGGS*EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFT
FNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKT
EDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSL
TVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGK
AALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL<u>HHHHHH</u> (SEQ ID NO: 377)

不含前导序列或His标签的V型定向的CD33/CD3 BsAb (RC1)(CD33 scFv以粗体显示；连接子以斜体和下划线显示；CD3 scFv是正常文本):

QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTY
ADKFQGRVTMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYVYFDYWGQGTSVTV
SSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNSLAWYQQ
KPGQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQQSAHFPITFGQG
TRLEIK*SGGGGS*EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVA
RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYW
AYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSG
NYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY
SNRWVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 378)

V型定向的CD33 scFv:

QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTY
ADKFQGRVTMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYVYFDYWGQGTSVTVS
SGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNSLAWYQQK
PGQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQQSAHFPITFGQGT
RLEIK (SEQ ID NO: 366)

图36续

V型定向的CD33 scFv编码序列:

CAAGTTCAGCTCGTGCAGAGTGGTGCAGAGGTCAAGAAGCCTGGAGAGAGCGTCAAGGT
CAGCTGTAAAGCATCTGGCTATACATTCACTAATTACGGAATGAACTGGGTCAAGCAGGCG
CCAGGTCAGGGACTTGAATGGATGGGCTGGATAAACACATATACAGGAGAGCCAACTTAT
GCTGACAAATTCCAGGGTAGAGTCACGATGACGACGGACACATCAACCTCCACCGCGTAT
ATGGAAATCAGGAATTTGGGCGGAGACGATACAGCGGTTTACTACTGCGCCCGATGGAGT
TGGTCTGATGGCTATTATGTGTATTTCGACTACTGGGGTCAGGGTACAAGCGTCACAGTAA
GTTCAGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGCTCTGGAGGAGGAGGATCTGATATTGTA
ATGACCCAATCCCCTGACTCATTGACAGTATCCCTCGGAGAGCGGACCACTATAAACTGCA
AATCCAGCCAGTCTGTATTGGACTCCAGCACCAACAAAAATAGCCTTGCGTGGTATCAGCA
AAAGCCGGGTCAACCACCCAAGCTGCTCTTGAGTTGGGCGAGTACCAGAGAGAGTGGGAT
ACCCGACAGGTTTAGTGGATCTGGCTCTGGCACCGATTTTACGCTTACAATCGACAGTCCG
CAACCCGAAGACTCCGCGACGTACTACTGTCAGCAATCTGCACACTTTCCAATAACCTTCG
GGCAAGGGACACGGCTGGAGATCAAA (SEQ ID NO: 370)

图36续